«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»

_____ Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар с лошадиной кровью по ТУ 9385-015-11161893-2013»

Варианты исполнения:

«Агар с содержанием 5% лошадиной крови»
«Агар с содержанием 7% лошадиной крови»

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар с лошадиной кровью предназначен для выращивания труднокультивируемых микроорганизмов, таких как *Streptococcus spp.* и *Haemophilus spp.*, с целью дальнейшей их идентификации, а также для определения типа гемолиза (*α-* и *β-гемолитические стрептококки* по классификации Брауна).

Питательная среда представлена в двух вариантах исполнения: *Агар с содержанием 5% лошадиной крови* и *Агар с содержанием 7% лошадиной крови*, которые полностью идентичны по техническим, аналитическим и диагностическим характеристикам, но имеют незначительное различие в составе. Количество используемой в качестве добавки дефибринированной крови лошади рассчитывается строго из соотношения 50 мл дефибринированной крови лошади на 1 л готовой питательной среды *Агар с содержанием 5% лошадиной крови* и 70 мл дефибринированной крови лошади на 1 л готовой питательной среды *Агар с содержанием 7% лошадиной крови*. Два аналогичных варианта медицинского изделия с разными названиями и незначительным различием в составе (*Агар с содержанием 5% лошадиной крови*, *Агар с содержанием 7% лошадиной крови*) выпускаются для достижения коммерческих целей.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар с лошадиной кровью во всех вариантах исполнения содержит пептон и мясной экстракт – компоненты, обеспечивающие микроорганизмы запасом питательных веществ, а также дефибринированную кровь лошади, 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 лошадиной кровью имеет следующий состав:

Таблица 1

Агар с содержанием 5% лошадиной крови		*Агар с содержанием 7% лошадиной крови*	
Стандартная формула	**Грамм на литр**	**Стандартная формула**	**Грамм на литр**
Мясной экстракт	10,0	Мясной экстракт	10,0
Ферментативный пептон	10,0	Ферментативный пептон	10,0
Хлорид натрия	5,0	Хлорид натрия	5,0
Агар	15,0	Агар	15,0
Добавки	**На литр**	**Добавки**	**На литр**
Дефибринированная кровь лошади	50,0 мл	Дефибринированная кровь лошади	70,0 мл

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Агар с лошадиной кровью во всех вариантах исполнения обладает идентичными техническими характеристиками.
Агар с лошадиной 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.
Толщина слоя агара в чашке Петри составляет не менее 3 мм (МУК 4.2.2316–08 «Методы контроля бактериологических питательных сред»).

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 лошадиной 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

Streptococcus pneumoniae ATCC® 6303	Хороший рост, серовато-белые колонии, α-гемолиз
Streptococcus pyogenes ATCC® 19615	Хороший рост, колонии соломенного цвета, *β*-гемолиз
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Хороший рост, серовато-белые колонии

Количество колоний должно быть равно или больше 70% контрольной среды.

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

Положительные контроли:
Инокулят 10-100 КОЕ

Haemophilus influenzae ATCC® 49247	Хороший рост, колонии соломенного или серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами
Haemophilus influenzae ATCC® 10211	Хороший рост, колонии соломенного или серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами

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

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар с лошадиной 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°С. 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 А2/, инокуляционные петли/иглы для посева, газовая горелка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный шпатель Дригальского, стерильный микробиологический тампон, таблица для определения степени бактериурии, 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, 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.

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

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Клинические образцы – образцы из организма человека, предположительно содержащие труднокультивируемые микроорганизмы, такие как *Streptococcus spp.* и *Haemophilus spp.* (отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистой зева); 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 4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

9.1. Образцы отделяемого верхних дыхательных путей (отделяемое слизистой 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.

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.

9.2. Образцы мочи

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.

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

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 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 лошадиной кровью.

Образцы отделяемого верхних дыхательных путей (мазок со слизистой глотки (зева)).

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

Образцы мочи.

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

2. Инкубируют чашки Петри при температуре 35-39°С. В зависимости от вида предположительно содержащихся в исследуемом биоматериале микроорганизмов атмосфера и период проведения инкубации могут быть различными (при подозрении на наличие анаэробной

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

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 лошадиной 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 лошадиной 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.

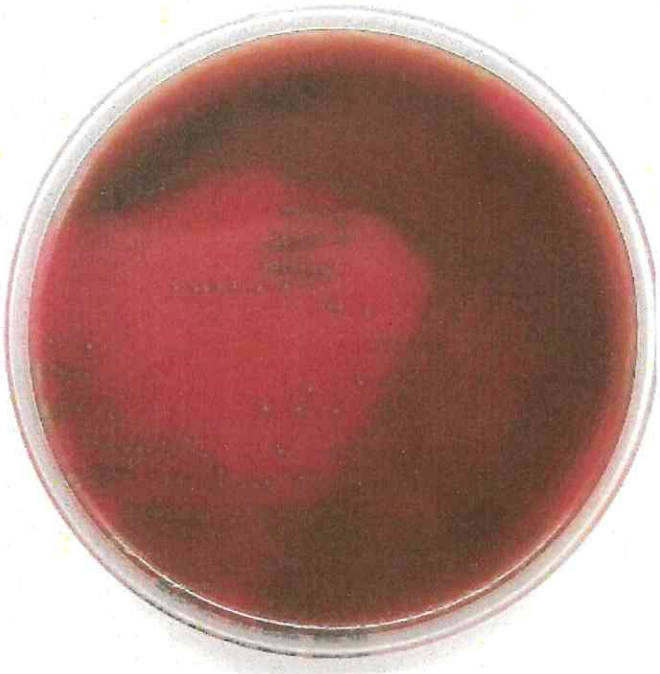
11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводится визуально по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов и их свойствам (размер, цвет, форма колонии) в сравнении с контрольными культурами. В качестве контрольных используют штаммы американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection – ATCC), отличающиеся генетической стабильностью и хорошо изученными фенотипическими характеристиками.

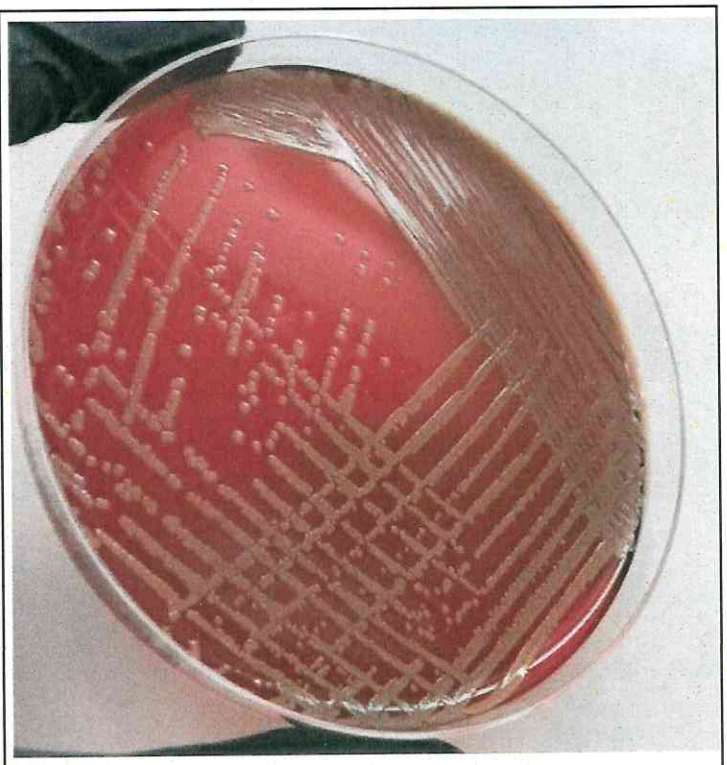
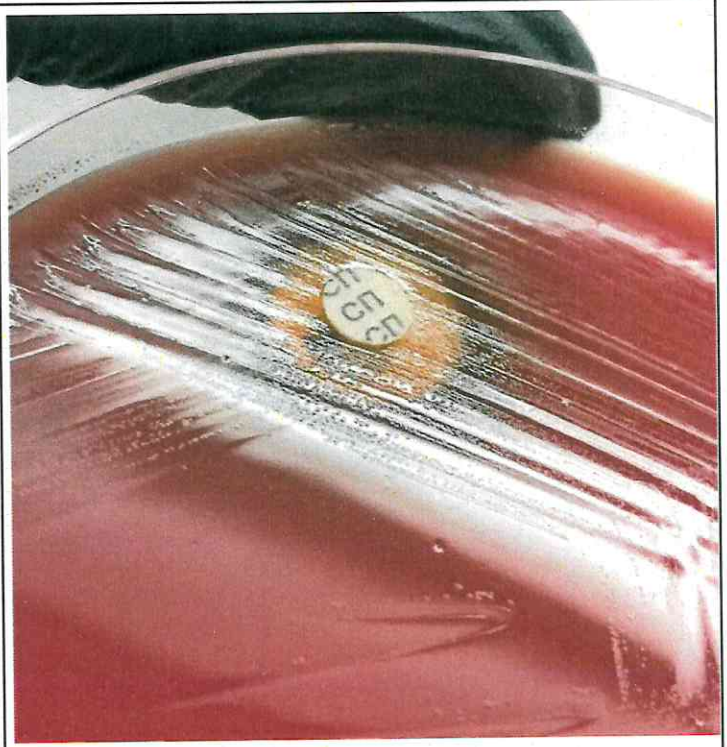
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Контроль качества

