

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

Дятлов И.А.

2018 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

«Основа агара Байрд-Паркера сухая»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие «Основа агара Байрд-Паркера сухая» после внесения добавок¹⁾ используется для проведения бактериологического исследования клинического материала, предположительно инфицированного стафилококками, с целью выделения возбудителя стафилококковой инфекции и идентификации его принадлежности к патогенным стафилококкам по признаку проявления лецитиназной активности.

Идентификация осуществляется качественным методом.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Основа агара Байрд-Паркера представляет собой мелкодисперсный гигроскопичный порошок светло-желтого цвета.

Основа агара Байрд-Паркера выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2 % раствор теллурита калия и желточная эмульсия в комплект поставки не входит.

2.1. Принцип действия

Основа агара Байрд-Паркера с внесёнными добавками, обеспечивает питательные потребности для визуального обнаружения роста стафилококков, в том числе патогенных для человека *Staphylococcus aureus*. Глицин и пируват натрия стимулируют рост стафилококков. Хлорид лития и теллурид калия подавляют рост большинства сопутствующих микроорганизмов. Все стафилококки характеризуются наличием фермента - теллуритрeredуктазы, поэтому, на среде агар Байрд-Паркера образуют колонии черного цвета в связи с восстановлением теллурида калия до теллура. Желточная эмульсия является субстратом, необходимым для определения лецитиназы. После добавления желтка среда становится светло-желтой и непрозрачной. Ста-

¹⁾ 2 % раствор теллурита калия и желточная эмульсия



филококки, продуцирующие лецитиназу, разлагают яичный желток, в результате чего вокруг выросших колоний формируются характерные прозрачные и матовые зоны. Проявление лецитиназной активности является важным показателем патогенности стафилококков.

2.2. Состав

Основа агара Байрд-Паркера представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина	10,0
Пептон ферментативный	5,0
Дрожжевой экстракт	3,0
Литий хлористый	5,0
Натрий пировинограднокислый	10,0
Кислота аминокислотная (глицин)	5,0
Натрий углекислый	0,2±0,1
Агар бактериологический	12,0±3,0

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 основы агара Байрд-Паркера 100 мл дистиллированной воды, настаивания с периодическим перемешиванием в течение 1 ч при температуре 18-25 °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 среды и внесения добавок: теллурита калия и желточной эмульсии.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ²⁾

3.1. Специфическая активность.

Специфическая активность основы агара Байрд-Паркера оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на *приготовленной среде (основа + добавки)*.

Основа агара Байрд-Паркера с внесенными добавками должна обеспечивать при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма через (48±3) ч инкубации при температуре

²⁾ Биологические показатели (специфическая активность и ингибирующие свойства) определяют после внесения в основу агара Байрд-Паркера 2 % раствора теллурита калия и желточной эмульсии

(37±1) °C визуально обнаруживаемый рост *Staphylococcus aureus* «Вютко», *Staphylococcus aureus* Wood-46 из разведения 10⁻⁶, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Staphylococcus saprophyticus* CCM 883 из разведения 10⁻⁵ в виде:

- колонии *S. aureus* «Вютко», - черного цвета, диаметром от 1,0 до 2,0 мм, окруженные прозрачной зоной;
- колонии *S. aureus* Wood-46 черного цвета, диаметром от 1,0 до 2,0 мм, окруженные прозрачной и матовой зонами;
- колонии *S. epidermidis* ATCC 14990, *S. saprophyticus* CCM 883 – точечные колонии черного цвета.

3.2. Ингибирующие свойства

Основа агара Байрд-Паркера с внесенными добавками должна частично подавлять рост и роение тест-штамма *Proteus mirabilis* 3177 из разведения 10⁻⁵ на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси через (48±3) ч инкубации при температуре (37±1) °C. Колонии *P. mirabilis* 3177 - коричневого цвета в R-форме.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения медицинского изделия «Основа агара Байрд-Паркера сухая» в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.6.2012 - класс 2 б.

4.2. В состав среды входит литий хлористый, который может вызывать раздражение органов дыхания и рук. Во время работы необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук.

4.3. При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.4. При использовании медицинского изделия «Основа агара Байрд-Паркера сухая» по назначению и в соответствии с настоящей инструкцией противопоказаний к применению изделия нет.

