

Федеральное бюджетное учреждение науки
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

УТВЕРЖДЕНА
Приказом по Росздравнадзору
№ 10159-Пр/09 от 10 декабря 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора дисков для определения чувствительности
к противомикробным препаратам – 1
(НД-ПМП-1)
ТУ 9398-006-01967164-2009
Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/06290 от 16.08.2011 г.

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор дисков НД-ПМП-1 предназначен для определения чувствительности возбудителей разных заболеваний человека, выделенных из патологического материала больных, к различным противомикробным препаратам, применяемым для лечения.

Один диск рассчитан на проведение одного определения чувствительности микроорганизмов к соответствующему противомикробному препарату.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на определении диаметра зоны подавления роста культур при воздействии соответствующего противомикробного препарата (ПМП).

Диск из картона фильтровального, пропитанный ПМП в определенной концентрации, помещают на чашку Петри с плотной питательной средой, засеянной культурой бактерий, выделенных из клинического материала. Диффузия ПМП из диска в питательную среду вызывает подавление роста исследуемой культуры и приводит к образованию вокруг диска видимой зоны задержки роста бактерий. Диаметр зоны учитывают по полному подавлению роста микроорганизмов, определяемому визуально. Диаметры зон измеряют с точностью до 1 мм при помощи штангенциркуля или линейки

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Осуществляется согласно российским и международным рекомендациям: Клинические рекомендации МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам»; EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; нормативно-справочная информация Министерства здравоохранения Российской Федерации, справочник «Параметры чувствительности к антимикробным препаратам». Обязательным является использование последней актуальной версии нормативного документа.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.
Набор дисков НД-ПМП-1 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.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор дисков НД-ПМП-1 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°C не более 15 сут.

Сроки годности набора – 12 мес.

Перед использованием флаконы 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 НД-ПМП-1, 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

Федеральное бюджетное учреждение науки
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора дисков для определения чувствительности
к противомикробным препаратам – 2
(НД-ПМП-2)

Проект ТУ 017-01967164-2015

Для научных исследований

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор дисков НД-ПМП-2 предназначен для определения чувствительности возбудителей разных заболеваний человека, выделенных из патологического материала больных, к различным противомикробным препаратам, применяемым для лечения.

Один диск рассчитан на проведение одного определения чувствительности микроорганизмов к соответствующему противомикробному препарату.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на определении диаметра зоны подавления роста культур при воздействии соответствующего противомикробного препарата (ПМП).

Диск из картона фильтровального, пропитанный ПМП в определенной концентрации, помещают на чашку Петри с плотной питательной средой, засеянной культурой бактерий, выделенных из клинического материала. Диффузия ПМП из диска в питательную среду вызывает подавление роста исследуемой культуры и приводит к образованию вокруг диска видимой зоны задержки роста бактерий. Диаметр зоны учитывают по полному подавлению роста микроорганизмов, определяемому визуально. Диаметры зон измеряют с точностью до 1 мм при помощи штангенциркуля или линейки

УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Осуществляется согласно российским и международным рекомендациям: Клинические рекомендации МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам»; EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; нормативно-справочная информация Министерства здравоохранения Российской Федерации, справочник «Параметры чувствительности к антимикробным препаратам». Обязательным является использование последней актуальной версии нормативного документа.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор дисков НД-ПМП-2 предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с изделием следует соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрिलाбораторными инструкциями по технике безопасности.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор дисков НД-ПМП-2 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°C не более 15 сут.

Сроки годности набора – 12 мес.

Перед использованием флаконы 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 строго соблюдать инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора НД-ПМП-2, 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

Федеральное бюджетное учреждение науки
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора дисков с противогрибковыми препаратами
(НД-ПП)

Проект ТУ 9398-011-01967164-2015

Для научных исследований

НАЗНАЧЕНИЕ

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

Один диск рассчитан на проведение одного определения чувствительности микроорганизмов к соответствующему противогрибковому препарату.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор дисков предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует соблюдать требования СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

ПОСТАНОВКА ТЕСТА

Приготовление сред и проведение исследования следует осуществлять в соответствии с положениями последней актуальной версии нормативной документации («Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», КМАХ). В качестве питательной среды используется агар Мюллера-Хинтон с добавлением раствора метиленового синего (5 мг/мл) и раствора глюкозы (0,4 г/мл).

