

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

И.А. Дятлов

2018 г



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

«Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий,
готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие «Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)» предназначено для выделения микобактерий, в том числе микобактерий туберкулеза, из клинического материала с целью выявления больных туберкулезом при диагностике *in vitro*, а также для культивирования чистых культур микобактерий, в том числе микобактерий туберкулеза.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Среда Левенштейна-Йенсена готовая к применению представляет собой скошенный, светочувствительный непрозрачный гель голубовато – зеленоватого цвета.

Среда Левенштейна-Йенсена, готовая к применению, выпускается в стеклянных пробирках, закрытых силиконовыми пробками со жгутом (индивидуальная упаковка) и упакованными в специальный упаковочный материал (комбинированный материал на основе алюминиевой фольги) по 5 или по 10 штук (групповая упаковка).

2.1. Принцип действия

Сбалансированный состав яичной среды Левенштейна-Йенсена удовлетворяет питательные потребности микобактерий. Наличие в среде малахитового зеленого, который является рН-индикатором, подавляет рост большинства грамположительных микробных контаминантов и позволяет произвести выделение микобактерий, в т.ч. микобактерий туберкулеза из клинических об-

разцов, прошедших обязательную предпосевную обработку, а также выращивание чистых культур микобактерий, в том числе микобактерий туберкулеза.

2.2. Состав

Среду Левенштейна-Йенсена получают путем соединения в асептических условиях стерильного раствора *основы* среды и *яичной массы* с последующим розливом полученной смеси в стерильные пробирки по 5 мл и дальнейшей термокоагуляцией среды в аппарате для свертывания питательных сред.

Состав среды Левенштейна-Йенсена:

Основа:

Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,5 г
Магний сернокислый 7-водный	0,15 г
Магний лимоннокислый 14-водный	0,375 г
L-Asparagin monohydrate	2,25 г
Крахмал растворимый	18,75 г
Малахитовый зеленый	0,25 г
Глицерин по ГОСТ 6824-96	0,0075 л

Яичная масса:

Яйцо куриное гомогенизированное по ГОСТ 31654-2012	0,625 л
Вода дистиллированная	до 1 л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность

Специфическая активность среды Левенштейна-Йенсена оценивается по показателям чувствительности среды; скорости роста и стабильности основных биологических свойств (проявление типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на среде Левенштейна-Йенсена)

Среда Левенштейна-Йенсена при посеве по 0,2 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-4} и 10^{-5} должна обеспечивать рост *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 25618 в виде сухих морщинистых кремового цвета колоний, *Mycobacterium terrae* TMC 1450 в виде гладких кремового цвета колоний через 21 сутки и *Mycobacterium fortuitum* 11557/31 в виде морщинистых кремового цвета колоний через 6 суток инкубирования посевов при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

3.2. При проведении лабораторных исследований на расширенном наборе музейных штаммов микобактерий, в том числе микобактерий туберкулеза из Государственной коллекции пато-

генных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» визуально наблюдался рост всех засеянных штаммов микобактерий туберкулеза и нетуберкулезных микобактерий при посеве в пробирку по 0,2 мл микробной взвеси каждого штамма из разведений 10^{-4} и 10^{-5} через 21 сутки инкубирования посевов медленно растущих микобактерий при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Для быстрорастущих микобактерий видимый рост культуры наблюдался через 6-10 суток инкубации посевов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.3. Диагностическая чувствительность

Чувствительность культуральных исследований клинических образцов с использованием МИ «Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)» - не менее 76% с достоверной вероятностью 90% (82 положительных результата культуральных исследований при исследовании 100 образцов диагностического материала от 100 больных туберкулезом легких).

При пересеве культур *M.tuberculosis* получен положительный результат культурального исследования в 100% случаев (20 из 20-ти).

3.4. Диагностическая специфичность

Специфичность культуральных исследований клинических образцов с использованием МИ «Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)» - не менее 95% с достоверной вероятностью 90% (отрицательный результат культурального исследования в 100% случаев при исследовании 50 образцов клинического материала от 50 больных с заболеваниями легких нетуберкулезной этиологии).

