

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Л.Богдан

29.04.2026 г.

Регистрационный № 092-1225

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ  
К ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТАМ, СОДЕРЖАЩИМ  
БАКТЕРИОФАГИ**

(инструкция по применению)

**УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:** государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», государственное учреждение «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии»

**АВТОРЫ:** д.м.н., профессор Тапальский Д.В., к.м.н., доцент Карпова Е.В., Левшина Н.Н., Ромашко Ю.В.

Минск, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод определения чувствительности микроорганизмов, выделенных от пациентов с бактериальными инфекциями, к лекарственным препаратам, содержащим бактериофаги. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику бактериальных инфекций.

Инструкция предназначена для врачей-лаборантов микробиологических лабораторий, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих помощь пациентам с бактериальными инфекциями.

### **1. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА**

Инфекции, вызванные бактериями, входящими в спектр активности лекарственных препаратов, содержащих бактериофаги.

### **2. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Отсутствуют

### **3. ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАКТИВОВ И РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ**

#### 3.1 Медицинские изделия:

- стерилизатор паровой;
- стерилизатор воздушный;
- холодильник бытовой;
- облучатель бактерицидный;
- денситометр (измеритель оптической плотности суспензий);
- автоматические дозаторы лабораторные одноканальные переменного объема: 5–50 мкл; 2–10 мл;
- посуда лабораторная стеклянная (колбы, пробирки) по ГОСТ 1770-74;
- емкости для хранения и дезинфекции отработанного биологического материала;
- штативы для пробирок;
- спиртовка;
- инструменты лабораторные (пинцеты, петли микробиологические).

### 3.2 Реактивы, реагенты и питательные среды:

- бактериофаг стафилококковый;
- интести-бактериофаг;
- пиобактериофаг;
- агар Мюллера-Хинтон;
- вода дистиллированная;
- натрий хлористый, х.ч. по ГОСТ 4233-77;
- спирт этиловый технический ГОСТ 18300-87.

### 3.3 Расходные материалы:

- тампоны-зонды хлопковые;
- наконечники для автоматических дозаторов стерильные (5–200 мкл; 2–10 мл);
- чашки Петри полистироловые, диаметр 90 мм, стерильные;
- крафт бумага или крафт-пакеты для стерилизации.

### 3.4 Средства индивидуальной защиты и дезинфектанты:

- халат лабораторный;
- перчатки латексные или нитриловые;
- раствор антисептика, предназначенный для обработки рук персонала;
- раствор дезинфицирующий для инактивации биологического материала.

## **4. ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ**

### **4.1 Приготовление питательной среды**

4.1.1 Питательная среда готовится из сухой среды промышленного производства в соответствии с инструкцией изготовителя.

4.1.2 После автоклавирования питательную среду разливают в стерильные чашки Петри слоем  $4 \pm 0,5$  мм (20 мл среды на чашку Петри диаметром 90 мм).

4.1.3 Чашки оставляют при комнатной температуре для застывания, после чего подсушивают с приоткрытой крышкой при  $35^{\circ}\text{C}$  в течение 10-

20 минут. Допускается использование готовых питательных сред, расфасованных в чашки производителем.

#### **4.2 Культуры микроорганизмов**

Для исследования используются чистые суточные культуры микроорганизмов, выделенные из клинического материала от пациентов при проведении микробиологического исследования.

#### **4.3 Приготовление стандартизованного инокулюма**

Для приготовления инокулята используется метод прямого суспендирования в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия колоний чистой 18-24-часовой культуры бактерий, выросшей на плотной неселективной питательной среде. Стерильной бактериологической петлей или ватным тампоном-зондом необходимо собрать несколько морфологически схожих колоний и суспендировать полученный материал в стерильном изотоническом растворе. Довести бактериальную суспензию до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда (контроль денситометром), что соответствует концентрации  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл. Инокулюм использовать в течение 15 минут после приготовления.

