

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН «Государственный научный
центр прикладной микробиологии и
биотехнологии»



И.А. Дятлов

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

**Питательная среда для бактериологических исследований
Колумбийский агар сухой по ТУ 20.59.52-307-78095326-2018**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для бактериологических исследований Колумбийский агар сухой по ТУ 20.59.52-307-78095326-2018 (далее по тексту – Колумбийский агар) предназначен для бактериологических исследований *in vitro* в клинической лабораторной диагностике с целью первичного выделения из клинического материала широкого спектра микроорганизмов и их культивирования.

Колумбийский агар используется в качестве основы при приготовлении кровяного агара*) путем добавления в него 5 % дефибринированной бараньей крови (далее по тексту кровяной агар). Кровяной агар применяется для выделения из клинического материала большинства клинически значимых микроорганизмов (в том числе требовательных), их культивирования и выявления гемолитической активности при проведении микробиологической диагностики *in vitro*.

Область применения Колумбийского агара – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Колумбийский агар представляет собой мелкодисперсный порошок светло-жёлтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Колумбийский агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

*) в соответствии с п.9. МУК 4.2.1887–04 «Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов»

Кровь в комплект поставки не входит. Используемая для приготовления кровяного агара кровь должна быть разрешена к применению в установленном порядке

3.ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав питательной среды, обеспечивает рост широкого спектра микроорганизмов. Добавление дефибринированной бараньей крови к питательной среде позволяет культивировать многие виды требовательных микроорганизмов, включая пневмококки, листерии и коринебактерии, дает возможность наблюдать гемолитическую активность микроорганизмов и дифференцировать их по типу гемолиза:

α -гемолиз – питательная среда в зоне роста микроорганизмов приобретает зеленоватый оттенок за счет частичного разрушения эритроцитов и превращения гемоглобина в метгемоглобин; наиболее часто α -гемолиз вызывают зеленающие стрептококки;

β -гемолиз – обесцвечивание питательной среды в зоне роста микроорганизмов за счет полного лизиса эритроцитов крови, такой тип гемолиза характерен для стафилококков, β -гемолизирующих стрептококков, листерий, клостридий и некоторых других микроорганизмов;

γ -гемолиз – отсутствие гемолиза, цвет кровяного агара не изменяется.

4.СОСТАВ

Состав Колумбийского агара, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина сухой	10,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Пептон мясной	5,0
Натрий хлористый	5,0
Крахмал растворимый	1,0
Агар бактериологический	(12,0 $\pm$ 2,0)

pH от 7,0 до 7,4

Определение pH проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» в экстракте, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухой питательной среды 100 мл дистиллированной воды, настаивания с периодическим перемешиванием в течение 1 ч при температуре от 18 до 25 °С и последующего фильтрования через бумажный фильтр. Величина pH, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению pH

готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после стерилизации.

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность.

Специфическая активность Колумбийского агара и кровяного агара оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств тест-штаммов.

5.1. Колумбийский агар, приготовленный по п. 9.1.1 настоящей инструкции, должен обеспечивать через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в атмосфере 5-10 % CO_2 рост следующих тест-штаммов при посеве 0,1 мл взвеси из разведения 10^{-6} :

Streptococcus pyogenes Dick-1 в виде белых слизистых блестящих колоний диаметром 0,5-2,0 мм;

Staphylococcus aureus ATCC 25923 в виде белых слизистых блестящих колоний диаметром 0,5-2,0 мм.

5.2. Кровяной агар, приготовленный по п. 9.1.2 настоящей инструкции, должен обеспечивать через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в атмосфере 5-10 % CO_2 рост следующих тест-штаммов:

Neisseria meningitidis ATCC 13102 при посеве 0,1 мл взвеси из разведения 10^{-6} в виде полупрозрачных блестящих сероватого цвета колоний диаметром 0,5-1,5 мм с идеально ровными краями и отсутствием зон гемолиза;

Streptococcus pyogenes Dick-1 и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 при посеве 0,1 мл взвеси из разведения 10^{-6} в виде белых слизистых блестящих колоний диаметром 0,5-2,0 мм с зоной просветления (β -гемолиз) вокруг них;

Streptococcus pneumoniae ATCC 6305 при посеве 0,1 мл взвеси из разведения 10^{-5} в виде мелких полупрозрачных чётко очерченных, не склонных к слиянию колоний диаметром менее 1,0 мм с зоной α -гемолиза вокруг них.

Диагностическая эффективность культурального исследования образцов клинического материала с применением Колумбийского агара - не менее 98,0% при доверительной вероятности 90%

Диагностическая специфичность культурального исследования образцов клинического материала с применением Колумбийского агара с добавлением крови - не менее 0,94 при доверительной вероятности 90%, при нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл.

Диагностическая чувствительность культуральных исследований образцов с применением Колумбийского агара с добавлением крови - не менее 0,96 при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

6.1. Потенциальный риск применения Колумбийского агара в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.6.2012 – класс 2 б.

6.2. Колумбийский агар не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ. Во время работы необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук по ГОСТ 12.4.011-89.

