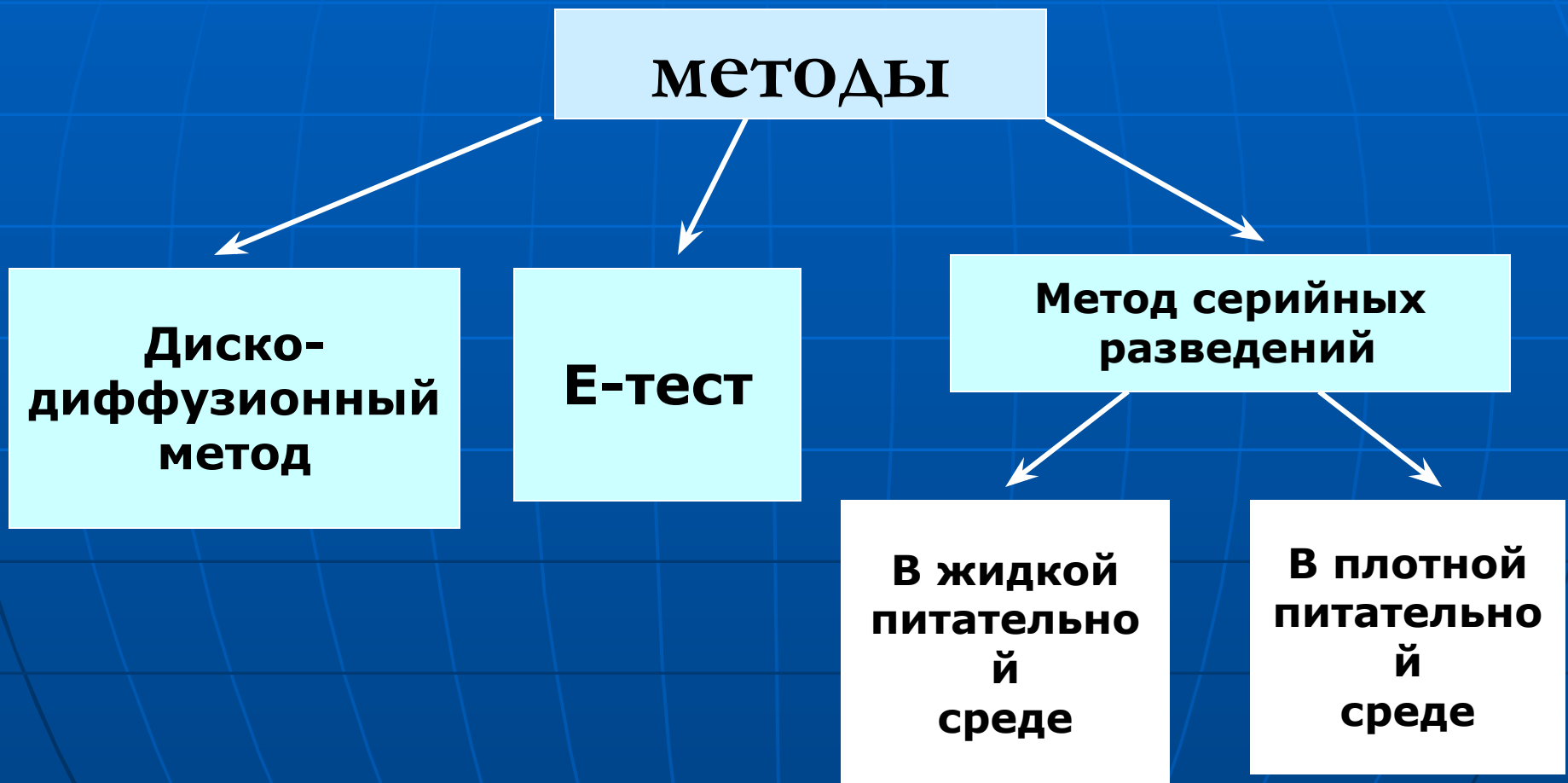


# Определение антибиотико- чувствительности микроорганизмов

# Определение антибиотикочувствительности микроорганизмов



# Диско-диффузионный метод

## Питательные среды:

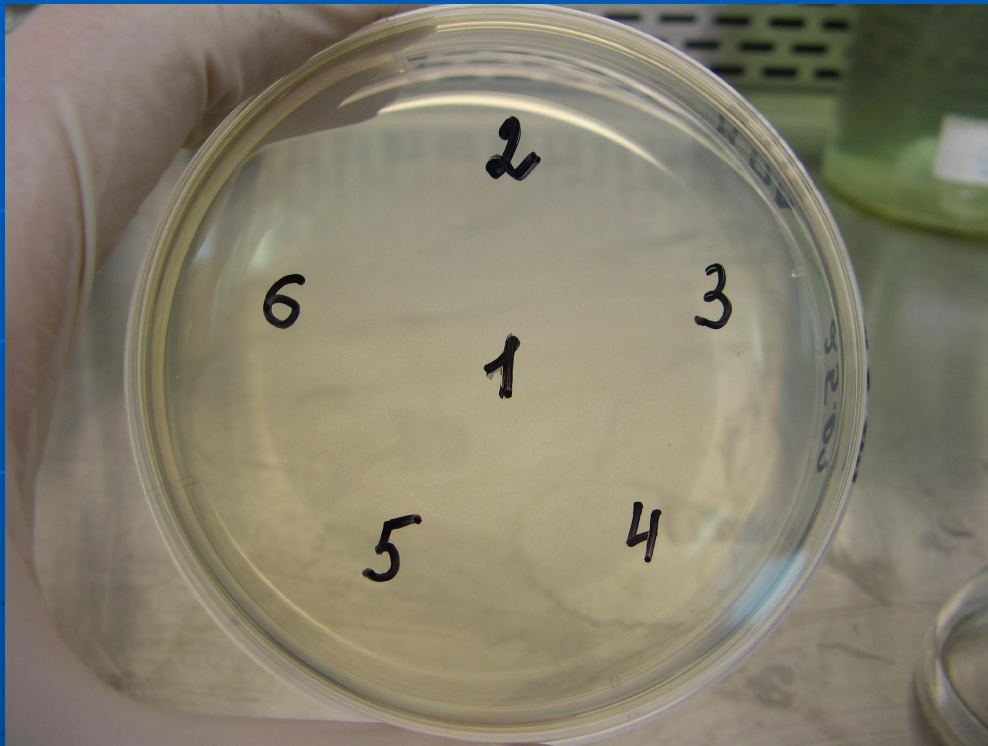
- АГВ
- Среда Мюллера Хинтона

**Для микроорганизмов со сложными питательными потребностями в среду вносят ростовые добавки:  
кровь,  
сыворотка крови.**

