



УТВЕРЖДАЮ

Акберов Р.Т.

Ред. 1.3 от 1 ноября 2019

Генеральный директор ООО «Средофф»

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ**

**«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью
и β -NAD (МХсЛКиNAD) по ТУ 20.59.52-017-11161893-2017»**

Оглавление

1. Назначение изделия	3
2. Потенциальные потребители	3
3. Потенциальные пользователи	3
4. Показания и противопоказания к применению	3
5. Характеристика изделия	4
6. Технические характеристики	5
7. Аналитические и диагностические характеристики	6
8. Меры предосторожности	6
9. Оборудование и материалы	8
10. Проведение анализа	8
11. Регистрация результатов	9
12. Условия хранения и эксплуатации	10
13. Техническое обслуживание и ремонт	11

Медицинское изделие «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) по ТУ 20.59.52-017-11161893-2017» (далее Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD), Изделие), является готовой к использованию питательной средой, предназначен для выращивания клинически значимых требовательных к составу среды микроорганизмов (*Streptococcus pneumoniae*), с целью последующего определения их чувствительности к антибиотикам. При этом содержание компонентов в среде подобрано таким образом, чтобы оказывать минимальное влияние на результаты тестов на чувствительность микроорганизмов к антибиотическим препаратам.

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Функциональным назначением медицинского изделия Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD), является определение чувствительности к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом клинических изолятов микроорганизмов (*Streptococcus pneumoniae*), требовательных к составу питательной среды, с целью последующего назначения медикаментозного лечения в соответствии с Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия - 2018-03)». Исследования проводятся на чистых культурах микроорганизмов *Streptococcus pneumoniae*.

2. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛИ

Изделие предназначено для использования в учреждениях медицины и здравоохранения в клинических и бактериологических лабораториях.

3. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», предназначен только для профессионального использования в клинических и бактериологических лабораториях, специально обученным квалифицированным персоналом, таким как врач клинической лабораторной диагностики, врач-бактериолог, фельдшер-лаборант и иной специалист, имеющим базовое образование медицинского или биологического профиля не ниже среднего специального и прошедший предварительное обучение.

4. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗДЕЛИЯ

4.1. Показания к применению

Показанием к применению изделия «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», является прогнозирование эффективности антимикробных препаратов при лечении инфекции у конкретных пациентов, а также наблюдение за распространением резистентности среди микроорганизмов и в процессе изучения новых препаратов.

4.2. Противопоказания к применению

Противопоказанием для применения изделия «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», является изучение чувствительности микроорганизмов к антисептикам, дезинфектантам и консервантам, истекший срок годности изделия (80 дней), поврежденной упаковкой и/или нарушенным режимом хранения и транспортирования, а так же при появлении свойств, отличных от указанных в сопроводительной документации (например, изменение цвета среды).

4.3. Ограничения по совместному применению и наличия предсказуемых побочных эффектов.

Ограничений по совместному применению и наличия предсказуемых побочных эффектов изделия «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)» нет и не выявлено.

4.4. Риски применения

Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) по ТУ 20.59.52-017-11161893-2017 не может нанести прямого ущерба пациенту, поскольку его использование ограничено образцами, уже извлеченными из организма пациента для диагностики заболевания. Несмотря на это, получение некорректного результата в ходе использования данного изделия может косвенно привести к причинению ущерба пациенту, поскольку выбор методов лечения частично основывается на этих результатах. Риск для пациента может быть весьма серьезным, поскольку применение неподходящей терапии способно привести к развитию болезни, за счет чего успешное лечение при помощи других, более подходящих лекарственных средств, может стать затруднительным, что в конечном итоге может привести к смерти пациента.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

