

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления
регистрации и медицинских
исследований

АО «НПО «Микроген»

А.Е. Ершов

2020 г.



ИНСТРУКЦИЯ
по применению медицинского изделия
Набор реагентов
«Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов.
Наборы № 3, 4 для санитарно-бактериологического анализа воды»
по ТУ 21.10.60-121-14237183-2017

Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04150

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики ин витро предназначено для определения общих и термотолерантных колиформных бактерий при контроле качества воды по биохимической активности хромогенным методом. Набор № 3 предназначен для санитарно-бактериологического анализа воды титрационным методом, Набор № 4 - для санитарно-бактериологического анализа воды методом мембранной фильтрации.

Функциональное назначение теста, выполняемого с помощью изделия - вспомогательное средство в санитарно-бактериологическом анализе воды.

Показания к применению изделия в соответствии с его назначением. Противопоказания при применении изделия – отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

Варианты исполнения.

I. Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор № 3 для санитарно-бактериологического анализа воды».

Состав изделия:

1. СИБ с лактозой - 1 флакон (50 дисков).
2. СИБ для определения оксидазы - 1 пробирка (5 полос).

II. Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор № 4 для санитарно-бактериологического анализа воды».

Состав изделия:

1. СИБ с лактозой - 1 флакон (50 дисков).
2. СИБ для определения оксидазы - 1 пакет (50 дисков).

Комплектация.

Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор № 3 для санитарно-бактериологического анализа воды»: изделие (1 флакон (50 дисков) - СИБ с лактозой; 1 пробирка (5 полос) СИБ для определения оксидазы), инструкция по применению, паспорт (в комплекте поставки).

Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор № 4 для санитарно-бактериологического анализа воды»: изделие (1 флакон (50 дисков) - СИБ с лактозой; 1 пакет (50 дисков) - СИБ для определения оксидазы), инструкция по применению, паспорт (в комплекте поставки).

Системы индикаторные бумажные (СИБ) для идентификации микроорганизмов представляют собой диски диаметром 9-10 мм (СИБ-диски с лактозой) и 35-36 мм (СИБ-диски для определения оксидазы) или полоски шириной 7-8 мм, длиной 70-80 мм из бумаги хроматографической, содержащие определенные количества реагентов (субстратов в сочетании с индикатором), стабилизированные поливиниловым спиртом. Гигроскопичны, при хранении на свету возможно изменение цвета.

Таблица 1

Описание основных функциональных элементов изделия

Наименование СИБ	Основной реагент СИБ	Индикатор	Стабилизатор	Внешний вид СИБ в сухом виде
СИБ с лактозой	D(+) лактозы моногидрат	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ для определения оксидазы	N,N-диметил-п-фенилендиамин сернокислый, α -нафтол	—	Спирт поливиниловый	Полоски от серовато-сиреневого до темно-фиолетового цвета

ПРИНЦИП АНАЛИТИЧЕСКОГО МЕТОДА И ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип действия основан на определении общих и термотолерантных колиформных бактерий по их способности к образованию кислоты и газа при ферментации лактозы и отсутствию оксидазной активности.

Характер ферментации лактозы оценивают по газообразованию и изменению окраски среды вследствие образования органических кислот (уменьшение pH), вызывающих изменение окраски индикатора.

Определение оксидазной активности. В присутствии оксидаз бактерий происходит перенос электронов к N,N-диметил-п-фенилендиамина, из него образуется индофенол — вещество синего цвета.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Наборы № 3, 4 для санитарно-бактериологического анализа воды» рассчитаны на проведение

50 анализов (для каждого варианта исполнения). Изделие предназначено для лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению. Вид анализата – качественный. Не требует ремонта и технического обслуживания.

Пользователями изделия могут быть специалисты бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений или учреждений, осуществляющих санитарно-эпидемиологический надзор, с высшим и средним специальным образованием, прошедшие специальную подготовку и допущенные к работе с патогенными микроорганизмами в соответствии с СП 1.3.2322-08.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Время срабатывания:

- СИБ для определения оксидазы от 30 до 60 с;
- СИБ с лактозой от 5 до 18 ч

Чувствительность: При суспендировании или нанесении на полоску (диск) полной бактериологической петли культуры положительно реагирующих тест-штаммов бактерий семейства *Enterobacteriaceae* должен изменяться цвет раствора (после погружения СИБ-диска с лактозой) или цвет полоски (диска) (после нанесения культуры тест-штамма) и выделяться газ спустя время срабатывания в соответствии с таблицей учета результатов испытаний и биохимическими характеристиками тест – штаммов.