**Добавление глюкозы недопустимо.**

# Диско-диффузионный метод

## Приготовление чашек



Чашки  
подсушивают,  
на дне чашки  
отмечают места  
наложения дисков

# Диско-диффузионный метод

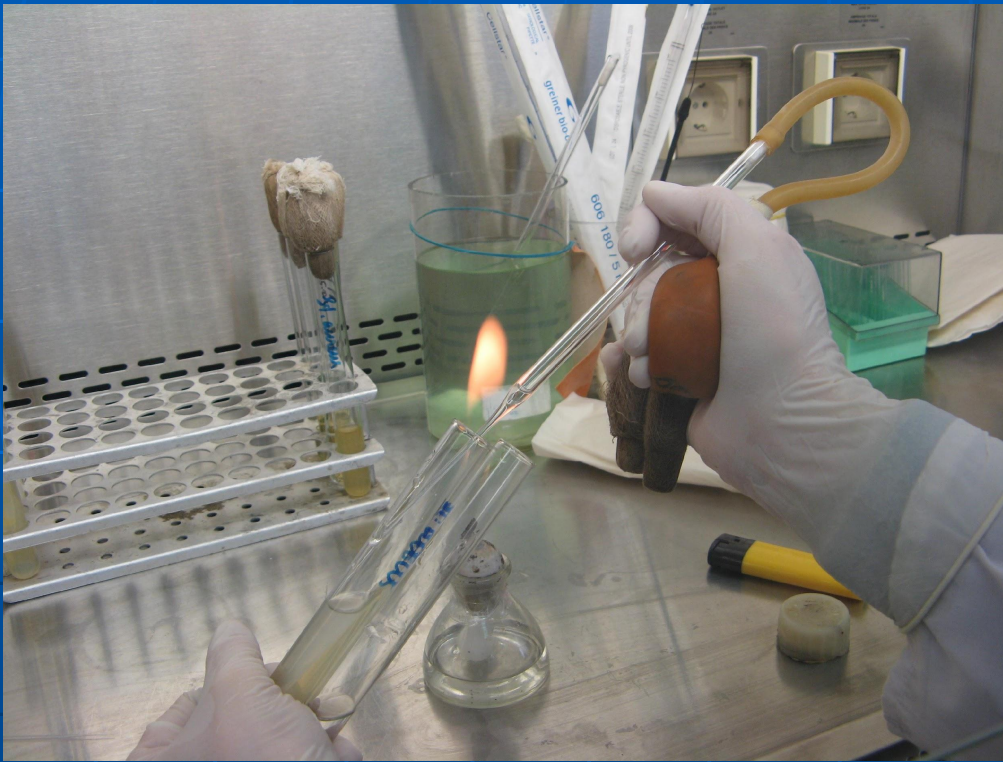
## Приготовление инокулята



Инокулят готовят из чистой 18-20-часовой культуры бактерий, выросшей на поверхности плотной питательной среды

