

«СОГЛАСОВАНО»

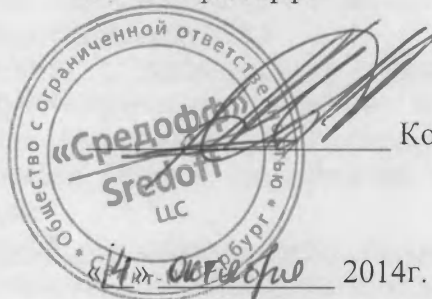
ВРИ.О. Главного врача
д.м.н., профессор



О.Ю. Рахимова

«УТВЕРЖДЕНА»

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Ковивчак Н.Л.

«14» октября 2014г.

«14» октября 2014г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар колумбийский с бараньей кровью»

Варианты исполнения:

«Агар колумбийский с содержанием бараньей крови»

«Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина»

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар колумбийский с бараньей кровью предназначен для выращивания труднокультивируемых микроорганизмов, таких как грамположительные бактерии, с целью дальнейшей их идентификации. Питательная среда представлена в двух вариантах исполнения: Агар колумбийский с содержанием бараньей крови и Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина.

Вариант исполнения Агар колумбийский с содержанием бараньей крови предназначен для выращивания труднокультивируемых бактерий и позволяет дифференцировать ряд микроорганизмов по способности к гемолизу (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна), не проявляя селективных свойств по отношению к исследуемым бактериям.

Вариант исполнения Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина также используется для выращивания требовательных к составу среды микроорганизмов и определения типа гемолиза (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна). Обладая селективными свойствами, этот вариант исполнения готовой питательной среды обеспечивает быструю изоляцию и дифференциацию колоний *Staphylococcus aureus*, гемолитических стрептококков и энтерококков из образцов со смешанной микрофлорой.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар колумбийский с бараньей кровью во всех вариантах исполнения содержит специальный пептон, предоставляющий микроорганизмам необходимый запас питательных веществ, и дефибринированную кровь барана, которая стимулирует рост труднокультивируемых бактерий, таких как гемолитические стрептококки и энтерококки, и позволяет дифференцировать ряд микроорганизмов по способности к гемолизу (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна). Оба варианта исполнения питательной среды также включают в себя хлорид натрия, обеспечивающий изотоничность среды, и крахмал, который играет роль абсорбента токсичных продуктов метаболизма, выделяемых некоторыми бактериями. Агар колумбийский с содержанием бараньей крови не имеет в составе специальных добавок, поэтому не обладает селективными свойствами. Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина включает селективную добавку, в состав которой входят антибиотические вещества, подавляющие рост сопутствующих грамположительных и грамотрицательных палочкообразных микроорганизмов, а также бактерий *Staphylococcus albus* и *Micrococcus* spp., обеспечивая быструю изоляцию и дифференциацию колоний *Staphylococcus aureus*, гемолитических стрептококков и энтерококков из образцов со смешанной микрофлорой.

2.2. Состав

Агар колумбийский с бараньей кровью имеет следующий состав:

Таблица 1

<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови</u>		<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</u>	
Стандартная формула	Грамм на литр	Стандартная формула	Грамм на литр
Специальный пептон	23,0	Специальный пептон	23,0
Крахмал	1,0	Крахмал	1,0
Хлорид натрия	5,0	Хлорид натрия	5,0
Агар	10,0	Агар	10,0

<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови</u>		<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</u>	
Добавки	На литр	Добавки	На литр
Дефибринированная кровь барана	50,0 мл	Дефибринированная кровь барана	50,0 мл
<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови</u>		<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</u>	
Добавки	На литр	Добавки	На литр
-		Селективная добавка для <i>Staphylococcus spp.</i> и <i>Streptococcus spp.</i>	
-		Налидиксовая кислота	15,0 мг
-		Колистина сульфат	10,0 мг

Количество используемой в качестве добавки дефибринированной крови барана рассчитывается строго из соотношения 50 мл дефибринированной крови барана на 1 л готовой питательной среды Агар колумбийский с бараньей кровью (во всех вариантах исполнения).

