



## 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 анализа, сведения о его научной обоснованности:**

Целевым анализом 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.С200), 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.С200)  | -                    | 6 шт.             | -                | 1 шт.      | 1 шт.            |
| Комплект №4 (П0806.1)     | -                    | -                 | 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 <sup>++</sup>                  | 50 мг        | 50 мг        | 50 мг        |
| Ионы Mg <sup>++</sup>                  | 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                                  | Исполнение среды 2                                  | Исполнение среды 3                                  |
| Escherichia coli ATCC 25922        | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>21±1 ч инкубации | -   | -   |
| Streptococcus pyogenes ATCC 19615  | -   | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>18±2 ч инкубации | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>18±2 ч инкубации |
| Streptococcus pneumonia ATCC 49619 | -   | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>20±2 ч инкубации | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>20±2 ч инкубации |
| Staphylococcus aureus ATCC 25923   | -   | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>18±2 ч инкубации | при разведении 10 <sup>-6</sup><br>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 (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> 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 <sup>-6</sup>     | Время инкубации<br>22±1 ч | -                         | -                         |
| Streptococcus pyogenes ATCC 19615  | 10 <sup>-6</sup>     | -                         | Время инкубации<br>18±2 ч | Время инкубации<br>18±2 ч |
| Streptococcus pneumonia ATCC 49619 | 10 <sup>-6</sup>     | -                         | Время инкубации<br>20±1 ч | Время инкубации<br>20±1 ч |
| Staphylococcus aureus ATCC 25923   | 10 <sup>-6</sup>     | -                         | Время инкубации<br>18±2 ч | Время инкубации<br>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<sup>-1</sup> (10<sup>8</sup> 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 сред компоненты тщательно перемешиваются с водой, прошедшей очистку, затем происходит процесс обработки

(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 2а (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 дышать, 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°C)
- 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: слизь, 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 век;
- 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  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл. Инокулюм следует использовать в течение 15 минут после приготовления.
2. Нанести инокулюм 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 сверху дном и инкубировать при температуре  $36 \pm 1$  °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 сверху 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 штангенциркулем.

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 тимина 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 термоиндикаторов.

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, клинико-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](mailto: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          |

| <b>Символ</b>   | <b>Наименование символа</b>           |
|---|---------------------------------------|
|  | Запрет на повторное применение        |
|  | Обратитесь к инструкции по применению |
|  | Дата изготовления                     |