

«УТВЕРЖДЕНА»

Приказом Росздравнадзора

Генеральный директор
ООО «Средофф»

от _____ г. № _____



Ковивчак Н.Л.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

«Агар Мюллера-Хинтона»,

**по ТУ 9385-001-11161893-2014,
в вариантах исполнения**

**«Агар Мюллера-Хинтона»
«Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Агар Мюллера-Хинтона, по ТУ 9385-001-11161893-2014 (далее Агар Мюллера-Хинтона), представляет собой среду для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам диско-диффузионным методом. Питательная среда представлена в двух вариантах исполнения: Агар Мюллера-Хинтона и Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью. Оба варианта применяются для выращивания клинически значимых бактерий с целью последующего определения их чувствительности к антибиотикам; при этом «Агар Мюллера-Хинтона» используется для выращивания большинства неприхотливых питательным свойствам среды микроорганизмов, «Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью» может применяться для культивирования как нетребовательных, так и требовательных к составу питательной среды бактерий.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

2.1. Принцип действия

Агар Мюллера-Хинтона во всех вариантах исполнения содержит обезвоженную вытяжку из говядины и гидролизат казеина – высокопитательные компоненты необходимые для роста бактерий, а также крахмал, который играет роль абсорбент токсичных продуктов метаболизма, выделяемых некоторыми микроорганизмами. Содержание компонентов в среде подобрано таким образом, чтобы оказывать минимальное влияние на результаты тестов на чувствительность микроорганизмов к антибиотическим препаратам.

Вариант исполнения готовой питательной среды Агар Мюллера-Хинтона используется для выращивания большинства неприхотливых к питательным свойствам среды клинически значимых бактерий (*энтеробактерии*, не обладающие способностью к брожению *грамотрицательные палочки*, *стафилококки* и *энтерококки*) с целью последующего определения их чувствительности к антибиотикам.

Вариант исполнения готовой питательной среды Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью содержит в качестве добавки дефибринированную кровь барана, которая стимулирует рост труднокультивируемых бактерий. По этой причине Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью может быть использован для выращивания как неприхотливых к питательным свойствам среды клинически значимых бактерий, так и для клинически значимых требовательных к составу среды микроорганизмов, в частности грамположительных бактерий, с целью последующего определения их чувствительности к антибиотикам.

2.2. Содержание основных компонентов

Агар Мюллера-Хинтона имеет в своем составе следующие основные компоненты:

Таблица 1

<u>Агар Мюллера-Хинтона</u>		<u>Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью</u>	
Стандартная формула	Грамм на литр	Стандартная формула	Грамм на литр
Обезвоженная вытяжка из говядины	300,0	Обезвоженная вытяжка из говядины	300,0
Гидролизат казеина	17,5	Гидролизат казеина	17,5
Крахмал	1,5	Крахмал	1,5
Агар	17,0	Агар	17,0
Добавки	На литр	Добавки	На литр
-	-	Дефибринированная кровь барана	50,0 мл

Количество используемой в качестве добавки дефибринированной крови барана рассчитывается строго из соотношения 50 мл дефибринированной крови барана на 1 л готовой питательной среды Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью.

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Агар Мюллера-Хинтона во всех вариантах изготовления является медицинским изделием одноразового применения и представляет собой стерильную готовую питательную среду, асептично разлитую в чашки Петри.
Одна упаковка содержит не более 10 чашек с готовым агаром.
Одна чашка содержит не менее 20 мл готовой среды.
Толщина слоя агара в чашке Петри составляет не менее 4 мм (МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»).

