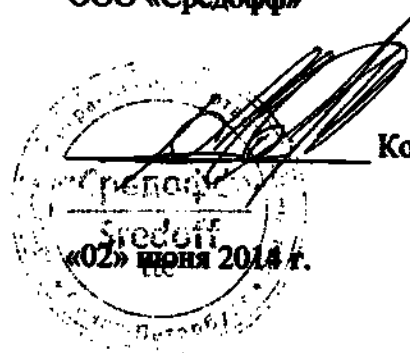


«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора

от _____ г. № _____

**Генеральный директор
ООО «Средофф»**



Ковивчак Н.Л.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ**

«Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином К1)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) предназначен для выращивания труднокультивируемых анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, выделенных из клинических образцов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) содержит компоненты, необходимые для роста микроорганизмов – источники главных химических элементов, являющихся составной частью органических и неорганических (минеральных) веществ. Среда богата питательными веществами, источником которых служат триптонно-соевый бульон, специальный пептон, дрожжевой экстракт и глюкоза. Дефибринированная кровь барана, включенная в качестве добавки в состав агара, не только является питательным субстратом, но и позволяет выявить гемолитические реакции исследуемых микроорганизмов. Присутствие в среде восстанавливающего агента (цистеина гидрохлорид), гемина и витамина K1 необходимо для роста большинства труднокультивируемых бактерий. Натрия хлорид, добавляемый к основе агара, обеспечивает изотоничность среды.

2.2. Состав

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) имеет следующий состав:

Стандартная формула	Грамм на литр
Триптонно-соевый бульон	10,0
Специальный пептон	5,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Глюкоза	5,0
Цистеина гидрохлорид	0,4
Гемин	0,01
Трис-буфер	0,75
Агар	13,5
Добавки	На литр
Натрия хлорид	4,0 г
Дефибринированная кровь барана	50,0 мл
Витамин K1	0,002 г

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) является медицинским изделием одноразового применения и представляет собой стерильную готовую питательную среду, асептично разлитую в чашки Петри.

Одна упаковка содержит 10 чашек с готовым агаром, расположенных в столбик по 5 шт.

Одна чашка содержит не менее 15 мл готовой среды.

Толщина слоя агара в чашке Петри составляет не менее 2 мм (МУ 2.1.4.1057-01 «Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды»).

pH $7,6 \pm 0,2$ при 25°C

Цвет	Вишнево-красный
Прозрачность	Матовый
Консистенция	Гель
Гомогенность	Гомогенный

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 35-37°C в течение 40-48 часов

Положительные контроли:

Инокулят 10-100 КОЕ

Bacteroides fragilis ATCC® 25285

Peptostreptococcus anaerobius ATCC® 27337

Clostridium sporogenes ATCC® 11437

Хороший рост, белые блестящие колонии

Хороший рост, белые блестящие колонии

Хороший рост, колонии соломенного
цвета с неровными краями, β-гемолиз

Количество колоний должно быть равно или больше 50% контрольной среды.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) 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 (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, 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.

Перечень оборудования, средств измерения и материалов, рекомендуемых для постановки анализа, приведен в приложении В ТУ 9385-002-11161893-2014 «Агар Шедлера с бараньей кровью (с геминем и витамином K1)». Допускается использование оборудования, средств измерения и материалов, по своим характеристикам не уступающим рекомендованным.

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Клинические образцы (биоматериал) – образцы из организма человека, предположительно содержащие труднокультивируемые анаэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (кровь, ликвор, раневое отделяемое, пунктаты различных органов и тканей).

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 клинко-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 крови

Взятие исследуемого материала

1. Забор проб крови для посева осуществляется в любое время суток независимо от приема пищи. Пробы для определения наличия в крови биологических агентов получают венепункцией периферических вен (чаще вены локтевого сгиба), артерий или из пятки у новорожденных, строго соблюдая правила асептики, чтобы избежать попадания в пробу микроорганизмов из внешней среды.

2. Кровь для посева следует брать до начала антибактериальной терапии, или, по крайней мере, через 12-24 часа после последнего введения препарата больному (в зависимости от скорости выведения примененного препарата из организма); в противном случае следует учесть, что антибиотические вещества в составе лекарственных препаратов, назначенных пациенту, могут отсрочить или предотвратить рост бактерий, что приведет к получению ложноотрицательного результата исследования. Следует учитывать также стадию заболевания, чтобы взять кровь для посева в то время, когда предполагается бактериемия, т.е. присутствие возбудителя в крови пациента.

