«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) по ТУ 9385-002-11161893-2014»

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) предназначен для выращивания труднокультивируемых анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, выделенных из клинических образцов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) содержит компоненты, необходимые для роста микроорганизмов – источники главных химических элементов, являющихся составной частью органических и неорганических (минеральных) веществ. Среда богата питательными веществами, источником которых служат триптонно-соевый бульон, специальный пептон, дрожжевой экстракт и глюкоза. Дефибринированная кровь барана, включенная в качестве добавки в состав агара, не только является питательным субстратом, но и позволяет выявить гемолитические реакции исследуемых микроорганизмов. Присутствие в среде восстанавливающего агента (цистеина гидрохлорид), гемина и витамина К1 необходимо для роста большинства труднокультивируемых бактерий. Натрия хлорид, добавляемый к основе агара, обеспечивает изотоничность среды.

2.2. Состав

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) имеет следующий состав:

Стандартная формула	**Грамм на литр**
Триптонно-соевый бульон	10,0
Специальный пептон	5,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Глюкоза	5,0
Цистеина гидрохлорид	0,4
Гемин	0,01
Трис-буфер	0,75
Агар	13,5

Добавки	**На литр**
Натрия хлорид	4,0 г
Дефибринированная кровь барана	50,0 мл
Витамин К1	0,002 г

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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.

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

Одна чашка содержит не менее 15 мл готовой среды.
Толщина слоя агара в чашке Петри составляет не менее 3 мм (МУК 4.2.2316–08 «Методы контроля бактериологических питательных сред»).

pH 7,6 ± 0,2 при 25°C

Цвет	Вишнево-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

Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята
Результаты после анаэробной инкубации при 35-37°C в течение 40-48 часов

Положительные контроли:
Инокулят 10-100 КОЕ

Bacteroides fragilis ATCC® 25285	Хороший рост, белые блестящие колонии
Peptostreptococcus anaerobius ATCC® 27337	Хороший рост, белые блестящие колонии
Clostridium sporogenes ATCC® 11437	Хороший рост, колонии соломенного цвета с неровными краями, β-гемолиз

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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

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

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 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, 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, анаэростат, газогенерирующие пакеты для создания анаэробных условий, 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 труднокультивируемые анаэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и МУ

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

4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

9.1. 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. 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°С) 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

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

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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1).

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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1), 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 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1). 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1). Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

2.Инкубируют чашки Петри анаэробно при 35-37°С в течение 40-48 часов.

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,

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

- 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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.

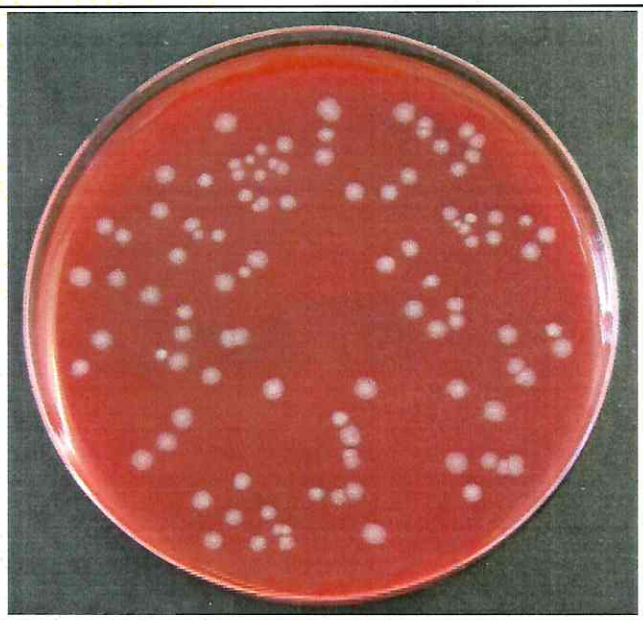
Чашку Петри инкубируют при 35-39°С в течение 18-24 ч, после чего подсчитывают число выросших колоний на всех секторах. Определение степени бактериурии производят по специальной таблице.

Выросшую чистую культуру идентифицируют.

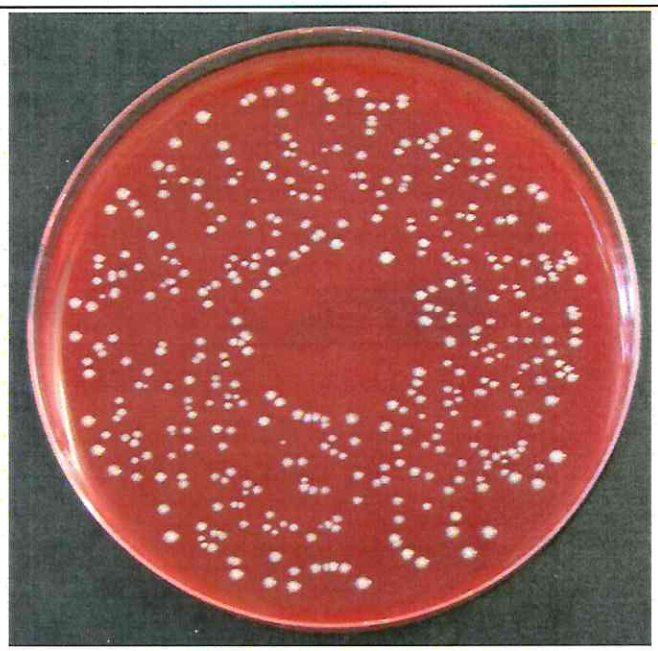
11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 1

Микроорганизмы	**Результаты**	
	Описание	**Фотографическое изображение**
+ ***контроль***		
Bacteroides fragilis ATCC® 25285	Хороший рост, белые блестящие колонии	

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

Peptostreptococcus anaerobius ATCC® 27337	Хороший рост, белые блестящие колонии	
Clostridium sporogenes ATCC® 11437	Хороший рост, колонии соломенного цвета с неровными краями, β-гемолиз	 Clostridium sporogenes ATCC® 11437, рост на чашке  Clostridium sporogenes ATCC® 11437, β-гемолиз

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

- 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°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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1); инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (60 дней).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1) 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 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.

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

По вопросам качества продукции
Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1)
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