



Для лабораторных
исследований

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

**ИНСТРУКЦИЯ
по применению «Расширенного набора дисков для оценки чувствительности
к противогрибковым препаратам»
(набор № 24)**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор дисков предназначен для определения чувствительности дрожжеподобных грибов рода *Candida* к амфотерицину В, нистатину, клотримазолу, флюконазолу, итраконазолу и кетоконазолу.

СОСТАВ НАБОРА

1. Диски с амфотерицином В (40 мкг/диск).....1 фл.
 2. Диски с клотримазолом (10 мкг/диск).....1 фл.
 3. Диски с нистатином (80 мкг/диск).....1 фл.
 4. Диски с флюконазолом (40 мкг/диск)..... 1 фл.
 5. Диски с итраконазолом (10 мкг/диск).....1 фл.
 6. Диски с кетоконазолом (20 мкг/диск).....1 фл.
- В каждом флаконе содержится 100 ± 5 дисков.

ПОСТАНОВКА ТЕСТА

Рекомендуется использовать агаризованную среду Сабуро с рН не ниже 6,0. Для дисков с амфотерицином В, нистатином и клотримазолом может быть использована среда МПА. Среды готовят из сухих порошков в соответствии с инструкциями по их применению. Расплавленную и охлажденную до 45-50°C среду разливают в чашки Петри так, чтобы толщина слоя среды была равна $4,0 \pm 0,5$ мм (на чашку диаметром 9 см - 20 мл). Готовые чашки со средой можно хранить в холодильнике при температуре 2-6°C в течение 7 суток. При использовании свежеприготовленных чашек или чашек после хранения в холодильнике их необходимо подсушить перед инокуляцией, что достигается инкубацией при 35°C с приоткрытой крышкой в течение 10-20 мин. Перед инокуляцией необходимо проконтролировать отсутствие конденсата жидкости на внутренней поверхности крышек.

Готовят суспензию 24-48-часовой культуры в изотоническом растворе хлорида натрия по оптическому стандарту мутности 5 ЕД (без пересчёта на размер клетки). Готовую суспензию разводят изотоническим раствором хлорида натрия в 10 раз.

1-2 мл инокулюма наносят пипеткой на поверхность чашки с питательной средой, равномерно распределяют по поверхности покачиванием, после чего пипеткой удаляют избыток инокулюма. Приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре в течение 15 минут.

Диски с противогрибковыми препаратами располагают на поверхности среды с помощью стерильного пинцета на равном расстоянии друг от друга и аккуратно прижимают к поверхности агара. Не следует помещать на чашку более 5 дисков.

При использовании дисков с итраконазолом и кетоконазолом перед инкубацией в термостате чашки с этими дисками выдерживают 1 час в холодильнике при температуре 2-6°C, при использовании дисков с амфотерицином В, нистатином и клотримазолом – 2 часа, а при использовании дисков с флюконазолом чашки оставляют закрытыми на 30 минут на столе при комнатной температуре (до 20°C).

Чашки с дисками инкубируют в термостате при 27-30°C в течение 24-48 часов.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности:
пограничные значения диаметров зон подавления роста

№ п/п	Наименование дисков с препаратами	Содержание препарата в диске, мкг	Среда*	Диаметры зон подавления роста культур, мм		
				Устойчивых	Промежуточных	Чувствительных
1	Амфотерицин В	40	1**	<14	-	≥14
2	Клотримазол	10	1**	<12	-	≥12
3	Нистатин	80	1**	<18	-	≥18
4	Кетоконазол	20	1	≤19	20-25	≥26
5	Флюконазол	40	1	≤19	20-28	≥29
6	Итраконазол	10	1	≤13	14-18	≥19

Примечание:

* Используемая среда:

1 – агаризованная среда Сабуро с рН не ниже 6,0;

** Для дисков с амфотерицином В, нистатином и клотримазолом может быть использована среда МПА.

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°C 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°C 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; [http:// www.dntpasteur.ru](http://www.dntpasteur.ru)