

«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

**«Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний
уропатогенных микроорганизмов (агар UTI)»
по ТУ 9385-013-11161893-2015**

Варианты исполнения:

- «Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уропатогенных бактерий (агар UTI)»**
- «Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уропатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

«Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI)» по ТУ 9385-013-11161893-2015 (далее - Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI)) предназначен для выделения из исследуемого материала, количественного определения, предварительной идентификации и дифференциации основных бактерий, вызывающих инфекции мочевыводящих путей: *энтерококков*, *E. coli*, *колиформных бактерий*, *псевдомонад* и *стафилококков* – при проведении микробиологической диагностики *in vitro* инфекций мочевыводящих путей с целью поддержки диагностики инфекционных заболеваний, а также выявления источников инфекции.

Питательная среда представлена в двух вариантах исполнения: Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI) и Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный).

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный) предназначен для выделения тех же микроорганизмов, что и Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI), но имеет незначительные отличия в содержании основных компонентов, вследствие чего обладает прозрачным фоном для большего удобства идентификации и подсчета микроорганизмов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Основой агара хромогенного для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агара UTI) является агар цистин-лактозо-электролитдефицитный, поэтому данная питательная среда представляет собой ценную неингибирующую диагностическую среду для культивирования на чашках Петри всех бактерий из мочевыводящих путей с одновременным подавлением роста колоний *Proteus spp.* в виде концентрических окружностей.

В состав агара хромогенного для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агара UTI) входят два специфичных хромогенных вещества, при расщеплении которых ферментами, синтезируемыми *E. coli*, *энтерококками* и *колиформными бактериями*, образуются окрашенные продукты. Кроме того, агар содержит фенилаланин и триптофан, что позволяет выявлять активность фермента триптофандезаминазы, указывающую на присутствие *Proteus spp.*, *Morganella spp.* и *Providencia spp.*

Один хромоген, X-Gluc (5-бromo-4-хлоро-3-индолил-β-D-глюкуронид), расщепляется под действием фермента β-глюкозидазы, вырабатываемого *энтерококками*, что позволяет специфично выявлять их колонии, которые окрашиваются в голубой цвет. Другой хромоген, Red-Gal (5-бromo-4-хлоро-3-индолил-β-D-галактопиранозид), расщепляется под действием β-галактозидазы, фермента, продуцируемого *E. coli*, что приводит к окрашиванию их колоний в розовый цвет. Любая неопределённость при идентификации колоний может быть устранена путём удаления подозрительных на принадлежность к *E. coli* колоний с чашки Петри и проведения индольного теста с использованием реагента DMACA (пара-диметиламинокоричный альдегид). Расщепление обоих хромогенов приводит к окрашиванию колоний в пурпурный цвет и свидетельствует о том, что они образованы *колиформными бактериями*.

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI) также содержит триптофан, который служит индикатором активности фермента триптофандезаминазы, вырабатываемого бактериями *Proteus spp.*, *Morganella spp.* и *Providencia spp.*, и приводит к окрашиванию их колоний в коричневый цвет.

Таким образом, по цвету колоний можно проводить идентификацию микроорганизмов (см. таблицу 1).

Таблица 1

Ферменты	β-галактозидаза	β-глюкозидаза	Триптофан-дезаминаза (TDA)	Вид колоний
Микроорганизмы				
<i>Enterococcus spp.</i>	-	+	-	Колонии голубого (бирюзового) цвета
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	Колонии розового цвета
<i>Колиформные бактерии</i>	+	+	-	Колонии пурпурного цвета
<i>Proteus spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> , <i>Providencia spp.</i>	-	-	+	Колонии коричневого цвета с коричневым ореолом
<i>Pseudomonas spp.</i>	-	-	-	Прозрачные флуоресцентные колонии коричневого или зелёного цвета
<i>Staphylococcus spp.</i>	-	-	-	Колонии с нормальной пигментацией (белого или кремового цвета)
<i>Streptococcus spp.</i>	-	-	-	Колонии белого цвета

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный) содержит те же компоненты, что и Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI), но в меньшем количестве, вследствие чего обладает прозрачным фоном для большего удобства идентификации и подсчета микроорганизмов.