5.1. Принцип действия

Основа Агара Мюллера-Хинтона, содержит обезвоженную вытяжку из говядины и гидролизат казеина – высокопитательные компоненты, необходимые для роста микроорганизмов, а также крахмал, играющий роль абсорбента токсичных продуктов метаболизма, выделяемых некоторыми бактериями. В качестве добавки в питательную среду вносят дефибринированную кровь лошади и β -никотинамидадениндинуклеотид (β -NAD), которые стимулируют рост труднокультивируемых бактерий. «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», предназначен для выращивания клинически значимых требовательных к составу среды микроорганизмов (*Streptococcus pneumoniae*), с целью последующего определения их чувствительности к антибиотикам. При этом содержание компонентов в среде подобрано таким образом, чтобы оказывать минимальное влияние на результаты тестов на чувствительность микроорганизмов к антибиотическим препаратам.

5.2. Состав

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», имеет следующий состав:

Стандартная формула	Грамм на литр
Обезвоженная вытяжка из говядины	300,0
Гидролизат казеина	17,5
Крахмал	1,5
Агар	17,0
Добавки	На литр
Дефибринированная кровь лошади	50,0 мл
β -никотинамидадениндинуклеотид (β -NAD)	0,02г

6. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)», представляет собой готовый агар виде геля, разлитый в чашки Петри. Одна упаковка Изделия содержит 10 чашек с готовым агаром.

Наименование показателя	Характеристика и нормы	
Внешний вид	Готовый агар в виде геля, разлитый в чашки Петри	
Прозрачность	Непрозрачный	
Цветность	Красный цвет	
Гомогенность	Гомогенный	
Высота слоя, мм	4,0-4,5	
Объем наполнения чашки, мл	Не менее 25,0	
Показатель активности водородных ионов раствора при 25°C, единиц рН	7,4 $\pm$ 0,2	
Сухой остаток, %	Не более 4,2	
Аминный азот, %	Не менее 2,3	
Прочность геля, г	380-400	
Стерильность	Отсутствие микробного роста после инкубации при (22 $\pm$ 2)°C и (35 $\pm$ 2)°C в течение 5 дней	
Специфическая активность (показатели чувствительности среды, скорости роста и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов)	<p>Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята. Результаты после инкубации чашки Петри при 35$\pm$2°C в течение 16-24 ч. Атмосфера инкубации 4-6% CO₂</p> <p>Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619 –Хороший рост, серо-зеленые колонии, α-гемолиз.</p>	
Определение антибиотико-чувствительности тестовых микроорганизмов диско-диффузионным методом	Название анти-биотического вещества; концентрация, мкг	Стандартные значения зоны подавления роста культуры, мм

	<u>Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619</u> Для получения равномерного роста микроорганизмов на поверхности агар (газон) чашки Петри с агаром инкубируют при 35±1°C в течение 18±2 ч., атмосфера инкубации 5±1% CO ₂ . Газонный рост обеспечивается в течение 18 часов с четкими границами угнетения.	
	Ванкомицин, 5	17-23 ¹
	Клиндамицин, 2	22-28 ¹
	Левифлоксацин, 5	21-27 ¹
	Оксациллин, 1	8-14 ¹
	Норфлоксацин, 10	18-24 ¹
	Эритромицин, 15	26-32 ¹

7. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Микробиологическое тестирование при помощи оптимального раствора инокулята
Результаты после инкубации при 35±1°C в течение 16-20 часов в атмосфере с 4 – 6% CO₂

Положительные контроли:
 Инокулят 1-2 x 10⁸ КОЕ/мл

Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде	Название антибиотического вещества; концентрация, мкг	Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619 – Хороший рост, серо-зеленые колонии, α-гемолиз	Ванкомицин, 5	17-23 ¹
	Клиндамицин, 2	22-28 ¹
	Левифлоксацин, 5	21-27 ¹
	Оксациллин, 1	18-14 ¹
	Норфлоксацин, 10	18-24 ¹
	Эритромицин, 15	26-32 ¹

¹ – согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия - 2018-03)»..

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

8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (MXcЛКиNAD)», предназначен только для *in vitro* диагностики.

