

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам



Циркуляция
антибиотикорезистентных
микроорганизмов в современный период
столь широка, что только точное
определение чувствительности к
антибиотикам каждого конкретного
возбудителя инфекции может обеспечить
правильный выбор препарата для
химиотерапии.

Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам делятся на 2 группы:

1) диффузионные методы:

- с использованием дисков с антибиотиками
- с помощью Е-тестов

2) методы разведения :

- разведение в жидкой питательной среде (бульоне)
- разведение в агаре

Диско-диффузионный метод



Диффузный метод дисков:

1. Исследуемую бактериальную культуру засевают газоном на питательный агар или среду АГВ в чашке Петри: готовят микробную взвесь и 1 мл взвеси наносят на всю поверхность чашки (шпателем или покачивая чашку).
2. На засеянную поверхность пинцетом помещают на одинаковом расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков. Посевы инкубируют при 37°C до следующего дня.
3. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. Результат учитывают путем измерения диаметра зоны отсутствия роста вокруг диска в миллиметрах.



Для определения чувствительности м/о к антибиотикам необходимо приготовить взвесь микробных клеток в физ.растворе, соответствующую стандарту мутности **0,5 по МакФарланду** ($1,5 \times 10^8$ микробных клеток в единице объёма).



Денситометр DEN-1 используют для определения концентрации клеток (бактериальных, дрожжевых) в микробной суспензии (взвеси).

Справка:

Стандарт МакФарланда обозначается - 0,5; 1 и т.д. и соответствует $1,5 \times 10^8$; 3×10^8 М.О. в единице объёма.

Российские стандарты (производство ГИСК) обозначались 10 единиц и соответствовали количеству М.О. в единице объёма 5×10^8 , а стандарт 5 ед соответствовал количеству М.О. в единице объёма $2,5 \times 10^8$.





Диски с антибиотиками

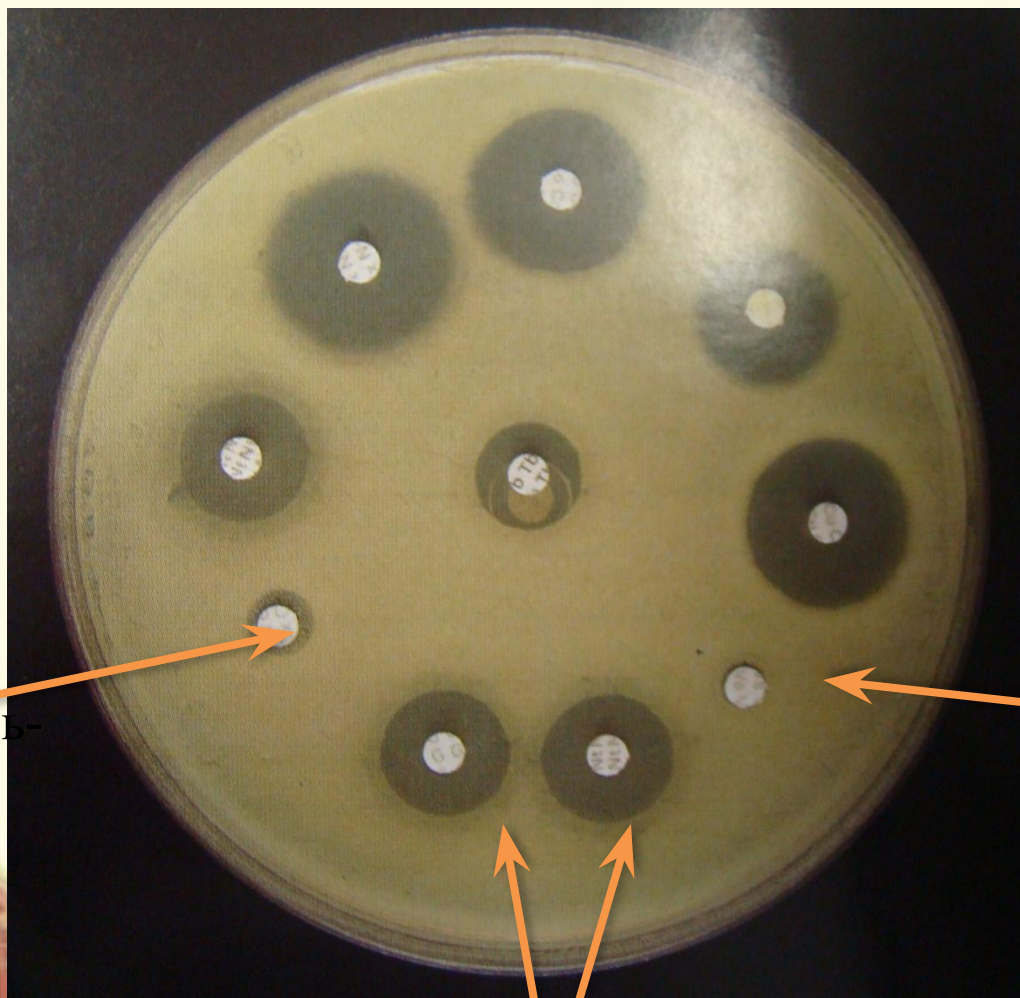


В зависимости от диаметра зоны задержки роста различают степень чувствительности испытуемого штамма:

Чувствительные (зона больше 10 мм),

Малочувствительные (зона меньше 10 мм)

Устойчивые (отсутствие зоны).



