

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

**«Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая
(Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 используется для приготовления **Среды ЖЭКА**, которая предназначена для проведения исследования клинического материала (испражнений) с целью качественного выделения бактерий рода *Campylobacter* - возбудителей кампилобактериоза и используется в качестве вспомогательного средства диагностики острых кишечных инфекций, совместно с результатами других лабораторных исследований и клинической картиной пациента.

Среда ЖЭКА (железо-эритрит кровяной агар) готовится путем внесения стерильной дефибринированной бараньей крови¹ в основу ЖЭКА (*питательная смесь + добавки*).

Область применения Набора реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 (далее по тексту - Набор реагентов «Основа ЖЭКА») – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Набор реагентов «Основа ЖЭКА» состоит из 1 банки с питательной смесью, 1 коробки с аэротолерантной добавкой (АД) и селективной добавкой (СД) - по 7 флаконов каждой.

¹ Используемая для приготовления среды кровь должна быть разрешена к применению в установленном порядке. Кровь в комплект поставки не входит.

Питательная смесь - мелкодисперсный, гигроскопичный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Аэротолерантная добавка – неоднородный гигроскопичный, светочувствительный порошок белого цвета с зелеными включениями.

Селективная добавка – мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок кирпичного цвета.

Питательная смесь расфасовывается в полиэтиленовые банки по 250 г, СД и АД во флаконы из темного стекла по 0,0116 г и 0,075 г соответственно.

2.1. Принцип метода

Бактериологическое исследование клинического материала с качественным видом определения бактерий рода *Campylobacter* основано на обнаружении живых микроорганизмов в исследуемом материале после его посева на Среду ЖЭКА (*питательная смесь + добавки + кровь*). с последующей инкубацией в термостате при заданной температуре в микроаэрофильных условиях.

Пептон ферментативный и панкреатический гидролизат рыбной муки, входящие в состав питательной смеси, а также вносимая дефибринированная баранья кровь, являются источниками питательных веществ, необходимых для роста кампилобактерий: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Метабисульфит натрия, натрий пировинограднокислый, железо (II) сернокислое повышают аэротолерантность кампилобактерий и снижают редокс-потенциал приготовленной среды. Селективные добавки, высокая температура инкубирования и микроаэрофильные условия подавляют рост сопутствующих микроорганизмов.

2.2. Состав основы ЖЭКА

Состав питательной смеси, г/л:

– Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	7,5
– Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой	7,5
– Тиамин хлорид	0,005
– Эритрит	0,01
– D-глюкоза	1,0
– Натрий хлористый	6,0
– Дрожжевой экстракт	3,0
– Натрий углекислый	0-0,3
– Агар бактериологический	10,0±3,0

Состав аэротолерантной добавки (АД), г/л:

– Метабисульфит натрия	0,025
– Натрий пировинограднокислый	0,025
– Железо (II) сернокислое 7-водное	0,025

Состав селективной добавки (СД), г/л:

– Полимиксина В сульфат	0,0001
– Амфотерицин В	0,0015
– Рифампицин	0,005
– Триметоприм	0,00125
– Ванкомицин	0,00375

рН готовой основы ЖЭКА от 6,8 до 7,3

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 смеси 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 основы ЖЭКА (*питательная смесь + добавки*) и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность.

Специфическая активность Набора реагентов «Основа ЖЭКА» оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на *приготовленной Среде ЖЭКА (питательная смесь + добавки + кровь)*.

Среда ЖЭКА обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-5} через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$ визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма *Campylobacter jejuni* ATCC 33560, *Campylobacter jejuni* NCTC 11168, *Campylobacter lari* ATCC, 35221, *Campylobacter coli* ATCC 33559 в виде:

- колонии *C. jejuni* ATCC 33560, *C. jejuni* NCTC 11168, *C. lari* ATCC 35221 круглые, полупрозрачные с сероватым оттенком, гладкие, влажные, блестящие.
- колонии *C. coli* ATCC 33559 плоские, с краями неправильной формы, блестящие, влажные, полупрозрачные, растекающиеся по поверхности среды и имеют тенденцию к слиянию.