#### **4.4 Инокуляция**

Инокуляция проводится стерильным хлопковым тампоном-зондом. Смочить тампон-зонд в инокулюме, после чего удалить избыток инокулюма, отжимая тампон-зонд о стенки пробирки. Инокулюм наносится на поверхность среды частыми штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. Можно использовать спиральный инокулятор, медленно перемещая смоченный инокулюмом тампон-зонд от центра к периферии вращающейся чашки Петри.

После инокуляции чашки подсушиваются в течение 15-20 мин при комнатной температуре.

#### **4.5 Нанесение бактериофагов**

На подсушенную поверхность с использованием одноканальной пипетки нанести 10 мкл исследуемого лекарственного препарата, содержащего бактериофаг. При необходимости тестирования 2 и более

лекарственных препаратов использовать шаблон для нанесения (рисунок 1), поместив его под чашку Петри. Предварительно маркировать чашку, обозначив на ней точку совмещения с шаблоном (обозначена стрелкой на рис. 1). Использовать индивидуальный наконечник для нанесения каждого тестируемого образца.

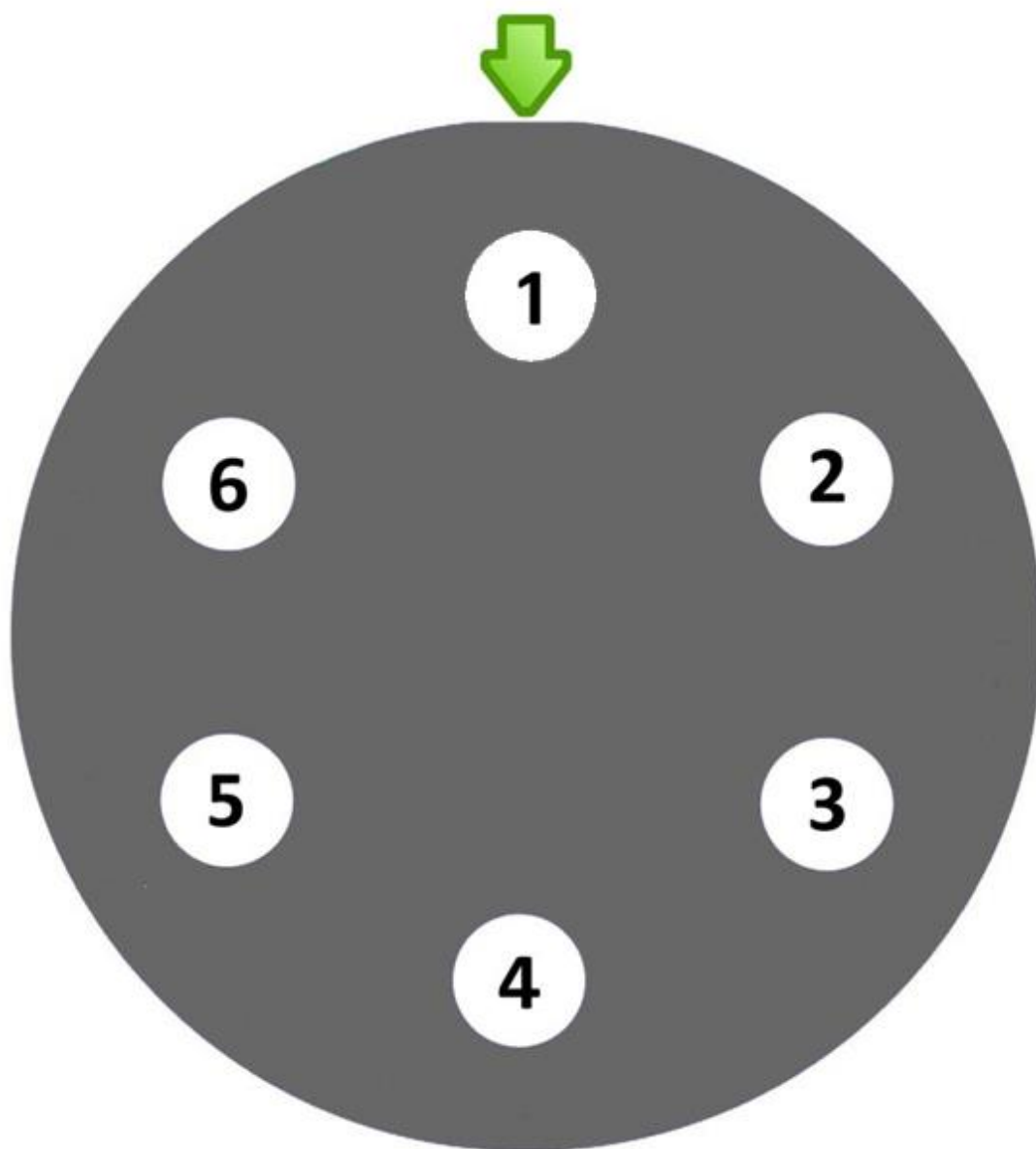


Рисунок 1 – Шаблон для нанесения лекарственных препаратов для фаготерапии на плотную питательную среду в 90-мм чашке Петри

## 4.6 Инкубация

Чашки выдержать при комнатной температуре 15-30 мин до полного впитывания нанесенных капель, после чего перевернуть и инкубировать 18-24 ч при температуре 35°C.

## 4.7 Учет и интерпретация результатов

4.7.1 Для оценки реакции лизиса (подавления роста исследуемой бактериальной культуры в месте нанесения бактериофага) чашки помещают на темную матовую поверхность, учет проводят невооруженным глазом в отраженном свете.

4.7.2 Учет степени лизиса выполняется по четырехкрестной системе (рисунок 2):

- 4+ сливной (полный) лизис;
- 3+ полусливной лизис или наличие вторичного роста культуры в зоне лизиса;
- 2+ наличие в месте нанесения капли фага свыше 50 колоний фага (пятен лизиса);
- 1+ наличие в месте нанесения капли фага от 20 до 50 колоний фага;
- +/- наличие в месте нанесения капли фага менее 20 колоний фага;
- полное отсутствие лизиса.

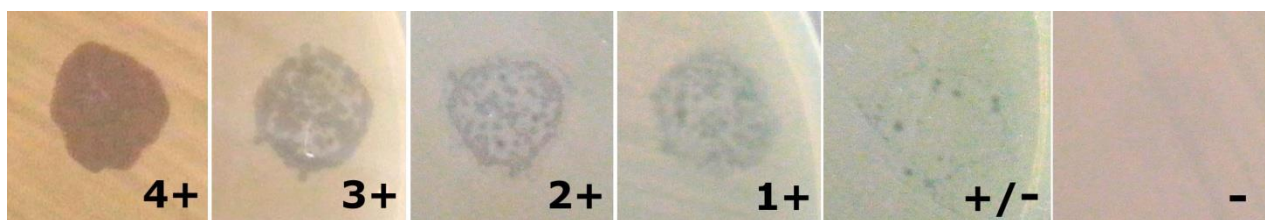


Рисунок 2 – Учет степени лизиса культур микроорганизмов лекарственными препаратами, содержащими бактериофаги

4.7.3 Оформить микробиологическое заключение с указанием сведений о выделенном микроорганизме и его чувствительности к исследованным лекарственным препаратам, содержащим бактериофаги, с

указанием названия препарата, предприятия-изготовителя, серии и даты выпуска.

Чувствительным к лекарственному препарату, содержащему бактериофаги, считается культура микроорганизма со степенью лизиса 4+. Результаты с полным отсутствием лизиса, либо частичным лизисом (+/-, 1+, 2+, 3+) интерпретируются, как устойчивость.

## **5. ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

Осложнения отсутствуют.

Возможные ошибки при выполнении микробиологических исследований могут быть связаны с недостаточным контролем чистоты выделенной культуры и включением в исследование смешанных культур микроорганизмов, выполнением исследования в отношении групп микроорганизмов, не входящих в заявленный спектр активности лекарственных препаратов, содержащих бактериофаги, нарушением условий и сроков хранения тестируемых лекарственных препаратов, содержащих бактериофаги, использованием в исследовании не стандартизованных по оптической плотности бактериальных суспензий.