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, хотя предпочтительным методом является стерилизация горячим паром 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 или 70% спиртом. 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.

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (MXcЛКиNAD)», предназначен только для одноразового использования.

Обращение и утилизация медицинского изделия «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (MXcЛКиNAD)», производится согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

Не используйте чашки при наличии признаков бактериального заражения, изменения цвета, высыхания, растрескивания или других признаков порчи продукта.

8.1. Требования безопасности

Работа должна проводиться в лаборатории 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».

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования и утилизации медицинского изделия с истекшим сроком годности, проводят согласно СанПин 2.1.7.2790-10 (отходы после использования класса Б, МИ с истекшим сроком годности А) и МУ 287-113 по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения. Чрезмерное сокращение слоя среды, вызванное высыханием, может привести к ложным результатам анализа чувствительности.

9. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки анализа дополнительно требуются следующие материалы: инокуляционные петли/иглы для посева, спиртовка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный стеклянный шпатель, 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, диски с антибиотиками (M.I.C.E полоски, E-тесты), штангенциркуль, таблицы с пограничными значениями диаметров зон ингибиции роста исследуемых микроорганизмов антибиотическими препаратами, дезинфицирующее средство, спирт этиловый ректификованный технический, автоклав для стерилизации отработанного материала, автоклав или сухожаровой шкаф для стерилизации посуды.

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

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Определение антибиотикочувствительности тестовых микроорганизмов проводят диско-диффузионным методом. Выделение чистой культуры микроорганизмов *Streptococcus pneumoniae* производится в соответствии с требованиями Приказа Минздрава СССР от 22 апреля 1985 г. №535.

10.1. Определение антибиотикочувствительности *Streptococcus pneumoniae*

Для приготовления суспензии *Streptococcus pneumoniae* предпочтительно использовать колонии, выросшие на кровяном агаре. При необходимости использования культуры, выросшей на шоколадном агаре, плотность инокулята должна быть доведена до 1,0 по стандарту мутности МакФарланда.

Суспензия должна быть использована в течение 15 минут оптимально, но не позднее 60 минут после приготовления. Погрузить стерильный ватный тампон в суспензию, удалить избыток суспензии, отжав тампон о стенки пробирки. Нанесите инокулят штриховыми движениями на всю поверхность Агара Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60° для обеспечения сплошного газона.

Нанесите диски с антибиотиками на поверхность инокулированного исследуемой культурой и подсушенного Агара Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) в течение 15 минут после засеивания. Контакт диска с агаром должен быть плотным. После нанесения на поверхность Агара Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) диски нельзя передвигать, так как диффузия антибиотика в среду начинается очень быстро. Размещайте на чашке Петри диаметром 90 мм не более 6 дисков, для предотвращения перекрытия зон подавления роста, а также взаимодействия

между антибиотиками. После инокуляции и нанесения дисков чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) в течение 15 мин должны быть помещены в термостат вверх дном. Инкубируют чашки Петри при $35\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 16-20 ч. Атмосфера инкубации 4-6% CO_2 .

После инокуляции должен сформироваться равномерный сплошной слой бактериального роста (газон). Газон должен быть равномерным на всей поверхности Агара Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD). Зоны подавления роста вокруг дисков с антибиотиками должны иметь форму окружности. Края зон подавления роста должны быть ровными. Формирование отдельных колоний вместо сплошного роста свидетельствует о недостаточной плотности инокулята. В этом случае исследование необходимо повторить.

Отмечают наличие/отсутствие зон задержки роста микроорганизмов и измеряют диаметры зон, по которым делают выводы о чувствительности исследуемых культур к каждому виду антибиотика. При определении чувствительности контрольных штаммов к антибиотическим препаратам диаметры зон подавления роста должны попадать в Сведения о пограничных значениях зон подавления роста для определения клинических категорий чувствительности бактерий к антимикробным препаратам представлены в Клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», разделе II.