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

Одна чашка содержит примерно 20 мл готовой среды.

pH $7,3 \pm 0,2$ при 25°C

Цвет	Красный
Прозрачность	Матовый
Консистенция	Гель
Весовая дозировка	16,0 г $\pm$ 2,0 г

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 Агара колумбийского с содержанием бараньей крови; Агара колумбийского с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина при помощи оптимального раствора инокулята

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

Положительные контроли:

Инокулят 10-100 КОЕ

Staphylococcus aureus ATCC® 25923

Хороший рост, бело-серые колонии, β -гемолиз

Streptococcus pyogenes ATCC® 19615

Хороший рост, колонии светло-соломенного цвета, β -гемолиз

Количество колоний должно быть равно или больше 70% контрольной среды

Микробиологическое тестирование Агара колумбийского с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина при помощи оптимального раствора инокулята

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

Отрицательные контроли:

Инокулят $1 \cdot 10^3$ - $1 \cdot 10^4$ КОЕ

Escherichia coli ATCC® 25922 Ингибирование роста

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар колумбийский 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 многократного 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, 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, 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, в т.ч. обладающие гемолитическими свойствами (образцы из дыхательных путей: отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистой зева), отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж); отделяемое наружного уха; образцы из мочеполовой системы: моча, отделяемое влагалища, отделяемое цервикального канала, отделяемое уретры, секрет простаты).

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, смонтированный 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

Взятие исследуемого материала

1. Сбор мокроты.

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.

II. Сбор бронхоальвеолярной жидкости (лаважа).

Бронхоальвеолярный лаваж получают с помощью специального прибора для обследования внутренних поверхностей трахеи и бронхов – бронхоскопа. Для этого вводят шприцем через биопсийный канал бронхоскопа отдельными порциями стерильный небактериостатический физиологический раствор (общий объем от 5-20 до 100 мл). Перед введением следующей порции физиологического раствора осторожно отсасывают введенную часть стерильным одноразовым шприцем в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой или в стерильную одноразовую или стеклянную пробирку с пробкой, или оставляют в закрытом шприце, предварительно удалив из него воздух. Каждую отсасываемую порцию собирают в отдельную посуду и по окончании процедуры соединяют пробы, полученные из одного и того же участка.

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 отделяемого наружного уха

Взятие исследуемого материала

При поражении наружного уха проводят обработку кожи 70%-м спиртом с последующим промыванием стерильным физиологическим раствором. Отделяемое из очага собирают на стерильный одноразовый зонд-тампон тубсера или пробирки с транспортировочной средой. Тампон помещают в пробирку и доставляют в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные образцы незамедлительно доставляют в лабораторию, где их сразу же подвергают анализу. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов. При использовании пробирки с транспортировочной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°C).

9.3. Образцы из мочеполовой системы

9.3.1. 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.

9.3.2. Образцы отделяемого мочеполовой системы

Взятие исследуемого материала

I. Сбор проб из влагалища.

Не допускается исследовать материал, собранный из переднего свода влагалища.

Материал для анализа получают до проведения мануального исследования.

Для сбора пробы используют 2 стерильных зонда-тампона или тубсера. После введения зеркала пробу собирают одним стерильным зондом-тампоном или тубсером, допускается также использование зондов-тампонов, вмонтированных в стерильные стеклянную или завинчивающуюся одноразовые пробирки; материал собирают со слизистой заднего свода или с ее патологически измененных участков. Зонд-тампон помещают в стерильную пробирку (тубсер) для доставки в лабораторию. Вторым стерильным зондом-тампоном (тубсером) собирают пробу и готовят мазки.

Для большей информативности анализа пробы вагинального секрета получают с помощью стерильных одноразовых калиброванных петли или пипетки, материал из которых переносят в стерильные одноразовую или стеклянную пробирки для доставки в лабораторию. Мазки высушивают на воздухе и, поместив в стерильные чашки Петри, также доставляют в лабораторию.

II. Сбор проб из цервикального канала.

Следует иметь в виду, что из проб цервикального канала, как правило, выделяется существенно меньший спектр микроорганизмов, чем из влагалища, что является следствием различий в составе эпителия и pH этих отделов мочеполового тракта.

