

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro

Набор реагентов Готовая питательная среда

Агар Мюллера-Хинтона»

по ТУ 9385 – 006 – 83805215 - 2008

в вариантах исполнения

дата утверждения 18.01.2008 г., дата актуализации 24.06.2022 г.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Вспомогательное медицинское изделие для диагностики in vitro «Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» по ТУ 9385 – 006 – 83805215 – 2008 в вариантах исполнения» (далее по тексту – Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона») предназначено для качественного определения чувствительности микроорганизмов, в том числе гемолитических, выделенных из клинических образцов человека, к антибиотикам и сульфаниламидам диско-диффузионным методом при проведении микробиологической диагностики in vitro с целью диагностики инфекционных заболеваний.

Описание целевого анализата, сведения о его научной обоснованности:

Целевым анализатом являются микроорганизмы, выделенные из клинических образцов человека. При этом используют диско-диффузионный метод Кирби–Бауэр с дисками, импрегнированными антибактериальными препаратами. В ходе исследования устанавливается качественная характеристика – наличие или отсутствие чувствительности микроорганизмов в клинических образцах человека к антибиотикам и сульфаниламидам диско-диффузионным методом. Измеряются пограничные значения диаметров зон задержки роста, и интерпретируются согласно стандартам EUCAST или CLSI в три качественные категории интерпретации: S – чувствителен; I – промежуточная чувствительность; R – устойчив. Определение чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам при проведении микробиологической диагностики in vitro проводятся в соответствии со стандартами CLSI и EUCAST с применением агара Мюллера-Хинтона. Для части микроорганизмов в стандарте CLSI определено обогащение агара Мюллера-Хинтона 5% овечьей кровью (*Streptococcus spp.* и *Neisseria meningitidis*), тогда как EUCAST использует агара Мюллера-Хинтона, дополненный 5% лошадиной кровью и 20 мг/л β-НАД (*Streptococcus spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Pasteurella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Kingella kingae*, *Aerococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*). В стандартах CLSI отсутствуют зоны задержки роста для *Aerococcus spp.*, *Kingella kingae*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium spp.*, а в EUCAST – для *N.gonorrhoeae*, *N.meningitidis*, *Burkholderia cepacia*, *Vibrio spp.* Результаты определения чувствительности к антимикробным препаратам предназначены не только для лечения конкретного пациента, но и для целей инфекционного контроля, оптимизации антибактериальной терапии в стационаре.

Функциональное назначение:

Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» используется в качестве вспомогательного средства в диагностике in vitro для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и сульфаниламидам диско-диффузионным методом при проведении микробиологической диагностики инфекционных заболеваний. Результаты теста с Набором реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» не должны использоваться в качестве единственного средства для постановки диагноза.

Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие для диагностики in vitro:

Микроорганизмы могут вызывать широкий диапазон заболеваний, начиная с лёгких кожных инфекций: угри, импетиго, фурункул, флегмона, карбункул, абсцесс и др. – до смертельно опасных заболеваний: пневмония, менингит, остеомиелит, эндокардит, холера, инфекционно-токсический шок, сепсис и прочие заболевания. Все микроорганизмы по степени патогенности для макроорганизма человека делятся на три группы: патогенные, сапрофиты и условно-патогенные. Патогенные – это возбудители инфекционных болезней человека. Сапрофиты или непатогенные – это микробы, питающиеся мертвыми тканями растений и животных или продуктами их жизнедеятельности. Условно-патогенные – это микробы, оказывающие болезнетворное воздействие на макроорганизм при определенных условиях, т.е. когда они попадают во внутреннюю среду макроорганизма в больших количествах на фоне резкого снижения резистентности макроорганизма. Входными воротами могут быть: кожные покровы; слизистые оболочки дыхательных путей; слизистые оболочки ЖКТ; слизистая оболочка мочеполовых органов; стенки кровеносных и/или лимфатических сосудов, через которые возбудитель поступает в кровь или лимфу.

Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» предназначен для определения чувствительности микроорганизмов, из клинических образцов человека, к антибиотикам и сульфаниламидам диско-диффузионным методом при проведении микробиологической диагностики in vitro. Диагностика инфекционных заболеваний необходима для установления диагноза и эффективного контроля заболеваемости.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика, медицинская микробиология. Только для профессионального использования специалистами: врач-бактериолог, врач-микробиолог, врач-инфекционист, врач-эпидемиолог и др., медицинский технолог, лаборант, фельдшер.

Показания:

Для Исполнения 1 изделие предназначено для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам при проведении микробиологической диагностики *in vitro* в соответствии со стандартами CLSI и EUCAST.

Для Исполнения 2 изделие предназначено для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам при проведении микробиологической диагностики *in vitro* в соответствии со стандартами CLSI.

Для Исполнения 3 изделие предназначено для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам при проведении микробиологической диагностики *in vitro* в соответствии со стандартами EUCAST.

Противопоказания: не применимо к данному изделию.

Возможные побочные действия: не применимо к данному изделию.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Наименование, варианты исполнения, фасовки и комплектации медицинского изделия:

Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» по ТУ 9385 – 006 – 83805215 – 2008 в вариантах исполнения.

Варианты исполнения:

I. Исполнение 1, варианты комплектации:

1. Комплект №1 (РЕФ Ч0806.1), в составе:

1.1 Чашки Петри по 25 мл – 20 шт.

1.2 Инструкция по применению – 1 шт.

1.3 Паспорт качества – 1 шт.

2. Комплект №2 (РЕФ Ч0806.1), в составе:

2.1 Чашки Петри по 25 мл – 100 шт.

2.2 Инструкция по применению – 1 шт.

2.3 Паспорт качества – 1 шт.

3. Комплект №3 (Ф0806.C200), в составе:

3.1 Флаконы по 200 мл – 6 шт.

3.2 Инструкция по применению – 1 шт.

3.3 Паспорт качества – 1 шт.

4. Комплект №4 (П0806.1), в составе:

4.1 Пробирки по 7 мл – 20 шт.

4.2 Инструкция по применению – 1 шт.

4.3 Паспорт качества – 1 шт.

II. Исполнение 2 с бараньей кровью, варианты комплектации:

1. Комплект №1 (РЕФ Ч0806.2), в составе:

1.1 Чашки Петри по 25 мл – 20 шт.

1.2 Инструкция по применению – 1 шт.

1.3 Паспорт качества – 1 шт.

2. Комплект №2 (РЕФ Ч0806.2), в составе:

2.1 Чашки Петри по 25 мл – 100 шт.

2.2 Инструкция по применению – 1 шт.

2.3 Паспорт качества – 1 шт.

III. Исполнение 3 с лошадиной кровью, варианты комплектации:

1. Комплект №1 (РЕФ Ч0806.3), в составе:

1.1 Чашки Петри по 25 мл – 20 шт.

1.2 Инструкция по применению – 1 шт.

1.3 Паспорт качества – 1 шт.

2. Комплект №2 (РЕФ Ч0806.3), в составе:

2.1 Чашки Петри по 25 мл – 100 шт.

2.2 Инструкция по применению – 1 шт.

2.3 Паспорт качества – 1 шт.

I. Исполнение 1, варианты комплектации:

Номер комплектации	Чашки Петри по 25 мл	Флаконы по 200 мл	Пробирки по 7 мл	Инструкция	Паспорт качества
Комплект №1 (РЕФ Ч0806.1)	20 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.
Комплект №2 (РЕФ Ч0806.1)	100 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.
Комплект №3 (Ф0806.C200)	-	6 шт.	-	1 шт.	1 шт.
		-	20 шт.	1 шт.	1 шт.

