УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН
«Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
_____ И.А. Дятлов
_____ 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия
Набор реагентов для бактериологических исследований
«Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая»
по ТУ 20.59.52-315-78095326-2019

Медицинское изделие Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая» ***предназначено*** для использования в качестве вспомогательного средства в клинической лабораторной диагностике с целью качественного выделения из различного клинического материала (испражнения, моча, отделяемое ожоговых и хирургических ран, гной, мокрота, в редких случаях - кровь) возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний и пищевых токсикоинфекций - бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia,* а также их визуальной дифференциации по способности образовывать сероводород, 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 (возможен розовый оттенок).

СД – мелкодисперсный гигроскопичный светочувствительный порошок белого цвета.

Питательная среда расфасовывается в полиэтиленовые банки по 250 г, СД - во флаконы из темного стекла по 0,011 г.

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

2.1. Принцип метода

Принцип бактериологического метода выделения бактерий основан на выявлении живых микроорганизмов в исследуемом материале при посеве на среду с последующей инкубацией в термостате при заданной температуре в аэробных условиях.

Пептон мясной, дрожжевой экстракт и панкреатический гидролизат рыбной муки, входящие в состав среды, являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Присутствие в среде натрия тиосульфата и железа (III) лимонноаммиачного способствует образованию сероводорода, обеспечивая визуальную дифференциацию колоний протеев от морганелл и провиденсий, не образующих сероводород. Среда обеспечивает селективность в отношении грамположительной и грамотрицательной сопутствующей микрофлоры за счет присутствия в среде желчи крупного рогатого скота , кристаллического фиолетового и полимиксина В сульфата.

2.2. Состав набора

Состав питательной среды, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой) …	5,0
Пептон мясной ……	5,0
Дрожжевой экстракт ……	1,0
Натрий хлористый ……	4,0
D(-) Маннит ……	10,0
D(+) Мальтоза ……	10,0
Желчь крупного рогатого скота очищенная, сухая ……	6,0±2,5
Натрия тиосульфат ……	0,5
Железо (III) лимонноаммиачное ……	2,0
Кристаллический фиолетовый ……	0,003±0,0005
Феноловый красный ……	0,08
Натрий углекислый ……	0-0,3
Агар бактериологический ……	13,0±3,0

Состав СД, г/л:

Полимиксина В сульфат ……	0,00075
Крахмал кукурузный ……	0,01025

pH готовой среды от 7,1 до 7,5

Определение pH 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.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Величина pH, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению pH готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после стерилизации среды и внесения селективной добавки.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.Специфическая активность.

Специфическая активность оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на ***питательной среде с селективной добавкой,*** приготовленной по п.7.1 настоящей Инструкции.

Питательная среда обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 20-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С рост не менее 30 колоний каждого тест-штамма *Providencia alcalifaciens NCTC 1068-50, Proteus mirabilis 3177. Proteus vulgaris HX 19 222, Morganella morganii ATCC 25830 DSM 30164* в виде:

– колонии *P.alcalifaciens* NCTC 1068-50 круглые, гладкие, полупрозрачные, розового цвета диаметром от 1,5 до 2,5 мм;

– колонии *P. mirabilis 3177* круглые, гладкие, полупрозрачные, розовые с темным центром, диаметром от 1,0 до 2,5 мм; роение отсутствует;

– колонии *P. vulgaris HX 19 222* круглые, гладкие, полупрозрачные, желтоватые со слабым пожелтением среды, возможно образование темного центра, диаметром от 1,0 до 2,5 мм, роение отсутствует;

– колонии *M. morganii ATCC 25830 DSM 30164* круглые, гладкие, полупрозрачные, розового цвета диаметром от 1,5 до 2,5 мм.

3.2. Дифференцирующие свойства. Питательная среда обеспечивает проявление признака образования сероводорода соответствующими тест-штаммами для их дифференциации.

3.3. Ингибирующие свойства

Питательная среда, приготовленная по п.7.1, подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli 3912/41 (055:K59), Staphylococcus aureus Wood-46 ATCC 10832* при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} на всех засеянных чашках через 20-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С

Диагностическая чувствительность культуральных исследований образцов с применением ***питательной среды с селективной добавкой*** составила 100 % (по 34 положительных результата из 34 исследованных «заведомо положительных образцов», полученных двумя независимыми испытателями). Для оценки статистической достоверности результатов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

испытаний, в соответствии с *приложением В* «Методических рекомендаций по порядку проведения экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий» (Москва,2018), определена нижняя граница истинной величины чувствительности культуральных исследований образцов с применением ***питательной среды с селективной добавкой*** - не менее 96% (при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл).