# Диско-диффузионный метод

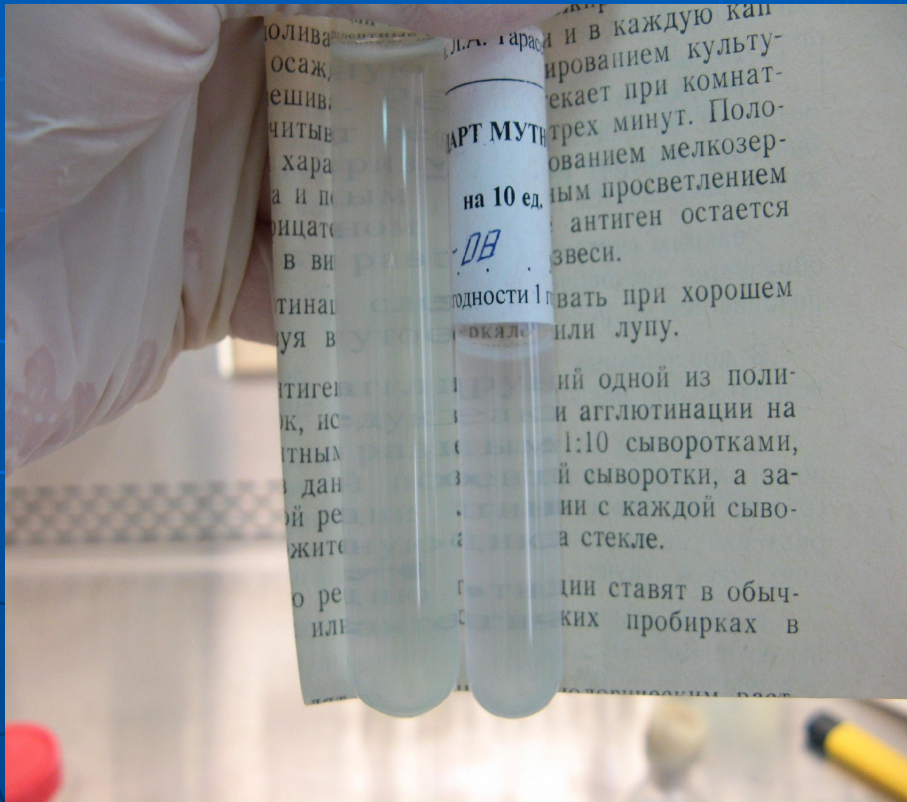
## Приготовление инокулята



Исследуемую культуру смывают стерильным изотоническим раствором хлорида натрия

# Диско-диффузионный метод

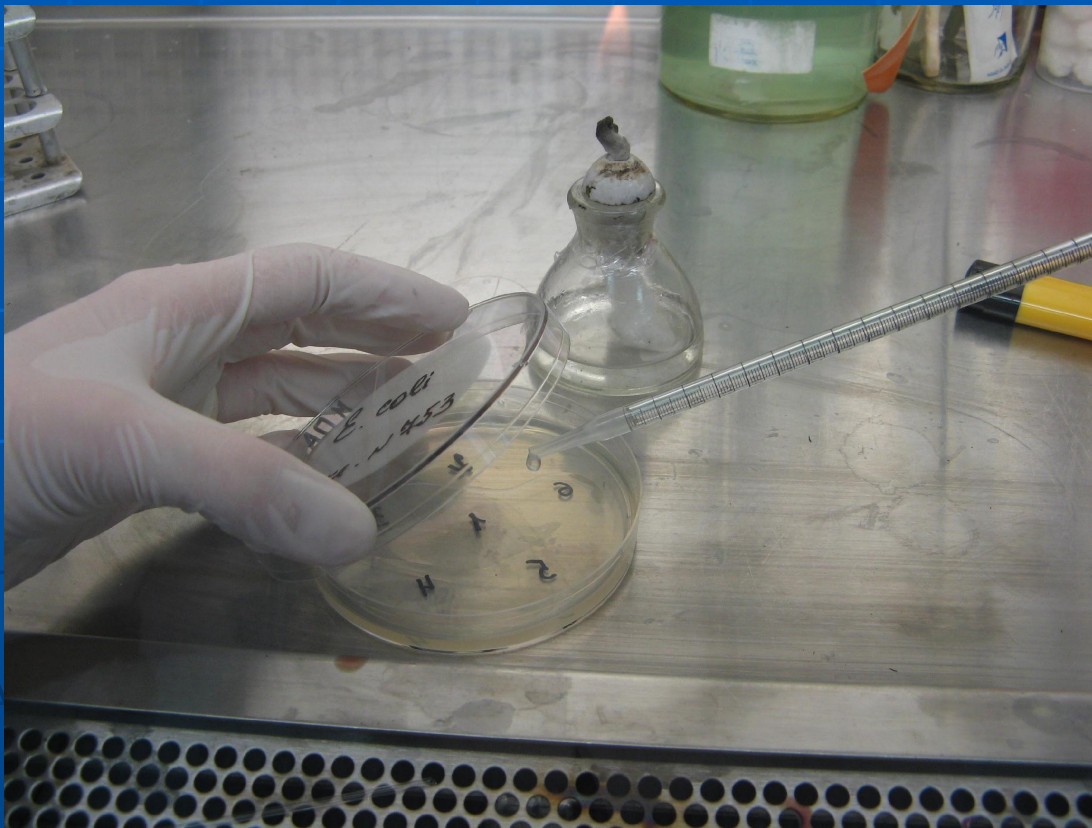
## Приготовление инокулята



Суспензию разводят  
стерильным  
изотоническим раствором  
хлорида натрия  
до мутности оптического  
стандарта  
ГИСК им. Л. А.  
Тарасевича  
на 10 ед.

# Диско-диффузионный метод

## Нанесение суспензии на поверхность агаровой среды

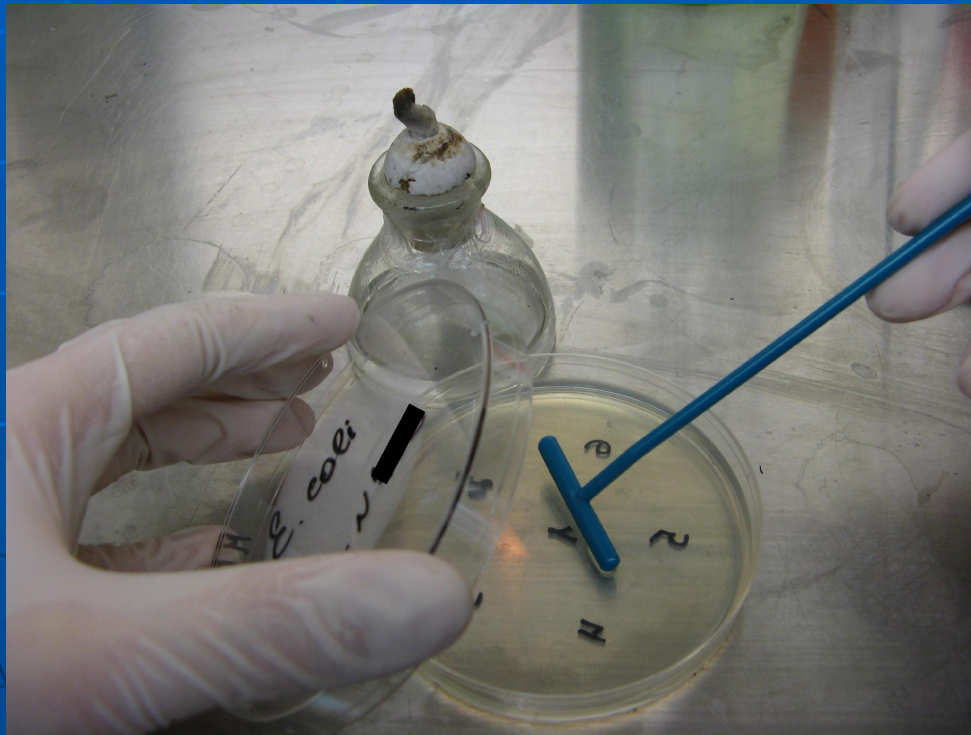


Инокулят в  
объеме  
1 мл наносят на  
поверхность  
агаровой среды



# Диско-диффузионный метод

## Нанесение суспензии на поверхность агаровой среды



Инокулят  
равномерно  
распределяют по  
поверхности  
шпателем  
или путем  
покачивания чашки

# Диско-диффузионный метод

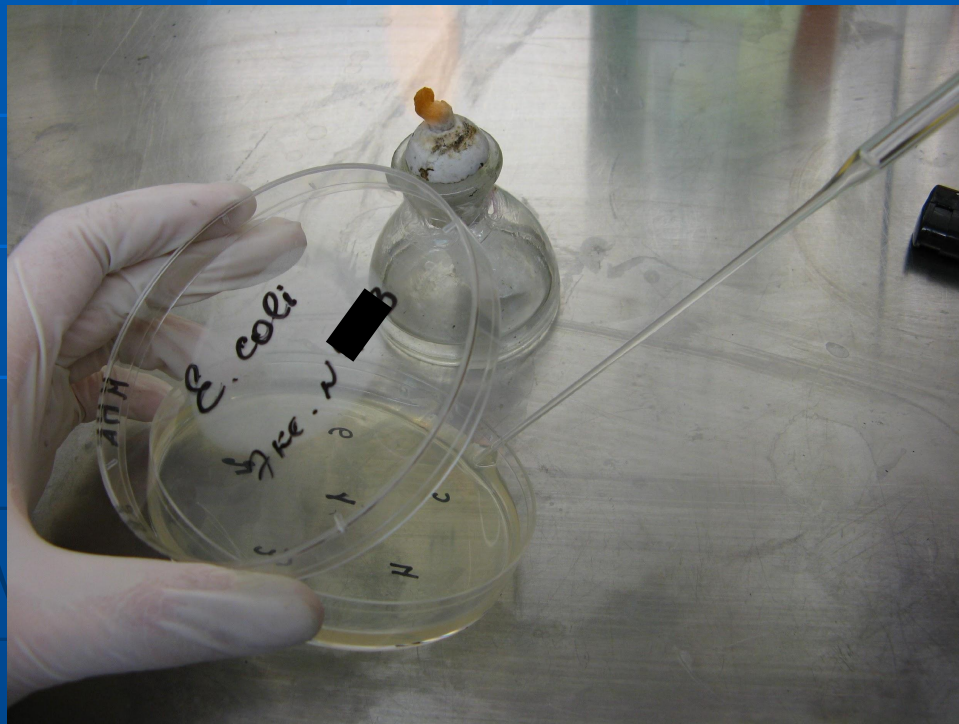
## Нанесение суспензии на поверхность агаровой среды



