

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

«Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»

И.А. Дятлов

« 22 » октября 2023 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

Набор реагентов для бактериологических исследований

«Дифференциально-селективная питательная среда

для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)»

по ТУ 20.59.52-375-78095326-2023

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие (МИ) – Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-селективная питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)» по ТУ 20.59.52-375-78095326-2023, предназначено для использования в качестве вспомогательного средства в диагностике *in vitro* при проведении бактериологических исследований клинического материала с целью выделения и дифференциации шигелл и сальмонелл – возбудителей кишечных инфекционных заболеваний человека, далее по тексту – Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар».

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» предназначен только для профессионального применения медицинскими специалистами в условиях бактериологической лаборатории.

Специфическое расстройство, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие.

Показания и противопоказания к применению.

Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» может быть использован при проведении бактериологических исследований образцов биологического материала всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку, в следующих случаях:

- при острых кишечных инфекциях;
- при хронических воспалительных заболеваниях тонкого и толстого кишечника;
- при длительной кишечной дисфункции неустановленной этиологии;
- при подозрении на токсикоинфекцию (бактериальное пищевое отравление).

При использовании Набора реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» применяется микробиологический метод, предусматривающий качественное установление наличия патогенных бактерий (сальмонелл и шигелл) в исследуемом образце клинического материала человека (образцы испражнений/фекалий, рвотных масс, промывных вод желудка, желчи, крови человека).

При использовании Набора реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» по назначению и в соответствии с инструкцией противопоказаний к применению изделия нет.

Тип анализируемого образца

Анализируемыми образцами для исследования являются образцы биологического материала (испражнения/фекалии, рвотные массы, промывные воды желудка, желчь, редко кровь), полученные от пациентов с подозрением на кишечное инфекционное заболевание, вызываемое шигеллами или сальмонеллами.

2. СОСТАВ НАБОРА

Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» состоит из двух компонентов: 1 банки с питательной средой и 1 коробки с 4 флаконами с селективной добавкой (СД).

Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» помещен во внешнюю упаковку – Пакет из полиэтилена высокого давления с замком Zip-Lock.

Питательная среда расфасовывается в полиэтиленовые банки по 250 г, СД – во флаконы из темного стекла по 0,015 г.

Питательная среда представляет собой мелкодисперсный гигроскопичный светочувствительный порошок от кремового до зеленовато-желтого цвета, СД – мелкодисперсный, гигроскопичный порошок белого цвета.

2.1. Принцип метода

Совокупность компонентов, входящих в состав среды обеспечивает питательные потребности для роста, выделения и дифференциации шигелл и сальмонелл.

На Гектоеновом энтеро-агаре в процессе ферментации микроорганизмами специфических углеводов: лактозы, сахарозы и салицина происходит образование кислоты, что приводит к изменению цвета индикаторов: бромтимолового синего и кислого фуксина.

Присутствие в среде тиосульфата натрия и цитрата аммонийного железа приводит к почернению колоний в результате роста сероводород-положительных штаммов сальмонелл и протеев. Соли желчных кислот и новобиоцин подавляют рост большинства сопутствующих микроорганизмов.

2.2. Состав

Состав питательной среды, г/л:

— Пептон мясной или пептон ферментативный для бактериологических целей.	12,0
— Дрожжевой экстракт	3,0
— α -Д- Лактоза, 1-водная	12,0
— Сахароза	12,0
— Салицин	0,5
— Желчные соли № 3	4,5
— Желчь очищенная сухая	4,5
— Натрий хлористый	5,0
— Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат) б/в ...	5,0
— Железо (III) лимонноаммиачное	1,5
— Фуксин кислый	0,1
— Бромтимоловый синий	0,065
— Натрий углекислый	0,7 $\pm$ 0,3
— Агар бактериологический	10,0 $\pm$ 2,0

Состав СД, г/л:

— Новобиоцин	0,015
--------------------	-------

рН готовой среды от 7,5 до 7,8

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 среды 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 среды и может незначительно меняться после кипячения. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после кипячения среды и внесения селективной добавки.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность

Специфическая активность Набора реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов для их дифференциации при росте на *приготовленной питательной среде с селективной добавкой* по п.7.1 настоящей Инструкции.

Гектоеновый энтеро-агар должен обеспечивать при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на всех засеянных чашках Петри рост и проявление выраженных дифференцирующих признаков каждого тест-штамма *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis* 11272, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* 79, *Shigella flexneri* 1a 8516, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 NCTC 10006 в виде:

- *S. enterica subsp. enterica serovar Enteritidis* 11272, *S. enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* 79 - обильный рост зеленовато-голубых колоний с черным центром (продуцирование сероводорода);
- *S. flexneri* 1a 8516- обильный рост зеленовато-голубых колоний;
- *E. aerogenes* ATCC 13048 NCTC 10006 – рост колоний от желтого до оранжево-розового цвета.

