«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



_____ Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар хромогенный для Candida»

по ТУ 9385-004-11161893-2014

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар хромогенный для Candida представляет собой дифференциально-диагностическую среду для быстрой изоляции и идентификации клинически важных микроорганизмов *Candida spp*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. **Принцип действия**

В состав агара хромогенного для Candida входят два специфичных хромогенных вещества, расщепление которых микроорганизмами свидетельствует о наличии у них специфичных ферментов. Один хромоген, X-NAG (5-бромо-4-хлоро-3-индолил N ацетил ß-D-глюкозаминид), определяет активность гексозаминидазы. Другой хромоген, BCIP **(**5-бромо-6-хлоро-3-индолил фосфат р-толуидиновая соль), утилизируется под действием щелочной фосфатазы. При расщеплении хромогенных веществ ферментами дрожжевых грибов *Candida spp*. образуются окрашенные колонии, по цвету которых можно идентифицировать микроорганизмы этого рода.

Таблица 1

Хромоген: **Фермент:**	**X-NAG** (5-бромо-4-хлоро-3-индолил N ацетил ß-D-глюкозаминид) **Гексозаминидаза**	**BCIP** **(**5-бромо-6-хлоро-3-индолил фосфат р-толуидиновая соль) **Щелочная фосфатаза**	**Внешний вид типичных колоний**
C. tropicalis	+		Тёмно-синие колонии
C. albicans *C. dubliniensis*	+		Зелёные колонии‡
C. krusei		+	Беспорядочные сухие розовато-коричневые колонии
C. glabrata *C. kefyr* *C. parapsilosis* *C. lusitaniae*		±	Бежевые, жёлтые или коричневые колонии†

Примечания:
‡ Зелёный цвет *Candida albicans* и *Candida dubliniensis* вызван той же хромогенной реакцией, что и тёмно-синий цвет *Candida tropicalis*. Однако другие специфические реакции, обусловленные составом агара хромогенного для Candida, приводят к окрашиванию колоний *Candida albicans* и *Candida dubliniensis* именно в зелёный цвет.
† Цвет колоний *Candida glabrata*, *Candida kefyr*, *Candida parapsilosis* и *Candida lusitaniae* может варьироваться от бежевого и жёлтого до коричневого из-за смеси натуральных пигментов и некоторой активности щелочной фосфатазы. Опытные микробиологи могут дифференцировать данные виды микроорганизмов по цвету и морфологии колоний.

Для подавления роста бактерий на агаре хромогенном для Candida в состав среды введен антибактериальный препарат широкого спектра действия хлорамфеникол.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

2.2. **Состав**

Агар хромогенный для Candida имеет следующий состав:

Таблица 2

Компоненты среды	**Количество, г/л**
Пептон Хромогенная смесь Агар	4,0 13,6 13,6
Селективная добавка для Candida: Хлорамфеникол	0,5
Вода	до 1 л

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар хромогенный для Candida 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»).

pH	6,0 ± 0,2 при 25°C
Цвет	Кремовый
Прозрачность	Матовый
Консистенция	Гель
Гомогенность	Гомогенный

Контроль качества
Тестирование стерильности
Макроскопическое исследование не должно выявить никакого микробного роста после инкубации при 20-24°C и 30-34°C в течение 5 дней.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята
Результаты после аэробной инкубации при 28-32°C в течение 36-48 часов

Положительные контроли:
Инокулят 10-100 КОЕ

Candida tropicalis ATCC® 750 *Candida krusei ATCC® 14243*	Хороший рост, тёмно-синие колонии

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Candida albicans ATCC® 10231	Хороший рост, беспорядочные сухие розовато-коричневые колонии Хороший рост, тёмно-зелёные колонии

Количество колоний должно быть равно или больше 50% контрольной среды.