Чашку наклоняют  
и дают остатку  
суспензии стечь  
на одну сторону

# Диско-диффузионный метод

## Нанесение суспензии на поверхность агаровой среды

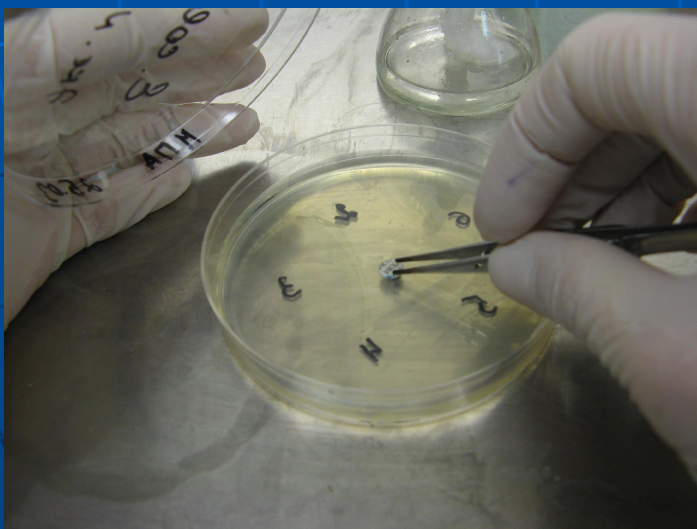
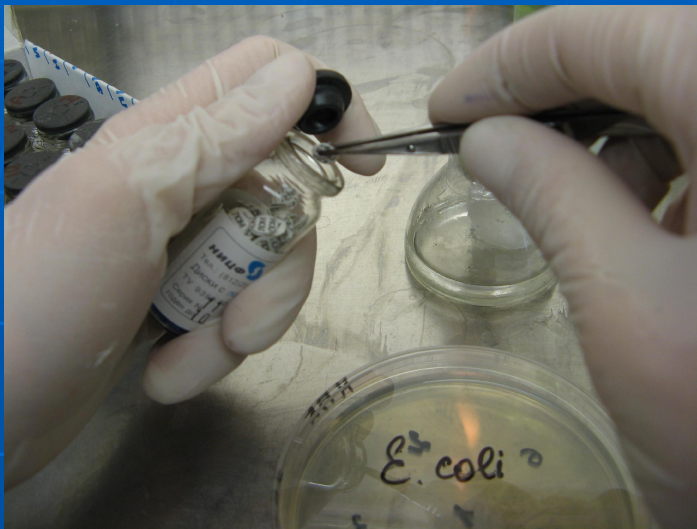


Избыток суспензии удаляют пастеровской пипеткой. Чашки выдерживают при комнатной температуре 10-15 мин. для полного впитывания суспензии.

Перед наложением дисков поверхность среды должна быть

# Диско-диффузионный метод

## Наложение дисков



Перед использованием флаконы с дисками необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 1 часа для предотвращения образования конденсата на внутренней стенке флакона.

Диски с помощью пинцета накладывают на поверхность агара на одинаковом расстоянии один от другого и примерно на расстоянии 2 см от края чашки.

На одну чашку следует помещать не более 6 дисков.

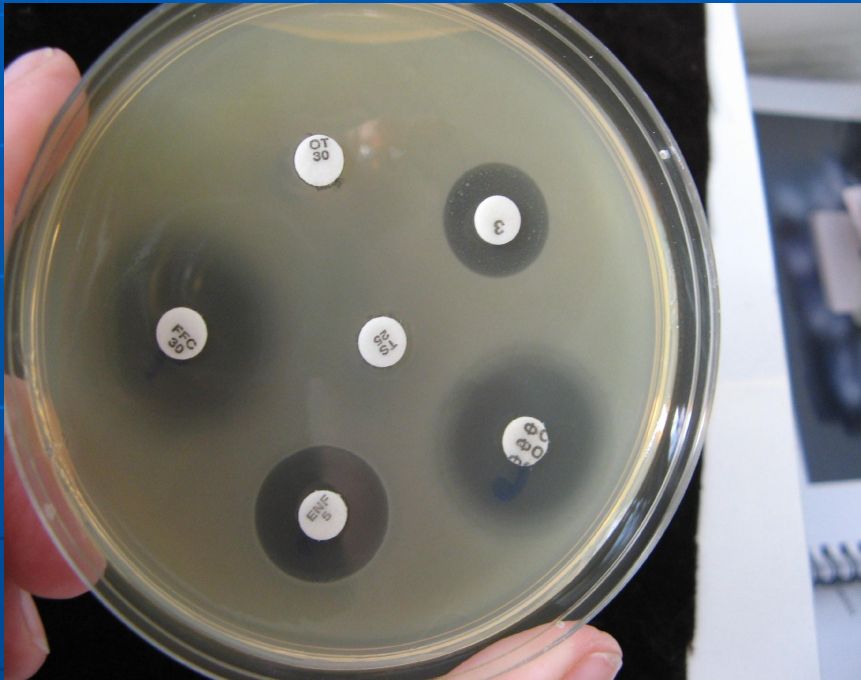
# Диско-диффузионный метод

## Инкубация чашек

Чашки ставят в термостат сразу после наложения дисков и инкубируют в течение 18-20 часов при 37 °С, перевернутыми кверху дном.