Таблица 2

<u>Агар Мюллера-Хинтона</u>		<u>Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью</u>	
Наименование показателя	Характеристика и нормы	Наименование показателя	Характеристика и нормы
<u>рН при 25°С</u>	7,3 ± 0,2	<u>рН при 25°С</u>	7,4 ± 0,2
<u>Цвет</u>	Соломенно-желтый	<u>Цвет</u>	Красный
<u>Прозрачность</u>	Прозрачный	<u>Прозрачность</u>	Матовый
<u>Консистенция</u>	Гель	<u>Консистенция</u>	Гель
<u>Гомогенность</u>	Гомогенный	<u>Гомогенность</u>	Гомогенный

Контроль качества

Тестирование стерильности

Макроскопическое исследование не должно выявить никакого микробного роста после инкубации при 20-24°С и 30-34°С в течение 5 дней.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Таблица 3

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам на готовой питательной среде Агар Мюллера-Хинтона

<i>Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде</i>	<i>Название антибиотического вещества; концентрация, мкг</i>	<i>Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Амоксициллин/клавулановая кислота; 20/10	18-24 ¹
	Цефотаксим; 30	29-35 ¹
	Ципрофлоксацин; 5	30-40 ¹
	Тобрамицин; 10	18-26 ¹

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам на готовой питательной среде Агар Мюллера-Хинтона

Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде	Название антибиотического вещества; концентрация, мкг	Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Нитрофурантоин; 100	20-27 ²
	Ампициллин; 10	26-35 ²
	Ципрофлоксацин; 5	20-27 ²

¹ – согласно международному стандарту EUCAST/ CLSA

² – согласно международному стандарту DIN

Таблица 4

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам на готовой питательной среде Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью

Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде	Название антибиотического вещества; концентрация, мкг	Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм (согласно международному стандарту DIN)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Нитрофурантоин; 100	20-27
	Ампициллин; 10	26-35
	Ципрофлоксацин; 5	20-27
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923 – хороший рост, колонии кремового цвета	Оксациллин; 5	26-38
	Эритромицин; 15	26-35
	Ванкомицин; 30	16-23
	Цефазолин; 30	30-41

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Агар Мюллера-Хинтона 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, стерильные металлические толстые иглы с утолщенными концами, газовая горелка для создания асептических условий при посеве, стерильные пробирки, стерильные пипетки, стерильный шпатель Дригальского, стерильный микробиологический тампон, стерильный физиологический раствор, стерильный трипсин, стерильная пептонная вода, стерильный пинцет, одноразовые перчатки, средства для защиты глаз при посеве, стандарт мутности 0,5 по McFarland для приготовления суспензии микроорганизмов, инкубатор для поддержания температуры инкубации, таймер, диагностические диски с антибиотиками (M.I.C.E. полоски, E-тесты), штангенциркуль, таблицы с пограничными значениями диаметров зон подавления роста исследуемых микроорганизмов антибиотическими препаратами, 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

Чистые культуры микроорганизмов, выделенных из клинических образцов (биоматериала) – образцов из организма человека (кровь; ликвор; пунктаты различных органов и тканей; соскобы с кожных покровов; образцы из дыхательных путей: отделяемое верхних дыхательных путей (отделяемое слизистых отделов полости носа, зева), отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж); отделяемое наружного уха; образцы из мочеполовой системы: моча, отделяемое

влагалища, отделяемое цервикального канала, отделяемое уретры, секрет простаты; отделяемое свищей).

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 венопункцией 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; кровь, полученную от детей, – в специальную "детскую" бутылочку с питательным бульоном.

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 °С) до утра, а затем доставляют в лабораторию. Для пересылки материала используют изотермальные ящики, грелки, термос или любую другую упаковку, где поддерживается температура около 37°С.

9.3. 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 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°С).

9.4. Образцы соскобов с кожных покровов

Взятие исследуемого материала

Место локализации пораженного участка должно быть чистым и не обработанным посторонними веществами, в особенности растворами, обладающими микостатическими свойствами. Забор пробы осуществляет врач. Используя специальные инструменты, врач производит глубокий соскоб с кожи пациента, после чего незамедлительно помещает пробу в стерильную пробирку или пробирку с транспортной средой.