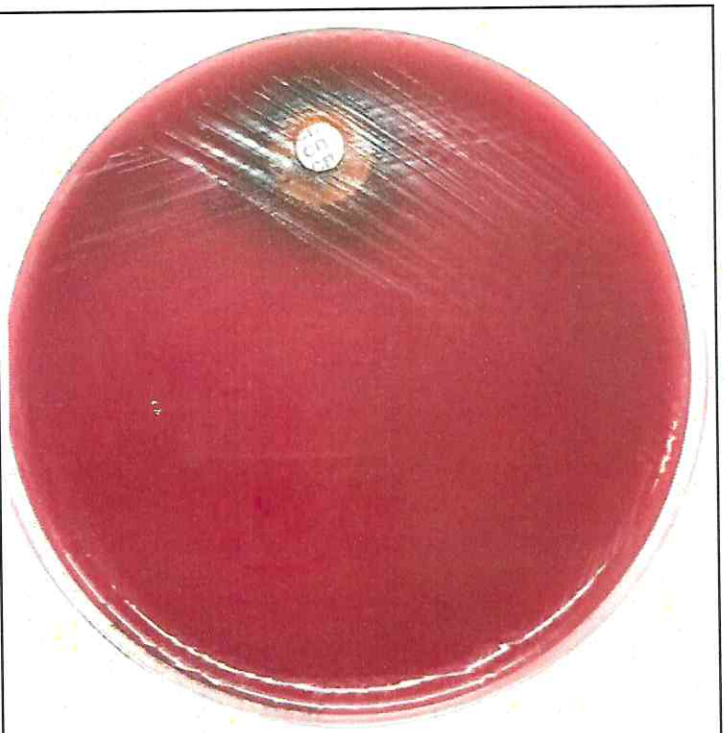
Таблица 2

Агар с содержанием 5% лошадиной крови; Агар с содержанием 7% лошадиной крови	
Микроорганизмы	**Результаты**
+ контроль	
Streptococcus pyogenes ATCC® 19615	 Хороший рост, колонии соломенного цвета, *β*-гемолиз
Streptococcus pneumoniae ATCC® 6303	 Хороший рост, серовато-белые колонии, α-гемолиз

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

Staphylococcus aureus ATCC® 25923	 Хороший рост, серовато-белые колонии
Haemophilus influenzae ATCC® 49247	 Хороший рост, колонии соломенного или серого цвета вокруг диагностических дисков с X- и V-ростовыми факторами

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

Haemophilus influenzae ATCC® 10211	 Хороший рост, колонии соломенного или 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°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 с лошадиной кровью; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

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

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром с лошадиной 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°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.

По вопросам качества продукции
Агар с содержанием 5% лошадиной крови
и *Агар с содержанием 7% лошадиной крови*
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