После обнажения шейки матки в зеркалах тщательно очищают шейку от секретов вагины и слизи с помощью ватного тампона, смоченного стерильным физиологическим раствором или стерильной водой. После этого щеточку (стерильный зонд-тампон, зонд-тампон тубсера или зонд-тампон пробирки с транспортной средой) осторожно вводят в цервикальный канал на глубину 1,0-1,5 см, не касаясь стенок влагалища. Вращая любой из перечисленных выше инструментов несколько раз вокруг оси, захватывают материал – клетки, экссудат – по периметру цервикального канала. Переносят материал в стерильные одноразовую или стеклянную пробирки и доставляют в лабораторию.

III. Сбор проб из уретры у женщин.

Собирают материал через 1-2 часа после мочеиспускания.

Собирают отделяемое уретры стерильным зондом-тампоном. Помещают зонд-тампон в тубсер или стерильную одноразовую пробирку с завинчивающейся пробкой, или в стеклянную стерильную пробирку с газопроницаемой пробкой и передают материал в лабораторию.

Если описанным выше способом не удалось получить отделяемое, промывают наружную уретру бактерицидным мылом, споласкивают теплой кипяченой водой, вводят стерильный зонд-тампон на 2-4 см в эндоуретру, осторожно поворачивают его несколько раз вокруг оси и оставляют в уретре на 1-2 с, извлекают тампон, помещают в стерильную емкость и доставляют материал в лабораторию.

IV. Сбор проб из уретры у мужчин.

Сбор пробы осуществляют после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода для предотвращения дополнительной контаминации.

Собирают пробу не ранее чем через 2 ч после мочеиспускания.

Вводят специальный стерильный уретрогенитальный зонд-тампон на оси из тонкой алюминиевой проволоки (предпочтительно с алгинатом кальция, но допускается использование тампона из хлопка, вискозы или дакрона) или тампон из транспортировочной емкости со средами с активированным углем или без него на 3-4 см в дистальный отдел уретры. Осторожно вращая тампон вокруг оси, оставляют его в уретре на 2-3 с. Извлекают тампон и помещают его в пробирку, доставляют пробу в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 1,5-2 часов после сбора. Допускается хранение проб в холодильнике (при 2-4°C) не более 3-4 часов. При использовании пробирки с транспортировочной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°C).

9.3.3. Образцы секрета простаты

Взятие исследуемого материала (неинвазивный метод)

Сбор пробы осуществляют после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода (необходимо для предотвращения дополнительной контаминации).

Собирают эякулят в стерильный одноразовый контейнер с закручивающейся крышкой или в стерильную одноразовую пробирку с закручивающейся пробкой, закрывают емкость. Если материала мало, собирают пробу на зонд-тампон или предпочтительно – на специальный тампон с алгинатом кальция, тампон помещают в стерильную емкость с закручивающейся крышкой.

Транспортировка исследуемого материала

Материал следует немедленно доставить в лабораторию для проведения анализа. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов.

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на чашки Петри с агаром колумбийским с бараньей кровью.

Отделяемое верхних дыхательных путей (мазок со слизистой глотки (зева)); отделяемое наружного уха.

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

Отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж).

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 колумбийским 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 колумбийского с бараньей кровью пипеткой, тщательно распределяют по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Бронхоальвеолярный лаваж засевают как мокроту, но без предварительного отмывания гнойных комочков физиологическим раствором. При отсутствии комочков гноя и слизи производят посев биоматериала на агар колумбийский с бараньей кровью стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл, после чего тщательно распределяют материал по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Образцы из мочеполовой системы: моча, отделяемое влагалища, отделяемое цервикального канала, отделяемое уретры, секрет простаты.

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

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

2. Инкубируют чашки Петри аэробно при 35-37°C в течение 18-24 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,
 - 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 колумбийский 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.

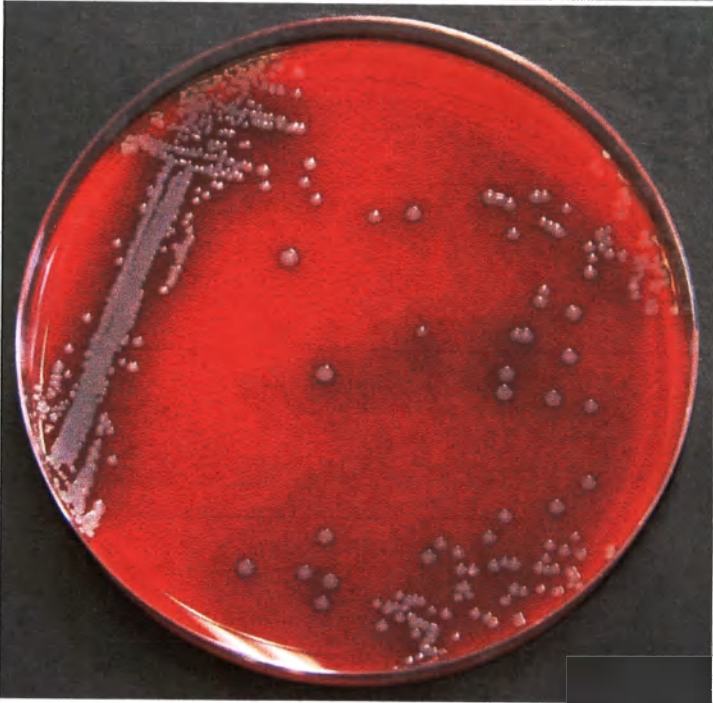
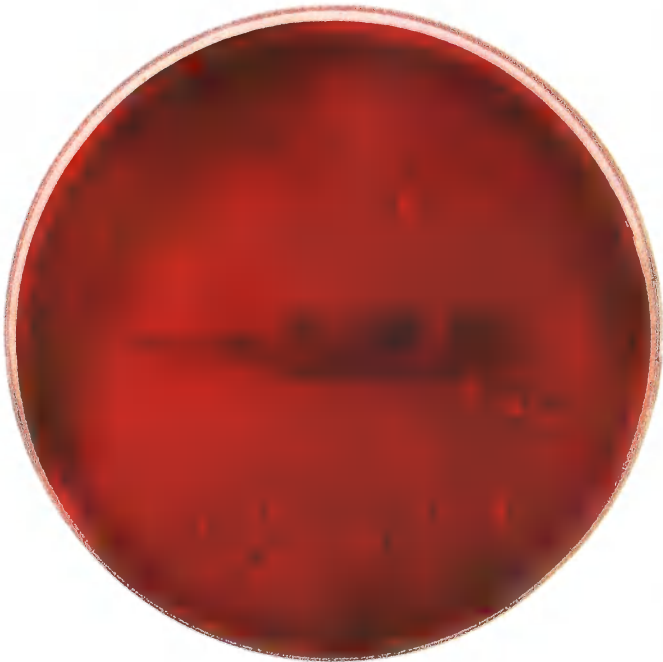
Чашку Петри инкубируют при 37°C в течение 18-24 ч, после чего подсчитывают число выросших колоний на всех секторах. Определение степени бактериурии производят по специальной таблице.

Выросшую чистую культуру идентифицируют.

11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

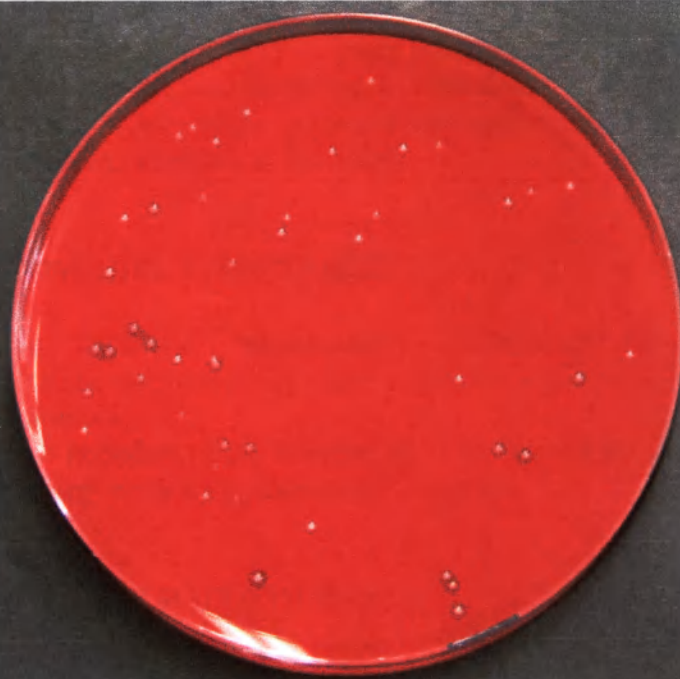
Учет результатов проводится визуально по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов и их свойствам (размер, цвет, форма колонии) в сравнении с контрольными культурами (Приложение Б ГОСТ Р 53133.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. 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.

