

«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Акберов Р.Т.

«20» апреля 2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар шоколадный с факторами роста по ТУ 9385-014-11161893-2013»

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар шоколадный с факторами роста предназначен для выращивания труднокультивируемых микроорганизмов, таких как *Haemophilus spp.* и *Neisseria spp.*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Для нормального развития таких труднокультивируемых микроорганизмов, как *Haemophilus spp.* и *Neisseria spp.*, нужны специфические ростовые факторы X и V. Фактор X содержится в эритроцитах в виде термостабильной группы тетрапирролов, входящих в состав гематина и гема. Фактор V – термолабильный кофермент (включает НАД или НАДФ), продуцируемый многими бактериями, а также присутствующий в эукариотических клетках. Агар шоколадный с факторами роста содержит дефибринированную кровь лошади и добавку Витокс, которые обеспечивают труднокультивируемые микроорганизмы *Haemophilus spp.* и *Neisseria spp.* необходимыми ростовыми факторами.

В составе питательной среды также содержатся пептоны мясной и казеиновый и глюкоза – высокопитательные компоненты, требуемые для роста бактерий. Кукурузный крахмал играет роль абсорбента токсичных продуктов метаболизма микроорганизмов *Neisseria spp.* Наличие в составе агара шоколадного с факторами роста фосфатных буферов предотвращает изменение pH среды, которое может привести к образованию аминных продуктов, оказывающих негативное влияние на жизнедеятельность исследуемых бактерий.

2.2. Состав

Агар шоколадный с факторами роста имеет следующий состав:

Стандартная формула	Грамм на литр
Казеиновый пептон	7,5
Мясной пептон	7,5
Кукурузный крахмал	1,0
Гидроортофосфат калия (K_2HPO_4)	4,0
Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4)	1,0
Хлорид натрия	5,0
Агар	10,0
Добавки	На литр
Глюкоза	1,0 г
Дефибринированная кровь лошади	100,0 мл
Добавка Витокс:	
<u>Сухая часть добавки:</u>	
Витамин B_{12}	0,2 мг
L-глутамин	200,0 мг
Аденин	20,0 мг
Гуанин	0,6 мг
Парааминобензойная кислота	0,26 мг

L-цистин	22,0 мг
НАД (кофермент А)	5,0 мг
Кокарбоксилаза	2,0 мг
Нитрат железа	0,4 мг
Тиамин	0,06 мг
Цистеин	518,0 мг
<u>Жидкая часть добавки:</u>	
Глюкоза	1,0 г
Дистиллированная вода	10,0 мл

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар шоколадный с факторами роста 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»).

рН	7,2 ± 0,2 при 25°C
Цвет	Коричневый
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 35-39°C в течение 36-48 часов

Положительные контроли:
Инокулят 10-100 КОЕ

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 49926
Neisseria gonorrhoeae ATCC® 19424

Хороший рост, серо-коричневые колонии
Хороший рост, серые колонии

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

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

Положительные контроли:
Инокулят 10-100 КОЕ

Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Candida albicans ATCC® 10231

Хороший рост, серые колонии
Хороший рост, выпуклые кремовые колонии

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар шоколадный с факторами роста 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».

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 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, 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, анаэроустат, 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 микроорганизмы, такие как *Haemophilus spp.* и *Neisseria spp.* (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 клинко-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. вязкоза 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 крышкой 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. 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.

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 шоколадным с факторами роста.

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

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

Образцы отделяемого 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 шоколадным с факторами роста, 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 шоколадного с факторами роста 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 шоколадным с факторами роста. 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 шоколадным с факторами роста 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 шоколадным с факторами роста. Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

2. Инкубируют чашки Петри при 35-39°C в течение 36-48 часов. В зависимости от вида предположительно содержащихся в исследуемом биоматериале микроорганизмов атмосфера инкубации может различаться (при подозрении на наличие анаэробной инфекции – анаэробная атмосфера; при подозрении на содержание в пробе аэробных возбудителей – аэробная атмосфера).

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 (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

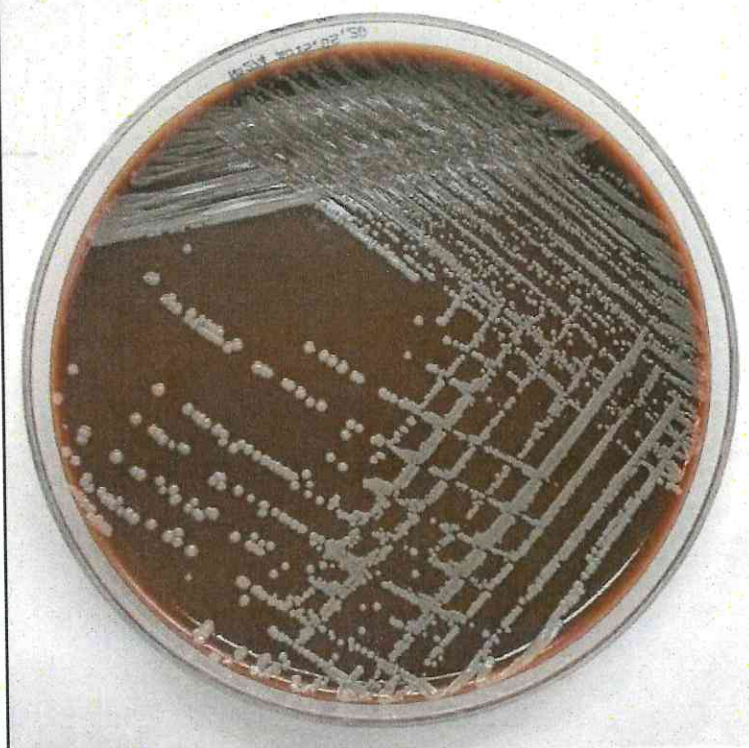
<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>
+ контроль	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 49926	 Хороший рост, серо-коричневые колонии

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 19424



Хороший рост, серые колонии

Staphylococcus aureus ATCC® 25923



Хороший рост, серые колонии

<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	 Хороший рост, выпуклые кремовые колонии
<i>Proteus hauseri</i> ATCC® 13315	 Хороший рост, серые колонии, растущие в виде концентрических окружностей
- 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 шоколадного с факторами роста; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром шоколадным с факторами роста 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 шоколадный с факторами роста
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