

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «БиоХолд»

Радюшкин И.В.
«27» 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

**Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон
для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой»
(«RVS-бульон»)
по ТУ 21.59.52-025-96299156-2022**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Назначение. Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 21.59.52-025-96299156-2022 для диагностики *in vitro*, предназначен для селективного накопления сальмонелл из исследуемого материала при диагностике инфекционных заболеваний в качестве вспомогательного средства.

1.2. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследуемые образцы: материалом для накопления сальмонелл служит посев биоматериала человека (испражнения, моча, кровь, рвотные массы, промывные воды больных, а при необходимости и наличии специальных показаний и из желчи, дуоденального содержимого, секционного материала). Применение медицинского изделия не зависит от популяционных и демографических аспектов. Для диагностики *in vitro*.

1.3. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Теоретическое обоснование. Острые кишечные инфекции (ОКИ) – один из самых распространённых видов патологии человека, которые могут вызывать различные представители мира микробов – бактерии, грибы, вирусы, простейшие. Все ОКИ протекают со сходной клинической картиной, поэтому для постановки этиологического диагноза необходима лабораторная диагностика. Среди бактерий ведущая роль в развитии ОКИ принадлежит представителям семейства Enterobacteriaceae, включающего десятки видов. Все патогенные энтеробактерии произошли от *Escherichia coli* – представителя нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), с которой они сходны по морфологии. Поскольку при лабораторной диагностике ОКИ наиболее часто исследуемым биоматериалом служат фекалии больного, возникает необходимость быстрой дифференциации патогенных энтеробактерий от *E. coli*. «RVS-бульон» является селективной питательной средой для накопления сальмонелл. При посеве на неё рост *E. coli* подавляется и питательная среда остаётся прозрачной исходного цвета (синяя), а сальмонеллы дают диффузное помутнение и среда становится голубого цвета, что позволяет легко их дифференцировать.

В зависимости от питательных потребностей бактерий бактериальные культуры могут быть получены на средах, в состав которых входят органические субстраты, или на солевых синтетических средах, включающих в качестве источника энергии углеродсодержащие соединения.

Для культивирования микроорганизмов (выращивание в искусственных условиях *in vitro*) необходимы особые субстраты – питательные среды. На средах микроорганизмы осуществляют все жизненные процессы (питаются, дышат, размножаются и т.д.), поэтому их еще называют «средами для культивирования».

Питательные среды являются основой микробиологической работы, и их качество нередко определяет результаты всего исследования. Среда должна создавать оптимальные (наилучшие) условия для жизнедеятельности микроорганизмов.

Поскольку при лабораторной диагностике ОКИ наиболее часто исследуемым биоматериалом служат фекалии больного, возникает необходимость быстрой дифференциации патогенных энтеробактерий от *E. coli*. «RVS-бульон» является селективной питательной средой для накопления сальмонелл. При посеве на неё рост *E. coli* подавляется и питательная среда остаётся прозрачной исходного цвета (синяя), а сальмонеллы дают диффузное помутнение и среда становится голубого цвета, что позволяет легко их дифференцировать.

1.4. Область применения. Клиническая лабораторная диагностика.

1.5 Требования к квалификации пользователей. Медицинский персонал клинко-диагностических лабораторий. Для работы с реагентом необходимо участие специалистов с высшим и средним специальным образованием, прошедших специальную подготовку и допущенных к работе с микроорганизмами в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

1.6. Функциональное назначение Реагента: для селективного накопления сальмонелл, присутствующих в клинических образцах в качестве вспомогательного средства.

1.7. Показания к применению Реагента: для селективного накопления сальмонелл из исследуемого материала при диагностике инфекционных заболеваний.

1.8. Противопоказанием к применению Реагента является нарушение целостности первичной упаковки, истекший срок годности, не соблюдение требований инструкции.

1.9. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

2.1. Принцип действия

Селективное накопление сальмонелл микроорганизмов в жидкой питательной среде осуществляется микробиологическим методом.

Принцип метода - визуальное обнаружение роста культур, полученных из исследуемых образцов, по помутнению среды.

Реагент обеспечивает во всех засеянных пробирках рост:

1. Тест-штамма *Salmonella enteritidis* 11272 при посеве 1,0 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения 10^{-6} через 27 ч инкубации при температуре $(41,5 \pm 1)^\circ\text{C}$ визуально обнаруживаемый - в виде диффузного помутнения среды.
2. Тест-штамма *Salmonella typhimurium* 79 при посеве 1,0 мл микробной взвеси в 10 мл среды из разведения 10^{-6} через 27 ч инкубации при температуре $(41,5 \pm 1)^\circ\text{C}$ визуально обнаруживаемый - в виде диффузного помутнения среды.