II. Исполнение 2, с бараньей кровью варианты комплектации:

Номер комплектации	Чашки Петри по 25 мл	Флаконы по 200 мл	Пробирки по 7 мл	Инструкция	Паспорт качества
Комплект №1 (РЕФ Ч0806.2)	20 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.
Комплект №2 (РЕФ Ч0806.1)	100 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.

III. Исполнение 3, с лошадиной кровью варианты комплектации:

Номер комплектации	Чашки Петри по 25 мл	Флаконы по 200 мл	Пробирки по 7 мл	Инструкция	Паспорт качества
Комплект №1 (РЕФ Ч0806.3)	20 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.
Комплект №2 (РЕФ Ч0806.1)	100 шт.	-	-	1 шт.	1 шт.

Состав среды:

Расчетный состав на 1000 мл дистиллированной воды:

	Исполнение 1	Исполнение 2	Исполнение 3
Казеин (бычий)	17,5 г	17,5 г	17,5 г
Мясной экстракт	2 г	2 г	2 г
Картофельный крахмал	1,5 г	1,5 г	1,5 г
Агар	17 г	17 г	17 г
Ионы Са ⁺⁺	50 мг	50 мг	50 мг
Ионы Mg ⁺⁺	25 мг	25 мг	25 мг
Кровь баранья	-	50 мл	-
Кровь лошадиная	-	-	50 мл
β-никотинамидадениндинуклеотид (β-НАД)	-	-	0,02

Принцип действия:

Для изделия в Исполнении 1 Готовая питательная среда агар Мюллера-Хинтона является классической средой для определения чувствительности микроорганизмов к противомикробным лекарственным средствам. Определение чувствительности основано на образовании зон задержки роста вокруг дисков с антибактериальными препаратами чувствительными микроорганизмами и последующей регистрацией диаметров этих зон.

Имеющийся в составе казеин и мясной экстракт являются источником углерода, азота и других факторов роста для большинства неприхотливых клинически значимых бактерий (энтеробактерии, не обладающие способностью к брожению грамотрицательные палочки, стафилококки и энтерококки).

Состав среды подобран таким образом, чтобы оказывать минимальное влияние на результат тестов на чувствительность к антибиотикам – крахмал адсорбирует все токсические вещества, образующиеся в среде при культивировании.

Определенная концентрация двухвалентных ионов способствует получению более точных результатов чувствительности псевдомонад к аминогликозидам и тетрациклинам. Тимин-тимидин (ингибитор сульфамида) в низкой концентрации предотвращает рост вокруг дисков, что позволяет точно определять диаметр зон ингибирования роста.

Для изделия в Исполнении 2 добавление крови барана к агару Мюллера-Хинтона, представленному в Исполнении 1, является дополнительным фактором роста для микроорганизмов, которым для роста необходима баранья кровь, и позволяет определять чувствительность этих микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Для изделия в Исполнении 3 добавление крови лошади к агару Мюллера-Хинтона, представленному в Исполнении 1, является дополнительным фактором роста для микроорганизмов, которым для роста необходима лошадиная кровь, и позволяет определять чувствительность этих микроорганизмов к антимикробным препаратам.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

1 Внешний вид

Агар Мюллера-Хинтона является медицинским изделием одноразового применения и представляет собой стерильную готовую питательную среду, асептично разлитую в чашки Петри, либо во флаконы, либо в пробирки.

Среда в Исполнении 1 по внешнему виду представляет собой загустевшую прозрачную светло-желтую массу.

Среды в Исполнении 2 и 3 с добавлением бараньей или лошадиной крови приобретают красный цвет.

Среда готова к использованию, разливается по 25 мл в чашки Петри (90 мм), либо во флаконы вместимостью 200 мл, либо в пробирки вместимостью 12 мл.

2 Технические характеристики:

2.1 Контроль толщины слоя агара: проведение контроля осуществляется путем измерения толщины слоя агара штангенциркулем (линейкой). При этом толщина слоя агара должна составлять $4,0 \pm 0,5$ мм (что приблизительно соответствует 25 мл среды на круглую чашку Петри диаметром 90 мм)

2.2 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.

