

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
СТРИПОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К
АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ
(МПК-МИКРО PS)**

*Для научных
исследований*

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор стрипов МПК-МИКРО PS предназначен для количественной оценки чувствительности бактерий к антимикробным препаратам (АМП) путём определения минимальной подавляющей концентрации и выпускается в 26 вариантах исполнения.

Набор рассчитан на проведение 12 исследований в каждом варианте исполнения.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Проведение исследований с использованием данного набора основано на методе последовательных двукратных разведений исследуемой культуры микроорганизма в микролунках, содержащих различные концентрации АМП. Набор предусматривает визуальную оценку результатов по мутности среды.

СОСТАВ НАБОРА

Набор для определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам выпускается в 26 вариантах исполнения (табл. 1).

Табл. 1.

Варианты исполнения набора МПК-МИКРО

№	Наименование варианта исполнения	Сокращение	Интервал концентраций, мкг/мл
Аминогликозиды, макролиды и другие группы (7)			
1	МПК-МИКРО с азитромицином	AZM	0,016 – 128
2	МПК-МИКРО с амикацином	AKN	0,032 – 256
3	МПК-МИКРО с гентамицином	GMN	0,032 – 256
4	МПК-МИКРО с хлорамфениколом (левомицетином)	CHL	0,032 – 256
5	МПК-МИКРО с триметоприм / сульфаметоксазолом	SXT	0,008 – 64
6	МПК-МИКРО с фосфомицином ¹	FOS	0,032 – 256
7	МПК-МИКРО с эритромицином	ERY	0,032 – 256
Гликопептиды, карбапенемы и линкозамиды (4)			
8	МПК-МИКРО с ванкомицином	VAN	0,032 – 256

9	МПК-МИКРО с имипенемом	IPM	0,004 – 32
10	МПК-МИКРО с меропенемом	MEM	0,004 – 32
11	МПК-МИКРО с клиндамицином	CMN	0,032 – 256
Пенициллины, монобактамы и полимиксины (7)			
12	МПК-МИКРО с азтреонамом	ATM	0,016 – 128
13	МПК-МИКРО с амоксициллином	AMX	0,032 – 256
14	МПК-МИКРО с амоксициллин / клавулановой кислотой	AMC	0,032 – 256
15	МПК-МИКРО с ампициллином	AMP	0,032 – 256
16	МПК-МИКРО с ампициллин / сульбактамом	SAM	0,032 – 256
17	МПК-МИКРО с оксациллином	OXA	0,032 – 256
18	МПК-МИКРО с полимиксином E (колистином)	PXE	0,032 – 256
Тетрациклины, хинолоны/фторхинолоны и цефалоспорины (8)			
19	МПК-МИКРО с левофлоксацином	LVX	0,004 – 32
20	МПК-МИКРО с тигециклином ²	TGC	0,016 – 128
21	МПК-МИКРО с ципрофлоксацином	CIP	0,004 – 32
22		HLC	0,032 – 256
23	МПК-МИКРО с цефепимом	FEP	0,008 – 64
24	МПК-МИКРО с цефотаксимом	CTX	0,032 – 256
25	МПК-МИКРО с цефтазидимом	CAZ	0,032 – 256
26	МПК-МИКРО с цефтриаксоном	CRO	0,016 – 128

¹- для определения чувствительности к фосфомицину питательная среда должна содержать глюкозо-6-фосфат в концентрации 25 мг/л;

²- для определения чувствительности к тигециклину питательную среду следует готовить в день использования.

Каждый вариант исполнения включает следующие реагенты:

- 16-ти луночные полистироловые стрипы с сорбированным антимикробным препаратом 12 шт.
- пакет с замком Zip-Lock..... 12 шт.
- инструкция по применению..... 1 шт.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор реагентов для определения чувствительности к антимикробным препаратам предназначен только для *in vitro* диагностики.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ

- Готовая сухая питательная среда МХБ (Мюллер-Хинтон бульон);
- 0,9% раствор натрия хлорида (физиологический раствор), стерильный;
- Дистиллированная вода, стерильная;
- Стерильные пробирки пластиковые или стеклянные для денситометра;

Калиброванные бактериальные петли;
Термостат, поддерживающий температуру $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
Денситометр для определения мутности бактериальной суспензии или стандарт мутности МакФарланда (0,5);
Перемешивающее устройство Vortex;
Горелка газовая или спиртовая;
Дозаторы пипеточные одноканальные с переменным объемом от 5 до 50 мкл; от 20 до 200 мкл; от 100 до 1000 мкл и соответствующие наконечники.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования включает следующие этапы:

1 Внесение питательной среды в лунку К (-)

Приготовить предварительно жидкую среду МХБ, разлить в пробирки по 2 мл, стерилизовать и хранить при температуре $(2-8) ^\circ\text{C}$ не более 7 сут. Перед проведением анализа пробирку с приготовленной средой МХБ выдержать при комнатной температуре $(18-25) ^\circ\text{C}$ в течение 1 ч., тщательно перемешать на Vortex. Перенести 100 мкл питательной среды в лунку с отрицательным контролем К (-).

