

«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар с бараньей кровью по ТУ 9385-011-11161893-2013»

Варианты исполнения:

- «Агар с содержанием 5% бараньей крови»**
- «Агар с содержанием 5% бараньих эритроцитов»**
- «Агар с содержанием 7% бараньей крови»**
- «Агар с содержанием 7% бараньих эритроцитов»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар с бараньей кровью предназначен для выращивания труднокультивируемых микроорганизмов, в частности грамположительных бактерий, с целью дальнейшей их идентификации и определения типа гемолиза (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна).

Питательная среда представлена в четырех вариантах исполнения: Агар с содержанием 5% бараньей крови, Агар с содержанием 5% бараньих эритроцитов, Агар с содержанием 7% бараньей крови и Агар с содержанием 7% бараньих эритроцитов. Все перечисленные варианты исполнения полностью идентичны по техническим, аналитическим и диагностическим характеристикам, имеют незначительные различия в составе. Количество используемой в качестве добавки дефибринированной крови барана рассчитывается строго из соотношения 50 мл дефибринированной крови барана на 1 л готовых питательных сред Агар с содержанием 5% бараньей крови, Агар с содержанием 5% бараньих эритроцитов и 70 мл дефибринированной крови барана на 1 л готовых питательных сред Агар с содержанием 7% бараньей крови, Агар с содержанием 7% бараньих эритроцитов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар с бараньей кровью во всех вариантах исполнения содержит триптон, ферментативный пептон и дрожжевой экстракт – высокопитательные компоненты, необходимые для роста микроорганизмов, а также дефибринированную кровь барана, которая стимулирует рост труднокультивируемых бактерий и позволяет дифференцировать ряд микроорганизмов по способности к гемолизу (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна). Хлорид натрия обеспечивает изотоничность среды во всех вариантах исполнения.

2.2. Состав

Агар с бараньей кровью имеет следующий состав:

Таблица 1

<u>Агар с содержанием 5% бараньей крови;</u> <u>Агар с содержанием 5% бараньих</u> <u>эритроцитов</u>		<u>Агар с содержанием 7% бараньей крови,</u> <u>Агар с содержанием 7% бараньих</u> <u>эритроцитов</u>	
Стандартная формула	Грамм на литр	Стандартная формула	Грамм на литр
Триптон	14,0	Триптон	14,0
Ферментативный пептон	4,5	Ферментативный пептон	4,5
Дрожжевой экстракт	4,5	Дрожжевой экстракт	4,5
Хлорид натрия	5,0	Хлорид натрия	5,0
Агар	12,0	Агар	12,0
Добавки	На литр	Добавки	На литр
Дефибринированная кровь барана	50,0 мл	Дефибринированная кровь барана	70,0 мл

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар с бараньей кровью во всех вариантах исполнения обладает идентичными техническими характеристиками.

Агар с бараньей кровью представляет собой готовый агар, разлитый в чашки Петри.

Одна упаковка содержит не более 10 чашек с готовым агаром.

Одна чашка содержит не менее 15 мл готовой среды.

pH	7,3 ± 0,2 при 25°C
Цвет	Красный
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

Агар с бараньей кровью во всех вариантах исполнения обладает идентичными аналитическими и диагностическими характеристиками.

Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята

Результаты после аэробной инкубации при 35-39°C в течение 18-24 часов

Положительные контроли:

Инокулят 10-100 КОЕ

<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615	Хороший рост, бесцветные или белые колонии, β-гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 6303	Хороший рост, серовато-белые колонии, α-гемолиз

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

Результаты после анаэробной инкубации при 35-39°C в течение 36-48 часов

Положительные контроли:

Инокулят 10-100 КОЕ

<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49247	Хороший рост, колонии серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 10211	Хороший рост, колонии серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар с бараньей кровью 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 «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, 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, таблица для определения степени бактериурии, 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, анаэроустат, газогенерирующие пакеты для создания анаэробных условий, диагностические диски с X- и V-ростовыми факторами, 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 – образцы из организма человека, предположительно содержащие труднокультивируемые микроорганизмы, такие как грамположительные бактерии (образцы из дыхательных путей: отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистой зева), отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота); моча; 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 клиничко-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 отделяемого дыхательных путей

9.1.1. Отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистой зева)

Взятие исследуемого материала

Мазок из зева (глотки) собирают натошак 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 вязкой головкой предпочтительнее, т.к. вязка 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.

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°C, 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 крышечкой или в специальном 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°C, но не более 3-4 часов.

9.2. 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 завинчивающейся 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.

9.3. 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 чашки Петри с агаром с бараньей кровью.

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

Материал с тампона, полученный при осмотре ЛОР-врачом, высевают на чашку Петри с агаром с бараньей кровью 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 с бараньей кровью, 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°C. 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 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 с бараньей кровью пипеткой, тщательно распределяют по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Образцы мочи.

Пробы мочи переносят стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл на чашку Петри с агаром с бараньей кровью. Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

Образцы гнойного отделяемого из различных очагов.

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

Жидкие пробы (гной, экссудат и т.д.) переносят стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл на чашку Петри с агаром с бараньей кровью. Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

2. Инкубируют чашки Петри при температуре 35-39°C. В зависимости от вида предположительно содержащихся в исследуемом биоматериале микроорганизмов атмосфера и период проведения инкубации могут быть различными (при подозрении на наличие анаэробной инфекции: анаэробная атмосфера, продолжительность инкубации 40-48 ч; при подозрении на содержание в пробе аэробных возбудителей: аэробная атмосфера, продолжительность инкубации 18-24 ч). В случае использования агара с бараньей кровью для культивирования предположительно содержащихся в пробе требовательных к составу питательной среды анаэробов возможно использование диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами, которые накладываются на поверхность засеянных чашек Петри с питательной средой.

3. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов.

4. Проводят подтверждающие реакции.

5. При необходимости подсчета выросших колоний полуколичественным методом проводят количественный учет по следующим критериям:

- скудный рост 10^3 – на среде рост до 10 колоний,
- умеренный рост 10^4 – на среде рост от 10 до 100 колоний,
- массивный рост 10^5 – на среде рост более 100 колоний.

***Примечание. Методика посева мочи с целью подсчета количества колоний количественным методом.**

Калиброванной петлей диаметром 2 мм емкостью 0,005 мл производят посев мочи на агар с бараньей кровью в сектор А 30-40 штрихами.

После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор 1, аналогичным образом из сектора 1 в сектор 2, из сектора 2 в сектор 3.

Чашку Петри инкубируют при 35-39°C в течение 18-24 ч, после чего подсчитывают число выросших колоний на всех секторах. Определение степени бактериурии производят по специальной таблице.

Выросшую чистую культуру идентифицируют.

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 2

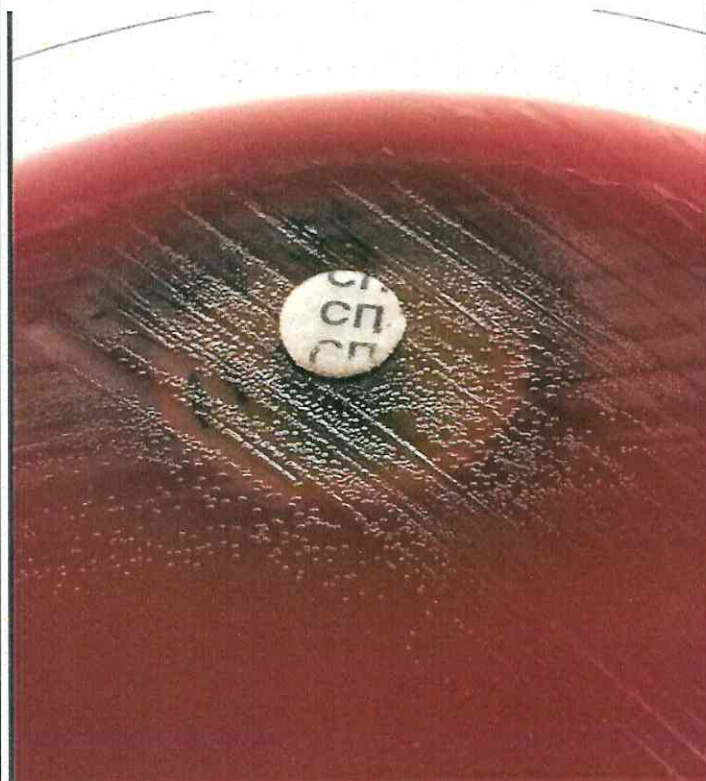
<i>Агар с содержанием 5% бараньей крови;</i> <i>Агар с содержанием 5% бараньих эритроцитов;</i> <i>Агар с содержанием 7% бараньей крови;</i> <i>Агар с содержанием 7% бараньих эритроцитов</i>	
<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>
+ контроль	
<i>Streptococcus pyogenes ATCC® 19615</i>	 Хороший рост, бесцветные или белые колонии, β-гемолиз

Streptococcus pneumoniae ATCC® 6303

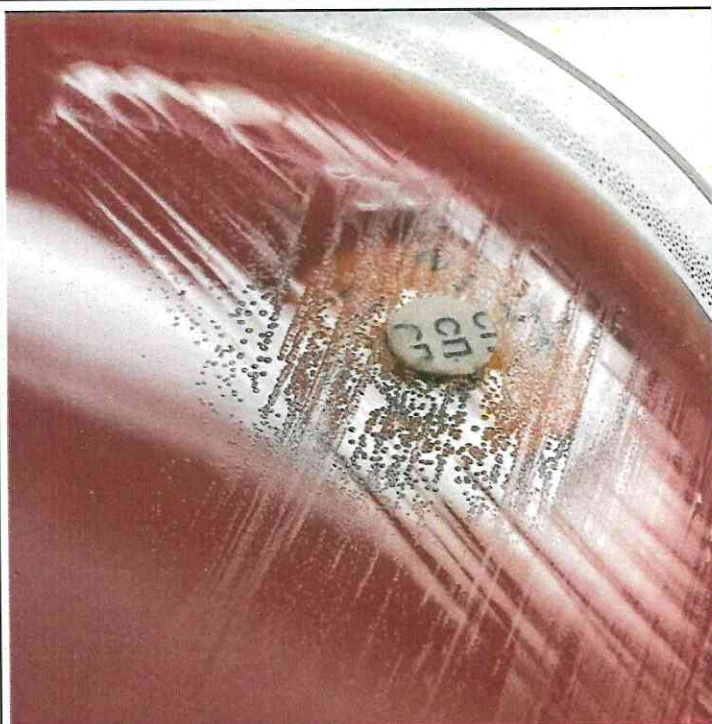


Хороший рост, серовато-белые колонии, α-гемолиз

Haemophilus influenzae ATCC® 49247



Хороший рост, колонии серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами



Хороший рост, колонии серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами

- 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 с бараньей кровью; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар с бараньей кровью обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (60 дней).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром с бараньей кровью 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 с содержанием 5% бараньей крови,
Агар с содержанием 5% бараньих эритроцитов,
Агар с содержанием 7% бараньей крови
и Агар с содержанием 7% бараньих эритроцитов
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