2.3 Концентрация водородных ионов, ед.: рН $7,3 \pm 0,1$ при 25°C. Определение рН в соответствии с МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

3 Функциональные характеристики:

3.1 Чувствительность среды – визуально обнаруживаемый рост колоний при максимальном разведении культуры и температуре инкубации 36±1°C.

Тест-штаммы	Время инкубации, час		
	Исполнение среды 1 при разведении 10 ⁻⁶ 21±1 ч инкубации	Исполнение среды 2	Исполнение среды 3
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	-	при разведении 10 ⁻⁶ 18±2 ч инкубации	при разведении 10 ⁻⁶ 18±2 ч инкубации
Streptococcus pneumonia ATCC 49619	-	при разведении 10 ⁻⁶ 20±2 ч инкубации	при разведении 10 ⁻⁶ 20±2 ч инкубации
Staphylococcus aureus ATCC 25923	-	при разведении 10 ⁻⁶ 18±2 ч инкубации	при разведении 10 ⁻⁶ 18±2 ч инкубации

3.2 Ростовые характеристики засеянных штаммов после инкубации при 36±1°C в течение 18-48 часов при помощи оптимального раствора инокулята (10³-10⁴ КОЕ/мл)

Микробиологическое тестирование: Функциональные характеристики готовой питательной среды Агар Мюллера-Хинтона признаются удовлетворительными, если все контрольные штаммы проявляются себя на данной среде в соответствии со спецификациями:

Тест-штаммы	Ростовые характеристики		
	Исполнение среды 1	Исполнение среды 2	Исполнение среды 3
Escherichia coli ATCC 25922	Хороший рост	-	-
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	-	Хороший рост	Хороший рост
Streptococcus pneumonia ATCC 49619	-	Хороший рост	Хороший рост
Staphylococcus aureus ATCC 25923	-	Хороший рост	Хороший рост

3.3 Показатель скорости роста микроорганизмов (не менее 100 колоний) – минимальное время инкубации при температуре 36±1°C и соответствующем разведении, при котором отчетливо виден невооруженным глазом рост культуры

Тест-штаммы	Время инкубации, час			
	Разведение	Исполнение среды 1	Исполнение среды 2	Исполнение среды 3
Escherichia coli ATCC 25922	10 ⁻⁶	Время инкубации 22±1 ч	-	-
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	10 ⁻⁶	-	Время инкубации 18±2 ч	Время инкубации 18±2 ч
Streptococcus pneumonia ATCC 49619	10 ⁻⁶	-	Время инкубации 20±1 ч	Время инкубации 20±1 ч
Staphylococcus aureus ATCC 25923	10 ⁻⁶	-	Время инкубации 18±2 ч	Время инкубации 18±2 ч

3.4 Чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам – готовая питательная среда должна обеспечивать на всех засеянных чашках Петри равномерный рост тест-штаммов Escherichia coli ATCC 25922 (в исполнении 1), Streptococcus pyogenes ATCC 19615, Streptococcus pneumonia ATCC 49619 и Staphylococcus aureus ATCC 25923 (в исполнениях 2 и 3) в виде газона с образованием четких соответствующего диаметра зон угнетения их роста вокруг дисков с антибиотиками (в соответствии с таблицей) при посеве по 2 мл взвеси каждого тест-штамма из разведения 10⁻¹ (10⁸ КОЭ/мл) через 18-24 ч инкубации при температуре 36±1°C.

№ п/п	Антимикробный препарат в диске	Концентрация в диске, мкг (ЕД)	Диаметр зон задержки роста тест-штаммов, мм			
			E. coli ATCC 25922	S. pyogenes ATCC 19615	S. pneumonia ATCC 49619	S. aureus ATCC 25923
1	Ампициллин	10	16 - 22	-	-	-
2	Бензилпенициллин	1	-	16-22	16-22	12-18
3	Гентамицин	10	19 - 26	-	-	19-25
4	Левифлоксацин	5	-	21-27	21-27	21-27
5	Меропенем	10	-	-	30-38	-
6	Нитрофурантоин	100	17 - 23	-	-	-
7	Триметоприм/сульфаметоксазол	1,25/23,75	23 - 29	-	-	-
8	Цефотаксим	30	25 - 31	-	-	-
9	Эритромицин	15	-	26-32	26-32	-

Стерильность изделия

Согласно ГОСТ Р ЕН 12322-2010 среда относится к готовым к употреблению питательным средам, произведенным таким образом, что их контаминация исключена или снижена до приемлемо низкого уровня.

Процесс приготовления и розлива среды полностью автоматизирован. В специализированных машинах для варки

(стерилизацию) при 121 °С в течение 15 минут, подача смеси в устройство для розлива среды в чашки Петри (флаконы, пробирки), который осуществляется в чистой зоне под ламинарным потоком. Контаминация среды в процессе производства исключена.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения питательной среды – класс 2a (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 №4)

- Изделие предназначено только для диагностики *in vitro*.
- Изделие предназначено для одноразового использования.
- К работе допускается квалифицированный в области клинической лабораторной диагностики персонал.
- Изделие предназначено для профессионального применения. Все манипуляции с изделием после вскрытия первичной упаковки должны осуществляться профессионалами.
- Данное изделие содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных, от которых были получены данные материалы, не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных микроорганизмов. Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с законодательством и нормативными актами Российской Федерации, и меры предосторожности в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», «Правилами устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (с изменениями на 25 ноября 2020 года).
- Анализ с использованием изделия необходимо проводить в помещении класса чистоты В.
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте изделия со следами контаминации.
- Изделие стерильно. Перед использованием убедитесь в целостности упаковки и емкости. В случае нарушения целостности упаковки, изделие подлежит утилизации.
- Избегайте микробной контаминации реагента.
- При работе с реагентом следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности»
- Не используйте контрольные штаммы микроорганизмов с истекшим сроком годности.
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание анамнестические данные больного, источник выделения микроорганизма, морфологию колоний, данные клеточной микроскопии, а также результаты других проведенных исследований.
- Данное изделие не может быть единственным методом диагностики. Результаты анализа не могут быть использованы в качестве единственного показателя при постановке диагноза.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

- Термостат суховоздушный
- Петля бактериологическая
- Ионметр потенциометрический (рН-метр)
- Тест-штампы микроорганизмов, выделенные из клинических образцов
- Стерильная пипетка
- Диски, пропитанные раствором антибиотиков
- Стерильные пинцеты
- Микроскоп медицинский прямой для лабораторных исследований, биологический
- Термоиндикатор
- Штангенциркуль
- Холодильник электрический (холодильная камера) с диапазоном стабилизируемых температур (2-8°С)
- Водяная баня (для изделий во флаконах)
- Ламинарный бокс класс II и др.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для изделия в Исполнении 1, 2 и 3 исследуемым материалом являются микроорганизмы, в том числе гемолитические, выделенные из клинических образцов человека – кровь, мокрота, моча, спинномозговая жидкость и другой биологический материал, подозрительный на содержание патогенов, в соответствии с МУ 4.2.2039-05.

Исследуемый материал должен быть цельным и не иметь посторонних включений и консервантов. Материал не предназначен для длительного хранения.

Забор и транспортировка исследуемых образцов осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа» и МУ 4.2.2039-05 «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Образцы ликвора. Сбор проб проводят медленным заполнением трех пробирок тремя порциями, полученного при люмбальной пункции из субарахноидального пространства между позвонками L3-L4, L4-L5 или L5-S1, а также при пунктировании боковых желудочков мозга. Используют стерильные пробирки с плотно закрывающимися крышками. Из трех пробирок с материалом, полученным при люмбальной пункции, в лабораторию всегда отправляют пробирку с самым мутным содержимым, как правило, это вторая пробирка в процессе сбора пробы. Транспортировка ликвора для микробиологического исследования осуществляется немедленно на грелке для сохранения температуры 35-37 °С.

Образцы биопсийного материала. Получают пробы во время операции, помещают в емкость с анаэробной средой или в стерильную пробирку с тиогликолевой средой, закрытую стерильной резиновой пробкой.

Материал отправляют в лабораторию немедленно. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

Образцы мокроты. Предпочтителен утренний сбор. Перед сбором пробы необходимо провести туалет ротовой полости пациенту. Пробу мокроты, полученную в результате глубокого кашля, собирают в специальный стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой.

Материал отправляют в лабораторию немедленно. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

Одновременно с пробой мокроты в лабораторию следует отправить пробу из глотки (зева), собранную после проведенного туалета полости рта и непосредственно перед сбором мокроты.

Образцы бронхоальвеолярной лаважной (БАЛ) жидкости. Образцы транстрахеальной биопсии получают введением бронхоскопа трансназально или трансорально неинтубированному больному или через эндотрахеальную трубку – у интубированного. Пробу собирают в специальный стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой.

Материал отправляют в лабораторию немедленно. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

Образцы мочи. Для микробиологического анализа используется утренняя моча, сбор суточной мочи для этих целей недопустим. Сбор утренней мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода. Пробу собирают в одноразовый стерильный контейнер с завинчивающейся крышкой свободно выпущенной мочи в количестве 3-7 мл. Материал отправляют в лабораторию в течение 2-х часов. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

Образцы стерильных жидкостей тела (кроме крови, ликвора, мочи). Соблюдая правила асептики, выполняют чрезкожную аспирацию для получения проб плевральной, перикардиальной, перитонеальной или синовиальной жидкостей. Удаляют любые пузырьки воздуха из шприца и немедленно переносят пробу в емкость с транспортировочной средой для анаэробов или в пробирку с тиогликолевой средой.

Минимальный объем жидкости, который необходимо направить в лабораторию для идентификации аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов, включая грибы и микобактерии, составляет 10-12 мл. При этом, следует иметь в виду, что больший объем пробы увеличивает возможность обнаружения патогена.

Образцы кала. Фекалии после дефекации собирают из предварительно продезинфицированного судна или горшка в стерильный одноразовый контейнер при помощи вмонтированного в его крышку стерильного шпателя-ложечки. При наличии в испражнениях патологических примесей: слизи, кровь, хлопья, гной – включают их в отбираемую пробу. Материал отправляют в лабораторию в течение 2-х часов. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более 3-4 часов.

Тампон с образцом: из глаз, ушей, рта, гортани, носа, уретры, простаты, шейки матки, прямой кишки, ран. Взятие материала производит лечащий врач при соблюдении правил асептики. Взятие гнойного отделяемого из различных очагов производят с помощью стерильного зонд-тампона, вмонтированного в стерильную одноразовую пробирку (тубсер).

Материал берется соответственно:

- из слизистой оболочки нижней переходной складки глаз, начиная с края века;
- вводят тампон в правую ноздрю и вращательными движениями собирают материал с крыльев носа и верхнего угла носового отверстия, затем также для левой ноздри;
- осторожными вращательными движениями по нижнему носовому ходу поочередно в обе ноздри вводят тампон в носоглотку;
- со слизистой глотки материал собирают, поочередно обрабатывая тампоном правую миндалину, правую небную дугу, левую миндалину, левую небную дугу, язычок, на уровне язычка касаются тампоном задней стенки глотки;
- при сборе пробы из уретры, материал собирают через 1 или 2 ч после освобождения мочевого пузыря – мочеиспускания, стимулируют образование отделяемого легким массажем уретры через влагалище;
- для сбора проб фекалий используют ректальный тампон. Вводят кончик стерильного зонда-тампона на 2,5-3,0 см за анальный сфинктер. Осторожно вращая тампон вокруг оси, собирают материал с крипт ануса и так же осторожно извлекают тампон;
- при наличии очагов воспалений или изъязвлений тампоном собирают материал из очага (очагов).

Материал, взятый зондом-тампоном, помещают в емкость с транспортировочной средой и доставляют в лабораторию. Транспортировка исследуемого материала должна быть не более чем через 1 час после взятия гнойного биоматериала. Материал отправляют в лабораторию немедленно. При невозможности доставить материал в течение этого времени, он должен храниться в холодильнике при температуре 2-8°С, но не более двух часов.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Подготовка к исследованию (для изделий во флаконах):

1. Снять защитный колпачок и ослабить пробку флакона.
2. Поместить на водяную баню флакон с питательной средой до полного расплавления агара.
3. Разлить питательную среду в стерильные чашки Петри (по 25 мл).
4. Оставить при комнатной температуре до полного остывания.

Посев инокулюма:

1. Приготовить бактериальную суспензию, соответствующую по плотности 0,5 по стандарту МарФарланда и содержащую примерно $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл. Инокулом следует использовать в течение 15 минут после приготовления.
2. Нанести инокулом пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1-2 мл.
3. Равномерно распределить по поверхности покачиванием, после чего удалить избыток инокулюма пипеткой.
4. Приоткрытые чашки подсушить при комнатной температуре в течение 10-15 мин.

Проведение анализа диско-диффузным методом:

– Не позднее чем через 15 мин после инокуляции на поверхность питательной среды нанести диски с антибактериальными препаратами. Аппликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета или автоматического диспенсера. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15-20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 90 мм следует помещать не более 6 дисков. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом.

– Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри поместить в термостат вверх дном и инкубировать при температуре 36 ± 1 °C в течение 18-24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).

Увеличение интервала времени между нанесением дисков на поверхность среды и началом инкубации (а соответственно – началом роста исследуемой культуры микроорганизма) приводит к «преддиффузии» антибактериальных препаратов в агар и к увеличению диаметра зоны подавления роста.

Примечание: Если Вы следуете стандарту CASFM, рекомендуется производить посев тампоном.

Регистрация результатов

По окончании инкубации чашки помещают вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом 45° (учет в отраженном свете). Диаметр зон задержки роста измеряют с точностью до 1 мм, предпочтительнее пользоваться питангенцирулем.

Интерпретация результатов должна проводиться согласно критериям, приведенным в отраслевых нормативных документах, например:

МУК 4.2.1890-04 Минздрава России «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»

Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2021-01. Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии.

Примечание: Для получения корректных результатов необходим сплошной рост культуры.

Контроль качества: Методы контроля качества изделия в соответствии с пунктом 3 настоящей инструкции и МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

Для контроля качества рекомендуется использовать следующие штаммы: *Escherichia coli* ATCC 25922,

Streptococcus pyogenes ATCC 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Для контроля катионного состава среды рекомендуется использовать штамм *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Для контроля содержания тимины и тимидина в среде рекомендуется использовать штамм *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Примечание: Сотрудники лаборатории несут ответственность за проверку качества среды (чистота, количество штаммов, температура культивирования и пр.) в соответствии с целями работы и установленными нормами, и правилами.

Ограничения метода:

Набор реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» имеет низкие питательные качества, поскольку предназначена для стандартизации зон ингибирования роста вокруг дисков с антибиотиками. Поэтому некоторые прихотливые микроорганизмы могут не вырасти на данной среде.

Метод посева тампоном, описанный в стандарте CASFM, не позволяет определить устойчивость *Staphylococcus aureus* к гликопептидам (VRSA). В этом случае рекомендуется следовать стандарту NCCLS.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Готовую питательную среду Агар Мюллера-Хинтона необходимо хранить в оригинальной герметичной упаковке при температуре +2 до +8°C и относительной влажности 47-64% в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

Транспортирование изделий должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре от +2 до +8°C.

Транспортирование изделий должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы или в авторефрижераторах с использованием термондикаторов.