Транспортировка исследуемого материала

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

9.5. Образцы отделяемого дыхательных путей

9.5.1. Отделяемое верхних дыхательных путей

Взятие исследуемого материала

I. Мазок со слизистых передних отделов полости носа. Пробу со слизистых передних отделов полости носа собирают одним стерильным зондом-тампоном, смонтированным в стерильную одноразовую пробирку (тубсер).

При наличии в полости носа очагов воспалений или изъязвлений отдельным тампоном собирают материал из очага (очагов) в отдельную пробирку.

II. Мазок со слизистой глотки (зева).

Мазок из зева (глотки) собирают натошак или через 3-4 ч после приема пищи. Перед взятием пробы больной должен прополоскать рот теплой кипяченой водой.

Для получения пробы используют стерильный шпатель и тампон, смонтированный в стерильную одноразовую пробирку (тубсер). Использование зонда-тампона с вязкой головкой предпочтительнее, т.к. вязка адсорбирует меньше жидкости и больше клеточного материала.

При наличии очагов воспалений или изъязвлений на слизистой относятся к сбору пробы особенно внимательно и собирают отдельным тампоном дополнительно материал из очага (очагов) в отдельную пробирку.

Помещают тампон в стерильную одноразовую пробирку и доставляют в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные пробы незамедлительно доставляют в микробиологическую лабораторию. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов.

9.5.2. Отделяемое нижних дыхательных путей

Взятие исследуемого материала

I. Сбор мокроты.

Предпочтителен утренний сбор свободно отделяемой (отхаркиваемой) мокроты.

Перед сбором пробы пациенту необходимо почистить зубы и сполоснуть рот и горло теплой кипяченой водой.

Пробу мокроты, полученную в результате глубокого кашля, собирают в специальный стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой или в специальным образом подготовленную стерильную стеклянную банку. Нельзя собирать для анализа слюну или носоглоточное отделяемое.

II. Сбор бронхоальвеолярной жидкости (лаважа).

Бронхоальвеолярный лаваж получают с помощью специального прибора для обследования внутренних поверхностей трахеи и бронхов – бронхоскопа. Для этого вводят шприцем через биопсийный канал бронхоскопа отдельными порциями стерильный небактериостатический физиологический раствор (общий объем от 5-20 до 100 мл). Перед введением следующей порции физиологического раствора осторожно отсасывают введенную часть стерильным одноразовым шприцем в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой или в стерильную одноразовую или стеклянную пробирку с пробкой, или оставляют в закрытом шприце, предварительно удалив из него воздух. Каждую отсасываемую порцию собирают в отдельную посуду и по окончании процедуры соединяют пробы, полученные из одного и того же участка.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные пробы незамедлительно доставляют в микробиологическую лабораторию. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов.

9.6. Образцы отделяемого наружного уха

Взятие исследуемого материала

При поражении наружного уха проводят обработку кожи 70%-м спиртом с последующим промыванием стерильным физиологическим раствором. Отделяемое из очага собирают на стерильный одноразовый зонд-тампон тубсера или пробирки с транспортировочной средой. Тампон помещают в пробирку и доставляют в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Полученные образцы незамедлительно доставляют в лабораторию, где их сразу же подвергают анализу. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов. При использовании пробирки с транспортировочной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°C).

9.7. Образцы из мочеполовой системы

9.7.1. Моча

Взятие исследуемого материала

Для микробиологического анализа используется утренняя моча, сбор суточной мочи для этих целей недопустим.

Сбор мочи необходимо проводить до начала медикаментозного лечения. Если ставится цель оценить эффект проведенной терапии, то посев мочи производится по окончании курса лечения (на 5-7 день после отмены антибиотиков или уросептиков), с обязательным указанием препарата, которым проводилось лечение.

Сбор утренней мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода.

В одноразовый стерильный контейнер с закрывающейся крышкой собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3-7 мл.