# Диско-диффузионный метод

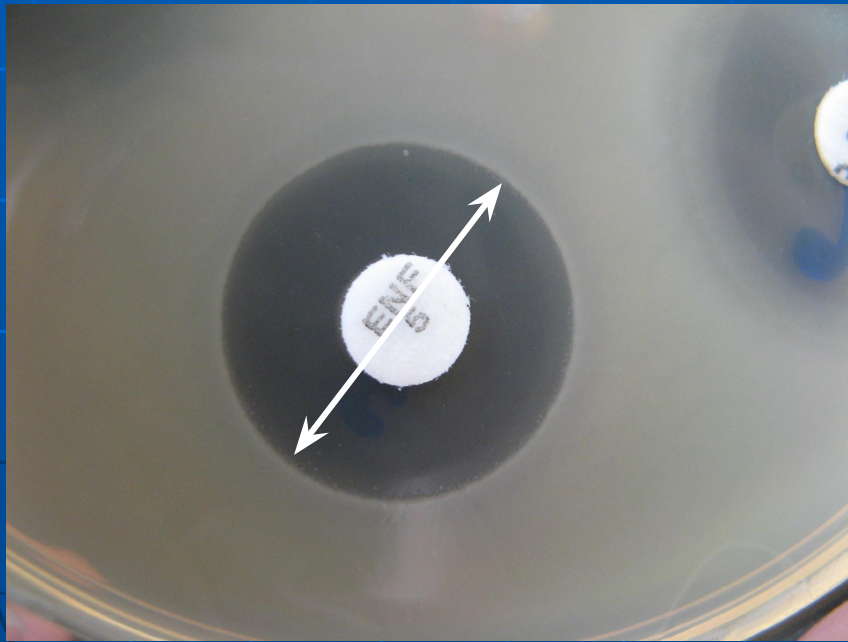
## Учет результатов



Чашки помещают кверху дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал под углом  $45^\circ$  (учет в отраженном свете).

# Диско-диффузионный метод

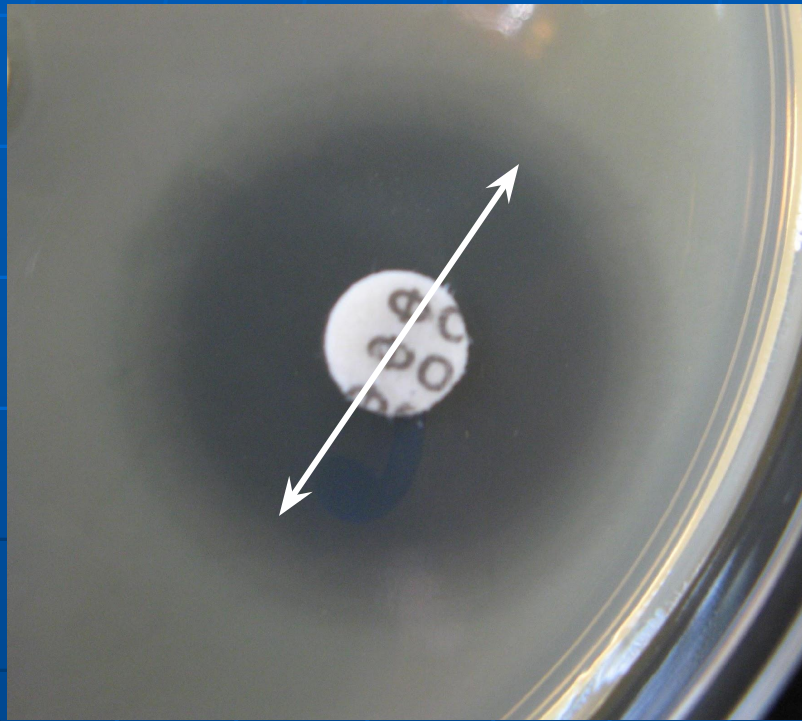
## Учет результатов



С помощью линейки или измерителя измеряют диаметр зон задержки роста вокруг дисков, включая диаметр самих дисков, с точностью до 1 мм.

# Диско-диффузионный метод

## Учет результатов



При не резко очерченном крае зоны или зоне с двойным контуром следует измерить диаметр зоны по наиболее четкому контуру



# Диско-диффузионный метод

## Интерпретация полученных результатов

### Пример:

Гентамицин – зона задержки роста 13 мм;

Левомецетин – зона задержки роста 17 мм;

Ципрофлоксацин – зона задержки роста 23 мм.

Антибиотик	Диаметр зон для культур		
	устойчивых	промежуточных	чувствительных
Гентамицин	$\leq 15$	-	$\geq 16$
Левомецетин	$\leq 15$	16-18	$\geq 19$
Ципрофлоксацин	$\leq 15$	16-20	$\geq 21$

# Диско-диффузионный метод

## Контроль воспроизводимости и точности полученных результатов

Для контроля воспроизводимости и точности процедуры определения чувствительности необходимо при каждой постановке теста параллельно с испытуемыми штаммами использовать эталонные штаммы *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Диаметры зон задержки роста эталонных штаммов должны соответствовать табличным значениями.

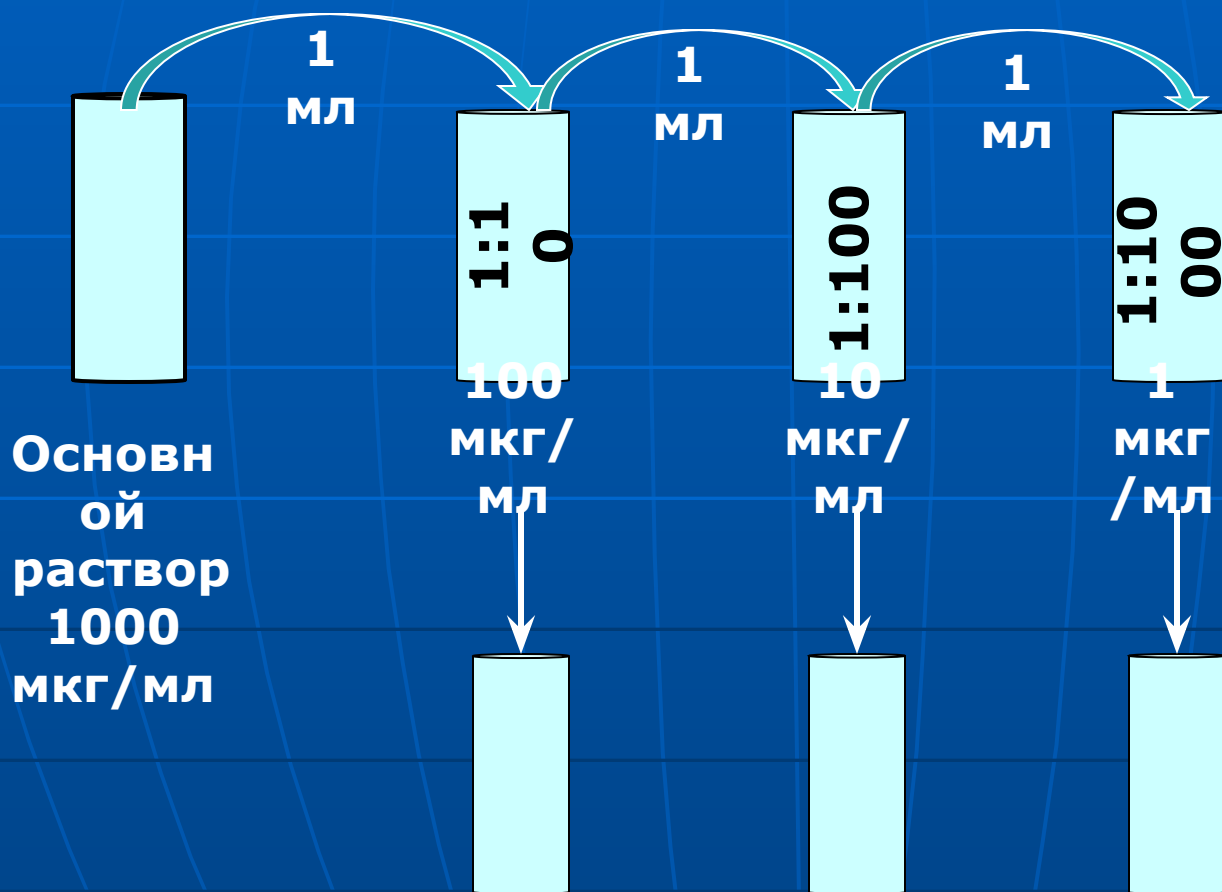
Эталонные штаммы могут быть использованы для проверки качества среды, дисков и правильности методики постановки теста.