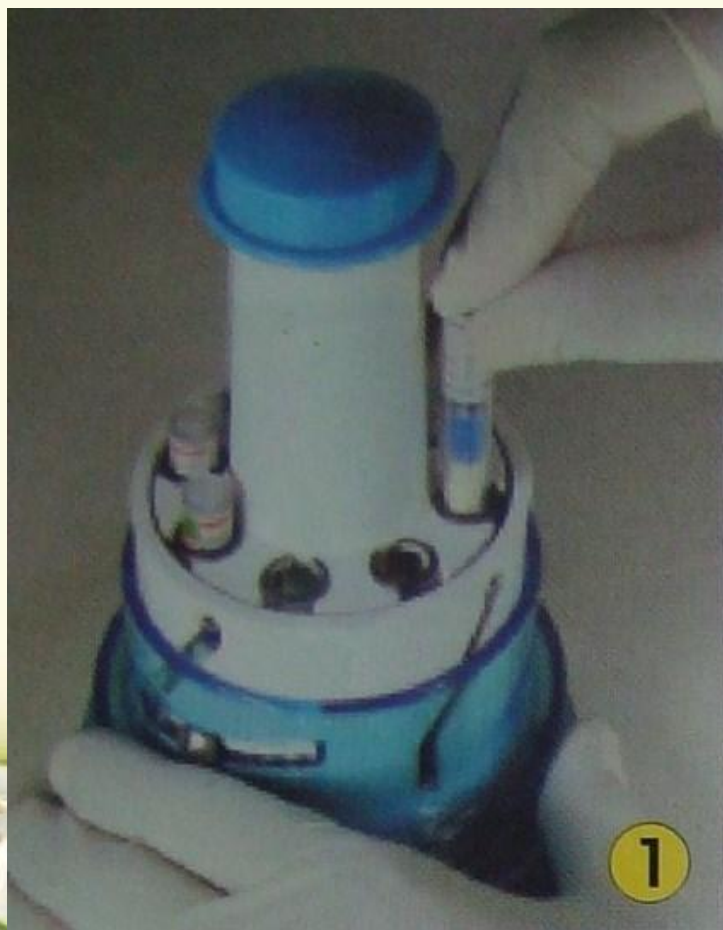
Малочувствительные

Устойчивые

Чувствительные

Для автоматической раскладки дисков используют диспенсеры:





В башенку диспенсера вставляют
картриджи с антибиотиками





Картриджи с
дисками



Рис.4 Цилиндрические
головки прижимного
устройства



Рис. 5 Нанесение
ДИСКОВ





Рис. 9 Вид чашки после инкубирования в термостате



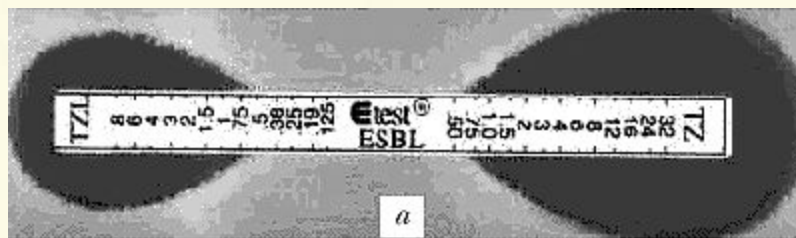
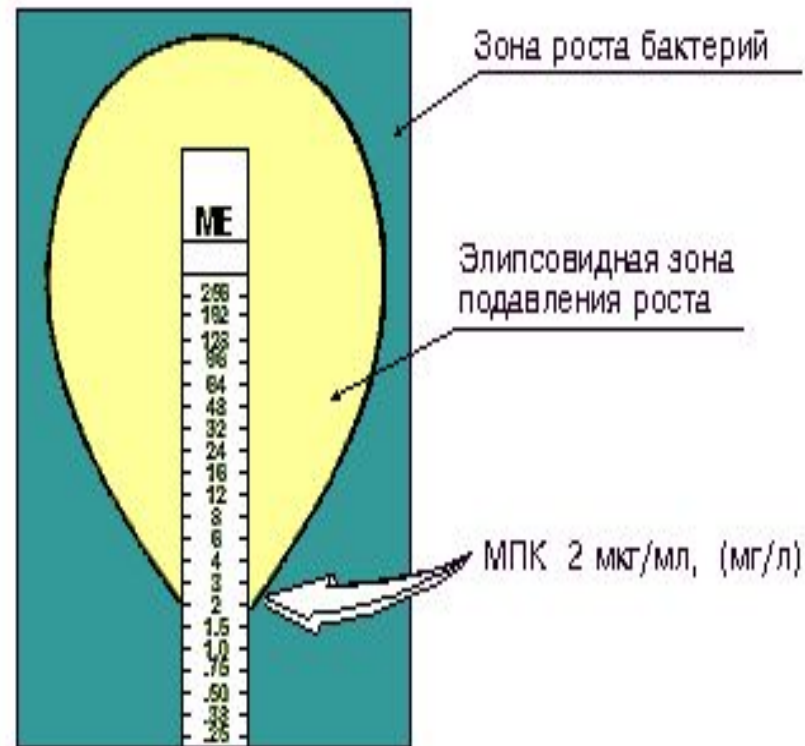
Иногда (обычно при неправильном обращении) диски могут застрять внутри диспенсера. В этом случае нужно снять нижнюю крышку и вытащить застрявший диск.