3.2 Ингибирующие свойства

Гектоеновый энтеро-агар должен подавлять рост *Escherichia coli* ATCC 25922 (допускается образование единичных колоний оранжево-розового цвета) и полностью подавлять рост *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 NCTC 775 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на всех засеянных чашках Петри

Диагностическая чувствительность (ДЧ)

Определение диагностической чувствительности культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» проведено в период проведения клинических испытаний и составило 100 % (по 26 положительных результатов (18 клинических изолятов + 8 тест-штаммов, включая контрольные), полученных двумя независимыми испытателями в двух повторностях на испытуемой среде из 26 исследованных «заведомо положительных образцов»), таким образом в сумме 104 положительных из 104 исследований.

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 97% при доверительной вероятности 90%.

Диагностическая специфичность (ДС)

Определение диагностической специфичности культуральных исследований образцов с применением испытуемого медицинского изделия Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» проведено в период проведения клинических испытаний и составило 100 % (по

7 отрицательных результатов, полученных двумя независимыми испытателями в двух повторностях на испытуемой среде из 7 исследованных «заведомо отрицательных образцов»), таким образом в сумме 28 отрицательных из 28 исследований.

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 93% при доверительной вероятности 90%.

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением испытуемого медицинского изделия составила 100 % (132 правильных результата теста из 132 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 30 «заведомо положительных образцов» (4 проб-имитантов, 26 тест-штаммов и клинических изолятов) 100% (ложноотрицательных результатов нет), при условии нагруженности не менее 1000 м.кл./1 мл образца (положительные) и при нагруженности не более 10000 м.кл./1 мл образца (отрицательные).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения МИ в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 – класс 2 б.

4.2 Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» не содержит пожароопасных и взрывоопасных веществ.

4.4. Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» не содержит материалов животного и человеческого происхождения, влияющих на безопасность медицинского изделия.

4.5. Все образцы исследуемого материала *потенциально* содержат микроорганизмы, являющиеся возбудителями инфекций, поэтому при работе необходимо соблюдать требования правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

4.4 Уничтожение приготовленной питательной среды после проведения биологического исследования образцов, осуществляется по СанПиН 2.1.3684-21, как уничтожение медицинских отходов, принадлежащих к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре (126±2) °С.

4.5. Не использовать медицинское изделие Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-

агар», если нарушена целостность упаковки или внешний вид не соответствует описанию, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции. Не использовать по истечении срока годности.

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

- при использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности медицинское изделие Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» безопасно.
- при использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Электроплитка бытовая, например, тип ЭП НС 1001
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1, 2 и 5 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Объекты исследований в клинической лабораторной диагностике: образцы клинического материала, (испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, желчи, редко кровь человека) с целью установления наличия в них патогенных бактерий (сальмонелл и шигелл) возбудителей кишечных инфекционных заболеваний человека – шигеллеза и сальмонеллеза.

Диарея (понос) или учащенные опорожнения кишечника с изменением характера стула (от кашицеобразного до водянистого) иногда с появлением патологических примесей (слизи, крови), является одним из характерных симптомов острых кишечных диарейных инфекций. Основными возбудителями бактериальных острых кишечных диарейных инфекций, таких как шигеллез и сальмонеллез, являются микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*.

Шигеллез (дизентерия) вызывают бактерии рода *Shigella*, включающие более 40 серологически и биохимически дифференцируемых вариантов. Наибольшее распространение имеют *Shigella flexneri* и *Shigella sonnei*.

Возбудителями сальмонеллеза являются бактерии рода *Salmonella* видов *S. enterica* и *S. bongori*. Известны более 2500 сероваров этого рода, от человека выделено более 700 сероваров, но в патологии людей основное значение имеют 40 – 50 сероваров, преимущественно группы В. Доминирующим сероваром является *Salmonella enterica subsp. enterica серовар Enteritidis* (или *S. Enteritidis*).

6.2. Порядок лабораторной диагностики при подозрении на острые кишечные инфекции (ОКИ) в РФ определяется Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.1.1117-02 «Профилактика острых кишечных инфекций», Клиническими рекомендациями – Сальмонеллез у взрослых – 2021-2022-2023 (10.11.2021) – Минздрав РФ.

Для проведения бактериологического исследования материал (испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, желчь) должен быть взят по возможности до назначения антибактериальных препаратов, в достаточном количестве и доставлен в лабораторию в течение двух часов в термоконтейнере, или в течение 24 часов при условии хранения и транспортирования материала при температуре 2-8°C, или в физиологическом растворе, или в специальных транспортных средах, разрешенных к применению и зарегистрированных в установленном порядке. Взятие исследуемого материала проводится в соответствии с требованиями методических указаний «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» (МУ 4.2.2039-05).