# Приготовление раствора антибиотика

**Основной раствор**  
(готовится на растворителе)  
**1000 мкг (ЕД) в 1 мл**

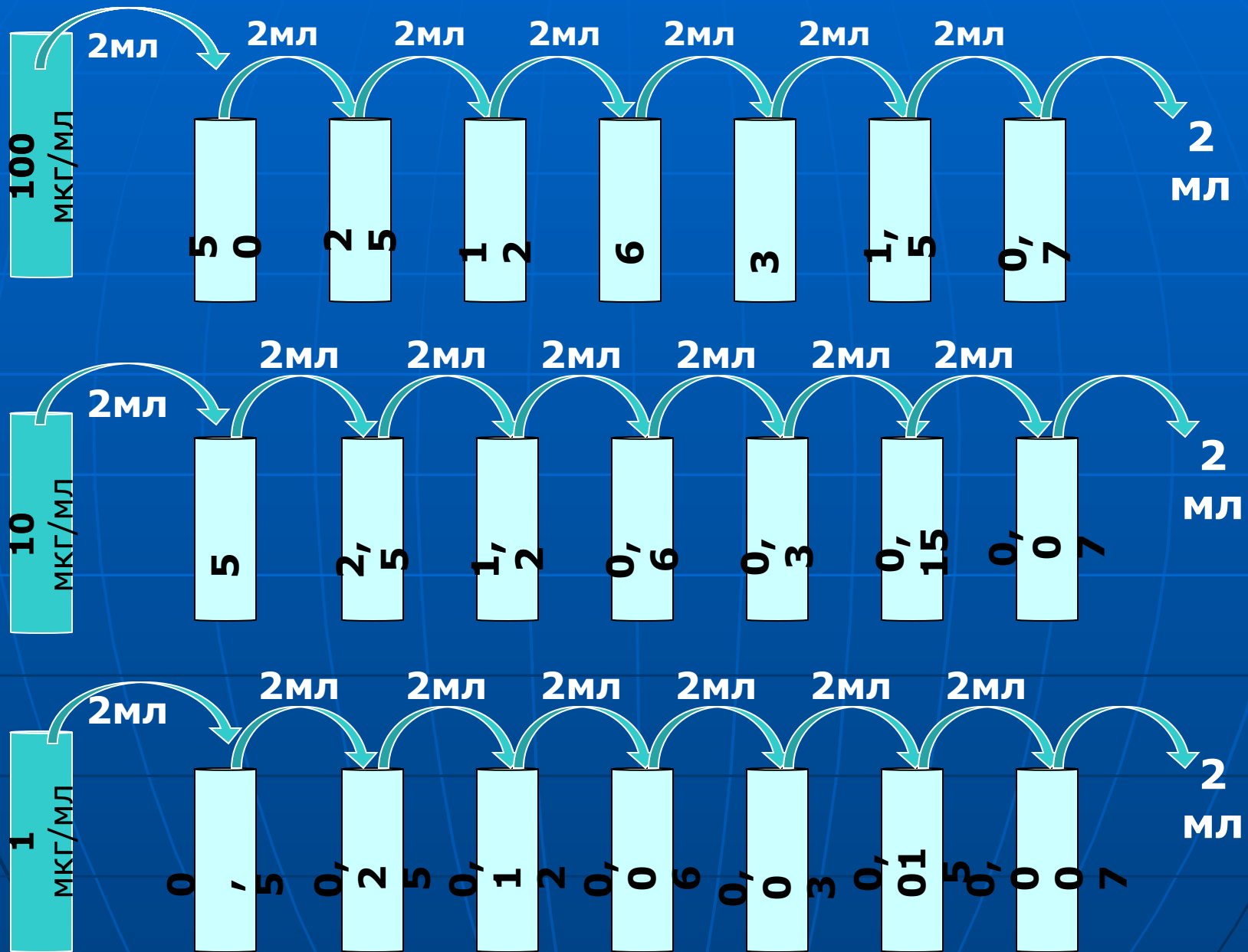


**Рабочий раствор**  
(готовится на питательной среде)

