



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «НПФ «АБРИС+»

Марковский В.М.

25.04.2022 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro

Набор реагентов для окраски по Циль-Нильсену

«Диахим-Набор для окраски по Циль-Нильсену» по ТУ 9398-020-27428909-2008

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Показания к применению.

Набор применяется для дифференциальной окраски и выявления принадлежности микроорганизмов к кислотоустойчивым или кислотонеустойчивым путем окраски препаратов, взятых из биологического материала человека (мокрота, смывы с бронхов).

Функциональное назначение – вспомогательное средство в диагностике.

Окрашенные, с применением набора, стеклопрепараты применяются для бактериологического и микроскопического исследования с целью выявления наличия, либо отсутствия кислотоустойчивых бактерий, вызывающих патологические процессы в дыхательных путях человека, в том числе, для выявления бактерий туберкулеза.

1.2. Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.3. Набор не имеет противопоказаний к применению.

1.4. Область применения - клиническая лабораторная диагностика in vitro.

1.5. Исследования проводят в клиничко-диагностических лабораториях областных, городских, районных государственных или частных больниц и других ЛПУ, использующих методы клинической лабораторной диагностики.

Набор предназначен только для профессионального применения. Исследования с использованием данного набора реагентов могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным профильным образованием: врач КЛД, врач-бактериолог, биолог, медицинский лабораторный техник, медицинский технолог. Персонал, проводящий исследования с использованием данного набора реагентов, должен владеть навыками проведения клинических лабораторных исследований и работы на соответствующем оборудовании.

1.6. Набор предназначен для однократного применения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1. Состав набора

В комплект поставки входят: реагенты, инструкция по применению, паспорт.

Набор изготавливается в следующих вариантах

Комплектация №1 кат. № 441

Основной состав:

- Реагент 1 – 1 флакон (100 мл);
- Реагент 2 (концентрат) – 1 флакон (30 мл);
- Реагент 3 – 1 флакон (100 мл).

Принадлежности:

- Крышка флип-топ – 2 шт.

Комплектация 2 кат. № 441С

Основной состав:

- Реагент 1 – 1 флакон (100 мл);
- Реагент 2 – 1 флакон (100 мл);
- Реагент 3 – 1 флакон (100 мл),

Принадлежности:

- Крышка флип-топ – 3 шт.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

2.2. Принцип метода

Метод окраски по Циль-Нильсену является наиболее употребляемым и распространенным методом для выявления кислотоустойчивых микроорганизмов. Он основан на использовании нескольких специальных методических приемов:

- окраска фуксином с подогреванием (Реагент 1) - при одновременном воздействии нагревания и сильного протравливающего действия карболовой кислоты повышается способность красителя проникать в микробную клетку и особенно в структуры ее клеточной стенки, состоящей из липидов, миколовых кислот и восков. Обычные анилиновые красители не проникают в клеточную стенку микобактерий и последние не окрашиваются;

- обесцвечивание (Реагент 2)- последующая обработка мазка 25% раствором серной кислоты или 3% раствором солянокислого спирта приводит к обесцвечиванию красителя, проникшего в структуры, не обладающие достаточной гидрофобностью и стойкостью к разрушению в кислоте (кислотоустойчивостью). Только кислото- и спиртоустойчивые микроорганизмы стойко удерживают краситель и остаются после обесцвечивания окрашенными в малиново-красный цвет;

- контрастирующая окраска (Реагент 3)- обесцвеченные элементы мазка докрашивают метиленовым синим для придания контрастности препарату.

Наиболее эффективны способы окраски по Циль-Нильсену для выявления спирто- и кислотоустойчивых бактерий, в частности семейства *Mycobacteriaceae* (микобактерий туберкулеза, лепры и др.) и некоторых простейших (криптоспоридий).

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонента набора Реагент 1 входит фенол в концентрации 5%; компонента набора Реагент 2 (для кат. № 441) входит соляная кислота в концентрации 30%; компонента набора Реагент 2 (для кат. № 441С) входит серная кислота в концентрации 25%. При попадании компонентов с ним на кожу: смыть большим количеством воды с мылом. При попадании в глаза: промыть глаза водой. При попадании в желудок: прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

Внимание! При работе с легковоспламеняющимися жидкостями (Реагент 1, Реагент 2 (для кат. № 441), Реагента 3 (для кат. № 441С)) необходимо соблюдать правила пожарной безопасности.

При работе с набором следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и СанПиН 3.3686-21.

Допускать к работе с медицинским изделием только специально обученный персонал.

Перед началом работы ознакомиться с инструкцией и применять набор строго по назначению.

При работе с медицинским изделием следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы, полученные из мокроты и смывов бронхов человека, следует рассматривать как потенциально инфицированные.

Химическая посуда и оборудование, используемые при работе с красителем, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с красителем.

Все использованные одноразовые материалы, остатки образцов биоматериала, образующиеся в клиничко-диагностических лабораториях, относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы) и должны быть подвергнуты обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией в соответствии с 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» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- микроскоп Микмед-5 по ТУ-9443-166-07502348-2005 (ФСР 2010/08206) или не уступающий по техническим характеристикам;
- горелка, спиртовка;
- пипетки стеклянные вместимостью 1 и 2 мл (ГОСТ 29169-91);
- пинцет или щипцы для взятия предметных стекол с мазками;
- стёкла предметные (ГОСТ 9284-75);
- стекла покровные (ГОСТ 6672-75);
- лотки для сушки и окраски мазков;
- штатив для просушивания окрашенных стёкол на воздухе в вертикальном или наклонном положении;
- штатив («рельсы») для окраски мазков на предметных стёклах;
- спирт этиловый 96° (CAS № 64-17-5) для кат. № 441;
- масло иммерсионное (ГОСТ 13739-78);
- бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76);
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые (ГОСТ Р 52239-2004).

5. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализируемыми образцами являются нативные образцы мокроты и смывов бронхов человека.

5.1.1. Приготовление мазка

Выбрать в смывах с бронхов или мокроте непрозрачные комочки сероватого или оттенка желтоватого цвета, перенести требуемое количество материала на предметное стекло, используя

деревянную палочку или бактериологическую петлю и равномерно распределить материал по предметному стеклу на площади на 1-2 см.

5.1.2. Фиксация мазка

Приготовленные мазки высушивают при комнатной температуре в вытяжном шкафу в течение 15-30 минут.

Высушенные стекла с препаратами необходимо провести три раза через верхнюю треть пламени спиртовки или газовой горелки до исчезновения признаков запотевания стекла. Общая продолжительность пребывания мазка в пламени не должна превышать 3 - 5 секунд.

При работе с образцами, содержащими патогенные кислотоустойчивые микроорганизмы (например, микобактерии туберкулеза) оптимальным является метод фиксации, предложенный А. Нain. Согласно этому методу предметные стекла с мазками раскладывают на жестяные или эмалированные подносы и помещают в сушильный шкаф, где сначала высушивают при 37 °С. Затем температуру повышают до 105 °С и, спустя 10 минут, шкаф выключают. При таком методе достигается надежное прикрепление материала к стеклу и гибель микобактерий, как находящихся в материале мазка, так и случайно попавших на поднос. Фиксирующая температура не должна превышать 105 °С, чтобы не изменить тинкториальные свойства микобактерий.

6. ПРОВЕДЕНИЕ ОКРАСКИ

6.1. Подготовка к окраске

Приготовление рабочего раствора солянокислого спирта (для кат. № 441):

Содержимое флакона Реагента 2 развести 96° этиловым спиртом в соотношении 1:9 (1 часть солянокислого спирта (Реагента 2) на 9 частей этилового спирта), перемешать.

Для кат № 441С Реагент 2 готов к использованию.

6.2. Схема процедуры окрашивания рутинным методом:

Поместить на мазок полоску фильтровальной бумаги и нанести на фиксированный мазок несколько капель(3-4) карболового фуксина Циля (Реагент 1) так, чтобы он покрыл всю полоску фильтровальной бумаги	2-3 мин
Нагреть препарат над пламенем горелки до появления лёгкого облачка паров, не допуская закипания краски и подсыхания бумаги	
Охладить мазок до комнатной температуры	
Слить краску, удалить фильтровальную бумагу	
Сполоснуть в проточной воде	30 сек
Для кат. № 441: Поместить мазок в солянокислый спирт (Реагент 2) рабочий раствор солянокислого спирта до полного визуального обесцвечивания	1-3 мин
Для кат. № 441С: поместить мазок в раствор серной кислоты (Реагент 2) до желтоватого оттенка мазка	3-5 секунд
Смыть проточной водой	10 сек
Поместить мазок в раствор метиленового синего (Реагент 3)	1-2 мин
Промыть стекла в проточной воде	1 мин
Высушить	
Микроскопировать с масляной иммерсией в световом микроскопе (окуляр x10, увеличение x100).	

7. РЕЗУЛЬТАТЫ ОКРАСКИ

Кислотоустойчивые микроорганизмы окрашиваются в красный цвет на синем или голубом фоне.

Набор является вспомогательным средством, служащим для окраски препарата. Интерпретация результатов окраски проводится квалифицированным медицинским специалистом на основании выявленных морфологических особенностей в окрашенном препарате в соответствии с применяемыми в КДЛ нормативными актами.

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ НАБОРА

8.1. Транспортирование набора производится всеми видами крытых транспортных средств в соответствии с требованиями и правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта, при температуре +2 - +25°C.

8.2. Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 - +25°C в течение всего срока годности.

9. УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

9.1. МИ должны применяться согласно инструкции по применению, утвержденной генеральным директором предприятия.

9.2. При дробном применении «Реагент 1», «Реагент 3» и «Реагент 2» (441С) закручивающиеся крышки флаконов можно заменить на крышки флип-топ, входящие в комплект поставки.

9.3. Набор стабилен после вскрытия флаконов при температуре +2 - +25°C в течение всего срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.

9.4. Рабочий раствора солянокислого спирта (Реагента 2) хранить при температуре +2 - +25°C в течение всего срока годности.

10. УТИЛИЗАЦИЯ

При использовании МИ образуются отходы классов А и Г, которые утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 287-113.

Отходы		Класс опасности
Эксплуатационная документация	Инструкция по применению	Отходы класса А
	Паспорт	
Вторичная (групповая) упаковка	Пакет закрывающийся полиэтиленовый	Отходы класса Г
Первичная упаковка	флаконы, содержавшие МИ	
Не использованные МИ с истекшим сроком годности	флаконы, содержащие МИ	

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных настоящими техническими условиями.

11.2. Срок годности набора - 1 год со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

12. СИМВОЛЫ НА УПАКОВКЕ

	Только для <i>in vitro</i> диагностики		Опасно! ЛВЖ
	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Номер серии		Срок годности
	Производитель		Хранить при
	Дата изготовления		Товарный знак предприятия-изготовителя

Прошито и пронумеровано

6 (шесть)

лист 06

Генеральный директор
ООО «НПФ «АБРИС+»

В.М. Марковский