Агар колумбийский с содержанием бараньей крови;
Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина

<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	
	<u>Описание</u>	<u>Фотографическое изображение</u>
+ контроль		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, бело-серые колонии, β - гемолиз	 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923, рост на чашке  <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923, β-гемолиз

*Streptococcus
pyogenes*
ATCC® 19615

Хороший рост,
колонии светло-
соломенного
цвета, β -гемолиз



Streptococcus pyogenes ATCC® 19615,
рост на чашке



Streptococcus pyogenes ATCC® 19615,
 β -гемолиз

Агар колумбийский с содержанием бараньей крови		Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина	
<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>
- контроль		- контроль	
Неинокулированная среда	Без изменений	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Ингибирование роста

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 (1 месяц).

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 20 упаковок агара колумбийского с бараньей кровью; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар колумбийский с бараньей кровью обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (1 месяц).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром колумбийским 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 колумбийский с содержанием бараньей крови
и Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина
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

ООО «Средофф»
Генеральный директор



Ковивчак Н.Л.

ПРОШУ
В КОМПЕТЕНЦИИ
20/14
Генеральный директор
ООО «Средотф»
Ковычак Н.И.
Средотф
Санкт-Петербург * ответственностью *

«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора

Генеральный директор
ООО «Средофф»

от _____ г. № _____



Ковивчак Н.Л.

«03» октября 2013 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар колумбийский с бараньей кровью»

Варианты исполнения:

- «Агар колумбийский с содержанием бараньей крови»
- «Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов»
- «Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина»

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар колумбийский с бараньей кровью предназначен для выращивания труднокультивируемых микроорганизмов, таких как грамположительные бактерии, с целью дальнейшей их идентификации. Питательная среда представлена в трех вариантах исполнения: Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов и Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина. Агар колумбийский с содержанием бараньей крови и Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов полностью идентичны по составу, техническим, аналитическим и диагностическим характеристикам. Два идентичных варианта медицинского изделия с разными названиями (Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов) выпускаются для достижения коммерческих целей.

Варианты исполнения готовой питательной среды Агар колумбийский с содержанием бараньей крови и Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов предназначены для выращивания труднокультивируемых бактерий и позволяют дифференцировать ряд микроорганизмов по способности к гемолизу (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна).

Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина также используется для выращивания требовательных к составу среды микроорганизмов и определения типа гемолиза (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна). Обладая селективными свойствами, этот вариант исполнения готовой питательной среды обеспечивает быструю изоляцию и дифференциацию колоний труднокультивируемых бактерий из образцов со смешанной микрофлорой.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар колумбийский с бараньей кровью во всех вариантах исполнения содержит специальный пептон, предоставляющий микроорганизмам необходимый запас питательных веществ, и дефибринированную кровь барана, которая стимулирует рост труднокультивируемых бактерий, таких как *Staphylococcus aureus*, гемолитические стрептококки и энтерококки, и позволяет дифференцировать ряд микроорганизмов по способности к гемолизу (α - и β -гемолитические стрептококки по классификации Брауна). Все варианты исполнения питательной среды также включают в себя хлорид натрия, обеспечивающий изотоничность среды, и крахмал, который играет роль абсорбента токсичных продуктов метаболизма, выделяемых некоторыми бактериями. Агар колумбийский с содержанием бараньей крови и Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов не имеют в составе специальных добавок, поэтому не обладают селективными свойствами. Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина включает селективную добавку, в состав которой входят антибиотические вещества, подавляющие рост сопутствующих грамположительных и грамотрицательных палочкообразных микроорганизмов, а также бактерий *Staphylococcus albus* и *Micrococcus spp.*, обеспечивая быструю изоляцию и дифференциацию колоний *Staphylococcus aureus*, гемолитических стрептококков и энтерококков из образцов со смешанной микрофлорой.