2.2. Состав

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI) имеет следующий состав:

Таблица 2

<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI)</u>	<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный)</u>
--	--

Компоненты среды	Количество, г/л	Компоненты среды	Количество, г/л
Пептон	15,0	Пептон	9,0
Хромогенная смесь (включая триптофан)	26,3	Хромогенная смесь (включая триптофан)	18,0
Агар	15,0	Агар	10,0
Вода	до 1 л	Вода	до 1 л

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI) является медицинским изделием одноразового применения и представляет собой стерильную готовую питательную среду, асептично разлитую в чашки Петри.

Одна упаковка содержит не более 10 чашек с готовым агаром.

Одна чашка содержит не менее 15 мл готовой среды.

Толщина слоя агара в чашке Петри составляет не менее 3 мм (МУ 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред»).

Таблица 3

<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI)</u>		<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный)</u>	
рН	6,8 ± 0,2 при 25° С	рН	7,0 ± 0,2 при 25° С
Цвет	Жёлто-палевый	Цвет	Соломенно-жёлтый
Прозрачность	Матовый	Прозрачность	Прозрачный
Консистенция	Гель	Консистенция	Гель
Гомогенность	Гомогенный	Гомогенность	Гомогенный

Контроль качества

Тестирование стерильности

Макроскопическое исследование не должно выявить никакого микробного роста после инкубации при 20-24°С и 30-34°С в течение 5 дней.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята
Результаты после аэробной инкубации при 35-39°С в течение 18-24 часов

Положительные контроли:

Плотность инокулята 10²-10³ КОЕ

Таблица 4

<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI)</u>	<u>Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий прозрачный (агар UTI прозрачный)</u>
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Хороший рост, розовые колонии
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048	Хороший рост, пурпурные (сине-фиолетовые) колонии
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Хороший рост, зеленовато-голубые колонии

<i>Proteus hauseri</i> ATCC® 13315	Хороший рост, соломенно-жёлтые колонии с коричневым ореолом	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 29906	Хороший рост, коричневые колонии с коричневым ореолом
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, белые, желтые или кремовые колонии	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, белые, желтые или кремовые колонии

Показатель прорастания микроорганизмов должен быть не менее 70%.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов предназначен только для *in vitro* диагностики.

Только для профессионального применения.

Избегайте вдыхания, попадания в глаза, на кожу, слизистые и на одежду. При попадании на чувствительные области немедленно промойте водой, кожу промывайте водой с мылом.

Избегайте микробной контаминации реагента.

Настоятельно рекомендуется считать контрольные штаммы микроорганизмов потенциально инфицированными и соблюдать все необходимые меры предосторожности при работе с ними.

Устройства многоразового использования должны быть стерилизованы в соответствии с принятой процедурой после применения, однако предпочтительным методом является стерилизация в автоклаве в течение 15 минут при температуре 121°C. Предметы одноразового использования должны проходить стерилизацию в автоклаве или сжигаться. Рассыпанные потенциально инфицированные материалы должны немедленно удаляться впитывающей бумагой, и загрязненные участки должны быть обработаны стандартным антибактериальным дезинфицирующим средством. НЕ используйте гипохлорит натрия. Материалы, использованные для очистки разливов, в том числе перчатки, должны утилизироваться как биологически опасные отходы.

Не набирайте вещества в пипетку при помощи рта. При работе с пробами и проведении анализа используйте одноразовые перчатки и средства для защиты глаз. По окончании работы тщательно вымойте руки.

Не используйте контрольные штаммы микроорганизмов с истекшим сроком годности.

6. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

Работа в лаборатории должна проводиться с соблюдением СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций». При работе с реагентом следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905–2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки анализа дополнительно требуются следующие виды оборудования, средств измерения и материалов:

ламинарный бокс (бокс биологической безопасности) класс II /тип A2/, инокуляционные петли/иглы для посева, газовая горелка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный шпатель Дригальского, стерильный микробиологический тампон, одноразовые перчатки, средства для защиты глаз при посеве, стандарт мутности 0,5 по McFarland для приготовления суспензии микроорганизмов, инкубатор для поддержания температуры инкубации, таймер, дезинфицирующее средство, автоклав для стерилизации отработанного материала, автоклав или сухожаровой шкаф для стерилизации посуды.

Необходимость использования конкретного вида оборудования, средств измерения и материалов, требуемых для работы, а также их эксплуатационные характеристики определяет по своему усмотрению микробиолог, занимающийся постановкой анализа.

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Клинические образцы (биоматериал) – образцы из мочевыводящих путей человека, предположительно содержащие болезнетворные бактерии (моча, образцы из урогенитального тракта).

9. ЗАБОР И ТРАНСПОРТИРОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Забор и транспортировка исследуемых образцов осуществляется в соответствии с требованиями Приказа Минздрава СССР от 22 апреля 1985 г. №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и МУ 4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

9.1. Образцы из мочеполовой системы

9.1.1. Моча

Взятие исследуемого материала

Для микробиологического анализа используется утренняя моча, сбор суточной мочи для этих целей недопустим.

Сбор мочи необходимо проводить до начала медикаментозного лечения. Если ставится цель оценить эффект проведенной терапии, то посев мочи производится по окончании курса лечения (на 5-7 день после отмены антибиотиков или уросептиков), с обязательным указанием препарата, которым проводилось лечение.

Сбор утренней мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода.

В одноразовый стерильный контейнер с закручивающейся крышкой собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3-7 мл.

Транспортировка исследуемого материала

Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 1,5-2 часов после сбора. Допускается хранение мочи в холодильнике (при 2-4°C) не более 3-4 часов. В случае доставки мочи в лабораторию позже указанных сроков результаты посева мочи могут быть недостоверны.

9.1.2. Образцы отделяемого мочеполовой системы

Взятие исследуемого материала

I. Сбор проб из уретры у женщин.

Собирают материал через 1-2 часа после мочеиспускания.

Собирают отделяемое уретры стерильным зондом-тампоном. Помещают зонд-тампон в тубсер или стерильную одноразовую пробирку с закручивающейся пробкой, или в стеклянную стерильную пробирку с газопроницаемой пробкой и передают материал в лабораторию.

Если описанным выше способом не удалось получить отделяемое, промывают наружную уретру бактерицидным мылом, споласкивают теплой кипяченой водой, вводят стерильный зонд-тампон на 2-4 см в эндоуретру, осторожно поворачивают его несколько раз вокруг оси и оставляют в уретре на 1-2 с, извлекают тампон, помещают в стерильную емкость и доставляют материал в лабораторию.

II. Сбор проб из уретры у мужчин.

Сбор пробы осуществляют после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода (необходимо для предотвращения дополнительной контаминации).

Собирают пробу не ранее чем через 2 ч после мочеиспускания.

Вводят специальный стерильный уретрогенитальный зонд-тампон на оси из тонкой алюминиевой проволоки (предпочтительно с алгинатом кальция, но допускается использование тампона из хлопка, вискозы или дакрона) или тампон из транспортировочной емкости со средами с активированным углем или без него на 3-4 см в дистальный отдел уретры. Осторожно вращая тампон вокруг оси, оставляют его в уретре на 2-3 с. Извлекают тампон и помещают его в пробирку, доставляют пробу в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 1,5-2 часов после сбора. Допускается хранение проб в холодильнике (при 2-4°C) не более 3-4 часов. При использовании пробирки с транспортировочной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°C).

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на поверхность чашки Петри с агаром хромогенным для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агаром UTI).

Образцы из мочеполовой системы: моча, отделяемое уретры.

Исследуемый материал, взятый тампоном (отделяемое уретры), засевают этим тампоном на чашку Петри с агаром хромогенным для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агаром UTI) штрихом по диагонали чашки, после чего расштриховывают петлей для получения изолированных колоний.

Жидкие пробы (мочу) переносят стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл на чашку Петри с агаром хромогенным для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агаром UTI). Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

2. Инкубируют чашки Петри аэробно при 35-39°C в течение 18-24 часов.

3. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов.

4. Проводят подтверждающие реакции.

Замечание. Для идентификации колоний, подозрительных на принадлежность к *E. coli*, их подвергают индольному тесту с использованием реагента ДМАСА (пара-диметиламинокоричный альдегид). Не рекомендуется использовать для этой цели реактив Ковача, т.к. розовый цвет колоний может быть ложно принят за розовато-красный цвет положительной индольной реакции.

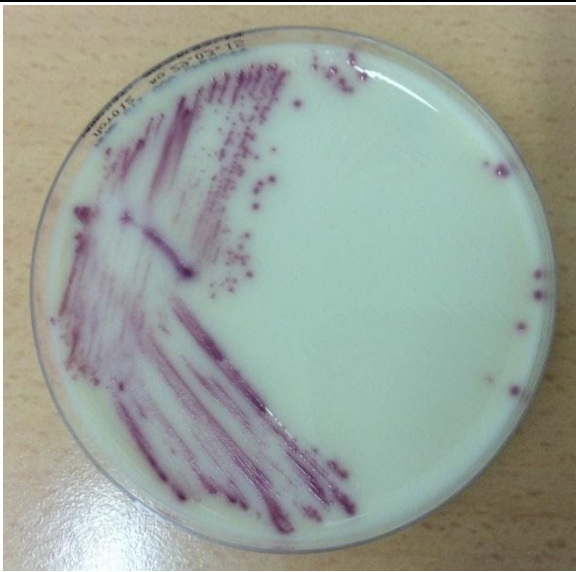
11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

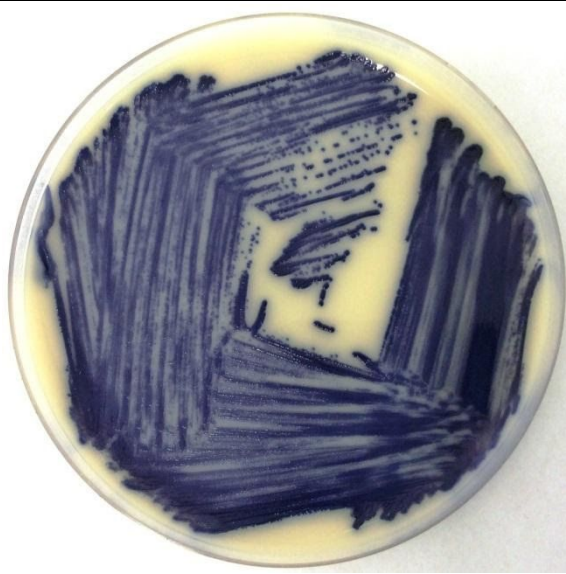
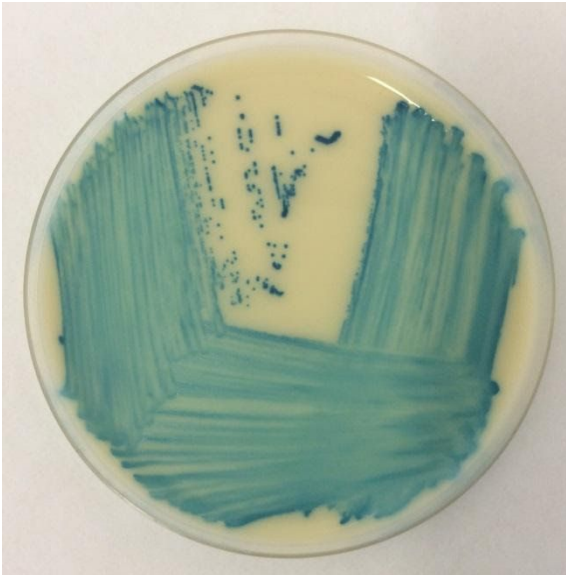
Учет результатов проводится визуально по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов и их свойствам (размер, цвет, форма колонии) в сравнении с контрольными культурами (Приложение Б ГОСТ Р 53133.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Часть 3. Описание материалов для контроля качества клинических лабораторных исследований»). В качестве контрольных используют штаммы американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection – ATCC), отличающиеся генетической стабильностью и хорошо изученными фенотипическими характеристиками.

Контроль качества

Таблица 5

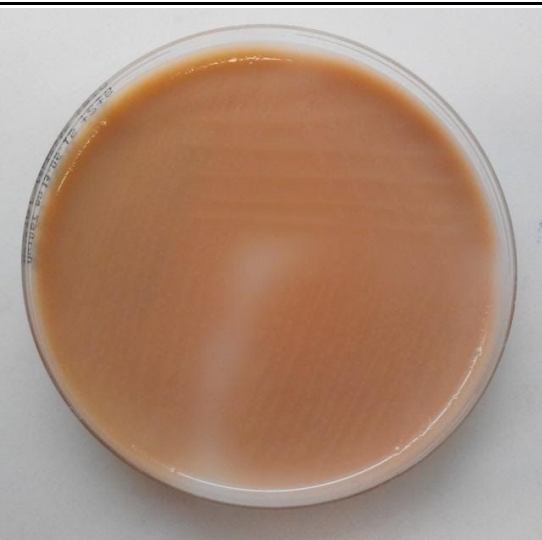
Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI)

<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	
	<u>Описание</u>	<u>Фотографическое изображение</u>
+ контроль		
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Хороший рост, розовые колонии	

<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048	Хороший рост, пурпурные (сине-фиолетовые) колонии	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Хороший рост, зеленовато-голубые колонии	

Продолжение таблицы 5

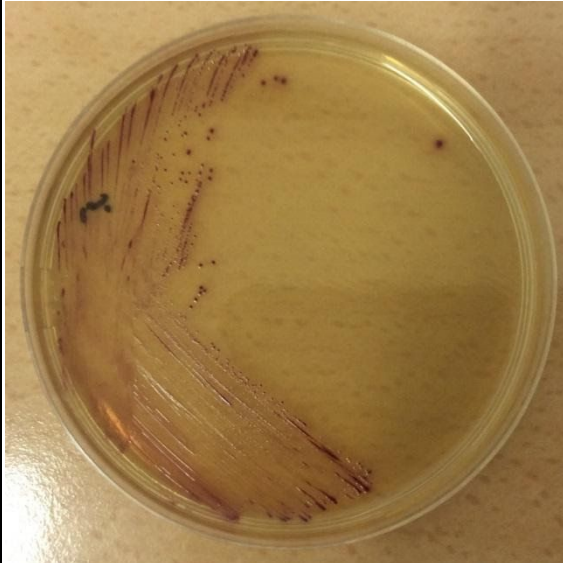
Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уропатогенных бактерий (агар UTI)

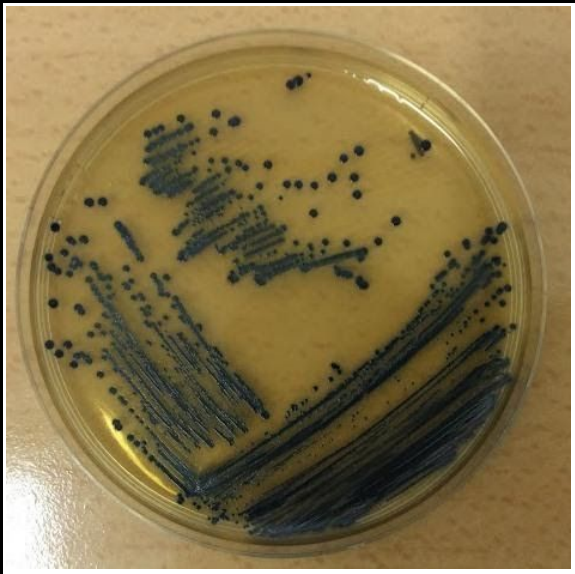
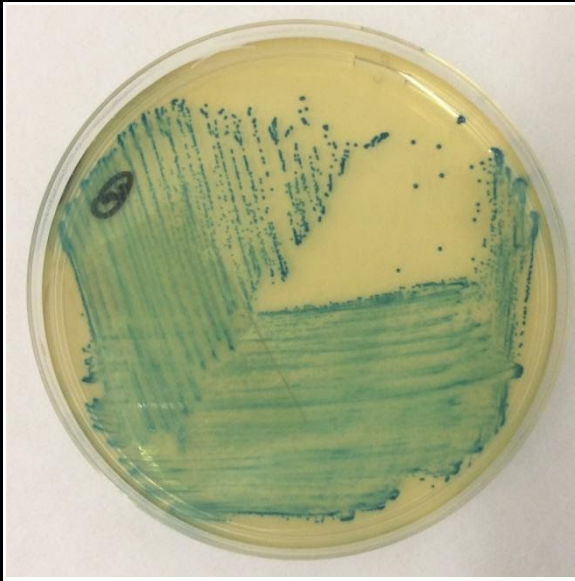
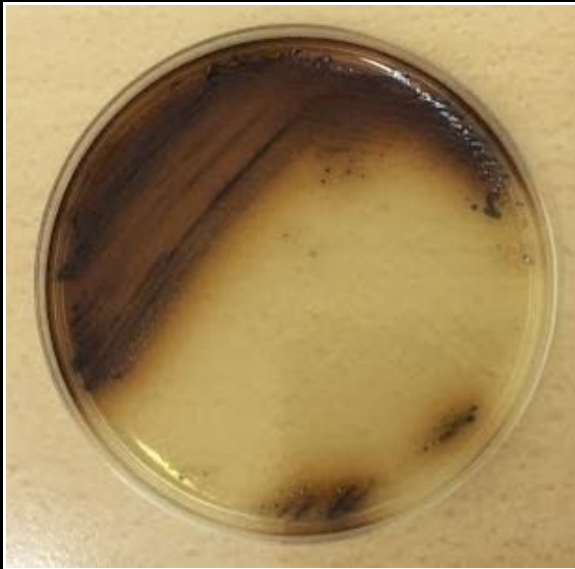
<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	
	<u>Описание</u>	<u>Фотографическое изображение</u>
+ контроль		
<i>Proteus hauseri</i> ATCC® 13315	Хороший рост, соломенно-жёлтые колонии с коричневым ореолом	

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, белые, желтые или кремовые колонии	
- контроль		
Неинокулированная среда	Без изменений	

Таблица 6

*Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий
прозрачный (агар UTI прозрачный)*

<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	
	<u>Описание</u>	<u>Фотографическое изображение</u>
+ контроль		
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Хороший рост, розовые колонии	

<p><i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048</p>	<p>Хороший рост, пурпурные (сине-фиолетовые) колонии</p>	
<p><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212</p>	<p>Хороший рост, зеленовато-голубые колонии</p>	
<p><i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 29906</p>	<p>Хороший рост, коричневые колонии с коричневым ореолом</p>	

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, белые, желтые или кремовые колонии	
- контроль		
Неинокулированная среда	Без изменений	

Учет результатов реакции

В соответствии с полученными результатами, заполните отчетные формы и протоколы.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Хранить вдали от источника света при температуре 2-8°C до даты, указанной на упаковке, в перевернутом виде (крышкой вниз).

Транспортировка всеми видами закрытого транспорта при температуре хранения. Не допускать замораживания. Не использовать по истечении срока годности (60 дней).

При появлении свойств, отличных от указанных в сопроводительной документации (например, изменение цвета среды), реагент следует забраковать.

13. КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Комплектность медицинского изделия определяется условиями заказа и требованиями ГОСТ Р 51088-97 «Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Общие технические условия».

В комплект поставки входят: 1 коробка, включающая от 1 до 24 упаковок агара; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агар UTI) обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (60 дней).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром хромогенным для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных микроорганизмов (агаром UTI) в течение 1 недели.

15. ПРАВИЛА УТИЛИЗАЦИИ

Утилизировать неиспользованные и использованные реагенты необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 от 30 декабря 1998 г. по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

Обезвреживание реагентов следует проводить методом паровой стерилизации при температуре 132°C в течение 20 минут или сжигания. Для проведения паровой стерилизации изделия медицинского назначения должны быть упакованы в стерилизационные упаковочные материалы или в соответствующий контейнер.

Все контаминированные рабочие поверхности необходимо обработать подходящим дезинфицирующим раствором немедленно после загрязнения.

По вопросам качества продукции

Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий (агар UTI)
и Агар хромогенный для обнаружения и подсчета колоний уropатогенных бактерий
прозрачный (агар UTI прозрачный)

обращаться:

ООО «Средофф», 199106, г. Санкт-Петербург, Шкиперский проток, дом 14,
корпус 39, литера Н, тел.: (812) 426 12 48, (812) 356 04 34, факс: (812) 305 06 06,
адрес электронной почты info@sredoff.ru

Представитель в Республике Беларусь: ЧП «Виена Медикал», 220070, г. Минск,
ул. Радиальная, дом 54Б, каб. 22, тел.: +375 17 3920255
адрес электронной почты med@viena.by