Показатель ингибиции.

Реагент полностью подавляет во всех засеянных пробирках рост тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 при посеве по 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} через 27 ч инкубации при температуре $(41,5 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Показатель эффективности должен быть не менее 10 каждого тест-штамма *Salmonella enteritidis* 11272, *Salmonella typhimurium* 79 (отношение среднего числа колоний, выросших на чашках с питательным агаром, либо на среде аналогичного назначения, после обогащения в течение 6 ч в Реагенте, к среднему числу колоний, выросших до обогащения).

2.2. Реагент выпускается в двух вариантах исполнения:

Вариант 1 по 250 г в составе:

- Панкреатический гидролизат рыбной муки.
- Соевый пептон.
- Магний хлористый безводный.
- Натрий хлористый.
- Калий фосфорнокислый однозамещенный.
- Малахитовый зеленый.
- Натрий углекислый.
- Инструкция по применению.
- Паспорт качества.

Вариант 2 по 250 г в составе:

- Пептон сухой ферментативный.
- Соевый пептон.
- Магний хлористый безводный.
- Натрий хлористый.
- Калий фосфорнокислый однозамещенный.
- Малахитовый зеленый.
- Натрий углекислый.
- Инструкция по применению.
- Паспорт качества.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность определяется с использованием тест-штаммов *Salmonella enteritidis* 11272, *Salmonella typhimurium* 79, *Escherichia coli* ATCC 25922 – 100%.

В ходе клинических испытаний было проведено накопление сальмонелл, полученных из 137 образцов пациентов (по восемь повторов, всего 1096 посевов) с помощью МИ Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 20.59.52-025-96299156-2022 с использованием 137 штаммов микроорганизмов, выделенных от 137 пациентов. Исследованы все биоматериалы, указанные в инструкции по применению (испражнения, моча, кровь, рвотные массы, промывные воды больных, а при необходимости и наличии специальных показаний и из желчи, дуоденального содержимого, секционного материала). Проведено накопление сальмонелл из 3 образцов контрольных штаммов (*Salmonella enteritidis* 11272, *Salmonella typhimurium* 79, *Escherichia coli* ATCC 25922). Получены сопоставимые результаты, совпадение результата в 100% случаев.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения – класс 2а (Приказ № 4н от 06.06.2012 «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий» (с изменениями на 25 сентября 2014 года)).

4.2. Реагент изготавливается в соответствии с требованиями безопасности производственных процессов (ГОСТ 12.3.002) на оборудовании с использованием

ГОСТ 12.2.003. Реагент предназначен только для *in vitro* диагностики. Все работы должны проводиться в соответствии с требованиями, изложенными в Инструкциях по технике безопасности, утвержденных генеральным директором предприятия.

4.3. Все компоненты Реагента в используемых концентрациях являются нетоксичными и безопасными. Однако, исследуемые клинические образцы, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности. Следует избегать любого контакта компонентов Реагента со слизистыми оболочками. При работе с медицинским изделием следует надевать одноразовые защитные перчатки. Отработанные реагенты обезвреживают в 3% растворе хлорамина или в 6% растворе перекиси водорода в течение 24 часов. Оборудование дезинфицируют до и после работы 70% этиловым спиртом.

4.4. При работе следует соблюдать Санитарные правила СанПиН 2.1.3684-21 и СанПиН 3.3686-21.

4.5. При использовании Реагента образуются отходы классов А и Б.

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

4.6. Перечень рисков, связанных с применением изделия согласно ГОСТ ISO 14971, приведен в Файле менеджмента риска.

4.7. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.8. Не использовать Реагент, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

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

4.10. Не использовать Реагент по истечении срока годности.

4.11. Реагент не содержит тканей, клеток и биологических веществ животного и человеческого происхождения. Реагент не содержит веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным или влияющим на репродуктивную деятельность человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с Реагентом требуются следующие оборудование и материалы*:

- Термостат обеспечивающий температуру 37 ± 1 °C
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью - 10 мл
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Спиртовка
- Вода дистиллированная
- Петля бактериологическая
- Колбы
- Воронки стеклянные
- Флаконы
- Резиновые или латексные перчатки
- Средства дезинфекции
- Спирт этиловый 70%

- Контейнеры для жидких и твердых отходов
 - * использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку или аттестацию.

