

«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора

от _____ г. № _____

Генеральный директор
ООО «Средофф»



Ковивчак Н.Л.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ
«Агар шоколадный с факторами роста»

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 гемина. 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 чашка содержит примерно 20 мл готовой среды.

pH $7,2 \pm 0,2$ при 25°C

Цвет	Коричневый
Прозрачность	Матовый
Консистенция	Гель
Весовая дозировка	16,5 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 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

Хороший рост, серо-коричневые колонии

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 19424

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

Хороший рост, серые колонии

Candida albicans ATCC® 10231

Хороший рост, выпуклые кремовые колонии

Proteus hauseri (vulgaris) ATCC® 13315

Хороший рост, серые колонии, растущие в виде концентрических окружностей

* *Proteus hauseri* ATCC® 13315 и *Proteus vulgaris* ATCC® 13315 являются двумя идентичными названиями одного и того же микроорганизма.

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 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для постановки анализа дополнительно требуются следующие виды оборудования, средств измерения и материалов:

инокуляционные петли/иглы для посева, газовая горелка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный стеклянный шпатель, стерильный микробиологический тампон, 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 – образцы из организма человека (кровь, моча, кал, мокрота, пунктаты, образцы из урогенитального тракта, смывы из носа и горла и др.).

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. С помощью инокуляционной петли/иглы, шпателя или тампона переносят исследуемые образцы на поверхность чашек Петри с агаром шоколадным с факторами роста.
2. Инкубируют чашки Петри при 35-39°C в течение 36-48 часов. Атмосфера инкубации (аэробная или анаэробная) зависит от вида исследуемого микроорганизма.
3. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов.
4. 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 1

Микроорганизмы	Результаты
+ контроль	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 49926	Хороший рост, серо-коричневые колонии
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 19424	Хороший рост, серые колонии
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Хороший рост, серые колонии
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Хороший рост, выпуклые кремовые колонии
<i>Proteus hauseri</i> (<i>vulgaris</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.

11. 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.

12. 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 (1 месяц).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром шоколадным с факторами роста в течение 1 недели.

13. 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 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

ООО «Средофф»
Генеральный директор



Ковивчак Н.Л.

«СОГЛАСОВАНО»
Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО
Минздрава России
д.м.н., профессор
«21» мая 2014 г.



Долгов В.В.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 6 ЛИСТОВ
« 30 05 20 14 год
Генеральный директор
ООО «Средофф»
Ковивчак Н.Л.