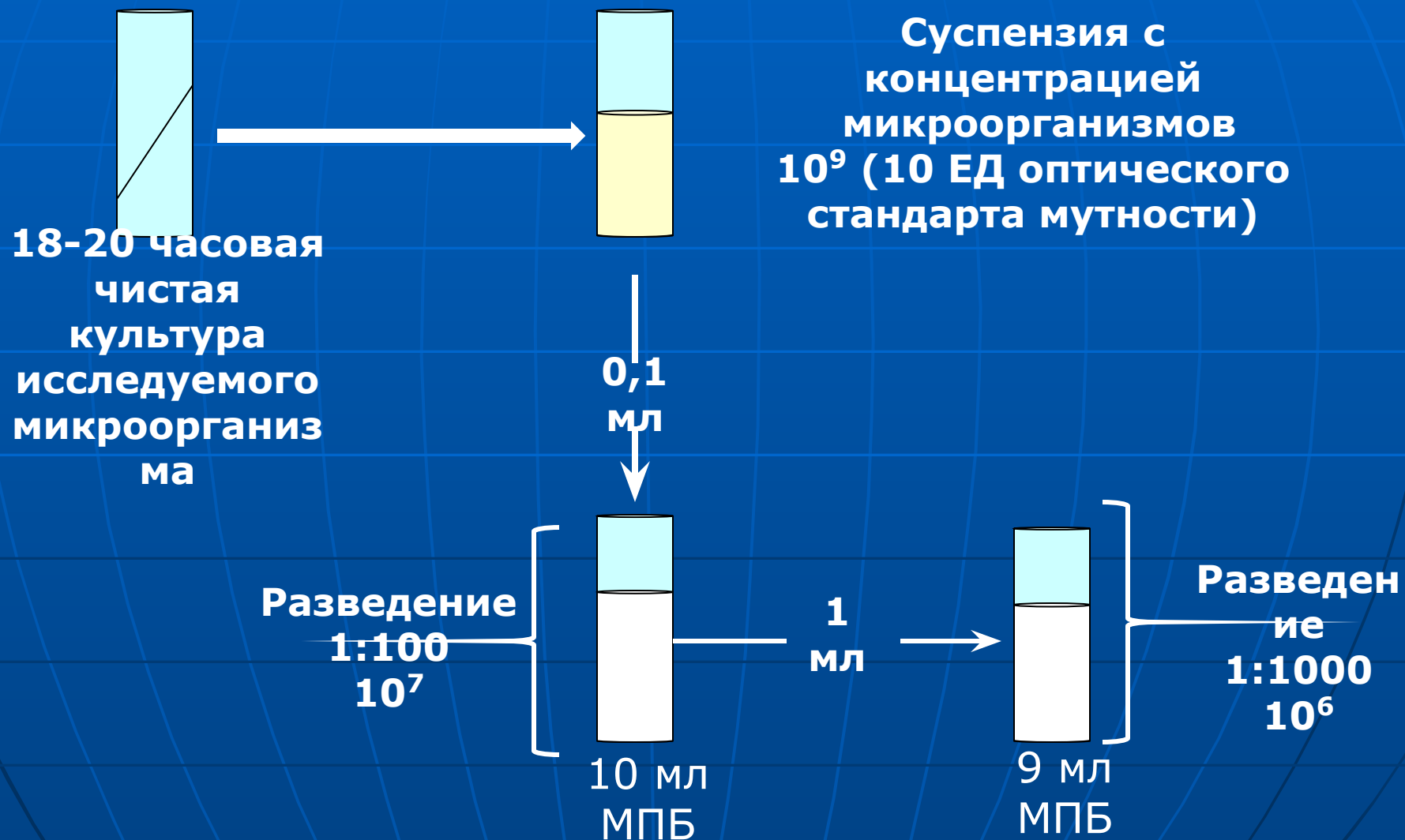


Первая пробирка ряда

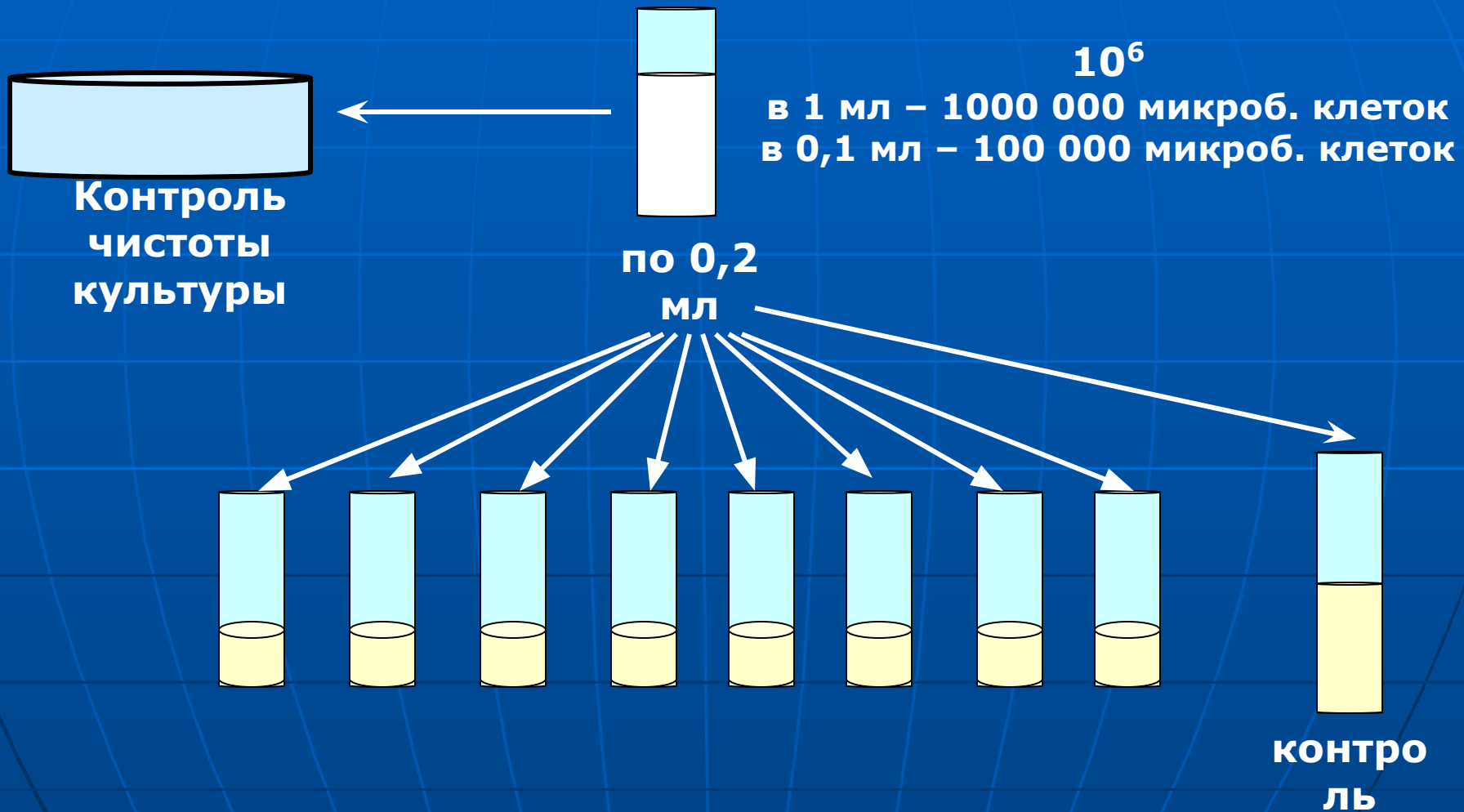
# Серийное разведение антибиотика



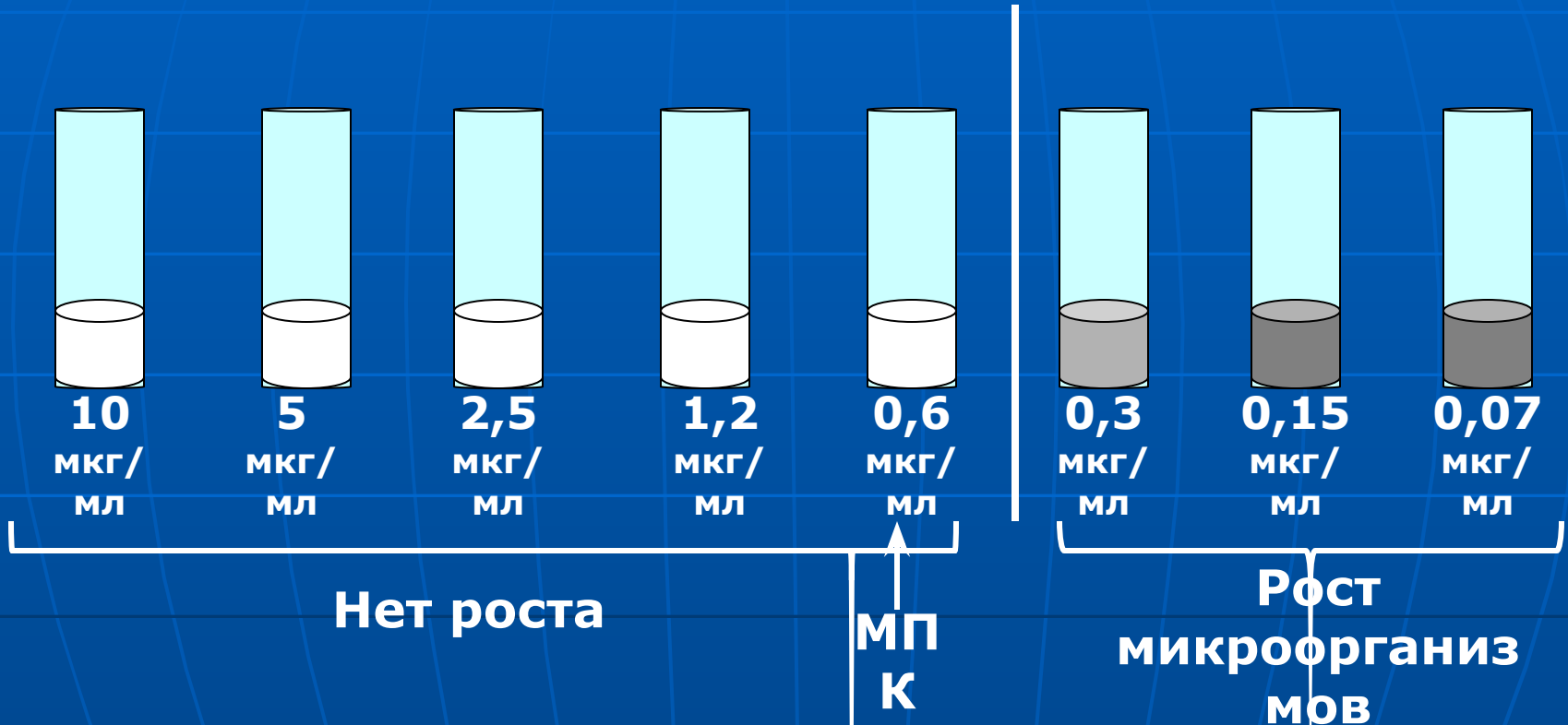
# Подготовка суспензии микроорганизмов



# Внесение суспензии в