Диагностическая специфичность культуральных исследований образцов с применением ***питательной среды с селективной добавкой*** составила 100 % (по 19 отрицательных результатов культурального исследования из 19 «заведомо отрицательных образцов», полученных двумя независимым испытателями. Рост всех «заведомо отрицательных образцов» в концентрации 10^{-4} м.кл./мл полностью отсутствовал. Для оценки статистической достоверности результатов испытаний, в соответствии с *приложением В* «Методических рекомендаций по порядку проведения экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий» (Москва,2018), **определена нижняя граница** истинной величины специфичности культуральных исследований образцов с применением ***питательной среды с селективной добавкой*** - не менее 94% (при доверительной вероятности 90%, при нагруженности образцов не более 10^{-4} м.кл./мл).

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением ***питательной среды с селективной добавкой*** - 100 % (по 53 правильных результата теста из 53 исследованных заведомо отрицательных и положительных образцов), полученных двумя независимыми испытателями.

Прогностичность положительного и отрицательного результата культурального исследования - 100% (ложноположительных и ложноотрицательных результатов не выявлено) при условии нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл (положительные) и при нагруженности образцов не более 10^{-4} м.кл./мл (отрицательные).

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».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

4.4 Набор реагентов содержит селективную добавку с антибиотиком, поэтому при работе с набором необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук!

4.5. Уничтожение приготовленной питательной ***питательной среды с селективной добавкой*** после проведения биологического исследования образцов осуществляется по СанПиН 2.1.3684-21 "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий", как уничтожение медицинских отходов, принадлежащих к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре (126±2) ˚С.

4.6 При использовании Набора реагентов по назначению и в соответствии с инструкцией противопоказаний к применению нет.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37±1°С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные
- Транспортные среды (для сбора и безопасного транспортирования образцов клинического материала с момента забора до начала микробиологического исследования), например, Транспортная среда Эймса сухая (РУ № РЗН 2018/7437 от 09.11.2020)

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Бактерии родов *Proteus, Morganella, Providencia* относятся к семейству *Enterobacteriaceae*. Важную роль в специфической патологии человека, особенно в качестве возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний и пищевых токсикоинфекций, играют два вида: *P. vulgaris* и *P. mirabilis*, причем *P. mirabilis* вызывает 75—90% инфекций человека.

Протей вызывает у человека различные заболевания, чаще протекающие по типу

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

пищевой токсикоинфекции. В ассоциации с другими условно-патогенными микроорганизмами протей вызывает различные формы гнойно-воспалительных и септических заболеваний: цистит, пиелит, гнойные осложнения ран и ожоговых поверхностей, флегмоны, абсцессы, плеврит, пневмонию, остеомиелит, менингит, сепсис. Патогенез пищевой токсикоинфекции связан с массовым разрушением протея в желудочно-кишечном тракте и всасыванием в кровь освобождающегося при этом эндотоксина.

6.1. Для лабораторной диагностики протея используется бактериологический метод, предусматривающий качественное установление наличия патогенных бактерий в исследуемом образце клинического материала.

Материалом для посева являются клинические образцы: испражнения, моча, отделяемое ожоговых и хирургических ран, гной, мокрота, в редких случаях - кровь. Преаналитический этап включает сбор проб, их маркировку, доставку в лабораторию, регистрацию поступившего материала и, при необходимости, его подготовку для проведения исследований.

6.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г), МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

Общим требованием к процедуре отбора проб клинических материалов является обеспечение условий, исключающих контаминацию (загрязнение) материала. Материал для бактериологического исследования целесообразно брать до начала антибиотико-(химио)-терапии. Емкости для сбора образцов должны быть тщательно вымыты и лишены следов дезинфицирующих средств.

Образцы, собранные *без использования консервантов*, суспендируют в ИХН (изотонический раствор хлорида натрия) в соотношении 1:5 или 1:10 и высевают на приготовленную по п.7.1.***питательную среду с селективной добавкой*** не позднее 2 часов после взятия.

При использовании консервантов оптимальны те же сроки, но материал пригоден для исследования еще в течение 12-24 ч при условии его хранения до начала исследования при 4-6 °С. В качестве консервантов используют изготовленные в лабораторных условиях забуференный глицериновый, фосфатно-буферный консерванты (pH 8,0), или специальные транспортные среды для сбора и безопасного транспортирования образцов клинического материала с момента забора до начала микробиологического исследования, сохраняя жизнеспособность микроорганизмов, в то же время, препятствуя их размножению, с целью выявления предполагаемого возбудителя инфекционного заболевания: например, Транспортная среда Эймса сухая (РУ № РЗН 2018/7437 от 09.11.2020)

Испражнения. Пробу, в количестве около 1 грамма отдельным наконечником с аэро-

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

зольным барьером или одноразовыми лопатками забирают из предварительно продезинфицированного горшка или подкладного судна.

