

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

И.А. Дятлов

« 10 »

2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Питательная среда для накопления холерного вибриона

«1% пептонная вода, готовая к применению»

по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Питательная среда для накопления холерного вибриона «1% пептонная вода, готовая к применению» по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022 предназначено для накопления возбудителя холеры и используется в качестве вспомогательного средства диагностики инфекций, вызванных бактериями рода *Vibrio cholerae*, при бактериологическом исследовании клинического материала человека (испражнения, рвотные массы, желчь, секционный материал).

Область применения медицинского изделия - клиническая лабораторная диагностика

Потенциальные потребители медицинского изделия

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Питательная среда для накопления холерного вибриона «1% пептонная вода, готовая к применению» по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022 (далее по тексту - 1% пептонная вода) предназначено для профессионального использования **только для *in vitro*** диагностики в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях инфекционного профиля.

К работе допускается персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, обученный методам диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня»).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

1% пептонная вода представляет собой стерильную прозрачную жидкость светло-желтого цвета.

1 % пептонная вода разливается по 0,05 и по 0,10 л в стеклянные бутылки вместимостью 100 и 250 см³ соответственно, закрывается резиновыми медицинскими пробками, завальцовывается алюминиевыми колпачками и стерилизуется автоклавированием при температуре 121 °С в течение 30 мин.

2.1. Принцип метода

При бактериологическом исследовании клинического материала человека на наличие в нем возбудителя инфекционного заболевания применяется *микробиологический метод* проверки, который позволяет выявить и идентифицировать патогенный микроорганизм даже при относительно малых его концентрациях в образце путем посева в накопительные жидкие питательные среды .

Совокупность компонентов, входящих в состав жидкой накопительной среды «1% пептонная вода» обеспечивает питательные потребности для интенсивного роста и накопления холерного вибриона в течение 6-8 часов. Щелочность среды и входящий в состав метабисульфит натрия в значительной степени подавляет рост сопутствующей микрофлоры.

Состав г/л:

– Пептон мясной	10,0
– Натрий хлористый	5,0
– Калий азотнокислый	0,1
– Натрий пироксернисто-кислый (натрия метабисульфит)	0,35
– Натрий углекислый	1,0±0,2
– Вода дистиллированная	1 л

pH от 8,2 до 8,7

Определение pH проводят в 1% пептонной воде потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» до и после стерилизации. Величина pH может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения pH, указанные выше, учитывают отклонения pH после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность.

Специфическая активность оценивается по показателям чувствительности, скорости роста контрольных тест-штаммов при росте на 1% пептонной воде, подготовленной по п.7.1 настоящей Инструкции.



1% пептонная вода обеспечивает рост тест-штаммов *Vibrio cholerae* O1 P-1 (145) классического биовара, *Vibrio cholerae* O1 M-878 (890) биовара Эльтор, *Vibrio cholerae* не O1 P-9741 при посеве 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-7} (10 м.к.) в 100 мл среды через 6-8 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Контроль посевой дозы проводят на Щелочном агаре (зарегистрированном в установленном порядке и разрешенным к применению на территории РФ). Через 6 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ из каждой бутылки бактериологической петлей диаметром 5 мм с поверхности среды проводят пересевы на три чашки Петри с Щелочным агаром. Выращивание проводят 12 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

1 % пептонную воду считают пригодной, если на всех засеянных чашках Петри со Щелочным агаром вырастает в среднем не менее 1 колонии каждого тест-штамма типичной морфологии (гладкие, полупрозрачные, голубоватые с ровным краем).

3.2. Показатель эффективности (отношение среднего числа колоний, образовавшихся на Щелочном агаре при «нулевом посеве», к среднему числу колоний на той же среде после инкубирования посевного материала в 1% пептонной воде в течение 6 часов) – не менее 50

3.3 Диагностическая чувствительность и диагностическая эффективность 1 % пептонной воды были определены при проведении клинических испытаний на клинических изолятах и тест-штаммах холерных вибрионов на Щелочном агаре после высева с испытуемой среды «заведомо положительных и отрицательных образцов»

Диагностическая чувствительность (ДЧ) культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия составила 100 % (по 28 положительных результатов, полученных двумя независимыми испытателями в двух повторностях на испытуемой среде из 28 исследованных «заведомо положительных образцов»).

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 98% при доверительной вероятности 90%.

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением испытуемого медицинского изделия составила 100 % (156 правильных результатов теста из 156 исследованных заведомо отрицательных и положительных образцов), полученных в сумме двумя независимыми испытателями.

