

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологий



И.А. Дятлов

2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов для бактериологических исследований

«Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл, сухая»

по ТУ 20.59.52-314-78095326-2019

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие – набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл, сухая» по ТУ 20.59.52-314-78095326-2019 предназначено для проведения исследований в клинической микробиологии с целью выделения из клинического материала бактерий рода *Klebsiella* - возбудителей инфекционных заболеваний человека, далее по тексту – набор реагентов

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Набор реагентов состоит из 1 банки с питательной средой и 5 флаконов с селективной добавкой (СД).

Питательная среда представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.

СД – мелкодисперсный гигроскопичный порошок белого цвета.

Питательная среда расфасовывается в полиэтиленовые банки по 250 г, СД во флаконы из темного стекла по 0,02 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав питательной среды обеспечивает рост микроорганизмов рода *Klebsiella*. Наличие в среде солей желчных кислот, кристаллического

фиолетового и карбенициллина в значительной степени ингибирует рост грамположительных микроорганизмов и большинства представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Клебсиеллы, расщепляя инозит с образованием кислоты, формируют круглые, гладкие, слизистые колонии малинового цвета. В случае роста микроорганизмов рода *Escherichia*, не утилизирующих инозит, формируются круглые, гладкие, бесцветные колонии.

2.2. Состав

Состав питательной среды, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	10,0
Пептон мясной	10,0
Дрожжевой экстракт	1,0
Мезо-инозит	10,0
Натрий хлористый	5,0
Соли желчных кислот (СЖК)	1,5
Кристаллический фиолетовый	0,001
Нейтральный красный	0,05
Натрий углекислый	0-0,3
Агар бактериологический	11,0±3,0

Состав СД, г/л:

Карбенициллин 0,02

рН от 7,0 до 7,4

Определение рН проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» в экстракте, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухой питательной среды 100 мл дистиллированной воды, настаивания с периодическим перемешиванием в течение 1 ч при температуре 18-25 °С и последующего фильтрования через бумажный фильтр. Величина рН, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению рН готовой среды и может незначительно меняться после кипячения. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после кипячения среды и внесения селективной добавки.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Специфическая активность

Специфическая активность набора реагентов оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на *приготовленной питательной среде для выделения клебсиелл с селективной добавкой*.

Питательная среда для выделения клебсиелл обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 20-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на всех засеянных чашках Петри рост каждого тест-штамма *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* 3534/51 NCTC 9176, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* 418, *Klebsiella oxytoca* 6769 ГКПМ-Оболensk, в количестве не менее 30 круглых, гладких, слизистых колоний, малинового цвета, диаметром от 1,0 до 3,5 мм.

3.2 Дифференцирующие свойства

Питательная среда для выделения клебсиелл обеспечивает дифференциацию тест-штамма *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* 3534/51 NCTC 9176 из разведения 10^{-6} от *Escherichia coli* ATCC 25922 из разведения 10^{-1} на всех засеянных чашках Петри при посеве 0,1 мл микробной смеси через 20-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Колонии *E. coli* ATCC 25922 - круглые, гладкие, бесцветные, диаметром до 2,5 мм.

3.3 Ингибирующие свойства

Питательная среда для выделения клебсиелл полностью подавляет рост *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus ssp aureus* ATCC 6538 P/ FDA 209-P из разведения 10^{-4} на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси через 20-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.4. Диагностическая чувствительность (ДЧ) - при анализе клинических образцов, нижняя граница истинной величины чувствительности культуральных исследований образцов с применением испытываемого набора реагентов составляет не менее 86% при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл.

Диагностическая специфичность (ДС) культуральных исследований при анализе клинических образцов, нижняя граница истинной величины специфичности культуральных исследований образцов с применением испытываемого набора реагентов составляет не менее 80% при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не более 10^{-4} м.кл./мл.

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением испытываемого набора составила 98,1 %.

Прогностичность положительного результата культурального исследования 100%, (ложноположительных результатов не выявлено); отрицательного – 95,2%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения Набора реагентов в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.6.2012 – класс 2 б.

4.2 Набор реагентов не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.



4.3 Все образцы исследуемого материала *потенциально* содержат микроорганизмы, являющиеся возбудителями инфекций, поэтому при работе необходимо соблюдать требования правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Набор реагентов содержит антибиотик, поэтому необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук!

Уничтожение приготовленной питательной среды для выделения клебсиелл после проведения биологического исследования образцов осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790, как уничтожение медицинских отходов, принадлежащих к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$.

4.4 При использовании набора реагентов по назначению и в соответствии с инструкцией противопоказаний к применению нет.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1, 2 и 5 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные
- Плитка электрическая

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Клебсиеллы являются возбудителями пневмонии, острых кишечных заболеваний (ОКЗ), риносклеромы, озоны, могут вызывать поражения мочеполовых органов, мозговых оболочек взрослых и детей, токсико-септические состояния и ОКЗ у новорожденных. Клебсиеллы могут вызывать внутрибольничные инфекции. Патогенными для человека являются бактерии вида *K. pneumoniae*. У человека они вызывают заболевания дыхательных путей: пневмонии, риносклерозы и озоны, выделяются при заболеваниях урогенитального тракта, мозговых оболочек, глаз, суставов, позвоночника, при гнойно-септических процессах и острых желудочно-кишечных заболеваниях. В качестве образцов для исследования, используется гнойное отделяемое любых пораженных органов и тканей, испражнения, моча, кровь, слизистая дыхательных путей, а также другие образцы, предположительно инфицированные клебсиеллами.

