

УТВЕРЖДЕНА  
Приказом Росздравнадзора  
от 30.04.11 № 488-Пн/12

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор ФБУН  
Государственный научный центр  
прикладной микробиологии и  
биотехнологии



И.А. Дятлов  
2012 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований  
«Питательная среда для определения чувствительности  
к антибактериальным препаратам сухая»

### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для определения чувствительности к антибактериальным препаратам сухая (далее - Питательная среда) предназначена для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом при проведении бактериологических исследований в клинической лабораторной диагностике.

### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТА

Питательная среда представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелко-дисперсного, гигроскопичного порошка желтоватого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

#### 2.1. Принцип действия

Определение основано на образовании зон задержки роста вокруг дисков с антибактериальными препаратами чувствительными микроорганизмами и последующей регистрации диаметров этих зон.

### 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение требований СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

### 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 35 - 37 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Диски с антибактериальными препаратами
- Пинцеты анатомические
- Оврослевой стандартный образец мутности (СОС 42-28-85 П) 10 единиц соответствующего года выпуска

### 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Выделенные из клинического материала чистые культуры микроорганизмов

### 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ проводят в соответствии с МУК 4.2. 1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

#### 7.1. Приготовление среды

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии (Питательной среды), тщательно размешивают в 1л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного растворения агара, разливают по колбам и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. После охлаждения до 45-50 °С среду разливают по 20 мл в стерильные чашки Петри диаметром 90 мм и по 25 мл среды в стерильные чашки Петри диаметром 100 мм, устанавливая их на строго горизонтальную гладкую поверхность (выверенную по уровню). Соблюдение указанных предосторожностей связано с тем, что зоны задержки роста зависят от толщины и однородности агарового слоя. При использовании свежеприготовленных чашек или чашек

#### 2.2. Состав, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбьей муки	21,0
Пептон сухой ферментативный	10,0
Натрий хлористый	3,0
Крахмал растворимый, индикатор	1,5
Агар микробиологический	12,0±3,0

### 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда должна обеспечивать рост тест-штаммов: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 в виде однородного не очень плотного газона с образованием четких соответствующего диаметра зон задержки роста вокруг дисков с антибактериальными препаратами (см. таблицу) через 18-20 ч инкубации посевов при температуре (36±1) °С в соответствии с таблицей.

Таблица - Допустимые диапазоны значений диаметров зон задержки роста тест-штаммов микроорганизмов.

№ п/п	Антибактериальные препараты (АБП)	Содержание АБП в диске	Диаметры зон задержки роста, мм		
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
1	Бензилпенициллин	10 ед	29-38	-*	-
2	Карбенциллилин	100 мкг	35-42	23-29	18-25
3	Стрептомицин	30 мкг	20-25	14-22	-
4	Неомицин	30 мкг	20-27	17-22	-
5	Гентамицин	10 мкг	22-32	20-27	16-26
6	Тетрацилин	30 мкг	22-31	17-26	-
7	Эритромицин	15 мкг	22-31	8-15	-
8	Левомецетин	30 мкг	19-25	19-27	-
9	Полимиксин	300 ед	-	16-20	16-20

\* - определение с данными АБП не производится

после хранения в холодильнике их необходимо подсушить, соблюдая правила асептики, при температуре (36±1) °С с приоткрытой крышкой в течение 10-20 мин. Готовая среда в чашках прозрачная желтого цвета.

Готовую среду в чашках можно хранить в запечатанных полиэтиленовых пакетах при 4-8 °С в течение 7-10 сут.

#### 7.1.1 Исследование образца

#### 7.1.2 Приготовление инокулята

Выделенную культуру микроорганизма бактериологической петлей переносят в пробирку со стерильным 0,9% раствором натрия хлористого и доводят концентрацию микробной взвеси до 10 единиц по СОС.

Стандартную микробную взвесь готовят путем десятикратного разведения (0,0 0,9 % раствора натрия хлористого с 1,0 мл микробной взвеси) до разведения 10<sup>-1</sup>. В процессе разведения перенос взвеси в следующую пробирку производят новой стерильной пипеткой вместимостью 1 мл.

#### 7.1.3. Инокуляция чашек Петри со средой

Для инокуляции приготовленных чашек со средой 1,5-2,0 мл стандартной взвеси наносят на поверхность чашки Петри со средой и равномерно распределяют путем покачивания чашек. Избыток микробной взвеси удаляют стерильной пипеткой. Затем чашки подсушивают, приоткрыв крышки, при комнатной температуре в течение 10-15 мин.

#### 7.1.4 Апликация дисков и инкубация.

Не позднее, чем через 15 мин после инокуляции на поверхность питательной среды наносят диски с антибактериальными препаратами (АБП). Апликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета. На одну чашку диаметром 90 мм помещают 4 диска с АБП, аккуратно прижав их пинцетом к поверхности среды. Чашки помещают в термостат сразу после наложения дисков и инкубируют при температуре (36±1) °С в течение 18-20 ч. Увеличение интервала времени между нанесением дисков на поверхность среды и началом инкубации приводит к увеличению диаметра зоны подавления роста. После окончания инкубации чашки помещают вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом в 45° (учет в отраженном свете). С помощью штангенциркуля или специальной линейки измеряют диаметры зон задержки роста с точностью до 1 мм.