Результаты после аэробной инкубации при 28-32°C в течение 36-48 часов

Отрицательные контроли:
Инокулят $1*10^4$-$1*10^5$ КОЕ

Escherichia coli ATCC® 25922	Ингибирование роста
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Ингибирование роста

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар хромогенный для Candida 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».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки анализа дополнительно требуются следующие виды оборудования, средств измерения и материалов:
ламинарный бокс (бокс биологической безопасности) класс II /тип А2/, инокуляционные петли/иглы для посева, стерильные чашки Петри (из стекла или полистирола), стерильные металлические толстые иглы с утолщенными концами, газовая горелка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный шпатель Дригальского, стерильный микробиологический тампон, стерильный физиологический раствор, стерильный трипсин, стерильная пептонная вода, 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 организма человека, предположительно содержащие микроорганизмы рода Candida (отделяемое дыхательных путей: отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистых отделов полости зева), отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота); кал; гнойное отделяемое из различных очагов).

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 клинико-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. Отделяемое дыхательных путей

9.1.1 Отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистых отделов полости зева)

Взятие исследуемого материала

Мазок из зева (глотки) собирают натощак или через 3-4 ч после приема пищи. Перед взятием пробы больной должен прополоскать рот теплой кипяченой водой.

Для получения пробы используют стерильный шпатель и тампон, вмонтированный в стерильную одноразовую пробирку (тубсер). Использование зонда-тампона с вискозной головкой предпочтительнее, т.к. вискоза адсорбирует меньше жидкости и больше клеточного материала.

При наличии очагов воспалений или изъязвлений на слизистой относятся к сбору пробы особенно внимательно и собирают отдельным тампоном дополнительно материал из очага (очагов) в отдельную пробирку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Помещают тампон в стерильную одноразовую пробирку и доставляют в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные пробы незамедлительно доставляют в микробиологическую лабораторию. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

9.1.2 Отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота)

Взятие исследуемого материала

Предпочтителен утренний сбор свободно отделяемой (отхаркиваемой) мокроты.

Перед сбором пробы пациенту необходимо почистить зубы и сполоснуть рот и горло теплой кипяченой водой.

Пробу мокроты, полученную в результате глубокого кашля, собирают в специальный стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой или в специальным образом подготовленную стерильную стеклянную банку. Нельзя собирать для анализа слюну или носоглоточное отделяемое.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные пробы незамедлительно доставляют в микробиологическую лабораторию. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

9.2 Образцы кала

Взятие исследуемого материала

Взятие проб кала должно осуществляться на ранних этапах болезни, пока патогенные микробы содержатся в материале в большом количестве.

Важно осуществить забор биоматериала до начала лечения пациента антибактериальными препаратами. Если это невозможно, то пробу забирают не ранее чем через 12 часов после последнего приема лекарственных средств.

Материал должен быть получен только путем естественной дефекации.

Пробу испражнений отбирают сразу после дефекации с помощью ложки-шпателя вмонтированного в крышку стерильного контейнера; в отсутствие контейнера со шпателем для отбора материала используют стерильный деревянный шпатель; при наличии патологических примесей необходимо выбрать участки, содержащие слизь, гной, хлопья, но свободные от крови.

Забор материала осуществляют в случае оформленного стула в объеме не менее 1 г (образец размером с грецкий орех); в случае жидкого стула его слой в посуде должен быть не менее 1,5-2 см. Образец помещают в одноразовый стерильный контейнер с завинчивающейся крышкой и доставляют в лабораторию в течение 2-3 часов.

Транспортировка исследуемого материала

Предпочтительно использовать для транспортировки образцов кала специальные контейнеры-холодильники, в которых поддерживается температура 2-8ºС. Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 2-3 часов после сбора. После получения образцов кала необходимо немедленно произвести посев.

В случае если доставка биоматериала в лабораторию для посева не может быть осуществлена в кратчайший срок, для сохранности образцов используют транспортную систему со средой Cary Blair. Стерильный тампон погружают в фекалии поочередно в нескольких местах, после чего перемещают в пробирку с транспортной средой. Нет

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

необходимости переносить в пробирку со средой Cary Blair кусочки кала. Биоматериал в стерильном контейнере с момента его получения до переноса в транспортную среду может храниться при комнатной температуре не более 2 часов.

В случае использования пробирки с транспортной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°С).