5.2. Информация об условиях, необходимых для сбора, обработки и подготовки образцов, данные по стабильности анализируемых образцов, в том числе условия и длительность хранения, условия транспортировки, ограничения по циклам заморозки (размораживания).

Общие требования к сбору проб биологического материала для исследования:

Для предохранения от инфицирования медицинского персонала и пациентов при сборе проб биоматериалов и доставке его в лабораторию необходимо:

- не загрязнять наружную поверхность посуды при сборе и доставке проб;
- не загрязнять сопроводительные документы (направления);
- свести к минимуму непосредственный контакт пробы биоматериала с руками медицинского работника, собирающего и доставляющего его в лабораторию;
- использовать стерильные одноразовые или разрешенные к применению для этих целей в установленном порядке контейнеры (емкости) для сбора, хранения и доставки проб;
- транспортировать пробы в переносках или укладках с отдельными гнездами;
- соблюдать асептические условия для предотвращения инфицирования пациента в процессе выполнения инвазивных мероприятий;
- собирать пробы в стерильную одноразовую или стеклянную посуду (не загрязненную биоматериалом, не испорченную трещинами, отколотыми краями и другими дефектами).

Сбор образцов должен производиться в соответствии с надлежащей практикой (ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований») и в соответствии с МУ 4.2.2039-05. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания (утв. Роспотребнадзором 23.12.2005).

6. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА.

6.1. Приготовление питательной среды:

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размещают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стерильные флаконы и стерилизуют автоклавированием при температуре 112 °С в течение 20 мин. Готовый к употреблению Реагент должен быть прозрачным, темно-голубого цвета.

Готовый Реагент можно использовать в течение 1 месяца при условии хранения его при температуре 2-8 °С.

После каждого вскрытия и проведения необходимых исследований банку со средой плотно закрыть и поместить на дальнейшее хранение.

Скорость роста: Скорость роста (ч) определяют через 27 ч инкубации посевов при температуре (41,5±1) °С. Во всех засеянных пробирках должен быть видимый невооруженным глазом рост культуры в виде помутнения среды.

Скорость роста: 27 ч. (наличие роста (помутнение среды)).

7. РАСЧЕТЫ

Через 27 ч. инкубации при температуре (41,5±1) °С визуально определяют наличие роста по помутнению среды.

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

8. ДАННЫЕ О МАРКИРОВКЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ЕГО УПАКОВКЕ

8.1. Маркировка медицинского изделия

8.1.1. На каждую банку должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной с указанием:

- наименования предприятия-производителя;
- адреса предприятия - производителя;
- наименования и адреса предприятия - изготовителя;
- полного и сокращенного наименования Реагента;
- номера серии;
- кода партии*;
- даты изготовления;
- срока годности;
- условий хранения и транспортирования;
- надписи «После вскрытия банку с Реагентом хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от +2 ° до +30 °С, избегая попадания влаги»;
- номера варианта исполнения;
- состава Реагента;
- способа приготовления;
- номера настоящих технических условий;
- номера регистрационного удостоверения и дата его выдачи;
- надписи «Только для in vitro диагностики»;
- надписи «Для профессионального использования»;
- надписи «Дополнительная информация в инструкции по применению»;
- pH;
- массы нетто.

* код партии представляет собой номер вида первичной упаковки.

Надписи на упаковке, содержащие номера серии, кода партии, даты изготовления, срока годности, количество Реагента для приготовления, данные pH выпущенной серии допускается выполнять с помощью клише.

На банку маркировка наносится на самоклеящейся этикетке по ОСТ 29.1-2001.

8.1.2. Маркировка транспортной тары

На каждую коробку должна быть наклеена этикетка из бумаги этикеточной (ГОСТ 7625) с указанием:

- наименования предприятия-производителя;
- адреса предприятия - производителя;
- наименования и адреса предприятия - изготовителя;
- наименования Реагента;
- условий хранения и транспортирования;
- количества Реагентов в ящике;
- срока годности;
- даты изготовления;
- номера серии;
- кода партии*;

- масса нетто;
- масса брутто.

* код партии представляет собой номер вида первичной упаковки.

На транспортную тару наносят предупредительные манипуляционные знаки по ГОСТ Р ИСО 15223-1: «Верх не кантовать», «Держать вдали от источника тепла и радиоактивного излучения», «Беречь от влаги», «Медицинское изделие для in vitro диагностики».

	«Верх не кантовать»
	«Держать вдали от источника тепла и радиоактивного излучения»
	«Беречь от влаги»
	«Медицинское изделие для in vitro диагностики»
	«Код партии»

8.1.3. Графическое оформление маркировки банок, коробок и ящиков производят по ГОСТ 17768, ГОСТ Р ИСО 15223-1, фасовку – по ГОСТ 3885, по ГОСТ Р 51088, ГОСТ Р ИСО 18113-2.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

9.1. Транспортирование.

9.1.1. Транспортирование медицинского изделия должно проводиться при температуре от +2° до +30° С транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

9.2. Хранение.

9.2.1. Хранение Реагента – в сухом месте, в упаковке предприятия-производителя при температуре от +2° до +30°С в течение всего срока годности. Замораживание не допускается.

После вскрытия банку с Реагентом хранят до истечения срока годности плотно закрытой, в сухом месте при температуре от +2° до +30°С, избегая попадания влаги.

Готовый Реагент можно использовать в течение 1 месяца при условии хранения ее при температуре 2-8°С.

9.2.2. Срок годности -2 года.

9.3. Эксплуатация.

9.3.1. При использовании Реагента необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Реагент после окончания срока годности.
- не использовать Реагент, если упаковка повреждена.
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку банки.

Закрывайте каждую банку своей крышкой.

9.3.2. Реагент при соблюдении требований данной Инструкции стабилен в течение всего срока годности. Не используйте Реагенты с истекшим сроком годности. Срок годности Реагента указан на внешней стороне упаковки.

Срок годности Реагента-2 года.

9.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

9.4. Утилизация.

9.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

9.4.2. При использовании Реагента образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) 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», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

9.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

10. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ по ТУ 21.59.52-025-96299156-2022 предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные

недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

11.4. Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность реагентов, нарушение целостности банки, недостаточные сведения. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым реагент признан негодным. Вместе с рекламацией направляют образцы данной серии реагентов и протокол с результатами проверки. Рекламацию следует направить на предприятие-производитель.

По вопросам качества медицинского изделия Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 21.59.52-025-96299156-2022 просьба обращаться на предприятие-производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «БиоХолд» (ООО «БиоХолд»), 111394, Г.МОСКВА, ВН.ТЕР.Г.МУНИЦИПАЛЬНЫЙ ОКРУГ НОВОГИРЕЕВО, УЛ ПЕРОВСКАЯ, Д. 61/2, СТР.1, тел.+7 (495) 280-35-52; e-mail: info@biohold.ru

Адрес производства:

Общество с ограниченной ответственностью «БиоХолд» (ООО «БиоХолд»), Россия, 111672, г. Москва, ул. Салтыковская, д.26, стр. 1, пом. № II, ком. 2

12. ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ

12.1. Методические рекомендации «Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии» утв. Министерством здравоохранения РСФСР 19 декабря 1991 г.

12.2.«Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями № 04-723/3» утв. Министерством здравоохранения СССР 17 декабря 1984 г.

12.3.«Методические указания МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в кормах, продуктах питания и объектах окружающей среды», утв. ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора 02 сентября 2010 г.

12.4. Laboratory Protocol "Isolation of Salmonella spp. From Food and Animal Faeces" 5 Ed June 2010. WHO Global Foodborne Infections Network.

12.5. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Volume 1-3, 4th Edition

13. Дополнительная информация о медицинском изделии для диагностики in vitro:

13.1. Информация о ранее зарегистрированных вариантах исполнения:

Медицинское изделие Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 20.59.52-025-96299156-2022 на территории Российской Федерации процедуру государственной регистрации в качестве медицинского изделия для диагностики in vitro проходит впервые.

13.2. История медицинского изделия:

Медицинское изделие Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 20.59.52-025-96299156-2022 разработан 24 февраля 2019 г. До настоящего времени никаких изменений с ним не происходило.

13.3. Сведения о подобных модификациях медицинских изделий, находящихся в обращении представлены отдельным документом «Зарегистрированные в РФ взаимозаменяемые МИ Реагент для бактериологических исследований «Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Василиадису сухой» («RVS-бульон») по ТУ 20.59.52-025-96299156-2022.

Генеральный директор ООО «БиоХолд»



И.В. Радюшкин

Прошито, пронумеровано
(сметается) лист (ов)),
оскреплено печатью

Генеральный директор
«БиоХолд»

И.В. Радюшкин