Транспортировка исследуемого материала

Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 1,5-2 часов после сбора. Допускается хранение мочи в холодильнике (при 2-4°C) не более 3-4 часов. В случае доставки мочи в лабораторию позже указанных сроков результаты посева мочи могут быть недостоверны.

9.7.2. Образцы отделяемого мочеполовой системы

Взятие исследуемого материала

I. Сбор проб из влагалища.

Не допускается исследовать материал, собранный из переднего свода влагалища.

Материал для анализа получают до проведения мануального исследования.

Для сбора пробы используют 2 стерильных зонда-тампона или тубсера. После введения зеркала пробу собирают одним стерильным зондом-тампоном или тубсером, допускается также использование зондов-тампонов, смонтированных в стерильные стеклянную или закрывающуюся одноразовые пробирки; материал собирают со слизистой заднего свода или с ее патологически измененных участков. Зонд-тампон помещают в стерильную пробирку (тубсер) для доставки в лабораторию. Вторым стерильным зондом-тампоном (тубсером) собирают пробу и готовят мазки.

Для большей информативности анализа пробы вагинального секрета получают с помощью стерильных одноразовых калиброванных петли или пипетки, материал из которых переносят в стерильные одноразовую или стеклянную пробирки для доставки в лабораторию. Мазки высушивают на воздухе и, поместив в стерильные чашки Петри, также доставляют в лабораторию.

II. Сбор проб из цервикального канала.

Следует иметь в виду, что из проб цервикального канала, как правило, выделяется существенно меньший спектр микроорганизмов, чем из влагалища, что является следствием различий в составе эпителия и pH этих отделов мочеполового тракта.

После обнажения шейки матки в зеркалах тщательно очищают шейку от секретов вагины и слизи с помощью ватного тампона, смоченного стерильным физиологическим раствором или стерильной водой. После этого щеточку (стерильный зонд-тампон, зонд-тампон тубсера или зонд-тампон пробирки с транспортной средой) осторожно вводят в цервикальный канал на глубину 1,0-1,5 см, не касаясь стенок влагалища. Вращая любой из перечисленных выше инструментов несколько раз вокруг оси, захватывают материал – клетки, экссудат – по периметру цервикального канала. Переносят материал в стерильные одноразовую или стеклянную пробирки и доставляют в лабораторию.

III. Сбор проб из уретры у женщин.

Собирают материал через 1-2 часа после мочеиспускания.

Собирают отделяемое уретры стерильным зондом-тампоном. Помещают зонд-тампон в тубсер или стерильную одноразовую пробирку с завинчивающейся пробкой, или в стеклянную стерильную пробирку с газопроницаемой пробкой и передают материал в лабораторию.

Если описанным выше способом не удалось получить отделяемое, промывают наружную уретру бактерицидным мылом, споласкивают теплой кипяченой водой, вводят стерильный зонд-тампон на 2-4 см в эндоуретру, осторожно поворачивают его несколько раз вокруг оси и оставляют в уретре на 1-2 с, извлекают тампон, помещают в стерильную емкость и доставляют материал в лабораторию.

IV. Сбор проб из уретры у мужчин.

Сбор пробы осуществляют после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода (необходимо для предотвращения дополнительной контаминации).

Собирают пробу не ранее чем через 2 ч после мочеиспускания.

Вводят специальный стерильный уретрогенитальный зонд-тампон на оси из тонкой алюминиевой проволоки (предпочтительно с алгинатом кальция, но допускается использование тампона из хлопка, вискозы или дакрона) или тампон из транспортировочной емкости со средами с активированным углем или без него на 3-4 см в дистальный отдел уретры. Осторожно вращая тампон вокруг оси, оставляют его в уретре на 2-3 с. Извлекают тампон и помещают его в пробирку, доставляют пробу в лабораторию.

Транспортировка исследуемого материала

Доставка материала в лабораторию осуществляется в течение 1,5-2 часов после сбора. Допускается хранение проб в холодильнике (при 2-4°C) не более 3-4 часов. При использовании пробирки с транспортировочной средой исследуемые пробы хранят при комнатной температуре (18-20°C).

9.7.3. Образцы секрета простаты

Взятие исследуемого материала (неинвазивный метод)

Сбор пробы осуществляют после тщательного туалета наружных половых органов и области заднего прохода (необходимо для предотвращения дополнительной контаминации).

Собирают эякулят в стерильный одноразовый контейнер с завинчивающейся крышкой или в стерильную одноразовую пробирку с завинчивающейся пробкой, закрывают емкость. Если материала мало, собирают пробу на зонд-тампон или предпочтительно – на специальный тампон с алгинатом кальция, тампон помещают в стерильную емкость с завинчивающейся крышкой.

Транспортировка исследуемого материала

Материал следует немедленно доставить в лабораторию для проведения анализа. При невозможности произвести немедленный посев рекомендуется хранить полученные образцы в холодильнике при температуре 2-8°C, но не более 3-4 часов.

9.8. Образцы отделяемого свищей

Взятие исследуемого материала

Забор проб отделяемого свищей производит врач во время оперативного вмешательства или при проведении диагностической пункции, используя методику аспирации. Пробы необходимо сразу же поместить в пробирки с транспортной средой или в стерильную пробирку с тиогликолевой средой.

Транспортировка исследуемого материала

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

10. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Выделяют чистые культуры микроорганизмов из анализируемых образцов. Для этого вначале выполняют прямой посев исследуемого биоматериала на поверхность чашки Петри с агаром, подходящим для выращивания микроорганизмов, предположительно содержащихся в пробе.

Кровь. При использовании для посева крови бульона обогащения 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 высеивание на питательную среду, 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 Дригальского.

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 высеивание на питательную среду, 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 Дригальского.

Спинномозговая жидкость (ликвор). Проводят посев 2-4 капель гнойного ликвора на чашку с питательной средой. Капли материала слегка растирают подогретым в пламени спиртовки стерильным шпателем Дригальского по поверхности агара.

Пунктаты. С помощью стерильной пипетки производят посев взятого материала в объеме 0,1 мл на чашку Петри с питательной средой, после чего тщательно распределяют образец по поверхности среды стерильным шпателем Дригальского.

Соскобы с кожных покровов. Исследуемый материал с помощью стерильного пинцета переносят на поверхность чашки Петри с питательной средой, по возможности раскладывая отдельные фрагменты клинического образца на расстоянии друг от друга.

Отделяемое верхних дыхательных путей (мазок со слизистых передних отделов полости носа, мазок со слизистой глотки (зева)); отделяемое наружного уха.

Материал с тампона, полученный при осмотре ЛОР-врачом, высеивают на чашку Петри с питательной средой штрихом по диагонали чашки, после чего расштриховывают петлей для получения изолированных колоний.

Отделяемое нижних дыхательных путей (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж).

Мокроту выливают в стерильную чашку Петри. С помощью стерильных металлических толстых игл с утолщенными концами выбирают 2-3 гнойных комочка мокроты. С целью очистки образцов от сопутствующих обитателей верхних дыхательных путей и ротовой полости комочки мокроты трехкратно отмывают в стерильном физиологическом растворе. Затем производят посев биоматериала на чашку Петри с питательной средой, тщательно распределяя материал по поверхности агара стерильным шпателем Дригальского.

При отсутствии в мокроте комочков гноя и слизи для посева производят гомогенизацию мокроты: в неметаллический сосуд вносят равные объемы патологического материала и муколитика (трипсина), тщательно перемешивают и

оставляют на 20-30 минут в термостате при температуре 37°C. Готовят десятикратные разведения в 0,1% пептонной воде до степени разведения образца 10^7 (из расчета 1 мл гомогенизированной мокроты и 9 мл 0,1% пептонной воды). Посевы осуществляют стерильной пипеткой по 0,1 мл из нескольких разведений образца для получения изолированных колоний микроорганизмов и подсчета количества колоний полуколичественным методом. Образец, перенесенный на поверхность питательной среды пипеткой, тщательно распределяют по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Бронхоальвеолярный лаваж засевают как мокроту, но без предварительного отмывания гнойных комочков физиологическим раствором. При отсутствии комочков гноя и слизи производят посев биоматериала на питательную среду стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл, после чего тщательно распределяют материал по поверхности питательной среды стерильным шпателем Дригальского.