3. При заборе пробы у взрослых получают 10-30 мл крови, у детей – 0,5-3,0 мл. Взятие крови осуществляется с последующим переносом пробы во флакон с жидкой питательной средой обогащения, которая также может содержать реагенты, нейтрализующие антибиотики и разрушающие форменные элементы крови, или двухфазной средой. Предварительно крышка флакона дезинфицируется 70%-м этиловым спиртом. Кровь вносится во флакон со средой через прокол в резиновой пробке флакона. Снимать пробку запрещается во избежание попадания микроорганизмов извне. Кровь, получаемую от взрослых, вносят либо в жидкую часть двухфазной среды, либо в емкость с питательным бульоном для анаэробов; кровь, полученную от детей, – в специальную "детскую" бутылочку с питательным бульоном для анаэробов.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные пробы крови немедленно доставляют в микробиологическую лабораторию.

Если кровь культивируют в бульоне, тогда после получения пробу хранят в термостате при температуре 35-37°C.

Если пробы собирают в специальные емкости для последующего исследования с двухфазной средой, их следует хранить при комнатной температуре (18-20°C).

9.2. Образцы спинномозговой жидкости (ликвора)

Взятие исследуемого материала

1. Для бактериологического анализа обычно используют спинномозговую жидкость, взятую при люмбальной пункции или при пункции боковых желудочков мозга.

2. Взятие спинномозговой жидкости проводят как можно раньше, желательно до начала антибактериального лечения.

3. Взятие спинномозговой жидкости производит врач. Проба отбирается со строгим соблюдением правил асептики. Свежевзятый ликвор из шприца без иглы над спиртовкой вносят в стерильную, желательно центрифужную пробирку в количестве 1-2 мл.

Транспортировка исследуемого материала

Ликвор для исследования после забора немедленно доставляют в лабораторию, где его сразу же подвергают анализу. При отсутствии такой возможности материал собирают в емкость с транспортировочной средой и оставляют в холодильнике (при температуре 4-8 °C) до утра, а затем доставляют в лабораторию. Для пересылки материала используют изотермальные ящики, грелки, термос или любую другую упаковку, где поддерживается температура около 37°C.

9.3. Образцы отделяемого открытых инфицированных ран (раневое отделяемое, гной, кусочки инфицированных тканей (грануляции, мышцы и т.п.), полученные из глубинных слоев ран)

Взятие исследуемого материала

1. Взятие материала производит лечащий врач при соблюдении правил асептики. При взятии материала из раны стерильным ватным тампоном кожу вокруг раны предварительно обрабатывают спиртом или другим антисептиком, некротические массы,

детрит и гной удаляют стерильной салфеткой. Взятие материала стерильным тампоном производят круговыми вращательными движениями от центра к периферии поверхности раны. Материал берут двумя тампонами, один из которых используют для микроскопии, а другой - для посева.

2. При наличии в ране дренажей для активной аспирации отделяемого последнее отсасывают шприцем и в количестве 1-2 мл помещают в стерильную пробирку. Кусочки тканей, гной, промывную жидкость из дренажа также берут в стерильные пробирки при соблюдении всех правил асептики.

Транспортировка исследуемого материала

Не более чем через 1 час после взятия весь материал доставляют в микробиологическую лабораторию для немедленного посева. При невозможности доставить материал в течение этого времени, он должен храниться в холодильнике, но не более двух часов.

9.4. Образцы пунктатов

Взятие исследуемого материала

Забор пунктатов из различных органов и тканей производит врач во время оперативного вмешательства или при проведении диагностической пункции, используя методику аспирации. Пробы необходимо сразу же поместить в пробирки с транспортной средой для анаэробов или в стерильную пробирку с тиогликолевой средой.

Транспортировка исследуемого материала

Материал следует немедленно доставить в лабораторию. Пробы биоматериала в транспортных средах хранят при комнатной температуре (18-20°C).

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на чашки Петри с агаром с бараньей кровью (с гемином и витамином K1).

Кровь. При использовании для посева крови бульона обогащения для анаэробов пробы инкубируют в термостате при температуре 35-37°C в течение 8 суток. Пробы просматривают каждый день. Наличие роста микроорганизмов оценивают визуально по помутнению среды во флаконе. В случае помутнения среды, а также при отсутствии видимых признаков роста на 3, 5 и 8 сутки производят высев на агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1), для чего стерильной пипеткой переносят 0,1 мл крови из флакона на поверхность чашек Петри с готовой питательной средой и тщательно распределяют по поверхности агара стерильным шпателем.

При использовании для посева крови двухфазной среды пробы инкубируют в термостате при температуре 35-37°C в течение 8 суток. Пробы просматривают каждый день, при этом наклоняя флакон таким образом, чтобы жидкая часть среды смачивала поверхность скошенного агара. Наличие роста микроорганизмов оценивают визуально по помутнению среды во флаконе. В случае помутнения среды, а также при отсутствии видимых признаков роста на 3, 5 и 8 сутки производят высев на агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1), для чего стерильной пипеткой переносят 0,1 мл крови из жидкой части среды во флаконе на поверхность чашек Петри с готовой питательной средой и тщательно распределяют по поверхности агара стерильным шпателем.

Спинномозговая жидкость (ликвор). Проводят посев 2-4 капель гнойного ликвора на чашку с агаром Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1). Капли материала слегка растирают подогретым в пламени спиртовки стерильным шпателем по поверхности агара.