Для приготовления инокулюма материал ≥ 5 изолированных колоний вносят в 5 мл (или более) стерильного физиологического раствора или дистиллированной воды, смешивают до получения однородной суспензии до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, что соответствует содержанию клеток $1-5 \times 10^6$ клеток в 1 мл и обеспечивает формирование полусливного роста для большинства изолятов *Candida* spp. Для этого стерильной бактериологической петлей или ватным тампоном необходимо собрать несколько морфологически схожих колоний чистой 18–24-часовой культуры дрожжей, выросшей на плотной питательной среде. Необходимо довести плотность дрожжевой суспензии строго до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда путем добавления изотонического раствора или дрожжевой массы. Использование суспензии более высокой или низкой плотности может приводить к формированию зоны подавления роста меньшего или большего диаметра, соответственно. Плотность суспензии может быть определена путем визуального сравнения со стандартом мутности 0,5 по МакФарланду. Суспензия должна быть использована в течение 15 минут, но не позднее 60 минут после приготовления.

Перед инокуляцией необходимо убедиться, что чашки с агаром имеют комнатную температуру. Дрожжевую суспензию следует инокулировать на агар не позже, чем через 15 минут. При необходимости можно хранить инокулюм с установленной густотой в холодильнике в течение 2 часов.

Для инокуляции погрузить стерильный ватный тампон в приготовленную суспензию. При необходимости удалить избыток суспензии, отжимая тампон о внутренние стенки пробирки, чтобы избежать нанесения избыточного количества инокулюма. Инокулюм следует наносить равномерно штриховыми движениями на всю поверхность агара в трех направлениях, таким образом, чтобы штрихи плотно прилегали друг к другу. На каждой чашке тестируется только 1 штамм. Чашки следует выдержать 5–15 минут для абсорбции инокулюма с поверхности агара.

Диски располагают на поверхности среды с помощью стерильного пинцета на равном расстоянии друг от друга и аккуратно прижимают к поверхности агара (после абсорбции инокулюма в течение 5–15 мин). Не следует помещать на чашку более 5 дисков. Контакт диска с агаром должен быть плотным. После нанесения на поверхность агара диски нельзя передвигать, так как диффузия антимикотика в среду начинается очень быстро.

Перед началом инкубации необходимо перевернуть чашки вверх дном и убедиться, что диски не падают с поверхности агара. Чашки Петри должны быть помещены в термостат не позднее, чем через 15 минут после нанесения дисков. Расположение чашек Петри в термостате (в частности, количество чашек в одной стопке) может привести к их неравномерному нагреву. Для большинства термостатов пять вертикально размещенных чашек является наиболее приемлемым количеством. Нельзя допускать увеличения периода инкубации сверх установленных пределов, так как это может привести к появлению роста внутри зоны и ошибочной оценке изолята как резистентного.

Инкубация чашек осуществляется при 35 ± 2 °С, обычная атмосфера, 24 ч. При соблюдении правил подготовки инокулюма и инокуляции чашек с агаром после инокуляции должен сформироваться равномерный сплошной или полусливной слой роста (газон). Газон должен быть

равномерным на всей поверхности агара. Края зон подавления роста вокруг дисков с АМП должны быть ровными и иметь форму окружностей. Формирование отдельных колоний вместо сплошного роста свидетельствует о недостаточной плотности инокулюма. В этом случае исследование необходимо повторить. При определении чувствительности к вориконазолу допускается продление времени инкубации до 48 часов.

При измерении зон подавления роста вокруг дисков с любым антимикотиком следует ориентироваться на зону полного подавления роста микроорганизмов, определяемую невооруженным глазом, при расположении чашки на расстоянии примерно 30 см от глаз. Для измерения зон подавления роста линейкой чашку Петри с закрытой крышкой располагают дном вверх на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на нее под углом 45° (учет в отраженном свете). Измерение зон подавления роста необходимо проводить с точностью до миллиметра при помощи линейки или автоматического прибора. При использовании автоматических приборов для учета результатов определения чувствительности диско-диффузионным методом, прибор должен быть откалиброван. Измерение диаметра зон производится на границе подавления роста на уровне ~80%. Микроколонии на границе зоны или в зоне подавления роста, а также незначительное подавление роста (< 20%) не должны приниматься во внимание.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценку результатов проводят согласно российским и международным рекомендациям, содержащим пограничные значения диаметров зон задержки роста и соответствующие им клинические категории чувствительности дрожжеподобных грибов к антимикотикам (Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, КМАХ.; - EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI. CLSI. Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts) при тестировании культур из биологических образцов: в соответствии с клиническими категориями «чувствительный», «чувствительный дозозависимый», «умеренно-резистентный» и «резистентный». **Обязательным является использование последней актуальной версии нормативного документа.**

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°C не более 15 сут.

Сроки годности набора – 12 мес.

Перед использованием флаконы 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; официальный веб-сайт: www.pasteurorg.ru