Образцы из мочеполовой системы: моча, отделяемое влагалища, отделяемое цервикального канала, отделяемое уретры, секрет простаты; отделяемое свищей.

Исследуемый материал, взятый тампоном, засевают этим тампоном на чашку Петри с питательной средой штрихом по диагонали чашки, после чего расштриховывают петлей для получения изолированных колоний.

Жидкие пробы (гной, экссудат, секрет предстательной железы, мочу и т.д.) переносят стерильной пипеткой в количестве 0,1 мл на чашку Петри с питательной средой. Материал тщательно растирают по поверхности стерильным шпателем Дригальского.

2. Инкубируют чашки Петри в подходящих для предположительно содержащихся в пробе микроорганизмов условиях.
3. Просматривают чашки на наличие типичных колоний микроорганизмов.
4. Описывают морфологию каждой отдельной колонии, выполняют пересев подозрительных колоний для получения чистых культур микроорганизмов.
5. Проводят подтверждающие реакции.
6. После получения чистых культур микроорганизмов и подтверждения их видовой и/или родовой принадлежности ставят тест на определение антибиотикочувствительности.

Постановка теста на определение антибиотикочувствительности.

Готовят суспензии исследуемых штаммов микроорганизмов, для чего чистые суточные культуры при помощи инокуляционной петли/иглы вносят в пробирки со стерильным физиологическим раствором. Плотность полученных суспензий должна быть эквивалентна стандарту мутности 0,5 по McFarland, что примерно составляет $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл.

С помощью пипетки и шпателя переносят суспензии исследуемых микроорганизмов на поверхность чашек Петри с агаром Мюллера-Хинтона.

Параллельно проводят посев контрольных штаммов микроорганизмов по аналогичной схеме (готовят суспензии, пересевают их на поверхность чашек Петри с агаром Мюллера-Хинтона).

Накладывают диагностические диски с антибиотиками (не более 6 дисков на чашку) на поверхность чашек Петри с исследуемыми и контрольными штаммами.

Инкубируют чашки Петри при 35-39°C в течение 18-24 часов. Атмосфера инкубации (аэробная или микроаэрофильная) зависит от вида исследуемого микроорганизма.

***Не рекомендована инкубация в атмосфере с повышенным содержанием CO_2** из-за оказываемого влияния на pH среды. При необходимости культивирования микроорганизмов в атмосфере с повышенным содержанием углекислого газа для оценки оказываемого эффекта в контроль должны быть включены известные контрольные анаэробные микроорганизмы.