При транспортировании, осуществлении погрузки и выгрузки изделия должны быть приняты меры, предохраняющие тару от механических повреждений, воздействия атмосферных осадков.

В процессе хранения не допускать повреждений упаковки, воздействий влаги, солнечного света, повышенных температур.

Изделия, хранившиеся и транспортированные с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат. При использовании и хранении изделие не оказывает вредного влияния на пациентов, медицинских работников и окружающую среду.

Срок годности готовой питательной среды Агар Мюллера-Хинтона в герметичной упаковке изготовителя – 3 месяца со дня приемки изделия отделом технического контроля.

Медицинское изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Срок годности изделия после вскрытия первичной упаковки:

– при комнатной температуре (18-25°C) – 24 часа.

– при соблюдении температурного режима (+2 до + 8°C) и правил асептики – 7 дней.

9. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Использованные изделия должны быть утилизированы согласно санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, как медицинские отходы от деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний 3-4 группы патогенности в медицинских целях (эпидемиологически опасные отходы, далее – класс Б), в том числе: отходы микробиологических, клинко-диагностических лабораторий.

Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, должны быть утилизированы согласно санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, как медицинские отходы класса А (эпидемиологически безопасные отходы, по составу приближенные к ТБО).

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования и утилизации изделия, проводят согласно СанПиН 2.1.3684-21.

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 используют зарегистрированные в РФ дезинфекционные средства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Уничтожение изделий, бывших в употреблении (отходов класса Б), осуществлять специализированными организациями, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими Федеральными законами, и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

10. СВЕДЕНИЯ ОБ ОСТАТОЧНЫХ РИСКАХ

Анализ рисков Набора реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона» был проведен в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011 коллективом специалистов ООО «Биомедиа», связанных с разработкой и производством этой питательной среды, включая представителей Отдела качества.

Большинство рисков, связанных с работой Набора реагентов «Готовая питательная среда Агар Мюллера-Хинтона», были снижены до приемлемых уровней с помощью анализа характеристик процесса.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

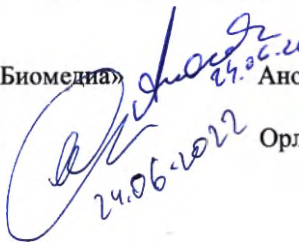
Медицинское изделие изготовлено компанией общество с ограниченной ответственностью «Биомедиа», ООО «Биомедиа», адрес места производства: 196006, г. Санкт-Петербург, улица Цветочная, дом 6, литера Р. Изготовитель гарантирует соответствие готовой питательной среды заявленным в ТУ 9385 – 006 – 83805215 - 2008 требованиям и функциональным характеристикам в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортировки.

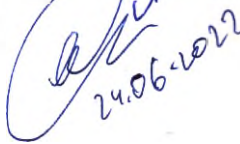
Рекламации на качество медицинского изделия в течение срока годности следует направлять на электронную почту info@bio-media.ru или в адрес предприятия-изготовителя: ООО «Биомедиа» 196006, г. Санкт-Петербург, Вн. тер. г. Муниципальный округ Московская Застава, ул. Цветочная, д. 6, литера Р, оф. 4, ком. 1, 8(812) 646-68-64.

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Наименование символа
	Использовать до....
	Код партии
	Номер по каталогу
	Хрупкое, обращаться осторожно
	Беречь от влаги
	Температурный диапазон
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Вверх, не кантовать
	Стерилизация паром или сухим теплом

Символ	Наименование символа
	Запрет на повторное применение
	Обратитесь к инструкции по применению
	Дата изготовления

Разработано: Руководитель отдела качества ООО «Биомедиа»  24.06.2022 Аносова О.А.

Согласовано: Главный технолог ООО «Биомедиа»  24.06.2022 Орлова О.А.

Прошито
Пронумеровано
Скреплено печатью
9 листа (ов)

Генеральный директор
А.С. Евдокимов