6.3 Бактериологическое исследование включает в себя выделение чистой культуры микроорганизма из исследуемого материала, идентификацию по культурально-морфологическим, ферментативным и патогенным свойствам, а также микроскопию мазков выделенной культуры.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводится 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 при постоянном помешивании не более 2 мин до полного расплавления агара. Питательную среду не автокла-
вировать!

Содержимое флакона с селективной добавкой растворить в 5 мл стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешать, внести в прокипяченную, охлажденную до температуры 50-55 °С питательную среду из расчета 5 мл раствора СД на 1 л среды и разлить в стерильные чашки Петри. Готовая питательная среда с СД зеленого цвета, прозрачная. Допускается легкая опалесценция. В зависимости от объема розлива необходимо проверять 1-2 чашки или 1 % чашек в начале и столько же в конце процесса розлива среды, приготовленной по п.7.1. После инкубации чашек Петри со средой в течение 18-24 ч при 37 °С – на всех чашках визуально обнаруживаемый рост должен отсутствовать!

Готовую среду можно использовать в течение 7 суток после её приготовления при условии хранения чашек со средой при температуре 2-8 °С.

Для приготовления объема питательной среды, отличного от 1000 мл, количество навески сухой среды рассчитывают по формуле:

$$A = (C \times V) : 1000, \text{ где:}$$

A – количество среды, необходимой для приготовления требуемого объема среды, г;

V – требуемый объем питательной среды, мл;

C – количество среды, указанное на этикетке, для приготовления 1000 мл среды, г.

После каждого вскрытия, банку с сухой средой плотно закрыть и хранить до окончания срока годности в сухом месте при температуре от 2 до 30 °С, избегая попадания влаги. Флакон с СД после вскрытия и приготовления раствора хранению не подлежит. Для приготовления новой порции среды вскрывается новый флакон с СД.

7.2. Исследуемый материал засеивается штрихом непосредственно на поверхность среды в чашках Петри с Гектоновым энтеро-агаром ректальным тампоном или по 0,1 мл суспензии свежих фекалий в физиологическом растворе; рвотные массы, промытые воды желудка после нейтрализации (1 мл 10 % соды на 10 мл пробы) засеивают по 0,1 мл на чашку Петри с Гектоновым энтеро-агаром. При необходимости можно инокулировать с предварительным обогащением в бульоне для обогащения шигелл или в бульоне для обогащения сальмонелл. Посевы инкубировать при температуре (37±1)°С в течение 18-24 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводить через 18-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С. Визуально учитывать наличие роста колоний, с характерной для сальмонелл и шигелл морфологией - зеленовато-голубых колоний с черным центром или без него. 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 (например, SS-агар; Агар МакКонки), идентификационные тесты (например, высен на среду Олькеницкого, Агар Клиглера), а также клинические проявления и анамнез больного.

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Серии Набора реагентов «Гектоеновый энтеро-агар», 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 «Гектоеновый энтеро-агар» при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения:

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

Допускается хранить Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» во внешней упаковке производителя (пакете) без разукomплектования в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

10.2 После вскрытия банку со средой хранить 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.

Медицинское изделие – Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-селективная питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)» по ТУ 20.59.52-375-78095326-2023, хранившиеся с наруше-

нием регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.3 Банку с питательной средой и коробку с селективной добавкой транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре их хранения (см. п. 10.1).

Допускается транспортировать Набор реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» во внешней упаковке (пакете) при температуре от минус 18 °С до плюс 40 °С не более 3 суток.

Медицинское изделие - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-селективная питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)» по ТУ 20.59.52-375-78095326-2023 транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

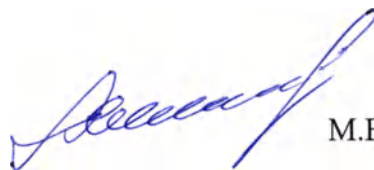
Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей Инструкции по применению.

Срок годности Набора реагентов «Гектоеновый энтеро-агар» - 2 года.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия - Набор реагентов для бактериологических исследований «Дифференциально-селективная питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)» по ТУ 20.59.52-375-78095326- 2023 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-селективная питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (Гектоеновый энтеро-агар)» по ТУ 20.59.52-375-78095326-2023, 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.

Заместитель директора
по качеству и развитию



М.В. Храмов

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



Варнавичус П.К.

«18» октября 2023 г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 10 ЛИСТОВ

« 18 » 10 2023 год

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