3.2. Ингибирующие свойства. Среда ЖЭКА при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} подавляет на всех засеянных чашках рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P/ FDA 209-P, *Candida albicans* NCTC 885-653 и *P. vulgaris* HX 19 222 через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Диагностическая чувствительность (ДЧ) культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия составила 100 % (по 24 положительных результата, полученных двумя независимыми испытателями на испытуемой среде из 24 исследованных «заведомо положительных образцов», таким образом в сумме 48 положительных из 48).

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 чувствительности культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия - не менее 95,2 % при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-5} м.кл./мл.

Диагностическая специфичность (ДС) культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия составила 94,7 % (по 18 отрицательных и 1 ложноположительному результату культурального исследования из 19 «заведомо отрицательных образцов», полученных двумя независимым испытателями, всего в сумме 36 отрицательных из 38). После посева и последующего культивирования в течение 48 ч в микроаэрофильных условиях при температуре $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$ зашифрованного образца (тест-штамм *Proteus mirabilis* ATCC 29852) в концентрации 10^{-4} м.кл./мл визуально обнаруживался рост как на испытуемой среде так и на среде сравнения в виде мелких сливающихся колоний и был первично учтен как положительный. При последующей идентификации принадлежность к бактериям рода *Campylobacter* не подтвердилась.

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 испытуемого медицинского изделия - не менее 86% при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-4} м.кл./мл.

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением испытуемого медицинского изделия составила 98 % (100 правильных результатов теста из 102 исследованных заведомо отрицательных и положительных образцов), полученных в сумме двумя независимыми испытателями.

Прогностичность положительного результата культурального исследования - 96% (1 ложноположительный результат), прогностичность отрицательного результата культурального исследования 100% (ложноотрицательных результатов нет) при условии нагруженности образцов не менее 10^{-5} м.кл./мл (положительные) и при нагруженности образцов не более 10^{-4} м.кл./мл. (отрицательные).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения медицинского изделия Набор реагентов «Основа ЖЭКА» в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.6.2012 - класс 2 б.

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

Уничтожение приготовленной питательной Среды ЖЭКА 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" СанПиН 2.1.3684-21 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре $(126 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

4.3. Для приготовления Среды ЖЭКА используется селективная добавка (смесь антибиотиков), поэтому необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук!

4.4. При использовании медицинского изделия Набор реагентов «Основа ЖЭКА» по назначению и в соответствии с настоящей инструкцией противопоказаний к применению нет.

4.5. Набор реагентов «Основа ЖЭКА» не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Чашки Петри
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные
- Газпакеты для создания микроаэрофильных условий культивирования
- Стерильная дефибринированная баранья кровь

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Микроорганизмы рода *Campylobacter* (кампилобактер) в качестве этиологического фактора острых кишечных заболеваний (ОКЗ) встречаются не реже чем сальмонеллы, шигеллы и ротавирусы и вызывают - в зависимости от сезона и особенностей региона - от 3 до 15% ОКЗ. В инфекционной патологии человека и животных важнейшую роль играют виды *C. jejuni*, *C. coli* и *C. bariolis*, вызывающие ОКЗ сходного клинического течения (кампилобактериоз) и на основании своей способности к росту при относительно высокой температуре инкубации объединенные в группу термофильных кампилобактеров. Среди прочих - мезофильных, предпочитающих умеренную температуру инкубации - видов кампилобактера известную роль в патологии человека играют *C. fetus*, зачастую являющийся возбудителем артритов, менингитов, васкулитов, и *C. pilori*, ассоциирующийся с эрозивно-язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки.