4.5. МИ «Основа агара Байрд-Паркера сухая» не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37±1°C
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл

- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы, воронки стеклянные
- 2 % раствор теллурита калия
- Желточная эмульсия

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Стафилококковая инфекция - группа острых и хронических оппортунистических гнойно-воспалительных заболеваний, вызываемых стафилококками, поэтому, в качестве образцов для исследования, используется гнойное отделяемое любых пораженных органов и тканей, а также испражнения, моча, кровь.

6.2 Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и другими нормативными документами.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление **среды** Агар Байрд-Паркера (Основа агара Байрд-Паркера с внесенными добавками)

7.1.1 Приготовления желточной эмульсии *ex tempore*:

Свежее куриное яйцо с неповрежденной скорлупой моют щеткой с применением жидких моющих средств, ополаскивают проточной водой, дезинфицируют погружением на 30 с в 70 % (объем/объем) этиловый спирт с последующим просушиванием на воздухе или, после того как раствор спирта стечет, яйцо фламбируют в пламени горелки. С соблюдением правил асептики разбивают скорлупу яйца и отделяют желток от белка, поочередно перенося желток из одной половинки скорлупы в другую. Желток помещают в стерильную колбу со стеклянными бусинами и добавляют 150 мл стерильного 0,9% стерильного раствора натрия хлористого. Смесь тщательно перемешивают. Приготовленную эмульсию можно хранить при температуре $(8 \pm 1) ^\circ\text{C}$ не более 72 ч.

7.1.2 Внесение в основу добавок

Навеску основы агара Байрд-Паркера в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Стерилизуют автоклавированием при температуре 121°C в течение 15 мин, охлаждают до температуры 45-50 °C, добавляют в асептических условиях на 1 л среды 5 мл 2 % раствор теллурита калия и 50 мл желточной эмульсии, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки подсушивают.

Приготовленная **среда** Агар Байрд-Паркера (Основа агара Байрд-Паркера с внесенными добавками), разлитая в чашки Петри, непрозрачная, светло-желтого цвета.

Приготовленную **среду** Агар Байрд-Паркера можно использовать в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре от 2 до 8 °C.

После каждого вскрытия и проведения необходимых анализов банку с основой плотно закрыть и поместить на дальнейшее хранение.

7.2. После соответствующей подготовки по п. 6.2 исследуемый материал вносят на две чашки Петри с приготовленной **средой** Агар Байрд-Паркера, стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре (37±1)°C в течение (48±3) ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через (48±3) ч инкубации при температуре (37±1) °C. Визуально учитывают наличие и характер роста колоний, отбирая колонии черного цвета, окруженных прозрачной зоной и черные колонии, окруженные прозрачной и матовой зоной. При этом, необходимо учитывать, что полученные результаты не являются единственным, определяющим диагноз признаком и требуют дополнительной информации для принятия медицинского решения (например, результаты параллельных посевов на другие дифференциально-диагностические среды, тест на плазмокоагулазу, окисление маннита). Обнаружение патогенов, (в любом количестве), в образце клинического материала после высева на агар Байрд-Паркера свидетельствует о *присутствии стафилококка* в образце, наличие которого *может являться* причиной предполагаемого заболевания.

Окончательную идентификацию выделенных культур стафилококков проводят с учетом дополнительных тестов, в том числе, теста на плазмокоагулазу, в соответствии с приказом Минздрава СССР № 535 и другими нормативными документами.

Для получения достоверных результатов посеvy образцов производить не менее чем в трех повторностях.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Серии основы агара Байрд-Паркера, пришедшие в негодность (нарушение целостности упаковки), а также в связи с истекшим сроком годности, утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы, любым способом, предотвращающим повторное использование, например, сжиганием.

Уничтожение приготовленной **среды** (основа агара Байрд-Паркера с внесенными добавками) после проведения исследования клинического материала 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 $(126 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Обращение с медицинскими отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации, осуществляющей медицинскую и (или) фармацевтическую деятельность. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Основу агара Байрд-Паркера необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°C и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку с основой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30°C , избегая попадания влаги.

Основу агара Байрд-Паркера транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения. Допускается транспортирование от минус 18 до плюс 40°C не более 7 суток.

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия «Основа агара Байрд-Паркера сухая» заявленным в ТУ 20.59.52-263-78095326-2017 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортирования.

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

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия «Основа агара Байрд-Паркера сухая», получения консультации обращаться в адрес предприятия-изготовителя:

142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора

по научно-производственной работе

Шепелин А.П.

«Согласовано»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Варнавичус П.К.

« 31 »

03

2018 г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«31» 03 2018 год

Ген. Директор
ООО «ВБМТЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