Прогностичность положительного результата культурального исследования при использовании 7 «заведомо отрицательных образцов» - 100% (ложноположительных результатов нет), прогностичность отрицательного результата культурального исследования 32 «заведомо положительных образцов» (4 проб-иммитантов, 28 тест-штаммов и клинических изолятов) 100% (ложноотрицательных результатов нет) при условии нагруженности не менее 10 м.кл./10 мл образца (положительные) и при нагруженности не более 1000 м.кл./10 мл образца (отрицательные).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения 1% пептонной воды в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.6.2012 – класс 3.

4.2 Все образцы исследуемого материала *потенциально* содержат микроорганизмы, которые могут быть возбудителями инфекций, поэтому работа должна проводиться в лабораториях, выполняющих исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней с соблюдением МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня», СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"

4.3. Уничтожение 1% пептонной воды и остатков образцов после проведения биологического исследования 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 «В» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре $(126 \pm 2) ^\circ\text{C}$. После обеззараживания допускается повторное использование стеклянной тары и резиновых пробок.

4.4. Не использовать, если нарушена целостность упаковки (бутылки) или внешний вид не соответствует описанию.

Не использовать, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

Не использовать по истечении срока годности.

4.5 Медицинское изделие не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

4.6. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности медицинское изделие 1% пептонная вода готовая к применению - безопасно.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

При аварийных ситуациях возможно следующее:

- вероятность повреждений кожных покровов осколками стекла при неосторожном обращении со стеклянной тарой;
- вред при приеме внутрь.

В случае возникновения подобных симптомов необходимо обратиться за неотложной помощью.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Чашки Петри стерильные
- Стерильные ватно-марлевые пробки
- Щелочной агар, зарегистрированный в установленном порядке и разрешенный к применению на территории РФ, например «Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона сухая (Щелочной агар) по ТУ 9385-039-78095326-2008, ФСР 2009/05473 от 26.05.2021

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Основным биологическим материалом для исследования с целью качественного выделения из клинического материала бактерий рода *Vibrio cholerae* – возбудителей инфекционной болезни – холеры являются: испражнения, рвотные массы, желчь, секционный материал.

Холера представляет собой особо опасную инфекционную болезнь с диарейным синдромом, фекально-оральным механизмом передачи возбудителя инфекции, водным, пищевым и контактным путями распространения.

Возбудителями холеры являются токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп, содержащие гены *ctxAB* и *tcpA-F*, отвечающие за синтез холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей адгезии и склонные к эпидемическому распространению (эпидемически значимые штаммы). Нетоксигенные штаммы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, у которых отсутствуют гены *ctxAB* и *tcpA-F* или только ген *ctxAB* (*ctxAR tcpA-F+*),

относят к эпидемически незначимым. Они вызывают спорадические (единичные) случаи заболевания или вспышки (при общем источнике инфицирования) заболевания с клиническими проявлениями гастроэнтерита, не склонные к эпидемическому распространению.

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

Преаналитический этап включает сбор проб, их маркировку, доставку в лабораторию, регистрацию поступившего материала и, при необходимости, его подготовку для проведения исследований.

6.3. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры», СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

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.

Испражнения и рвотные массы. Пробу, в количестве около 10-20 мл собирают в стерильную посуду (контейнеры для сбора проб клинического материала с герметично закрывающимися крышками) стерильными ложками из индивидуального судна, на дно которого помещают меньший по размеру сосуд (лоток), удобный для обеззараживания кипячением

Для взятия материала у больных с обильным водянистым стулом можно использовать резиновый катетер, один конец которого вводят в прямую кишку, а другой опускают в банку. Жидкие испражнения стекают в сосуд свободно или при легком массаже брюшной стенки.

Для взятия материала у контактных лиц, подлежащих обследованию по эпидемиологическим показаниям, используют стерильный ректальный тампон, который вводят в прямую кишку на глубину 5-6 см, собирают им содержимое со стенок кишечника и опускают во флакон или пробирку с 1 % пептонной водой.

Стерильную ректальную петлю перед забором материала смачивают стерильным 0,9% раствором натрия хлорида.

Желчь. Желчь берут при дуоденальном зондировании в лечебном учреждении. Собирают две порции в отдельные пробирки или контейнеры: из желчного пузыря и желчных протоков (В и С). Материал доставляют нативным, без использования транспортных сред.