При измерении зон подавления роста вокруг дисков с любыми антибиотиками следует ориентироваться на зону полного подавления роста микроорганизмов, определяемую невооруженным глазом, при расположении чашки на расстоянии примерно 30 см от глаз. Измерение зон подавления роста необходимо проводить с точностью до миллиметра при помощи линейки, штангенциркуля или специальными автоматическими приборами для учета результатов определения чувствительности диско-диффузионным методом. Для измерения зон подавления роста на агаре Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD) чашку Петри помещают дном книзу, так чтобы свет падал на поверхность агара под углом 45° крышку снимают. В случае появления двойных зон подавления роста, необходимо проверить чистоту культуры и при необходимости, в случае контаминации, повторить исследование. Колонии, которые не являются контаминантами, должны быть приняты во внимание при учете результатов. В таких случаях, граница зоны подавления роста учитывается по внутреннему наименьшему диаметру. Нечеткие (размытые) зоны подавления роста следует измерять на темном фоне на расстоянии примерно 30 см от глаз. При учете результатов мелкие колонии, заметные на чашке с расстояния 30 см от глаз учитывающего, необходимо принимать во внимание.

При определении чувствительности гемолитических бактерий необходимо дифференцировать зону подавление роста и зону гемолиза, что может вызвать определенные трудности, β -гемолизины диффундируют в агар, поэтому обычно над зоной гемолиза нет роста микроорганизмов; α -гемолизины не диффундируют в агар, поэтому гемолиз часто является маркером роста микроорганизмов.

11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводится визуально по наличию/отсутствию зон задержки роста колоний исследуемых микроорганизмов и их диаметрам в сравнении с контрольными

культурами. В качестве контрольных используют штаммы американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection – ATCC), отличающиеся генетической стабильностью и хорошо изученными фенотипическими характеристиками.

Контроль качества

<i>Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде</i>	<i>Название антибиотического вещества; концентрация, мкг</i>	<i>Зона подавления роста культуры, мм</i>	<i>Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм</i>
<i>Для получения равномерного роста микроорганизмов на поверхности агара (газон) чашки Петри с агаром инкубируют при 35±1°C в течение 18±2 ч., атмосфера инкубации 5±1% CO₂.</i>			
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619 – Хороший рост, серо-зеленые колонии, α-гемолиз	Ванкомицин, 5	19	17-23 ¹
	Клиндамицин, 2	25	22-28 ¹
	Левифлоксацин, 5	22	21-27 ¹
	Оксациллин, 1	11	8-14 ¹
	Норфлоксацин, 10	21	18-24 ¹
	Эритромицин, 15	28	26-32 ¹

¹ – согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (Москва, 22.05.2015 г.).

Учет результатов реакции

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

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Рекомендованный способ хранения невскрытых упаковок Изделия – вдали от источника света при температуре +2+8°C до даты, указанной на упаковке, в перевернутом виде (крышкой вниз). Срок годности невскрытых упаковок составляет 80 дней.

Рекомендованный способ хранения вскрытых упаковок Изделия – вдали от источника света при температуре +2+8°C, в перевернутом виде (крышкой вниз). После

вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD в течение 1 недели.

Транспортировка всеми видами закрытого транспорта при температуре хранения. Не допускать замораживания.

Запрещается использовать изделие с истекшим сроком годности, а так же при появлении свойств, отличных от указанных в сопроводительной документации (например, изменение цвета среды).

13. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Техническое обслуживание и ремонт для медицинского изделия «Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)» - не применимы.

Разработано и произведено компанией ООО «Средофф». По вопросам качества продукции

«Агар Мюллера-Хинтона с лошадиной кровью и β -NAD (МХсЛКиNAD)»
по ТУ 20.59.52-017-11161893-2017

обращаться:

ООО «Средофф», 199106, г. Санкт-Петербург, Шкиперский проток, дом 14,
корпус 39, литера Н, тел.: (812) 356 04 34, факс: (812) 305 06 06

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