6.2. Бактериологическая диагностика большинства инфекционных заболеваний состоит из этапа выделения чистой культуры возбудителя с использованием специальных питательных сред и условий культивирования, а также этапа идентификации выделенной культуры

Показания и противопоказания к применению бактериологического метода исследования:

Показанием к проведению бактериологического метода исследования биологического материала на кампилобактериоз является необходимость обследования:

- больных острыми кишечными инфекциями (ОКИ) - с диагностической целью;
- лиц, контактных с больными ОКИ - по эпидемическим показаниям;
- реконвалесцентов кампилобактериоза - для контроля лечения и выявления бактерионосительства.

Противопоказания к использованию метода отсутствуют.

6.3. Сбор материала для исследования.

В «Инструкции по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза», Москва, 1989 г, МР «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза», Москва, 2009 г для каждого конкретного случая указан способ забора и подготовки материала для исследований. У больных ОКЗ основным материалом для бактериологического исследования служат образцы нативных фекалий или содержимое прямой кишки, полученное путем ректального мазка. Среди клинических симптомов кампилобактериоза "сигнальным" является симптом гемоколита - именно наличие крови в стуле является абсолютным показанием к бактериологическому исследованию фекалий на кампилобактериоз.

Техника взятия исследуемого материала не отличается от техники, применяемой при других ОКИ.

Отбор нативного материала

Испражнения не менее 1 грамма собирают сразу после естественного акта дефекации из судна, горшка (тщательно вымытого и не содержащего следов дезинфектантов) или с пеленки с помощью стерильной стеклянной палочки, проволочной петли или деревянного шпателя и помещают в стерильную посуду (стеклянную пробирку, вакуумный пробоотборник, контейнер). Взятый материал переносят в стерильную пробирку с физиологическим раствором, или в транспортную среду для анаэробов, или специальными средами с активированным углем и без него для выделения *Campylobacter* spp.). При наличии в испражнениях патологических примесей (слизь, хлопья, эпителий, гной), за исключением крови, их включают в отбираемую пробу.

Отбор с использованием ректальных петель (тампонов)

Стерильную ректальную петлю (тампон) вводят в прямую кишку на глубину 5 - 6 см. Взятый

материал переносят в стерильную пробирку с физиологическим раствором или в транспортную среду. Попадание транспортных сред на слизистую оболочку прямой кишки недопустимо!

Условия и сроки хранения и транспортировки проб

При возможности доставки нативных фекалий в лабораторию в течение 1 часа транспортные среды можно не использовать.

При необходимости продолжительной транспортировки следует применять пробирочные транспортные среды: физиологический раствор хлористого натрия (срок хранения фекалий при комнатной температуре – 3-5 ч); 0,1% пептонную воду - (3 -48 ч); тиогликолевую среду для контроля стерильности (КС)- (до 3 суток) или разрешенные к применению и зарегистрированные в установленном порядке транспортные среды , например Транспортная среда Эймса сухая (с углем и без угля) (ПУ № РЗН 2018/7437 от 09.11.2020); Набор реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для контроля стерильности сухая (Тиогликолевая среда)» по ТУ 9398-040-78095326-2008№ ,ФСР 2008/03235 от 17.10.2011; среда Amies, среда Cary-Blair. В любую из перечисленных транспортных сред, разлитую по пробиркам в объеме 3,0-5,0 мл, исследуемый материал помещается в соотношении материал/среда 1:3 - 1:5.

Сроки хранения материала при температуре 2-8 °С в зависимости от вида среды:

- в изотоническом растворе натрия хлорида в течение 24 часов;
- в 0,1% пептонной воде - 72 часа;
- в среде для контроля стерильности, транспортных средах - 5 - 7 суток.

Предметы ухода за больными, откуда осуществляется забор образцов нативных фекалий (подкладные судна, горшки и проч.), после дезинфекционной обработки следует тщательно промывать водой, дабы предотвратить бактерицидное действие общепринятых антисептиков на кампилобактеры, высокочувствительных к любому из них.

Образцы **нативных** фекалий (не менее 1 г) суспендируют в физиологическом растворе (изотонический раствор хлорида натрия) в соотношении 1:5 или 1:10 и высевают по 0,1 мл на каждую чашку Петри с приготовленной по п.7.1 **питательной Средой ЖЭКА** не позднее 2 часов после взятия. Суспендирование проб в бульоне для бруцелл (например Питательный бульон для культивирования возбудителя бруцеллеза сухой (Бруцелла-бульон) ПУ № РЗН 2015/2948 от 11.08.2015) перед посевом позволяет обеспечить сохранность и поддерживать жизнеспособность кампилобактерий в отобранном материале.

Если взятый материал невозможно доставить незамедлительно после взятия, то его хранят в стерильных емкостях с физиологическим раствором или в одной из транспортных

сред, перечисленных выше, строго соблюдая сроки и условия хранения материала. Перед проведением исследования, смесь осторожно перемешивают и высевают стерильной пипеткой по 0,1 мл на каждую чашку Петри с приготовленной по п.7.1. **питательной Средой ЖЭКА**. Посевы культивируют в течение 44-48 ч при температуре $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$ в микроаэрофильных условиях.

6.4. Идентификацию исследуемого материала проводят в соответствии с МР «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза», Москва, 2009 г. Бактериологическое исследование на I этапе включает в себя микроскопию мазков из исследуемого материала, выделение чистой культуры и идентификацию возбудителя по культурально-морфологическим и ферментативным свойствам, на II этапе определение чувствительности выделенных микробных изолятов к антибиотикам.

Бактериоскопический метод основан на обнаружении в окрашенном (кристалл-виолетом или 1% раствором фуксина) препарате (мазке) микроорганизмов с характерной морфологией (мелкие изогнутые S-образные палочки - "крылья летящей чайки"). При выявлении микроорганизмов с характерной морфологией проводят традиционные тесты: определение цитохромоксидазы, продукция каталазы со свежеприготовленным 3% раствором перекиси водорода, тест на гемолиз.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление Среды ЖЭКА

Навеску питательной смеси в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить в течение 2 мин до полного расплавления агара. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°C в течение 20 мин.

Содержимое одного флакона с аэротолерантной и одного флакона с селективной добавками растворить каждую в 5 мл дистиллированной воды при перемешивании в течение 3-5 мин.

В стерильный, охлажденный до температуры $45-50^\circ\text{C}$ раствор питательной смеси, асептически внести растворы с АД и СД из расчета по 5 мл/л и стерильную дефибринированную кровь барана из расчета 70 мл/л.

Тщательно перемешать, исключая попадание пузырьков воздуха и разлить в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки подсушить с соблюдением правил асептики.

Готовая Среда ЖЭКА в чашках Петри непрозрачная, красно-коричневого цвета.

Готовую Среду ЖЭКА можно использовать в течение 15 сут после ее приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

После каждого вскрытия банки и взвешивания необходимого количества сухой питательной смеси, банку плотно закрывают и помещают на дальнейшее хранение. Растворы СД и АД используются в день приготовления, флаконы с остатками растворов СД и АД хранению не подлежат.

7.2. После соответствующей подготовки по п. 6.3 настоящей инструкции, исследуемый материал вносят стерильной пипеткой по 0,1 мл на каждую чашку Петри со Средой ЖЭКА и раскатывают взвесь по поверхности среды. Инкубируют в микроаэрофильных условиях (например, с использованием Газогенерирующих пакетов Кампи для контейнеров BD ГазПак Изи ФСЗ 2012/11441 от 01.02.2012) при температуре (42 ± 1) °С в течение 48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Окончательный учет результатов проводят через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре (42 ± 1) °С, визуально учитывая наличие и характер роста кампилобактерий в виде круглых, гладких, влажных, блестящих, полупрозрачных с сероватым оттенком колоний, или блестящих, влажных, полупрозрачных, плоских, с краями неправильной формы колоний, растекающихся по поверхности среды.

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

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

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Серии Набора реагентов «Основа ЖЭКА», 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 по-

вторное 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 «Основа ЖЭКА» хранят на складе в упаковке изготовителя:

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

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

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.3 Набор реагентов «Основа ЖЭКА» 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 «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

Срок годности: Набора реагентов «Основа ЖЭКА» - 2 года со дня изготовления.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия - Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» заявленным в ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит-кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о.Серпухов, п. Оболенск, территория «Квартал А», д. 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»

П.К. Варнавичус

«29»

11

2021 г.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 62 ЛИСТОВ

29 11 2021 год

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



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

«Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая

(Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 (далее по тексту - Набор реагентов «Основа ЖЭКА») используется для приготовления Среды ЖЭКА, которая предназначена для проведения исследования клинического материала, предположительно инфицированного кампилобактериями, с целью выделения возбудителей кампилобактериоза.

Среда ЖЭКА (железо-эритрит кровяной агар) готовится путем внесения стерильной дефибринированной бараньей крови¹ в основу ЖЭКА.

Область применения Набора реагентов «Основа ЖЭКА» – клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Набор реагентов «Основа ЖЭКА» состоит из 1 банки с питательной смесью, 1 коробки с аэротолерантной добавкой (АД) и селективной добавкой (СД) - по 7 флаконов каждой.

Питательная смесь - мелкодисперсный, гигроскопичный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

Аэротолерантная добавка – неоднородный гигроскопичный, светочувствительный порошок белого цвета с зелеными вкраплениями.

¹ Используемая для приготовления среды кровь должна быть разрешена к применению в установленном порядке. Кровь в комплект поставки не входит.

Селективная добавка – мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок кирпичного цвета.

Питательная смесь расфасовывается в полиэтиленовые банки по 250 г, СД и АД во флаконы из темного стекла по 0,0116 г и 0,075 г соответственно.

2.1. Принцип метода

Принцип бактериологического метода выявления возбудителей кампилобактериоза основан на обнаружении живых микроорганизмов в исследуемом материале при посеве на Среду ЖЭКА с последующей инкубацией в термостате при заданной температуре в микроаэрофильных условиях.

Пептон ферментативный и панкреатический гидролизат рыбной муки, входящие в состав питательной смеси, а также вносимая дефибрированная баранья кровь, являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Метабисульфит натрия, натрий пировинограднокислый, железо (II) сернокислое повышают аэротолерантность кампилобактерий и снижают редокс-потенциал приготовленной среды. Селективные добавки, высокая температура инкубирования и микроаэрофильные условия подавляют рост сопутствующих микроорганизмов.

2.2. Состав основы ЖЭКА

Состав питательной смеси, г/л:

– Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	7,5
– Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой	7,5
– Тиамин хлорид	0,005
– Эритрит	0,01
– D-глюкоза	1,0
– Натрий хлористый	6,0
– Дрожжевой экстракт	3,0
– Натрий углекислый	0-0,3
– Агар бактериологический	10,0±3,0

Состав аэротолерантной добавки (АД), г/л:

– Метабисульфит натрия	0,025
– Натрий пировинограднокислый	0,025
– Железо (II) сернокислое 7-водное	0,025

Состав селективной добавки (СД), г/л:

– Полимиксин В сульфат	0,0001
– Амфотерицин В	0,0015
– Рифампицин	0,005
– Триметоприм	0,00125
– Ванкомицин	0,00375

рН готовой основы ЖЭКА от 6,8 до 7,3

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 смеси 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 основы ЖЭКА (*питательная смесь + добавки*) и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность.

Специфическая активность Набора реагентов «Основа ЖЭКА» оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов при росте на *приготовленной Среде ЖЭКА (питательная смесь + добавки + кровь)*.

Среда ЖЭКА обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-5} через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$ визуально обнаруживаемый рост каждого тест-штамма *Campylobacter jejuni* ATCC 33560, *Campylobacter jejuni* NCTC 11168, *Campylobacter lari* ATCC, 35221, *Campylobacter coli* ATCC 33559 в виде:

- колонии *C. jejuni* ATCC 33560, *C. jejuni* NCTC 11168, *C. lari* ATCC 35221 круглые, полупрозрачные с сероватым оттенком, гладкие, влажные, блестящие.
- колонии *C. coli* ATCC 33559 плоские, с краями неправильной формы, блестящие, влажные, полупрозрачные, растекающиеся по поверхности среды и имеют тенденцию к слиянию.

3.2. Ингибирующие свойства. Среда ЖЭКА при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} подавляет на всех засеянных чашках рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P/ FDA 209-P, *Candida albicans* NCTC 885-653 и *P. vulgaris* HX 19 222 через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения медицинского изделия Набор реагентов «Основа ЖЭКА» в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.6.2012 - класс 2 б.

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

Уничтожение приготовленной питательной Среды ЖЭКА 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" СанПиН 2.1.3684-21 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре $(126 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

4.3. Для приготовления Среды ЖЭКА используется селективная добавка (смесь антибиотиков), поэтому необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук!

4.4. При использовании медицинского изделия Набор реагентов «Основа ЖЭКА» по назначению и в соответствии с настоящей инструкцией противопоказаний к применению нет.

4.5. Набор реагентов «Основа ЖЭКА» не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Чашки Петри
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл

- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные
- Газпакеты для создания микроаэрофильных условий культивирования

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Микроорганизмы рода *Campylobacter* (кампилобактер) в качестве этиологического фактора острых кишечных заболеваний (ОКЗ) встречаются не реже чем сальмонеллы, шигеллы и ротавирусы и вызывают - в зависимости от сезона и особенностей региона - от 3 до 15% ОКЗ. В инфекционной патологии человека и животных важнейшую роль играют виды *C. jejuni*, *C. coli* и *C. bariolis*, вызывающие ОКЗ сходного клинического течения (кампилобактериоз) и на основании своей способности к росту при относительно высокой температуре инкубации объединенные в группу термофильных кампилобактеров. Среди прочих - мезофильных, предпочитающих умеренную температуру инкубации - видов кампилобактера известную роль в патологии человека играют *C. fetus*, зачастую являющийся возбудителем артритов, менингитов, васкулитов, и *C. pilori*, ассоциирующийся с эрозивно-язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки.

6.2 В «Инструкции по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза», Москва, 1989 г, МР «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза», Москва, 2009 г и других нормативных документах для каждого конкретного случая указан способ забора и подготовки материала для исследований. У больных ОКЗ материалом для бактериологического исследования служат образцы нативных фекалий или содержимое прямой кишки, полученное путем ректального мазка. Среди клинических симптомов кампилобактериоза "сигнальным" является симптом гемоколита - именно наличие крови в стуле является абсолютным показанием к бактериологическому исследованию фекалий на кампилобактериоз.

Забор материала следует производить в возможно более ранние сроки, желательно - до начала антибиотикотерапии; далее, в течение всего периода болезни - по показаниям к бактериологическому исследованию (появление крови в стуле, усиление или рецидив диареи, начало реконвалесценции).

Предметы ухода за больными, откуда осуществляется забор образцов нативных фекалий (подкладные судна, горшки и проч.), после дезинфекционной обработки следует

тщательно промывать водой, дабы предотвратить бактерицидное действие общепринятых антисептиков на кампилобактеры, высокочувствительных к любому из них.

Если условия работы лечебного учреждения позволяют незамедлительно передавать отобранный исследуемый материал в лабораторию для бактериологического исследования, то применение транспортных средств не является обязательным: отобранные стерильным стеклянным инструментом или деревянным штапелем однократного применения в количестве 0,8-1,0 г в стерильные стеклянные флаконы образцы фекалий транспортируются в нативном состоянии; забор материала следует производить немедленно после дефекации. Допустимым является непродолжительное - не более 1 часа - хранение образцов нативных фекалий при 4°C. Суспендирование проб в бульоне для бруцелл (например Питательный бульон для культивирования возбудителя бруцеллеза сухой (Бруцелла-бульон) РУ № РЗН 2015/2948 от 11.08.2015) перед посевом позволяет обеспечить сохранность и поддержать жизнеспособность кампилобактерий в отобранном материале.

При необходимости транспортировки исследуемого материала в течение времени, превышающего 1 час с момента его забора, следует применять транспортные среды, разрешенные к применению и зарегистрированные в установленном порядке.

6.4. Идентификацию исследуемого материала проводят в соответствии с МР «Микробиологическая диагностика кампилобактериоза», Москва, 2009 г и другими, утвержденными в установленном порядке нормативными документами по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных кампилобактериями. Бактериологическое исследование на I этапе включает в себя микроскопию мазков из исследуемого материала, выделение чистой культуры и идентификацию возбудителя по культурально-морфологическим и ферментативным свойствам, на II этапе определение чувствительности выделенных микробных изолятов к антибиотикам.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

7.1. Приготовление Среды ЖЭКА

Навеску питательной смеси в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешать в 1 л дистиллированной воды, кипятить в течение 2 мин до

полного расплавления агара. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°C в течение 20 мин.

Содержимое одного флакона с аэротолерантной и одного флакона с селективной добавками растворить каждую в 5 мл дистиллированной воды при перемешивании в течение 3-5 мин.

В стерильный, охлажденный до температуры 45-50 °С раствор питательной смеси, асептически внести растворы с АД и СД из расчета по 5 мл/л и стерильную дефибрированную кровь барана из расчета 70 мл/л.

Тщательно перемешать, исключая попадание пузырьков воздуха и разлить в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки подсушить с соблюдением правил асептики.

Готовая Среда ЖЭКА в чашках Петри непрозрачная, красно-коричневого цвета.

Готовую Среду ЖЭКА можно использовать в течение 7 сут после ее приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

После каждого вскрытия банки и взвешивания необходимого количества сухой питательной смеси, банку плотно закрывают и помещают на дальнейшее хранение. Растворы СД и АД используются в день приготовления, флаконы с остатками растворов СД и АД хранению не подлежат.

7.2 После соответствующей подготовки по п. 6.2 настоящей инструкции, исследуемый материал вносят на две чашки Петри со Средой ЖЭКА и раскатывают взвесь по поверхности среды. Инкубируют в микроаэрофильных условиях (например, с использованием Газогенерирующих пакетов Кампи для контейнеров BD ГазПак Изи ФСЗ 2012/11441 от 01.02.2012) при температуре (42 ± 1) °С в течение 48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Окончательный учет результатов проводят через 48 ч инкубации в микроаэрофильных условиях при температуре (42 ± 1) °С, визуально учитывая наличие и характер роста кампилобактерий в виде круглых, гладких, влажных, блестящих, полупрозрачных с сероватым оттенком колоний, или блестящих, влажных, полупрозрачных, плоских, с краями неправильной формы колоний, растекающихся по поверхности среды.

При этом необходимо учитывать, что полученные результаты не являются единственным, определяющим диагноз признаком и требуют дополнительной информации для принятия медицинского решения о диагнозе (например, результаты параллельных посевов на дру-

гие дифференциально-диагностические среды, идентификационные тесты), а также клинические проявления и анамнез больного.

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

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Серии Набора реагентов «Основа ЖЭКА», 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 «Основа ЖЭКА» хранят на складе в упаковке изготовителя:

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

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

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровавого агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа

ЖЭКА)» хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.3 Набор реагентов «Основа ЖЭКА» 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 «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

Срок годности: Набора реагентов «Основа ЖЭКА» - 2 года со дня изготовления.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия - Набора реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» заявленным в ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования.

По вопросам, касающимся качества медицинского изделия Набор реагентов для бактериологических исследований «Основа железо-эритрит-кровяного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА)» по ТУ 20.59.52-322-78095326-2020 в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о.Серпухов, п. Оболенск, территория «Квартал А», д. 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 «ВЫМДЕЛ-МЕДЦЕНТР»

П.К. Варнавичус

2021 г





ПРОЦЕСС
В КОЛИЧЕСТВЕ 9 ЛИСТОВ

8 2018 год

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