Емкости с образцами биологического материала этикетируют, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, избегая его затекания внутрь, герметизируют парафинированной пленкой (парафилмом), помещают во вторичный контейнер, в котором находится адсорбирующий влагу материал (марля, вата) в количестве, достаточном для впитывания всей жидкости в случае повреждения первичного контейнера, и помещают в кейс для транспортирования проб. Для фиксации контейнеров в кейсе используют при необходимости воздушно-пузырьковую пленку или вставку-штатив. В одном кейсе допускается транспортировка образцов материала от разных пациентов предварительно дважды упакованных. Пробы перевозят на служебном транспорте с сопровождающим. Направления составляются в двух экземплярах, один экземпляр вкладывают в контейнер (кейс) с пробами, а второй доставляется отдельно от проб.

Для исследования секционного материала от умерших с подозрением на холеру (или от кишечных инфекций неустановленной этиологии) берут отрезки (длиной около 10 см) верхней, средней и нижней частей тонкой кишки, разрез производят между двойными лигатурами, предварительно наложенными на оба конца изымаемого участка кишечника. Желчный пузырь после перевязки протока извлекают целиком. Содержимое кишечника и желчь от трупа можно взять стерильным шприцем с толстой иглой в объеме до 10 мл и перенести в емкость с 1% пептонной водой. Взятые образцы органов трупа укладывают отдельно в стерильные банки (контейнеры).

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят в условиях бактериологической лаборатории медицинскими специалистами (например, персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, обученный методам диагностики и правилам работы в клинικο-диагностической лаборатории в установленном порядке (МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня»), ознакомленный с требованиями настоящей Инструкции по применению.

7.1. Подготовка медицинского изделия к проведению анализа клинического материала: работа должна быть проведена с соблюдением правил асептики. Перед началом работы с бутылок с 1% пептонной водой снимают алюминиевые колпачки, меняют резиновые пробки на стерильные ватно-марлевые пробки и используют для проведения анализа. Для каждого образца биоматериала используют для пересевов по 2 бутылки с 1 % пептонной водой в качестве I пептона и II пептона.

7.2. После доставки образцов в лабораторию и соответствующей их подготовки по п. 6.3, проводят высевы в 3 этапа строго с рекомендациями МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры»:

1 этап : исследуемый материал вносят в 1 % пептонную воду (I пептон) и петлей на Щелочной агар.

2 этап : через 6-8 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ из каждой бутылки бактериологической петлей диаметром 5 мм с поверхности I пептона проводят пересевы на 1 % пептонную воду (II пептон) и на чашки Петри с Щелочным агаром.

3 этап: через 6-8 ч инкубации при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ из каждой бутылки бактериологической петлей диаметром 5 мм с поверхности II пептона проводят высевы на чашки Петри с Щелочным агаром.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

На Щелочном агаре через 12-18 ч визуально учитывают наличие роста колоний, с характерной для возбудителя холеры морфологией (см. п.3.1 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).

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Бутылки с 1 % пептонной водой, 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), стеклянная тара утилизируется любым способом, применяемым к твердым бытовым отходам, любым способом, предотвращающим повторное использование. Упаковка после полного израсходования содержимого, подлежит утилизации в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 как отходы, принадлежащие к классу «А». При необходимости допускается повторное использование стеклянной тары и резиновых пробок

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 окружаю-

лей 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. СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

10.1 Бутылки с 1 % пептонной водой хранят на складе в герметично закрытой упаковке изготовителя в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение 12 месяцев со дня изготовления .

Допускается хранение в герметично закрытой упаковке изготовителя в защищенном от света месте при температуре от 8 до 30 °С в течение 3 месяцев со дня изготовления.

После вскрытия бутылки и замены резиновой пробки на стерильную ватно-марлевую пробку, 1 % пептонную воду допускается использовать в течение 7 суток при условии хранения в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С, избегая намокания пробки.

Медицинское изделие «1 % пептонная вода, готовая к применению» по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022, хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.2 Бутылки с 1 % пептонной водой транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре не выше 30 °С . Замораживание бутылок с 1 % пептонной водой не допускается!

При транспортировании необходимо соблюдать указания по обращению с грузом: «Хрупкое. Осторожно!», «Ограничение температуры», «Верх».

Медицинское изделие «1 % пептонная вода, готовая к применению» по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022 транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

10.3 Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия «1 % пептонной воды, готовой к применению» заявленным в ТУ 20.59.52-370 -78095326-2022 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 Питательная среда для накопления холерного вибриона «1 % пептонная вода, готовая к применению» по ТУ 20.59.52-370-78095326-2022, получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, тер. 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.

«10» 11.08.2022 г.





ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

«10» 11 2022 год

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