9.3 Образцы гнойного отделяемого из различных очагов

Взятие исследуемого материала

1. Взятие материала производит лечащий врач при соблюдении правил асептики. При взятии материала из раны стерильным ватным тампоном кожу вокруг раны предварительно обрабатывают спиртом или другим антисептиком, некротические массы, детрит и гной удаляют стерильной салфеткой. Взятие гнойного отделяемого из различных очагов производят с помощью стерильных тампонов, один из которых используют для микроскопии, а другой – для посева.
2. При заборе образцов гнойного отделяемого из раны и при наличии в ране дренажей для активной аспирации отделяемого последнее отсасывают шприцем и в количестве 1-2 мл помещают в стерильную пробирку. Кусочки тканей, гной, промывную жидкость из дренажа также берут в стерильные пробирки при соблюдении всех правил асептики.

Транспортировка исследуемого материала

Не более чем через 1 час после взятия все образцы гнойного биоматериала доставляют в микробиологическую лабораторию для немедленного посева. При невозможности доставить материал в течение этого времени, он должен храниться в холодильнике, но не более двух часов.

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на поверхность чашки Петри с агаром хромогенным для Candida.

Отделяемое верхних дыхательных путей (мазок со слизистой глотки (зева)).

Материал с тампона, полученный при осмотре ЛОР-врачом, высевают на чашку Петри с агаром хромогенным для Candida штрихом по диагонали чашки, после чего расштриховывают петлей для получения изолированных колоний.

Отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота).

Мокроту выливают в стерильную чашку Петри. С помощью стерильных металлических толстых игл с утолщенными концами выбирают 2-3 гнойных комочка мокроты. С целью очистки образцов от сопутствующих обитателей верхних дыхательных путей и ротовой полости комочки мокроты трехкратно отмывают в стерильном физиологическом растворе. Затем производят посев биоматериала на чашку Петри с агаром хромогенным для Candida, тщательно распределяя материал по поверхности агара стерильным шпателем Дригальского.

При отсутствии в мокроте комочков гноя и слизи для посева производят гомогенизацию мокроты: в неметаллический сосуд вносят равные объемы патологического материала и муколитика (трипсина), тщательно перемешивают и оставляют на 20-30 минут в термостате при температуре 37°С. Готовят десятикратные разведения в 0,1% пептонной воде до степени разведения образца 10^7 (из расчета 1 мл гомогенизированной мокроты и 9 мл 0,1% пептонной воды). Посевы осуществляют

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

стерильной пипеткой по 0,1 мл из нескольких разведений образца для получения изолированных колоний микроорганизмов и подсчета количества колоний полуколичественным методом. Образец, перенесенный на поверхность агара хромогенного для Candida пипеткой, тщательно распределяют по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Образцы кала.

Выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на чашки Петри с агаром хромогенным для Candida. Для этого с помощью стерильного тампона* переносят часть исследуемых образцов на поверхность чашек Петри с агаром хромогенным для Candida, используя штриховую технику посева, чтобы получить изолированные колонии.

***Примечание.** В случае использования для транспортирования биоматериала пробирки с транспортной средой посев образов на чашки Петри с агаром хромогенным для Candida выполняют тем же тампоном, который был использован при подготовке образца к транспортированию.

Образцы гнойного отделяемого из различных очагов.

Исследуемый материал, взятый тампоном, засевают этим тампоном на чашку Петри с агаром хромогенным для Candida штрихом по диагонали чашки, после чего расштриховывают петлей для получением изолированных колоний.

Жидкие пробы (гной, экссудат и т.д.) переносят стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл на чашку Петри с агаром хромогенным для Candida.

2. Инкубируют чашки Петри аэробно при 30°С в течение 68-72 часов.
3. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов каждые 24 часа.
4. Проводят подтверждающие реакции.

