



ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

БАКРЕЗИСТА GLA БАКРЕЗИСТА GLA VAN/MEC

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
К ГЛИКОПЕПТИДНЫМ И БЕТА-ЛАКТАМНЫМ
АНТИБИОТИКАМ У БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ
ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

РУ № РЗН 2020/11171

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

В последние десятилетия распространенность штаммов микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным препаратам (АБП), значительно затрудняет лечение пациентов с бактериальными инфекциями [1]. Устойчивость к АБП препятствует эффективной терапии и способствует появлению хронических и рецидивирующих инфекций. Заболевания, вызванные антибиотикорезистентными штаммами, отличаются длительным течением, часто продолжительным пребыванием в стационаре и неблагоприятным прогнозом для пациентов [2].



Резистентность микроорганизмов может быть природной и приобретенной, но ее формирование во всех случаях обусловлено генетически. При этом гены антибиотикорезистентности зачастую локализованы на мобильных генетических элементах и способны к быстрому распространению как внутри одного вида, так и между разными видами бактерий [3, 4]. Интенсификации этого процесса способствуют избыточное и необоснованное назначение антибактериальных препаратов; самолечение, сопровождающееся недостаточностью знаний об этиологии инфекционного процесса, спектре действия антибиотиков; использование АБП для лечения и стимуляции роста животных и птиц в сельском хозяйстве.

Для выявления резистентности к АБП применяют фенотипические (микробиологические) и молекулярно-генетические методы, в том числе полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

Результаты, полученные с применением ПЦР, коррелируют с диско-диффузионным методом и методом серийных разведений [5, 6]. При этом ПЦР-исследование не требует манипуляции с живыми бактериальными культурами, что предотвращает распространение и циркуляцию микроорганизмов внутри лечебно-диагностических и лабораторных учреждений.

ПЦР-диагностика позволяет значительно ускорить получение результатов — это особенно важно для лечения тяжелых инфекций, поскольку эффект этиотропной терапии во многом зависит от времени назначения подходящих антибиотиков [7].



Молекулярно-генетическое определение генов резистентности к антибиотикам в биологическом материале может использоваться совместно с фенотипическим для назначения этиологической терапии еще до выделения возбудителя в чистой культуре [8]. В случае нечеткой границы зоны подавления роста при микробиологическом исследовании также рекомендуется использование ПЦР-диагностики антибиотикорезистентности [9]. При назначении лечения тяжелым пациентам, детям, лицам пожилого возраста и людям с ослабленным иммунитетом возможно комбинировать ПЦР-исследование генов резистентности с микробиологическим посевом и определением антибиотикочувствительности.

Определение генов резистентности к антибиотикам — важная дополнительная клиническая информация для врача при подборе эффективной терапии, она не может быть получена микробиологическим методом определения чувствительности. ПЦР-диагностика — прямой метод, который позволяет проводить определение генов антибиотикорезистентности у труднокультивируемых микроорганизмов. На результат ПЦР-исследования не влияют режимы хранения антибактериальных препаратов и питательных сред.

НАБОР РЕАГЕНТОВ «БАКРЕЗИСТА»

предназначен для выявления генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам в препаратах ДНК, полученных из биологического материала человека и бактериальных культур из этого биоматериала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Набор реагентов «БакРезиста» выпускается в следующих вариантах исполнения:

- «БакРезиста GLA» — определяет широкий спектр генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам
- «БакРезиста GLA Van/Мес» — сокращенный вариант БакРезиста GLA

Ген резистентности	Антибактериальные препараты	БакРезиста GLA	БакРезиста GLA Van/Мес
<i>van A/B</i>	ванкомицин, тейкопланин	✓	✓
<i>mec A</i>	метициллин, оксациллин	✓	✓
<i>tem</i>	пенициллины и цефалоспорины	✓	
<i>ctx-M-1</i>		✓	
<i>shv</i>		✓	
<i>oxa-40-like</i>	карбапенемы	✓	
<i>oxa-48-like</i>		✓	
<i>oxa-23-like</i>		✓	
<i>oxa-51-like</i>		✓	
<i>imp</i>		✓	
<i>kpc</i>		✓	
<i>ges</i>		✓	
<i>ndm</i>		✓	
<i>vim</i>		✓	
Группа бактерий		Грам (+) и Грам (-)	Грам (+)

По результатам исследования «БакРезиста GLA» возможно проведение полуколичественной оценки:

- определение доли резистентных микроорганизмов от общего количества бактериальной массы
- определение соотношения генов резистентности друг с другом

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМЕНДУЕТСЯ

для быстрой оценки наличия в биологическом материале генов резистентности бактерий к гликопептидным и бета-лактамным антибиотикам

ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

- биологический материал человека:
 - мокрота
 - моча
 - фекалии
 - аспираты
 - экссудаты
 - мазки/соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта
- бактериальные культуры из этого биоматериала

ПРЕИМУЩЕСТВА ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

по сравнению с фенотипическими методами диагностики чувствительности к АБП

- **Дополнительная экспресс-информация** о наличии генов антибиотикорезистентности у бактерий, которая позволит сократить сроки для выбора оптимальной антибактериальной терапии
- Использование инструментальной ПЦР-методики позволяет получать **воспроизводимый результат**, который не зависит от особенностей комплектации микробиологической лаборатории
- Возможность выявления антибиотикорезистентности у **труднокультивируемых организмов**
- Возможность исследования **широкого спектра биоматериала**
- **Высокая аналитическая чувствительность**

ОСОБЕННОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

- Комплексное исследование, позволяющее выявить **широкий спектр генов резистентности**
- Возможность использования совместно с набором реагентов «БакСкрин УПМ»: выявление ДНК условно-патогенных бактерий, вызывающих нозокомиальные и внебольничные инфекции
- В варианте исполнения «БакРезиста GLA» реализован **полуколичественный анализ**
- **Мультиплексный формат** — в одной пробирке одновременно определяются несколько ДНК-мишеней
- **Внутренний контроль** — оценка качества выделения ДНК и протекания полимеразной цепной реакции
- **Автоматическое формирование бланка результатов** при использовании рекомендуемых амплификаторов серии ДТ и ПО RealTime_PCR
- **Наличие файлов** для автоматической установки необходимых настроек и расчета результатов

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Состав набора реагентов:

- смеси для амплификации, запечатанные парафином (стрипы)
- раствор Taq-полимеразы
- минеральное масло
- положительный контрольный образец
- крышки для стрипов

Набор реагентов в исполнении БакРезиста GLA рассчитан на 24 определения, включая контрольные образцы

Набор реагентов в исполнении БакРезиста GLA Van/Мес рассчитан на проведение 48 определений, включая контрольные образцы



Время проведения анализа
(без учета пробоподготовки): от 1,5 часов

ПЕРЕЧЕНЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫХ НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ, И КАНАЛЫ ДЕТЕКЦИИ ПРОДУКТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

№ пробирки в стрипе	Канал детекции			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
БакРезиста GLA				
1	<i>imp</i>	ВК	—	—
2	ОБМ	ВК	—	<i>oxa-51-like</i>
3	<i>ctx-M-1</i>	—	—	<i>tem</i>
4	<i>van A/B</i>	ВК	—	<i>mec A</i>
5	<i>oxa-48-like</i>	ВК	—	<i>oxa-40-like</i>
6	<i>vim</i>	ВК	—	<i>kpc</i>
7	<i>oxa-23-like</i>	ВК	—	<i>ndm</i>
8	<i>shv</i>	ВК	Маркер	<i>ges</i>
БакРезиста GLA Van/Mec				
	<i>van A/B</i>	ВК	—	<i>mec A</i>

Аналитическая чувствительность

10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку (2×10^3 копий/мл препарата ДНК)

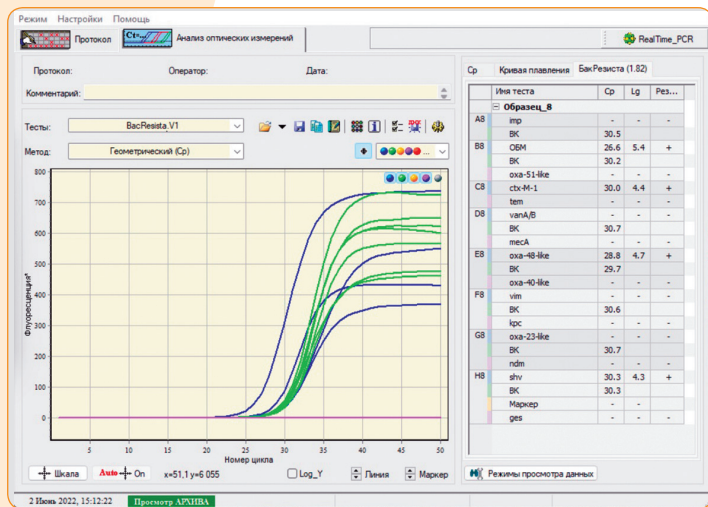
РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Наборы реагентов для выделения нуклеиновых кислот	Детектирующие амплификаторы
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ПРОБА-НК ▪ ПРОБА-НК-ПЛЮС ▪ ПРОБА-ГС ▪ ПРОБА-ГС-ПЛЮС ▪ ПРОБА-МЧ-РАПИД 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ДТпрайм ▪ ДТлайт ▪ ДТ-96
ООО «НПО ДНК-Технология»	

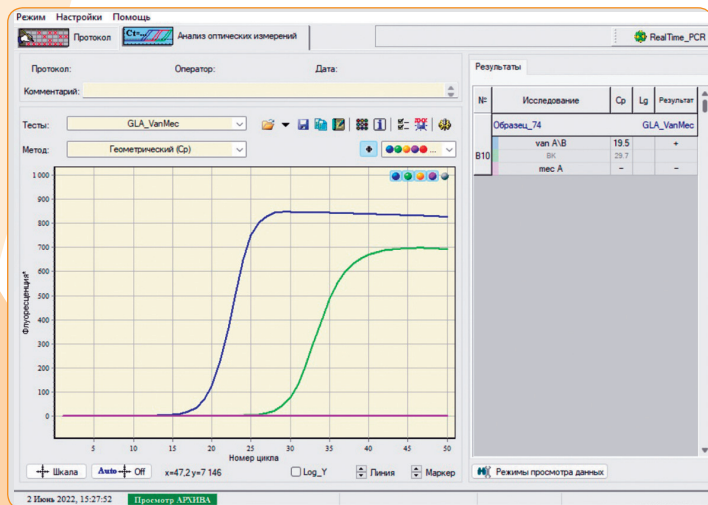
ПО RealTime_PCR

Учет и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически для приборов серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология» при использовании ПО RealTime_PCR

А.



Б.



Пример результата ПЦР-исследования с использованием детектирующего амплификатора серии «ДТ» и программного обеспечения: анализ оптических измерений.

А — БакРезиста GLA, Б — БакРезиста GLA Van/Mec

ПРИМЕР БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

А.

Выявление генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени (БакРезиста GLA)

Дата:
Номер пробирки:
Ф. И. О. пациента:
Пол:
Возраст:
Организация:
Врач:
Примечание:

Логотип

Информация о лаборатории

Идентификатор образца:

№	Название исследования	Результаты
1	<i>imp</i>	не обнаружено
2	ОБМ	ОБНАРУЖЕНО (7,9 Lg)
3	<i>oxa-51-like</i>	не обнаружено
4	<i>ctx-M-1</i>	ОБНАРУЖЕНО (6,0 Lg)
5	<i>tem</i>	ОБНАРУЖЕНО (6,2 Lg)
6	<i>van A/B</i>	не обнаружено
7	<i>mec A</i>	не обнаружено
8	<i>oxa-48-like</i>	не обнаружено
9	<i>oxa-40-like</i>	не обнаружено
10	<i>vim</i>	не обнаружено
11	<i>kpc</i>	не обнаружено
12	<i>oxa-23-like</i>	не обнаружено
13	<i>ndm</i>	не обнаружено
14	<i>shv</i>	ОБНАРУЖЕНО (3,2 Lg)
15	<i>ges</i>	не обнаружено

Заключение:

Обнаружен(-ы) ген(-ы) резистентности к бета-лактамам антибиотикам. Возможно проявления устойчивости к пенициллинам, цефалоспорином I-IV поколения, монобактамам у грамотрицательных бактерий.

Исследование выполнил:

Дата:
Подпись:

ПРИМЕР БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Б.

Выявление генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени (БакРезиста GLA Van/Mec)

Дата:
Номер пробирки:
Ф. И. О. пациента:
Пол:
Возраст:
Организация:
Врач:
Примечание:

Логотип

Информация о лаборатории

Идентификатор образца:

№	Название исследования	Результаты
1	van A/B	ОБНАРУЖЕНО
2	mec A	не выявлено

Исследование выполнил:

Дата:
Подпись:

Бланк результатов ПЦР-анализа получен с использованием детектирующего амплификатора серии «ДТ» и программного обеспечения.

А — БакРезиста GLA, Б — БакРезиста GLA Van/Mec

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ



Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Набор реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

1. Фурсова Н. К., Лекарственная устойчивость микроорганизмов, Учебное пособие. — Пущино: ОнтоПринт, 2012. — 247 с.
2. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии/под ред. Л. С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. — М.: НИИАХ СГМА, 2002. — 381 с.
3. Землянко О. М., Рогоза Т. М., Журавлева Г. А. Механизмы множественной устойчивости бактерий к антибиотикам // Экологическая генетика. — 2018. — Т. 16. — № 3. — С. 4–17.
4. Супотницкий М. В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий // Биопрепараты. — 2011. — № 2. — С. 4–11.
5. Лисицына Е. С. и др. Обнаружение генетических маркеров резистентности к β -лактамным антибиотикам у грамотрицательных микроорганизмов с помощью ПЦР-диагностики//Антибиотики и химиотерапия. — 2015. — Т. 60. — № 9–10.
6. Walker G. T. et al. Predicting antibiotic resistance in gram-negative bacilli from resistance genes // Antimicrobial agents and chemotherapy. — 2019. — Т. 63. — № 4. — С. e02462-18.
7. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи: Российские клинические рекомендации / Под ред. С. В. Яковлева, Н. И. Брико, С. В. Сидоренко, Д. Н. Проценко. — М.: Издательство «Перо», 2018. — 156 с.
8. Белобородов Б. В. и др. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами: методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), Общественной организации «Российский Сепсис Форум» // Вестник анестезиологии и реаниматологии. — 2020. — Т. 17. — № 1. — С. 52–83.
9. Козлов Р. С. и др. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам // Клинические рекомендации. М. — 2014.



128-1 2022.10.26



ООО «ДНК-Технология»
www.dna-technology.ru
hotline@dna-technology.ru
+7 (495) 640-17-71

8 800 200 75 15 (Звонок по России бесплатный)