Специфичность (правильность дифференциации тест-штаммов бактерий семейства *Enterobacteriaceae* от тест-штаммов бактерий других групп): Тест-штаммы бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и бактерий других групп должны изменять цвет раствора (после погружения СИБ-диска с лактозой) или цвет полоски (диска) (после нанесения культуры тест-штамма) и выделять газ спустя время срабатывания в соответствии с таблицей учета результатов испытаний и биохимическими характеристиками тест – штаммов.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

Потенциальный риск применения набора – класс 2б.

Изделие Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Наборы № 3, 4 для санитарно-бактериологического анализа воды» является безопасным. Изделие не приносит вреда окружающей природной среде и здоровью человека при транспортировании, хранении, применении. Утилизация изделий, не прошедших контроль (забракованные изделия), а также с истекшим сроком годности и неиспользованных изделий, не требует специальных мер безопасности, которые уничтожаются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Однако, исследуемые материалы, а также их растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ним в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, при работе с которым необходимо соблюдать правила техники безопасности в соответствии с:

- ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;

- СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (для бактериологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор и лечебно-профилактических учреждений);

- СП 1.3.2518-09 «Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- СП 1.3.2885-11 «Дополнения и изменения № 2 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Исследуемые образцы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует осторожно:

- работать в боксированных помещениях для проведения микробиологических исследований с применением индивидуальных средств защиты (защитной одежды и одноразовых резиновых перчаток);

- не пипетировать ртом;

- в случае пролива образцов и рабочих растворов на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекционную обработку с использованием дезинфицирующих средств, эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;

- инструменты и оборудование (до и после работы) подвергать обработке с использованием дезинфицирующих средств, эффективность которых подтверждена в отношении используемого в работе возбудителя;

- утилизировать все использованные материалы, а также их растворы, исследуемые образцы и их растворы в соответствии с действующими санитарными правилами работы с патогенными микроорганизмами.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕЧЕНЬ РИСКОВ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ В ПРОЦЕССЕ АНАЛИЗА РИСКОВ И МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗДЕЛИЯ

Объективные результаты анализа гарантируются при выполнении следующих условий:

- для получения четких результатов необходимо соблюдение температурного режима термостата (37 ± 1) °C и (44 ± 1) °C, pH применяемых питательных сред и режима обработки посуды.

- соблюдения условий хранения (при температуре от 2 до 25 °C в герметично укупоренном виде) и транспортирования, изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат;

- не использовать изделие с истекшим сроком годности;

- не использовать изделие при отсутствии на его упаковке соответствующей маркировки, нарушении целостности упаковки компонентов и компоненты от разных серий изделия;

- компоненты изделия после вскрытия флакона (пробирки, пакета) пригодны к использованию в течение срока годности, при условии хранения в закрытых пробкой флаконах (пробирках, пакетах) сухом и защищенном от света месте, при температуре от 2 до 25 °C.

- исследования проводят с чистой культурой, а также с отдельными колониями с питательного агара для выделения и культивирования энтеробактерий (среда Эндо) или с мембранного фильтра, помещенного после фильтрации на среду Эндо;

- погружение дисков с лактозой в пробирки производят обожженным пинцетом;

- критерием правильности учета реакции должны быть четкие различия в окраске по сравнению с контролем.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

- Термостат, обеспечивающий температуру (37 ± 1) °C;
- Термостат, обеспечивающий температуру (44 ± 1) °C;
- Бокс микробиологической безопасности II класса;
- Автоклав;
- Пробирки стеклянные;
- Чашки Петри;
- Пинцеты;
- Петля бактериологическая № 3;
- Палочка стеклянная;
- Вата медицинская гигроскопическая;
- Вода дистиллированная;
- Питательный бульон сухой;
- Вода дистиллированная стерильная.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследования проводят с чистой культурой, а также с отдельными колониями с питательного агара для выделения и культивирования энтеробактерий (среда Эндо) или с мембранного фильтра, помещенного после фильтрации на среду Эндо, полученными из материала для санитарных и