Метод Е- теста



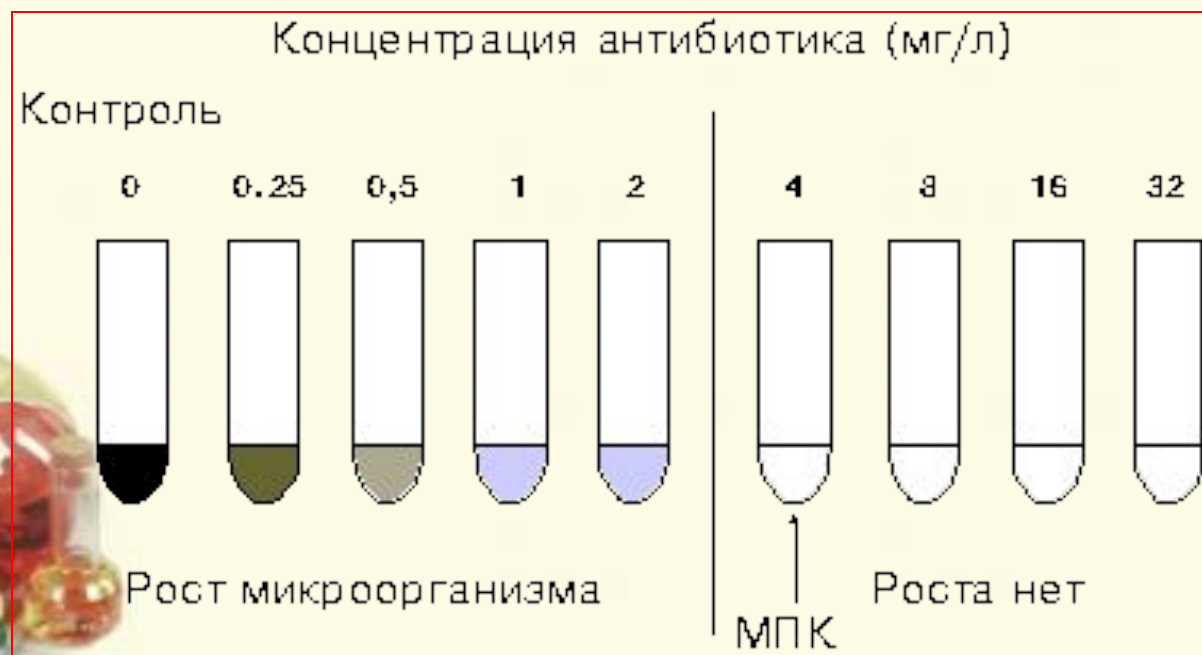
Определение чувствительности микроорганизма с помощью Е-теста проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску Е-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной. В месте пересечения эллипсовидной зоны подавления роста с полоской Е-теста получают значение минимальной подавляющей концентрации (МПК).



МЕТОДЫ РАЗВЕДЕНИЯ



Методы разведения основаны на использовании двойных последовательных разведений концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (например от 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, и т.д. до 0,5 мкг/мл, 0,25 мкг/мл и 0,125 мкг/мл). При этом антибиотик в различных концентрациях вносят в жидкую питательную среду (бульон) или в агар. Затем бактериальную суспензию определенной плотности, соответствующую стандарту мутности 0,5 по McFarland, помещают в бульон с антибиотиком или на поверхность агара в чашке.



Минимальная подавляющая концентрация (МПК) - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий.

Спасибо, что досмотрели!