6.2 В Приказе Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и других нормативных документах для каждого конкретного случая указан способ забора и подготовки материала для исследования.

Для проведения бактериологического исследования материал должен быть взят по возможности до назначения антибактериальных препаратов, в достаточном количестве и доставлен в лабораторию в течение суток при условии хранения и транспортирования материала при температуре 2-8°C в стерильных емкостях.

6.3 Идентификацию исследуемого материала проводят в соответствии с МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г) и другими, утвержденными в установленном порядке нормативными документами по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями. Лабораторная диагностика основана на результатах бактериологического исследования. Бактериологическое исследование включает в себя микроскопию мазков из исследуемого материала, выделение чистой культуры и идентификацию возбудителя по культурально-морфологическим, ферментативным и патогенным свойствам.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами (например, врач клинической лабораторной диагностики, врач-бактериолог, врач-медицинский микробиолог, врач-лаборант, иной специалист, ознакомленный с требованиями настоящей Инструкции по применению).

7.1 Приготовление питательной среды для выделения клебсиелл с селективной добавкой.

Навеску питательной среды в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, осторожно кипятят при постоянном помешивании не более 2 мин до полного расплавления агара.

Содержимое флакона с селективной добавкой растворяют в 5 мл стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают в течение 1 мин и вносят в охлажденную до температуры 50-55 °С питательную среду из расчета 5 мл на 1 л среды.

Среду разливают в стерильные чашки Петри слоем 3-4 мм. После застывания среды чашки с открытыми крышками подсушивают в течение 40-60 мин.

После каждого вскрытия банку с сухой средой плотно закрывают и хранят до окончания срока годности в сухом месте при температуре от 2 до 30°C, избегая попадания влаги. Флакон с СД после вскрытия и приготовления раствора хранению не подлежит. Для приготовления новой порции среды вскрывается новый флакон с СД.

Готовая питательная среда для выделения клебсиелл прозрачная, красного цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 14 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2 Исследуемый материал, подготовленный в соответствии с методиками по п 6.2 настоящей Инструкции по применению, засевают на чашки Петри с питательной средой для выделения клебсиелл и стерильным шпателем распределяют по поверхности среды. Инкубируют в течение 20-24 ч при температуре (37±1) °С.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 20-24 инкубации посевов при температуре (37±1) °С. Визуально учитывают наличие и характер роста колоний, отбирая круглые, гладкие, слизистые колонии малинового цвета, диаметром от 1,0 до 3,5 мм (для клебсиелл вида *K. pneumoniae* subsp. *rhinoscleromatis* возможен рост в виде очень мелких, точечных колоний).

Рост кишечной палочки и стафилококков ингибируется. При большой обсемененности образца, возможен рост единичных колоний кишечной палочки в виде бесцветных колоний, визуально не затрудняющих выделение клебсиелл.

Необходимо учитывать, что полученные результаты не являются единственным, определяющим диагноз признаком и требуют дополнительной информации для принятия медицинского решения. Идентификация клебсиелл начинается с морфологической оценки колоний, выросших на приготовленной по п.7.1. питательной среде для выделения клебсиелл, дополнительно оцениваются посевы на других питательных средах, обладающих дифференциально-диагностическими свойствами и результаты микроскопии мазков выделенных культур. Окончательная идентификация проводится в соответствии с Приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г).

Для получения достоверных результатов посевы образцов производить не менее чем в трех повторностях.

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Серии набора реагентов, пришедшие в негодность, серии с истекшим сроком годности, подлежат уничтожению в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А» - (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам), любым способом, предотвращающим повторное использование. Упаковка (полиэтиленовые банки, флаконы) после полного израсходования содержимого, подле-

жит утилизации в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как отходы, принадлежащие к классу «А».

9.2 Утилизация (уничтожение) осуществляется предприятиями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях с соблюдением обязательных требований нормативной документации по охране окружающей среды. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий должен соблюдать правила безопасности проведения способа уничтожения.

9.3 Обращение с отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной медицинской организации, использующей в своей работе медицинские изделия. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации. Ответственность за уничтожение изделия несут субъекты обращения изделий.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

10.1 Набор реагентов хранят на складе в упаковке производителя:

- банку с питательной средой - в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°C и относительной влажности не более 60 %.
- коробку с флаконами СД - в холодильнике при температуре от 2 до 8°C.

10.2 После вскрытия банку со средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30°C, избегая попадания влаги; флаконы с СД после вскрытия и приготовления раствора хранению не подлежат.

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл, сухая» хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.3 Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл, сухая» транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °C не более 3 суток.

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл, сухая», транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

Срок годности: Набора реагентов - 2 года.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл сухая», заявленным в ТУ 20.59.52-314-78095326-2019 требованиям и функциональным характеристикам с начала их использования в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения, транспортирования и применения.

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-элективная питательная среда для выделения клебсиелл сухая» по ТУ 20.59.52-314-78095326-2019, получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-10, факс 36-01-16, 36-00-20.

Зам. директора
по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

«Согласовано»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Барнавичус П.К.

«25»

2020 г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«25» 04 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