2.2. Состав

Агар колумбийский с бараньей кровью имеет следующий состав:

Таблица 1

<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови; Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов</u>		<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</u>	
Стандартная формула	Грамм на литр	Стандартная формула	Грамм на литр
Специальный пептон	23,0	Специальный пептон	23,0
Крахмал	1,0	Крахмал	1,0
Хлорид натрия	5,0	Хлорид натрия	5,0
Агар	10,0	Агар	10,0
Добавки	На литр	Добавки	На литр
Дефибринированная кровь барана	50,0 мл	Дефибринированная кровь барана	50,0 мл
<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови; Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов</u>		<u>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</u>	
Добавки	На литр	Добавки	На литр
		Селективная добавка для <i>Staphylococcus spp.</i> и <i>Streptococcus spp.</i>	
		Налидиксовая кислота	15,0 мг
		Колистина сульфат	10,0 мг

Количество используемой в качестве добавки дефибринированной крови барана рассчитывается строго из соотношения 50 мл дефибринированной крови барана на 1 л готовой питательной среды Агар колумбийский с бараньей кровью (во всех вариантах исполнения).

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

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

Одна чашка содержит примерно 20 мл готовой среды.

pH $7,3 \pm 0,2$ при 25°C

Цвет	Красный
Прозрачность	Матовый
Консистенция	Гель
Весовая дозировка	16,0 г $\pm$ 2,0 г

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 Агара колумбийского с содержанием бараньей крови; Агара колумбийского с содержанием бараньих эритроцитов; Агара колумбийского с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина при помощи оптимального раствора инокулята

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

Положительные контроли:

Инокулят 10-100 КОЕ

Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Streptococcus pyogenes ATCC® 19615

Хороший рост, бело-серые колонии
Хороший рост, колонии светло-соломенного цвета,
 β -гемолиз

Количество колоний должно быть равно или больше 70% контрольной среды

Микробиологическое тестирование Агара колумбийского с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина при помощи оптимального раствора инокулята

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

Отрицательные контроли:
Инокулят $1 \cdot 10^3$ - $1 \cdot 10^4$ КОЕ

Escherichia coli ATCC® 25922 Ингибирование

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар колумбийский 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:

...ные петли/иглы для посева, газовая горелка для создания асептических условий, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный стеклянный пипет, стерильный микробиологический тампон, одноразовые перчатки, средства для гигиены глаз при посеве, стандарт мутности 0,5 по McFarland для приготовления суспензии микроорганизмов, инкубатор для поддержания температуры инкубации, УФ-лампа, 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 (кровь, моча, кал, мокрота, пунктаты, образцы из урогенитального тракта, смывы из носа и горла и др.). Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина также может быть использован для анализа образцов пищи.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Исследуемые образцы при необходимости растворяют в физиологическом растворе, гомогенизируют.
2. С помощью инокуляционной петли/иглы, пипетки, шпателя или тампона переносят исследуемые образцы или растворы образцов на поверхность чашек Петри с агаром колумбийским с бараньей кровью.
3. Инкубируют чашки Петри аэробно при 35-37°C в течение 18-24 часов.
4. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов.
5. Проводят подтверждающие реакции.

10. 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.

Контроль качества

Таблица 2

<i>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови; Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов; Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</i>			
<u>Микроорганизмы</u>		<u>Результаты</u>	
+ контроль			
<i>Staphylococcus aureus ATCC® 25923</i>		Хороший рост, бело-серые колонии	
<i>Streptococcus pyogenes ATCC® 19615</i>		Хороший рост, колонии светло-соломенного цвета, β-гемолиз	
<i>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови; Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов</i>		<i>Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина</i>	
<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>
- контроль		- контроль	
Неинокулированная среда	Без изменений	<i>Escherichia coli ATCC® 25922</i>	Ингибирование

10. 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 (1 месяц).

При появлении свойств, отличных от указанных в сопроводительной документации (например, изменение цвета среды), реагент следует забраковать.

11. 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 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 колумбийский с содержанием бараньей крови, Агар колумбийский с содержанием бараньих эритроцитов и Агар колумбийский с содержанием бараньей крови, налидиксовой кислоты и колистина 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

ООО «Средофф»
Генеральный директор



Ковивчак Н.Л.

«СОГЛАСОВАНО»
Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО
Минздрава России
д.м.н., профессор

« » 2013 г.

11 НОЯ 2013



Долгов В.В.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВО 6 ЛИСТОВ

«20» ноября 20 13 год

Генеральный директор
ООО «Средофф»

Ковивчак Н.Л.