Отделяемое открытых инфицированных ран. Производят посев взятого материала на чашку Петри с агаром Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1). Посев на чашку с агаром производят методом "тампон-петля": тампоном проводится "дорожка" по диаметру чашки, затем другой стороной тампона в обратном направлении засеивается еще одна "дорожка", параллельная первой. После этого материал рассеивают по чашке при помощи петли штрихами, перпендикулярными к "дорожкам". Такой посев позволяет выделить микроорганизмы в виде отдельных колониобразующих единиц даже из ассоциации микроорганизмов. В случае посева жидкого отделяемого ран с помощью стерильной пипетки переносят 0,1 мл образца на агар, после чего тщательно распределяют образец по поверхности среды стерильным шпателем.

Пунктаты. С помощью стерильной пипетки производят посев взятого материала в объеме 0,1 мл на чашку Петри с агаром Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1), после чего тщательно распределяют образец по поверхности среды стерильным шпателем.

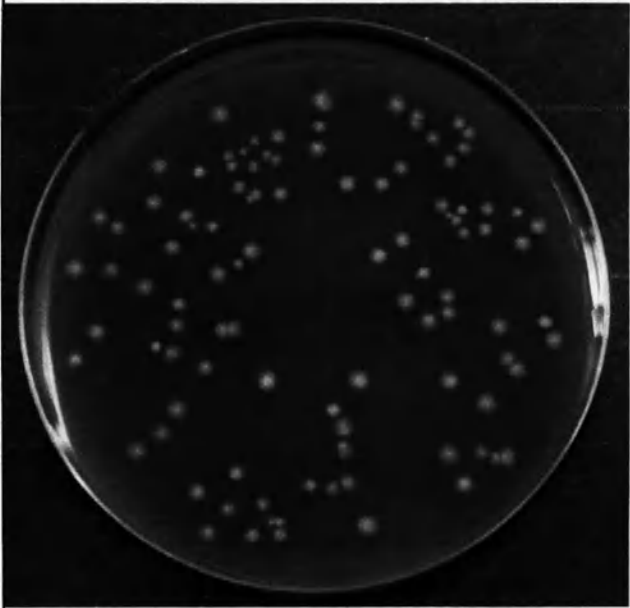
2. Инкубируют чашки Петри анаэробно при 35-37°C в течение 40-48 часов.
3. Просматривают наличие типичных колоний микроорганизмов.
4. Проводят подтверждающие реакции.

11. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

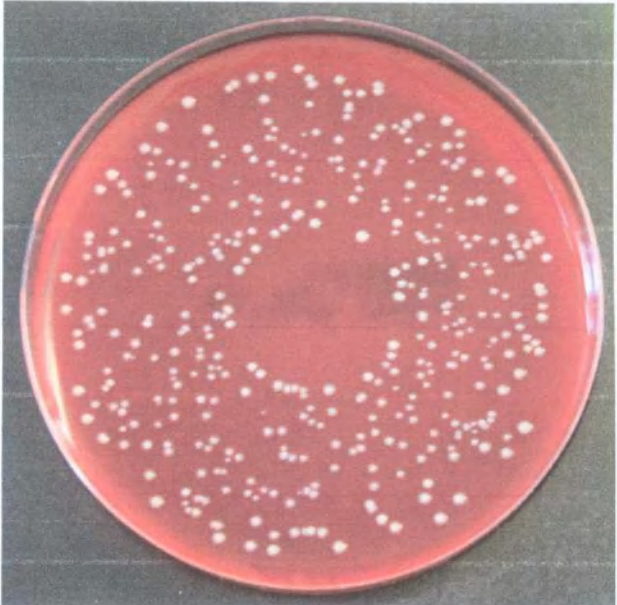
Учет результатов проводится визуально по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов и их свойствам (размер, цвет, форма колонии) в сравнении с контрольными культурами (Приложение Б ГОСТ Р 53133.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований.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

Контроль качества

Таблица 1

<u>Микроорганизмы</u>	<u>Результаты</u>	
	<u>Описание</u>	<u>Фотографическое изображение</u>
+ контроль		
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC® 25285	Хороший рост, белые блестящие колонии	

Продолжение таблицы 1

<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC® 27337	Хороший рост, белые блестящие колонии	
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC® 11437	Хороший рост, колонии соломенного цвета с неровными краями, β-гемолиз	 Clostridium sporogenes ATCC® 11437, рост на чашке
		 Clostridium sporogenes ATCC® 11437, β-гемолиз

Продолжение таблицы 1

- контроль	
Неинокулированная среда	Без изменений

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 (60 дней).

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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1); инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (60 дней).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1) 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 Шедлера с бараньей кровью (с гемином и витамином K1)

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 КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ
«23» 09 20 14 год
Генеральный директор
ООО «Средофф»
Ковивчак Н.Л.