6.3. Меры предосторожности при проведении исследований образцов клинического материала – соблюдение правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Уничтожение приготовленного Колумбийского агара и кровяного агара после проведения исследований осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре $(126 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

6.4. При использовании Колумбийского агара по назначению и в соответствии с инструкцией противопоказаний к применению нет.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- весы лабораторные 2 класса точности
- автоклав;
- чашки Петри;
- пипетки стеклянные или механические, позволяющие отбирать объёмы жидкости 5 мл;
- вода дистиллированная;
- кровь баранья дефибринированная стерильная;
- колбы стеклянные, объёмом не менее 1 л;
- термостат, обеспечивающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- оборудование и материалы для поддержания атмосферы с содержанием 5-10 % CO_2 (анаэроостат с газогенерирующим пакетом, «свечной» сосуд с парафиновой свечой или CO_2 -инкубатор).

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Основным биологическим материалом для исследования служат образцы клинического материала, взятые от больных (кровь, мокрота, моча, спинномозговая жидкость и другой биологический материал, подозрительный на содержание патогенов).

8.1. В Приказе Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», МУК 4.2.1887-04 и других нормативных документах для каждого конкретного случая указан способ забора и подготовки материала для исследования. Для проведения бактериологического исследования клинический материал от больных должен быть взят по возможности до назначения антибактериальных препаратов, точно из больного органа, в достаточном количестве и доставлен в лабораторию в течении двух часов в термоконтейнере или в течении 2 суток при условии хранения и транспортирования материала при температуре 2-8°C в специальных транспортных средах, разрешенных к применению и зарегистрированных в установленном порядке.

8.2. Идентификацию выросших микроорганизмов проводят в соответствии с Приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535, МУК 4.2.1887-04 и другими нормативными документами. Лабораторная диагностика основана на результатах бактериологического исследования. Бактериологическое исследование включает в себя микроскопию мазков из исследуемого материала, выделение чистой культуры и идентификацию возбудителя по культурально-морфологическим, ферментативным и патогенным свойствам, гемолитической активности на кровяном агаре.

Колумбийский агар и питательные среды на основе колумбийского агара**) также используются при работе с чистыми культурами микроорганизмов.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами (например, врач клинической лабораторной диагностики, врач-бактериолог, врач - медицинский микробиолог, врач-лаборант, иной специалист, ознакомленный с требованиями настоящей Инструкции по применению).

**) В соответствии с МУК 4.2.1887-04 «Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов»

9.1. Подготовка к анализу

9.1.1. Приготовление Колумбийского агара.

Навеску Колумбийского агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды по ГОСТ 6709-72, нагревают до кипения, стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охлаждают до температуры (45±5) °С и разливают по (20±5) мл в стерильные чашки Петри.

9.1.2. Приготовление кровяного агара.

В 1 л раствора Колумбийского агара, приготовленного по п. 9.1.1. и охлажденного до температуры (45 ± 5) °С, добавляют 50,0 мл стерильной бараньей дефибринированной крови, взбалтывают, избегая образования пены, и разливают по (20±5) мл в стерильные чашки Петри диаметром 90 мм.

9.2. Готовые среды в чашках Петри можно использовать в течение 10 дней после приготовления при условии хранения их в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С.

9.3. Посев и учет результатов осуществляют в соответствии с требованиями Приказа Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535, МУК 4.2.1887-04 и другими нормативными документами, регламентирующими проведение анализа конкретного клинического образца с использованием кровяного агара или Колумбийского агара.

10. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ (УНИЧТОЖЕНИЮ)

10.1. Серии Колумбийского агара, пришедшие в негодность, серии с истекшим сроком годности, а также упаковка (полиэтиленовые банки) после полного израсходования содержимого, подлежат утилизации (уничтожению) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам), любым способом, предотвращающим повторное использование.

10.2. Утилизация (уничтожение) осуществляется предприятиями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий должен соблюдать правила безопасности проведения способа уничтожения.

10.3. Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной медицинской организации, использующей в своей работе медицинские изделия. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных

санитарных правил и утверждается руководителем организации. Ответственность за уничтожение изделия несут субъекты обращения изделий.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

11.1. Колумбийский агар в упаковке производителя хранят на складе в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°C и относительной влажности не более 60 %.

11.2. После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°C, избегая попадания влаги.

Медицинское изделие Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой» хранившееся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

Срок годности: Колумбийского агара - 2 года.

Медицинское изделие Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой» с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

Медицинское изделие Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой» транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °C не более 7 суток.

Медицинское изделие Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой», транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой», заявленным в ТУ 20.59.52-307-78095326-2018 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения, транспортирования и применения.

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия Питательная среда для бактериологических исследований «Колумбийский агар сухой» по ТУ 20.59.52-307-78095326-2018, получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-

изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-10, 36-00-20, факс 36-01-16.

Заместитель директора
по научно-производственной работе



А.П.Шепелин

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Варнавичус П.К.

«20» 04

2020 г.

ПРОШУ
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«20» 04 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнаванус П.К.