Испражнения, собранные без использования консервантов, суспендируют в ИХН (изотонический раствор хлорида натрия) в соотношении 1:5 или 1:10 и высевают на приготовленную по п.7.1.***питательную среду с селективной добавкой*** не позднее 2 часов после взятия.

При использовании любого из консервантов, перечисленных выше, материал пригоден для исследования в течение 12-24 ч при условии его хранения до начала исследования при 4-6 °С в холодильнике, или в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами, или в термосе со льдом.

Пробы, переносимые в емкость с консервантом, не должны превышать более 1/3 объема консерванта. После внесения образца в консервант, перед высевом, смесь следует перемешать.

Гной, отделяемое ран , мокроту отбирают с помощью стерильного шприца или ватного (марлевого) тампона, при возможности сразу засевают на приготовленную по п.7.1.***питательную среду с селективной добавкой*** или доставляют в лабораторию в стерильных пробирках с транспортной средой (например, средой Эймса). Материал пригоден для исследования в течение 48 ч при условии его хранения в транспортной среде до начала исследования при 2-8 °С.

Мочу перед посевом центрифугируют и засевают осадок или используют для посева нативную мочу. Вне зависимости от способа получения мочи срок хранения проб можно увеличить до 24 часов при комнатной температуре или до 48 часов в холодильнике (при 2–8 °С) посредством добавления 1–2% борной кислоты сразу после сбора пробы. Замораживание мочи перед проведением микробиологических анализов недопустимо!

Кровь для исследования берут стерильным шприцом с соблюдением правил асептики из локтевой вены в объеме 2-10 мл (в зависимости от возраста пациента) или берут кровь с помощью вакуумной системы (вакутейнера), обеспечивающей правильную процедуру сбора образца и транспортировки. Образцы крови хранят при температуре 2-8°С – не более 12 часов. Недопустимо замораживание образцов цельной крови!

Для получения информации о потенциально патогенных бактериях родов протея, провиденции и морганелл - возбудителях внутрибольничных инфекций исследованию подлежат смывы с поверхностей внутрибольничного оборудования, медицинского инструментария, рук и одежды персонала.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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 с селективной добавкой.

Навеску питательной среды в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить 2 мин до полного расплавления агара. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°С в течение 15 мин.

Вскрыть флакон с селективной добавкой и растворить содержимое флакона в 5 мл стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешать в течение 1 мин, внести в стерильную, охлажденную до температуры 50-55 °С питательную среду из расчета 5 мл раствора СД на 1 л среды и разлить в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки подсушить. Раствор СД хранению не подлежит, использовать в день приготовления.

Готовая питательная среда прозрачная красного цвета. Готовую питательную среду можно использовать в течение 14 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

После каждого вскрытия банку с сухой питательной средой плотно закрыть и хранить до окончания срока годности в сухом месте при температуре от 2 до 30°С, избегая попадания влаги.

7.2. После доставки образцов в лабораторию и соответствующей подготовки по п. 6.2, *исследуемый материал внести по 0,1 мл* на чашки Петри с питательной средой, приготовленной по п.7.1. и стерильным шпателем распределить взвесь по поверхности среды. Инкубировать при температуре (37±1)°С в течение 20-24 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 20-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С. Визуально учитывают наличие роста колоний, с характерной для протеев морфологией (см п.3.1, 3.2. настоящей Инструкции).

. При обнаружении подобных колоний проводят дальнейшую идентификацию выделенной культуры. При этом, необходимо учитывать, что полученные результаты не являются единственным признаком, определяющим диагноз и требуют дополнительной информации для принятия медицинского решения (например, результаты параллельных посевов на другие дифференциально-диагностические среды, идентификационные тесты), а также клинические проявления и анамнез больного).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

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 2.1.3684-21 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, подлежит утилизации в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 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 герметично закрытой упаковке производителя:

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

10.2 После вскрытия банку с питательной средой хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от 2 до 30°С, избегая попадания влаги; флакон с СД после вскрытия и приготовления раствора хранению не подлежит, раствор используется в день приготовления.

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая» по ТУ 20.59.52-315-78095326-2019, хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

10.3 Набор реагентов транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 3 суток.

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая» по ТУ 20.59.52-315-78095326-2019 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-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая» заявленным в ТУ 20.59.52-315-78095326-2019 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования их 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-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus, Morganella, Providencia* сухая» по ТУ 20.59.52-315-78095326-2019, получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, территория «Квартал А», дом 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-10, факс 36-01-20.

Зам. директора
по научно-производственной работе А.П. Шепелин

«Согласовано»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

Варнавичус П.К.

«28» 11 2021 г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«29» 11 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДИЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU