

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**  
**Набора дисков для определения продукции энтеробактериями**  
**бета-лактамаз расширенного спектра действием методом двойных дисков**

**Набор № 8**

по ТУ 9398-006-01967164-2009

Набор состоит из отдельных компонентов медицинского изделия  
«Набор дисков для определения чувствительности к противомикробным препаратам – 1 (НД-ПМП-1)»,  
прошедших регистрацию в составе НД-ПМП-1 (РУ № ФСР 2009/06290 от 16.08.2011)

**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 III, IV поколения штаммы, диаметр зоны подавления роста которых, по данным предварительного тестирования, соответствуют показателям для штаммов, подозрительных на продукцию БЛРС.

**СОСТАВ НАБОРА**

№ п/п	Наименование	Количество
1	Диски с амоксициллин/клавуланатом (20/10 мкг/диск)	1 флакон (100 ± 5 шт.)
2	Диски с цефотаксимом (30 мкг/диск)	2 флакона (100 ± 5 шт. каждый)
3	Диски с цефтазидимом (30 мкг/диск)	2 флакона (100 ± 5 шт. каждый)
4	Инструкция по применению	1 шт.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.  
Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.  
Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.  
При работе с изделием следует соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрилабораторными инструкциями по технике безопасности.

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод основан на выявлении продукции БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином III 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.

**ПОСТАНОВКА ТЕСТА**

Агаризованную питательную среду готовят в соответствии с инструкцией изготовителя.  
Приготовление чашек с агаром провести в соответствии с п.2.2 Клинических рекомендаций МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (актуальная версия).  
Разлить среду в стерильные чашки Петри, таким образом, чтобы толщина слоя агара составляла 4,0 ± 0,5 мм.  
Приготовление бактериальной суспензии (инокулюма) провести в соответствии с п.2.3 Клинических рекомендаций МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (актуальная версия).  
Суспензия должна соответствовать по плотности 0,5 стандарту МакФарланда.  
Инокуляцию чашек с агаром провести в соответствии с п.2.4 Клинических рекомендаций МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (актуальная версия).  
Стерильный ватный тампон погрузить в бактериальную суспензию, затем избыток инокулюма удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Инокуляцию проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°.  
Далее постановку проводить в соответствии с МУК 4.2.1890-04. Через 5-10 мин после инокулирования на подсохшую поверхность агара нанести диски согласно следующей схеме: в центр чашки – диск, содержащий клавулановую кислоту (амоксициллин/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 (Рис. 1). Использование двух дисков каждого АБП, расположенных на разном расстоянии от диска с амоксициллин/клавуланатом, позволяет повысить эффективность обнаружения БЛРС. Чашки инкубируют в термостате при температуре 35°C в течение 18-20 ч.

Обозначения дисков:

АМК - амоксициллин/клавуланат;

ЦТК – цефотаксим;

ЦАЗ – цефтазидим.

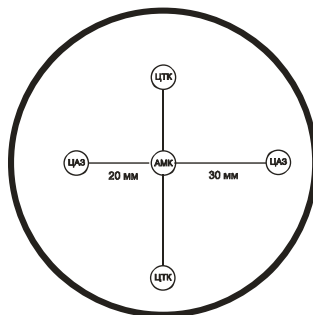


Рис. 1.

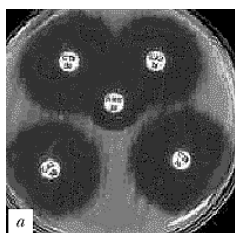
Схема расположения дисков при постановке теста по выявлению продукции БЛРС методом «двойных дисков»

### УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

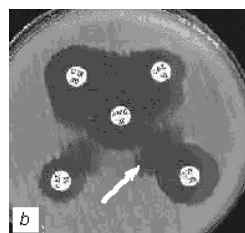
Если тестируемый микроорганизм вырабатывает БЛРС, то зона подавления вокруг дисков с цефалоспоридами III поколения окажется «вытянутой» в сторону диска с амоксициллин/клавуланатом за счёт дополнительного подавления роста микроорганизма в той зоне, куда диффундируют и клавуланат, и цефалоспорин III поколения (рис. 2).

Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, цефалоспоридам 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.



а) Отрицательные результаты (БЛРС-)



б) Положительные результаты (БЛРС+)

Рис. 2.

Выявление продукции БЛРС с помощью метода «двойных дисков»

### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор следует хранить при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в сухом тёмном месте в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C не более 15 сут.

Сроки годности набора – 12 мес.

Перед использованием флакон с дисками следует выдержать при комнатной температуре (+18-25°C) в течение 1 ч для предотвращения образования конденсата на внутренней стенке флакона.

Вскрытый флакон с дисками можно хранить при температуре +2-8°C в течение всего срока годности набора, при условии сохранения цвета индикаторного силикагеля от светло-голубого до синего.

Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера по адресу:

197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14

Телефон (812) 233-20-92, (812) 644-63-17, факс (812) 644-63-10

E-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru); официальный веб-сайт: [www.pasteurorg.ru](http://www.pasteurorg.ru)