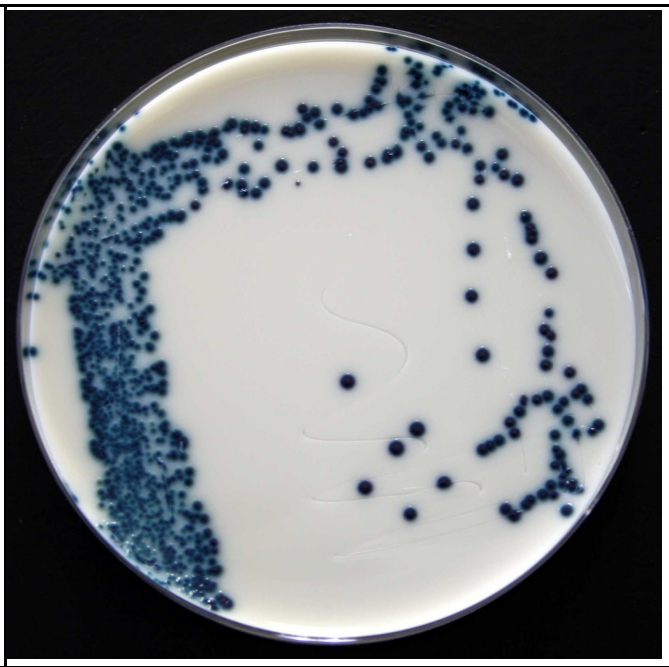
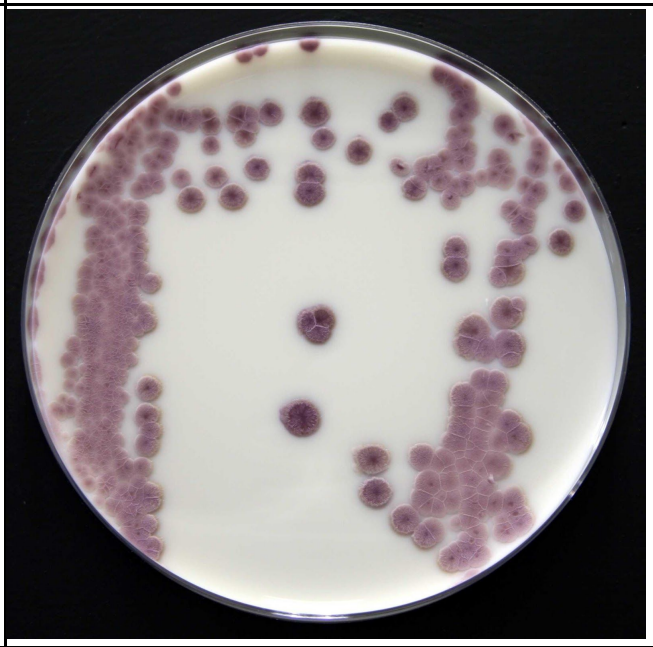
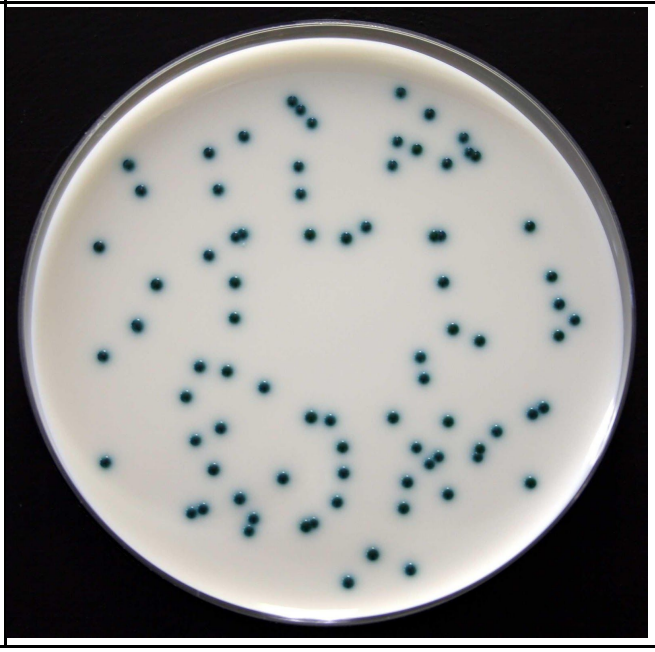
11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 3

Микроорганизмы	**Результаты**	
	Описание	**Фотографическое изображение**
+ *контроль*		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Candida tropicalis ATCC® 750	Хороший рост, тёмно-синие колонии	
Candida krusei ATCC® 14243	Хороший рост, беспорядочные сухие розовато-коричневые колонии	
Candida albicans ATCC® 10231	Хороший рост, тёмно-зелёные колонии	

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Микроорганизмы	Результаты
- контроль	
Escherichia coli ATCC® 25922	Ингибирование роста
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Ингибирование роста

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°С 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 хромогенного для Candida; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар хромогенный для Candida 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 Candida 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°С в течение 20 минут или сжигания. Для проведения паровой

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

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 Candida
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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru