



ИНСТРУКЦИЯ

по применению

«Питательной среды для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухой (типа АГВ) по ТУ 9385-029-39484474-2012»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда предназначена для определения чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из клинического материала, диск-диффузионным методом.

Принцип метода.

Среда для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухая (типа АГВ) является классической средой для определения чувствительности микробов к антибиотикам. Определение чувствительности основано на образовании зон задержки роста вокруг дисков с антибактериальными препаратами чувствительными микроорганизмами и последующей регистрацией диаметров этих зон.

Категории пользователей, требования к квалификации. Только для профессионального применения, персонал с высшим медицинским или средним специальным медицинским образованием.

Указания по стерилизации и кратности применения.

Поставляется нестерильной.

Подлежит стерилизации (пар под давлением, автоклав) в процессе приготовления готовой среды согласно данной Инструкции.

Не подлежит повторной стерилизации.

Подлежит однократному (одноразовому) применению после приготовления согласно данной Инструкции.

Противопоказания и ограничения по применению.

Только для диагностики *in vitro*.

Изделие не предназначено для самотестирования.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Среда для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухая (типа АГВ) представляет собой мелкодисперсный гигроскопичный порошок желтого цвета.

Состав (г/л):

ГМФ – основа	11,1
Пептон сухой ферментативный для микробиологических целей.....	11,1
Натрия хлорид.....	5,3
Натрий фосфорнокислый двузамещенный.....	1,11
Крахмал растворимый.....	0,5
Глюкоза	2,5
Агар микробиологический.....	10,0

Комплектность.

Комплект поставки: Питательная среда для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухая (типа АГВ) по 100 г, 200 г, 250 г и 500 г в банки полимерные; инструкция по применению; паспорт качества.

Вариант фасовки и количество банок среды типа АГВ формируется по требованию заказчика.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Характеристики специфической активности.

Среда типа АГВ должна обеспечивать рост тест-штаммов: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212 в виде газона с образованием четких соответствующего диаметра (см. табл.) зон угнетения их роста вокруг дисков с антибиотиками при посеве по 2 мл взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-1} (10^8 КОЕ/мл) через 18-20 ч инкубации при температуре от 35 до 37 °С.

Таблица — Допустимые диапазоны значений диаметров зон задержки роста тест-штаммов микроорганизмов.

№ п/п	Антибиотики	Концентрация в диске, мкг (ЕД)	Диаметр зон задержки роста тест-штаммов, мм			
			<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
1.	Бензилпенициллин	10	-	29-38	-	-
2.	Гентамицин	10	21-27	20-28	19-27	-
3.	Гентамицин	120	-	-	-	15-22
4.	Левомецетин	30	23-29	23-30	-	-
5.	Полимиксин-М	300	-	-	17-23	-
6.	Стрептомицин	300	-	-	-	13-19
7.	Тетрациклин	30	19-27	26-33	-	-
8.	Ципрофлоксацин	5	30-40	22-30	31-37	-
9	Эритромицин	15	-	24-32	-	-

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения питательной среды – класс 1.

Среда в используемых концентрациях нетоксична, вредного влияния на организм оператора не оказывает.

При работе с медицинским изделием следует соблюдать обычные меры предосторожности для лабораторий:

- пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты;
- не принимать пищу, не пить и не курить в лабораторных помещениях;
- после работы с пробами и реактивами тщательно обработать руки и открытые участки кожи согласно внутрिलाбораторным санитарным инструкциям.

Следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.)

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

Оборудование:

- весы лабораторные общего назначения 2 класса точности;
- колбы или цилиндры мерные 2 класса точности, вместимостью 1 л;
- электроплита бытовая;
- стерилизатор паровой;
- иономер потенциометрический (рН-метр), диапазон измерения 0...12 ед. рН;
- бутылки или колбы стеклянные, с ватно-марлевыми или силиконовыми пробками;
- холодильник электрический с диапазоном стабилизируемых температур (2-8 °С);
- термостат суховоздушный с диапазоном стабилизируемых температур (10...50 °С) $\pm 0,5$ °С;
- горелки газовые или спиртовые;
- чашки Петри;
- петля бактериологическая диаметром 2 мм;
- пипетки или дозаторы со стерильными наконечниками;
- стерильные пинцеты (одноразовые или подлежащие повторной стерилизации);
- штангенциркуль или линейка с ценой деления 1 мм
- вода дистиллированная.

Способ приготовления среды

41,6 г среды размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стерильные бутылки и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Среду охлаждают до температуры (48±2) °С, разливают в стерильные чашки Петри диаметром 90 или 100 мм слоем 4-5 мм. После застывания среды, соблюдая правила асептики, чашки подсушивают при температуре (37±1) °С в течение 30-40 мин. до исчезновения капель влаги на поверхности среды и внутренней поверхности крышки чашки Петри. В таком виде среду типа АГВ можно использовать в течение 7 суток при температуре хранения от 2 до 8 °С.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты (выделенные из клинического материала культуры микроорганизмов) исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Посев инокулюма.

Готовят бактериальную суспензию, соответствующую по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Инокулюм следует использовать в течение 15 минут после приготовления. Для инокуляции приготовленных чашек с агаром можно использовать два способа.

С помощью стерильного ватного тампона. Тампон необходимо погрузить в бактериальную суспензию, затем избыток инокулюма удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Инокуляцию проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°.

С помощью пипетки или дозатора. Стандартный инокулюм наносят пипеткой или дозатором на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1 - 2 мл, равномерно распределяют по поверхности покачиванием, после чего удаляют избыток инокулюма пипеткой. Приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре в течение 10 - 15 мин.

Аппликация дисков и инкубация.

Не позднее, чем через 15 мин. после инокуляции на поверхность питательной среды наносят диски с ПЛС. Аппликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15 - 20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм следует помещать не более 6 дисков с ПЛС. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом.

Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри помещают в термостат кверху дном и инкубируют при температуре (37±1) °С 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" ПЛС в агар и к увеличению диаметра зоны подавления роста.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

По окончании инкубации чашки помещают кверху 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, предпочтительно 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», 2004 г.

Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (актуальная версия). Утверждены на расширенном совещании Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии.

9. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Среду для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухую (типа АГВ) необходимо хранить в герметично закрытой упаковке производителя в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С.

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытого транспорта.

Готовую среду для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухую (типа АГВ), приготовленную в лаборатории согласно Инструкции, в чашках Петри, необходимо хранить в темноте при температуре от 2 до 8 °С (для предотвращения окисления на свету) и использовать в течении 7 суток.

10. СРОК ГОДНОСТИ.

Срок годности среды для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухой (типа АГВ), в герметичной упаковке производителя – 2 года со дня изготовления. Медицинское изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Срок годности вскрытой упаковки (банки) – 2 года при условии положительного результата периодического внутрिलाбораторного контроля качества медицинского изделия.

11. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия для диагностики *in vitro* Среда для определения чувствительности микробов к антибиотикам сухая (типа АГВ) ТУ 9385-029-39484474-2012 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими техническими условиями.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

Рекламации на качество медицинского изделия в течение срока годности следует направлять в адрес производителя: Общество с ограниченной ответственностью "Научно-исследовательский центр фармакотерапии".

Адрес: 192236, Россия, г. Санкт-Петербург, ул.Белы Куна,30, лит.А
тел./факс (812) 327 5581, e-mail: nicf@nicf.spb.ru.