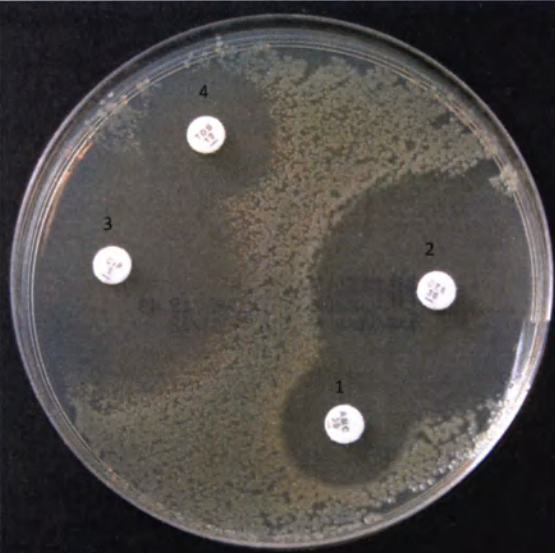
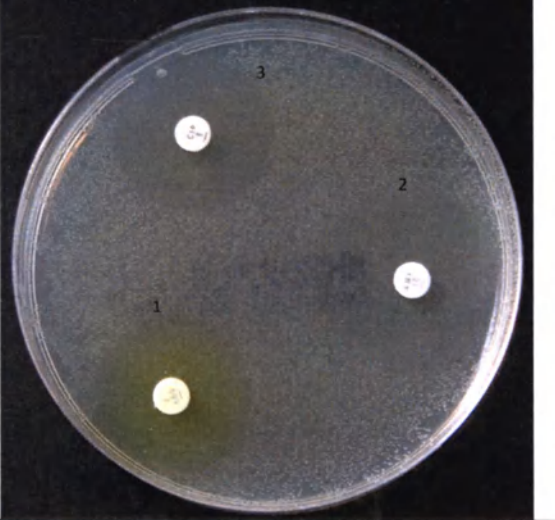
Отмечают наличие/отсутствие зон задержки роста микроорганизмов и измеряют диаметры зон, по которым делают выводы о чувствительности исследуемой культуры к каждому виду антибиотика. При определении чувствительности контрольных штаммов к антибиотическим препаратам диаметры зон подавления роста должны попадать в определенные диапазоны, которые указаны в таблицах используемых стандартов.

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 *Агара Мюллера-Хинтона*

Таблица 5

Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде	Название антибиотического вещества; концентрация, мкг	Зона подавления роста культуры, мм	Стандартные значения подавления зоны роста культуры, мм	Фотографическое изображение
Результаты после аэробной инкубации при 35-37°C в течение 18-24 часов Инокулят 10-100 КОЕ				
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Амоксициллин/клавулановая кислота; 20/10 (1)	18	18-24 ¹	
	Цефотаксим; 30 (2)	34	29-35 ¹	
	Ципрофлоксацин; 5 (3)	33	30-40 ¹	
	Тобрамицин; 10 (4)	19	18-26 ¹	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Нитрофурантоин; 100 (1)	25	20-27 ²	
	Ампициллин; 10 (2)	28	26-35 ²	
	Ципрофлоксацин; 5 (3)	24	20-27 ²	

¹ – согласно международному стандарту EUCAST/ CLSA
² – согласно международному стандарту DIN

Название культуры микроорганизма, описание роста культуры на готовой питательной среде	Название антибиотического вещества; концентрация, мкг	Зона подавления роста культуры, мм	Стандартные значения зоны подавления культуры, мм	Фотографическое изображение
Результаты после аэробной инкубации при 35-37°С в течение 18-24 часов Инокулят 10-100 КОЕ				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923 – хороший рост, колонии кремового цвета	Окса-циллин; 5 (1)	30	26-38 ¹	
	Эритро-мицин; 15 (2)	29	26-35 ¹	
	Ванко-мицин; 30 (3)	18	16-23 ¹	
	Цефа-золин; 30 (4)	33	30-41 ¹	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 – хороший рост, колонии светло-соломенного цвета	Нитрофу-рантоин; 100 (1)	25	20-27 ¹	
	Ампицил-лин; 10 (2)	28	26-35 ¹	
	Ципро-флокса-цин; 5 (3)	24	20-27 ¹	

¹ – согласно международному стандарту DIN

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°С 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 Мюллера-Хинтона; инструкция по применению; паспорт.

14. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

При соблюдении рекомендованного способа транспортировки и хранения агар Мюллера-Хинтона обеспечивает требуемые показатели качества и эксплуатационные характеристики в течение установленного срока годности (60 дней).

После вскрытия упаковок рекомендуется использовать чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона 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 медицинские изделия 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 Мюллера-Хинтона и Агар Мюллера-Хинтона с бараньей кровью
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.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 15 ЛИСТОВ
«17» 03 20 16 год

Генеральный директор
ООО «Средофф»
Ковивчак Н.Л.

