



**Федеральное бюджетное учреждение науки  
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»**

Для лабораторных  
исследований

**ИНСТРУКЦИЯ  
по применению «Набора дисков для определения продукции энтеробактериями  
бета-лактамаз расширенного спектра действия методом двойных дисков»  
(набор № 8)**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор дисков предназначен для подтверждения продукции энтеробактериями бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) и может быть использован для штаммов *Klebsiella* spp. и *E.coli*, а также других энтеробактерий. Среди них могут быть устойчивые, умеренно-устойчивые или чувствительные к цефалоспорином 3, 4 поколения или азтреонаму штаммы, диаметр зоны подавления роста которых, по данным предварительного тестирования, соответствуют показателям для штаммов, подозрительных на продукцию БЛРС (см. таблицу).

Критерии выявления штаммов энтеробактерий, подозрительных на продукцию БЛРС (МУК 4.2.1980-04):

Наименование препарата и его содержание в диске, мкг	Диаметры зон подавления роста для штаммов энтеробактерий, формально чувствительных, но подозрительных на продукцию БЛРС, мм	Возможные диаметры зон подавления роста для штаммов энтеробактерий, подозрительных на продукцию БЛРС, мм	Диаметр зоны подавления роста для штаммов энтеробактерий, не продуцирующих БЛРС, мм
Цефтазидим 30	$\geq 18 - \leq 22$	6 - $\leq 22$	$\geq 23$
Цефотаксим 30	$\geq 23 - \leq 27$	6 - $\leq 27$	$\geq 28$
Цефтриаксон 30	$\geq 21 - \leq 25$	6 - $\leq 25$	$\geq 26$
Азтреонам 30	$\geq 22 - \leq 27$	6 - $\leq 27$	$\geq 28$

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод основан на выявлении продукции БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином 3 поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (синергизм отмечается на участке пересечения зон диффузии препаратов с двух дисков, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга). Параллельно с анализом исследуемых культур тестируют контрольные штаммы:

- отрицательный контроль – штамм *E. coli* ATCC 25922, не продуцирующий БЛРС;
- положительный контроль – штамм *K. pneumoniae* ATCC 700603, продуцирующий БЛРС.

**СОСТАВ НАБОРА**

1. Диски с цефотаксимом (30 мкг/диск).....2 фл.
  2. Диски с цефтазидимом (30 мкг/диск).....2 фл.
  3. Диски с амоксициллином/клавуланатом (20/10 мкг/диск).....1 фл.
- В каждом флаконе содержится  $100 \pm 5$  дисков.

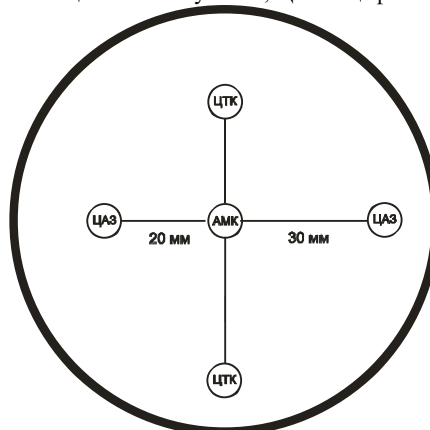
**ПОСТАНОВКА ТЕСТА**

Методика приготовления микробной взвеси и инокуляция чашек с агаром стандартные.

Через 5-10 мин после инокулирования на подсыхшую поверхность агара накладывают диски согласно следующей схеме: в центр чашки – диск, содержащий клавулановую кислоту (амоксицилин/клавуланат), по бокам от него на расстоянии 20 мм (с одной стороны) и 30 мм (с другой стороны) между центрами дисков – диски с цефотаксимом и цефтазидимом. При этом линии, соединяющие центры дисков цефотаксим-амоксициллин/клавуланат-цефотаксим и цефтазидим - амоксициллин/клавуланат - цефтазидим должны быть перпендикулярны друг другу (см. рис. 1). Использование двух дисков каждого АБП, расположенных на разном расстоянии от диска с амоксициллином/клавуланатом, позволяет повысить эффективность обнаружения БЛРС.

Чашки инкубируют в термостате при температуре 35° С в течение 18-20 ч.

Рис.1. Схема расположения дисков при постановке теста по выявлению продукции БЛРС методом «двойных дисков».  
Обозначения дисков: АМК - амоксициллин/клавуланат; ЦТК – цефотаксим; ЦАЗ – цефтазидим.



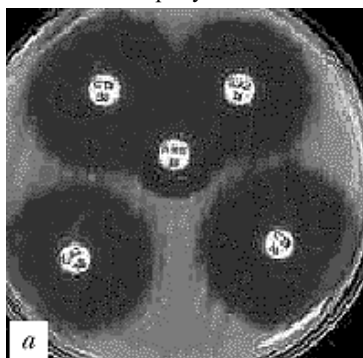
#### УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Если тестируемый микроорганизм вырабатывает БЛРС, то зона подавления вокруг дисков с цефалоспорином III поколения окажется «вытянутой» в сторону диска с амоксициллином/клавуланатом за счет дополнительного подавления роста микроорганизма в той зоне, куда диффундируют и клавуланат, и цефалоспориин III поколения (Рис. 2).

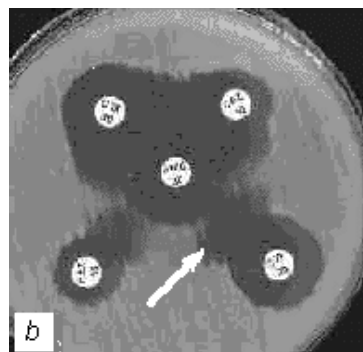
Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, цефалоспорином и монобактамам. Результат считается положительным, если указанные различия получены хотя бы для одной пары дисков.

При наличии предварительных данных о чувствительности исследуемых штаммов расстояние между дисками может быть изменено для облегчения обнаружения БЛРС. Например, при тестировании высокорезистентных штаммов *K. pneumoniae* расстояние может быть сокращено до 15 мм, а при анализе «чувствительных» штаммов *E. coli* – увеличено до 35 мм.

Рис.2. Выявление продукции БЛРС с помощью метода "двойных дисков".



а) Отрицательные результаты (БЛРС-)



б) Положительные результаты (БЛРС+)

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор дисков предназначен только для диагностики *in vitro*. Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений Министерства здравоохранения СССР, Москва, 1981 г.».

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор дисков следует хранить при температуре 2 – 8° С в упаковке предприятия-изготовителя в сухом темном месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25° С не более 15 дней.

Срок годности набора – 12 мес.

Перед использованием флаконы с дисками следует выдержать при комнатной температуре 18 – 25° С в течение 1 ч, для предотвращения образования конденсата на внутренней стенке флакона.

Вскрытый флакон можно хранить при температуре 2 – 8° С в течение всего срока годности при условии сохранения цвета индикаторного силикагеля.

По всем вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу предприятия-изготовителя: ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, отдел новых технологий.

Тел/факс (812) 233-17-03, 313-69-89, тел. (812) 325-27-10, 313-69-88.

e-mail: [pasteurdnt@yandex.ru](mailto:pasteurdnt@yandex.ru); [http:// www.dntpasteur.ru](http://www.dntpasteur.ru)