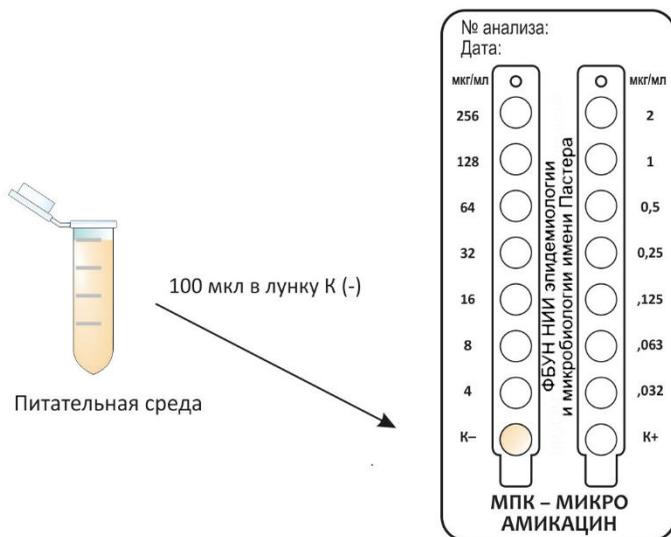


Рис. 1 Внесение питательной среды в лунку К (-)

2 Приготовление инокулята

2.1 Приготовление стандартизованного инокулята

Для приготовления инокулята следует использовать суточную культуру исследуемого микроорганизма на плотной питательной среде.

Для приготовления стандартизованного инокулята в пробирку для денситометра внести 2 мл стерильного физиологического раствора, после чего ресуспендировать в нем незначительное количество материала, взятого с верхушек

колоний микроорганизмов (1-2 бактериологические петли по 1 мкл), и тщательно перемешать.

Приготовить суспензию микроорганизмов в физиологическом растворе плотностью 0,5 McF. Стандартизованный инокулят следует использовать в течение 15 мин после приготовления.

2.2 Приготовление посевого инокулята

Для приготовления посевого инокулята 20 мкл стандартизованного инокулята (0,5 McF) добавить в пробирку для микропроб, содержащую 1,9 мл питательной среды МХБ (бульон Мюллера-Хинтон).



Рис. 2 Приготовление инокулята

3 Внесение инокулята в лунки стрипа

Приготовленный посевной инокулят тщательно перемешать на Vortex и внести по 100 мкл во все лунки стрипа, кроме лунки с отрицательным контролем.

Поместить стрип в пакет с молнией и инкубировать в термостате при температуре 35 ± 2 °C в течение (18 ± 2) ч.

