

ИНСТРУКЦИЯ

по применению плотной питательной среды для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам АГАР ГИВЕНТАЛЯ – ВЕДЬМИНОЙ (АГВ)

готовой к применению

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Среда АГВ используется для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным средствам методом серийных разведений в плотной питательной среде и диск-диффузионным методом.

Характеристики специфической активности.

Среда АГВ должна обеспечивать рост тест-штаммов: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212 в виде газона с образованием четких соответствующего диаметра (см. табл.) зон угнетения их роста вокруг дисков с антибиотиками при посеве по 2 мл взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-1} (10^8 КОЕ/мл) через 18-20 ч инкубации при температуре от 35 до 37 °С.

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

№ п/п	Антибиотики	Концентрация в диске, мкг (ЕД)	Диаметр зон задержки роста тест-штаммов, мм			
			<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
1.	Бензилпенициллин	10	-	29-38	-	-
2.	Гентамицин	10	21-27	20-28	19-27	-
3.	Гентамицин	120	-	-	-	15-22
4.	Левомецетин	30	23-29	23-30	-	-
5.	Полимиксин-М	300	-	-	17-23	-
6.	Стрептомицин	300	-	-	-	13-19
7.	Тетрациклин	30	19-27	26-33	-	-
8.	Ципрофлоксацин	5	30-40	22-30	31-37	-
9	Эритромицин	15	-	24-32	-	-

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Комплект поставки.

Питательная среда, готовая к применению, представляющая собой непрозрачный студень коричневого цвета, в двух вариантах фасовки:

- по 200 мл в герметично укупоренных стеклянных флаконах вместимостью 250 мл;
- по 400 мл в герметично укупоренных стеклянных флаконах вместимостью 450 мл.
- паспорт;
- инструкция.

Вариант фасовки и количество флаконов формируется по требованию заказчика.

3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ

Расходные материалы и общелабораторное оборудование, не поставляемые с изделием, но обязательные к применению с изделием:

- спиртовая или газовая горелка;
- баня водяная;
- чашки Петри стерильные;
- холодильник бытовой.

Способ подготовки среды.

Работа должна быть проведена с соблюдением правил асептики. Перед использованием в асептических условиях вскрывают флакон со средой, заменяют резиновую пробку на стерильную ватно-марлевую. Выдерживают флакон со средой АГВ в кипящей водяной бане до полного расплавления студня, охлаждают до температуры 45-50 °С и разливают в стерильные чашки Петри слоем 4-5 мм. После полного застывания чашки со средой подсушивают в открытом виде перевернутыми при температуре (37±1) °С в течение 45-60 минут.

В таком виде чашки Петри со средой АГВ можно хранить в течение 7 суток при температуре 2-8 °С.

4. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ

Посев инокулюма.

Готовят бактериальную суспензию, соответствующую по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Инокулюм следует использовать в течение 15 минут после приготовления. Для инокуляции приготовленных чашек с агаром можно использовать два способа.

С помощью стерильного ватного тампона. Тампон необходимо 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°.

С помощью пипетки или дозатора. Стандартный инокулюм наносят пипеткой или дозатором на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1 - 2 мл, равномерно распределяют по поверхности покачиванием, после чего удаляют избыток инокулюма пипеткой. Приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре в течение 10 - 15 мин.

Апликация дисков и инкубация.

Не позднее, чем через 15 мин. после инокуляции на поверхность питательной среды наносят диски с ПЛС. Апликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15 - 20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм следует помещать не более 6 дисков с ПЛС. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом.

Непосредственно после апликации дисков чашки Петри помещают в термостат кверху дном и инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18 - 24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).

Увеличение интервала времени между нанесением дисков на поверхность среды и началом инкубации (а соответственно - началом роста исследуемой культуры микроорганизма) приводит к "преддиффузии" ПЛС в агар и к увеличению диаметра зоны подавления роста.

Учет результатов.

По окончании инкубации чашки помещают кверху дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом 45° (учет в отраженном свете). Диаметр зон задержки роста измеряют с точностью до 1 мм, предпочтительно пользоваться штангенциркулем.

- Интерпретация результатов должна проводиться согласно критериям, приведенным в отраслевых нормативных документах, например:

- МУК 4.2.1890-04 Минздрава России «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», 2004 г.

- Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (актуальная версия). Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Питательная среда в используемых концентрациях является нетоксичной.

При работе с изделием следует соблюдать меры предосторожности, предусмотренные внутрिलाбораторной инструкцией по технике безопасности.

Пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты.

Не принимать пищу, не пить и не курить в лабораторных помещениях.

После работы с пробами и реактивами тщательно обработать руки и открытые участки кожи согласно внутрिलाбораторным санитарным инструкциям.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Питательную среду до использования необходимо хранить в герметично закрытой упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С.

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытого транспорта.

7. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности питательной среды в упаковке производителя – 6 месяцев.

Изделие с истекшим сроком годности, вскрытой, или в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

8. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие плотной питательной среды для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам Агар Гивенталья-Ведьминой (АГВ) готовой к применению, требованиям ТУ 9385-168-39484474-2010 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в настоящей Инструкции по применению.

Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества продукции, следует обращаться в ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии» по адресу:

192236, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Белы Куна, д. 30, лит. А тел./факс: (812) 327 5581,
e-mail: nicf@nicf.spb.ru