пробирки с разведениями



# Учет результата



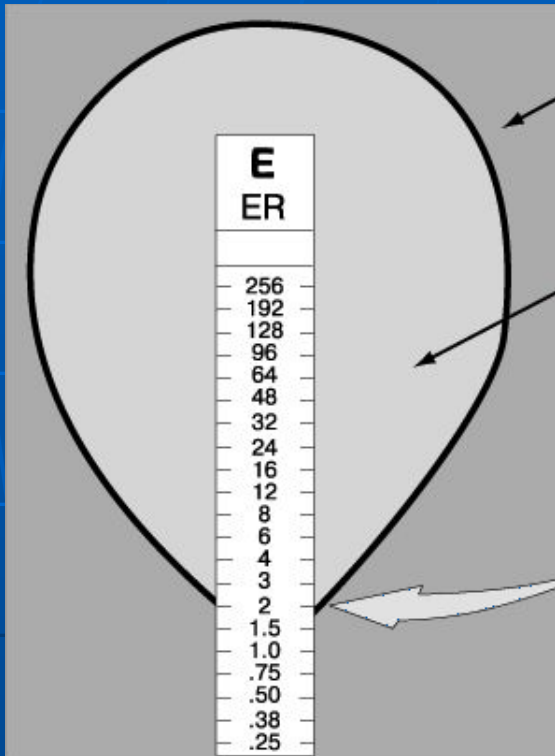
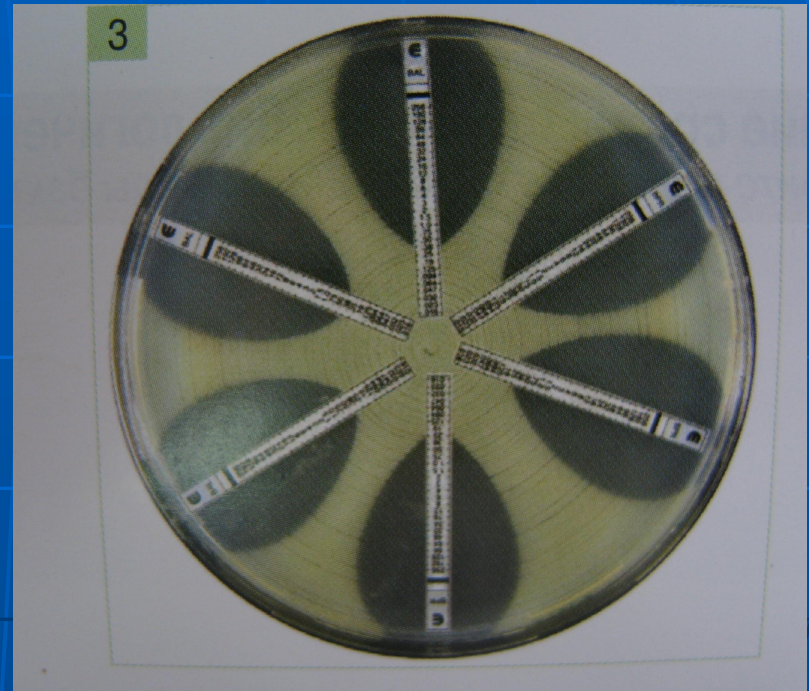
# E-тест

Зона  
роста

культур  
Эллипсоид

ная зона  
подавления  
роста

МПК  
2  
мкг/мл





# E-TEST