3.5. Диагностическая эффективность

Диагностическая эффективность культуральных исследований с применением МИ «Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)» - 88% (132 правильных результата теста из 150 исследованных клинических образцов).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения питательной среды Левенштейна-Йенсена готовой к применению в соответствии с Приказом МЗ РФ №4 от 06.06. 2012 г - класс 2 б

При анализе исследуемого материала необходимо соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Туберкулез распространяется воздушно-капельным путем! Анализ исследуемого материала должен проводиться в условиях, позволяющих избежать опасность заражения во время манипуля-

ций, при выполнении которых наблюдается наибольшая вероятность образования и рассеивания потенциально опасных инфекционных аэрозолей!

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- Автоклав;
- Холодильник бытовой;
- Ламинарный шкаф II класса биологической опасности;
- Стандартный образец мутности;
- Пробирки стеклянные;
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 мл, 2 мл, 5 мл,;
- Вода дистиллированная;

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Основным клиническим материалом для исследования является мокрота, моча, пунктаты из закрытых полостей, отделяемое ран и открытых полостей.

Взятие, предпосевную обработку, хранение и посев исследуемого материала проводят в соответствии с Приложением №11 к Приказу Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 г, «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» и другими нормативными документами

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами.

7.1. Подготовка среды к анализу. Перед использованием групповую упаковку со средой Левенштейна-Йенсена вскрывают, извлекают необходимое количество пробирок для посева, обследуют их на целостность пробирки и косячка среды, выдерживают при комнатной температуре в течение 30-40 минут и засевают исследуемый материал, подготовленный к посеву в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 г. В случае, если нарушена целостность групповой упаковки, а так же обнаружено наличие трещин и сколов на пробирках со средой, эти пробирки со средой использовать для посевов нельзя.

Использование пробирок с трещинами, с нарушением целостности косячка среды, изменением цвета и консистенции среды не допускается!

7.2. С целью предотвращения высыхания косячков среды Левенштейна-Йенсена во время длительной инкубации посевов клинического материала необходимо удалить жгуты из пробок, либо поместить пробирки в полиэтиленовые пакеты и закрыть их.

7.3. Взятие, предпосевную обработку и посев исследуемого материала проводят в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 г, «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» и другими нормативными документами.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет посевов, регистрацию полученных результатов и дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 109 от 21.03.2003 г. При оценке результатов необходимо помнить, что используемая для посева среда представляет собой обогащенный субстрат, что обуславливает риск загрязнения посевов некоторыми бактериями и грибами, колонии которых визуально трудно отличить от микобактерий. Во всех случаях получения роста необходимо контролировать чистоту выросшей культуры с помощью микроскопии мазка по Циплю-Нильсену.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация серий среды с истекшим сроком годности производится по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы.

Уничтожение среды Левенштейна-Йенсена после проведения анализа клинического материала осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре $(126 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Обращение с медицинскими отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации, осуществляющей медицинскую и (или) фармацевтическую деятельность. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Среду Левенштейна-Йенсена в групповой упаковке необходимо хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 6 месяцев при условии сохранения целостности групповой упаковки. После вскрытия групповой упаковки среду Левенштейна-Йенсена можно хранить при температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте не более 7 суток. При более длительном хранении пробирок со средой вне целостной групповой упаковки

происходит значительное подсыхание косячков среды в процессе дальнейшей инкубации посевов при анализе клинических образцов (время инкубации до 90 сут.).

Среду Левенштейна-Йенсена можно транспортировать всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида с учетом ГОСТ Р 51005-96 или СП 2.5.1250-03 или другими видами транспорта при соблюдении условий хранения. Допускается транспортирование среды при температуре от 2 до 30° С не более 7 суток. **Транспортирование среды Левенштейна-Йенсена готовой к применению при отрицательной температуре не допускается.**

Срок годности: 6 месяцев при температуре хранения от 2 до 8 °С в неповрежденной групповой упаковке. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие среды Левенштейна-Йенсена заявленным в ТУ 9385-248-78095326-2016 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортирования.

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

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия «Питательная среда для выделения и культивирования микобактерий готовая к применению (среда Левенштейна-Йенсена)» обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора ФБУН ГНЦ ПМБ
по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

«Согласовано»
Директор ФГБНУ «ЦНИИТ»



А. Эрещов

«20» октября 2018 г.

ФГБНУ «Центральный
научно-исследовательский
институт туберкулеза»

Прошито и пронумеровано и
скреплено
печатью 6 листа(ов)

Директор ФГБНУ «ЦНИИТ»
Эргешов А.