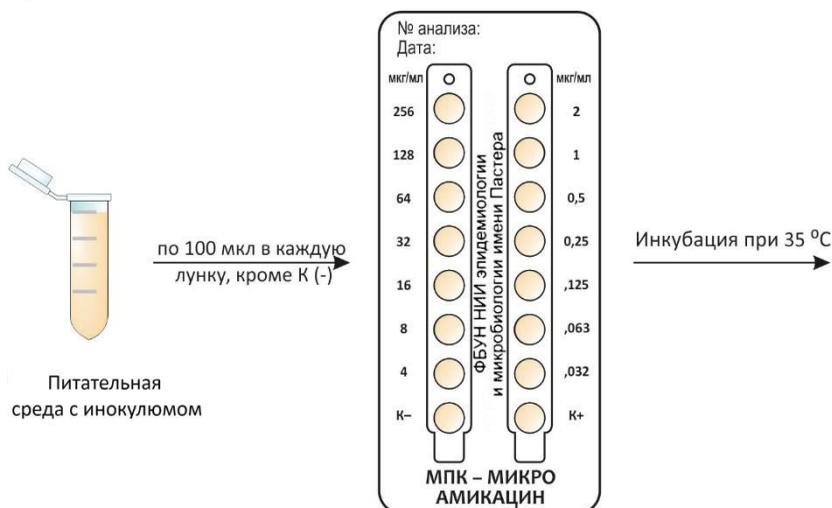


Рис. 3. Внесение инокулята в лунки стрипа

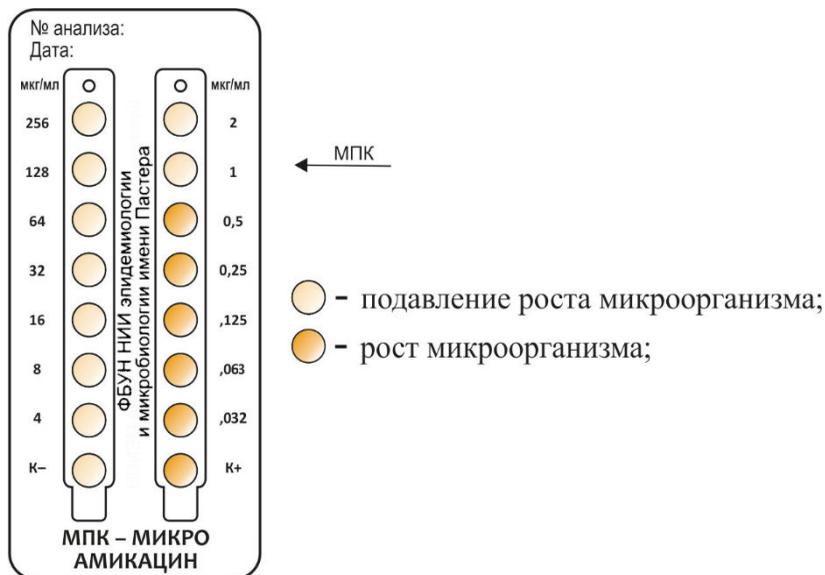
УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

При определении МПК антимикробного препарата, время инкубации должно составлять 18 ± 2 ч.

Рост исследуемого микроорганизма в лунках стрипа оценивается визуально по появлению мутности **по сравнению с контрольными лунками**.

Отсутствие видимых изменений мутности свидетельствует о подавлении роста микроорганизма.

Значение МПК соответствует наименьшей концентрации антимикробного препарата в лунке, где визуально не определяется рост бактерий (рис. 4).



К (-) - отрицательный контроль (среда без культуры микроорганизма)

К (+) - положительный контроль (среда с культурой микроорганизма)

256, 128...0,032 - концентрации антибактериального препарата, мкг/мл

Рис. 4. Учет результатов по изменению мутности среды в лунках стрипа

Возможные проблемы при учете результатов анализа и их причины:

1) Рост в одиночной лунке

Описание: рост в одиночной лунке при отсутствии роста в соседних лунках.

Порядок действий: рекомендуется сделать высев из такой лунки на соответствующие плотные питательные среды для проверки. Одиночный случай контаминации можно не учитывать.

Возможные причины: контаминация содержимого лунки или неоднородность суспензии микроорганизма.

2) Одиночный пропуск в росте

Описание: в ряду лунок с ростом микроорганизма встречается одна лунка без признаков роста.

Порядок действий: одиночный пропуск в росте можно игнорировать. Нельзя принимать отсутствие признаков роста в единичной лунке стрипа равным МПК. Значение МПК соответствует наименьшей концентрации антимикробного препарата в лунке, где визуально не определяется рост бактерий.

Возможные причины: неоднородность приготовленного инокулята.

3) Беспорядочный рост

Описание: множественные пропуски в росте или множественный беспорядочный рост в одиночных лунках.

Порядок действий: следует проверить чистоту культуры, сделав высев на плотные питательные среды из соответствующих лунок. Результат анализа недействителен, тест следует повторить.

Возможные причины: исследование смешанной культуры.

4) Отсутствие признаков роста во всех лунках

Описание: отсутствие признаков роста во всех лунках, включая положительный контроль.

Порядок действий: результат анализа недействителен, тест следует повторить.

Возможные причины:

- нарушение методики постановки теста;
- условия культивирования, предусмотренные данным набором реагентов, не удовлетворяют питательным потребностям исследуемого штамма.

5) Рост во всех лунках

Описание: наличие роста во всех лунках стрипа, включая отрицательный контроль.

Порядок действий: результат анализа недействителен, тест следует повторить.

Возможные причины:

- контаминация питательной среды или стрипа;
- нарушение методики постановки теста.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерпретация полученных результатов определения МПК проводится в соответствии с нормативными документами, действующими на территории Российской Федерации.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Стрипы с сорбированным АМП для определения чувствительности к антимикробным препаратам (МПК-МИКРО PS) следует хранить при температуре

(2–8) °C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение и транспортировка стрипов при температуре до 25 °C не более 2 недель.

Срок годности набора – 12 месяцев.

По вопросам, касающимся качества стрипов с сорбированным АМП для определения чувствительности к антимикробным препаратам (МПК-МИКРО PS), следует обращаться в 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.

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) 232-92-17

E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru

ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001