бактериологических исследований водных объектов, в том числе холодной и горячей воды централизованного водоснабжения, воды нецентрализованного водоснабжения, воды, расфасованная в емкости, воды бассейнов и др. Для отбора проб используют чистую стерильную посуду, не содержащую следов дезинфицирующих растворов. Стерилизацию посуды и других средств забора материала проводят автоклавированием, сухим жаром или кипячением в 2%-м растворе пищевой соды.

Требования к отбору, транспортировке и хранению до исследования анализируемых образцов в соответствии с ГОСТ 31942-2012 (ISO 19458:2006) «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа» и в соответствии с МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды».

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для получения культур и проведения исследования используют питательные среды в соответствии с МУК 4.2.1018-01.

Питательный бульон pH ($7,3 \pm 0,2$) готовят из сухой питательной среды промышленного производства (ГОСТ 20730-75 или ТУ 9398-021-78095326-2006 или аналогичного) по способу, указанному производителем, после растворения ингредиентов устанавливают pH ($7,3 \pm 0,2$), разливают по 1 мл в пробирки, стерилизуют автоклавированием при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 15 мин.

Определение оксидазной активности. Проводят штрихом или на мембранном фильтре:

а) штрихом: культуру, выросшую на поверхности среды Эндо в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, растирают платиновой петлей или стеклянной палочкой на полоске (диске) СИБ для определения оксидазы, помещенной в чашку Петри и предварительно смоченной стерильной дистиллированной водой. На одной полоске (диске) можно исследовать 10-14 культур (не более). Время проявления положительной реакции – 30 – 60 с. Если при исследовании колоний темно-красного цвета получен недостаточно четкий результат, культуру пересевают со среды Эндо на питательный агар, инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении 3-6 ч и пробу повторяют.

б) на мембранном фильтре: мембранный фильтр после фильтрации с выросшими на нем колониями после инкубации на среде Эндо в течение 22-26 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ помещают пинцетом, не переворачивая, на диск СИБ для определения оксидазы, помещенный в чашку Петри и предварительно смоченный стерильной дистиллированной водой. Время проявления положительной реакции может варьировать в зависимости от марки используемого мембранного фильтра. Не позднее 5 мин после появления признаков положительной реакции, мембранный фильтр переносят обратно на среду Эндо. Результат учитывают после четкого проявления реакции.

Оксидазоположительные колонии из дальнейших исследований исключают.

Определение характера ферментации лактозы.

В пробирки с 1 мл питательного бульона pH ($7,3 \pm 0,2$) суспендируют полную петлю культуры отобранных оксидазоотрицательных колоний, затем погружают в пробирку диск СИБ с

лактозой. Среда в пробирках в результате быстрой диффузии в нее индикатора становится красной. Для учета газообразования в пробирки помещают небольшой комочек стерильной гигроскопической ваты. В качестве контроля служат СИБ-диски с лактозой, погруженные в пробирки 1 мл воды пептонной 0,5 % или питательного бульона рН (7,3±0,2).

а) для подтверждения наличия общих колиформных бактерий посевы инкубируют при температуре (37±1) °С. При наличии четкой положительной реакции результат может быть учтен через 4-6 ч. Если реакция отрицательная, пробирки с посевами просматривают через 24 ч. Окончательный учет отрицательного результата через 48 ч.

б) для подтверждения наличия термотолерантных колиформных бактерий посев осуществляют в пробирки с 1 мл питательного бульона рН (7,3±0,2) с СИБ с лактозой, предварительно подогретую до температуры (44±1) °С, затем инкубируют при температуре (44±1) °С. При наличии четкой положительной реакции результат может быть учтен через 4-6 ч. Окончательный учет отрицательного результата через 24 ч.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрацию результатов анализа проводят визуально.

Учет результатов производят в соответствии с таблицей 2 и МУК 4.2.1018-01.

Таблица 2

Учет результатов испытаний

Тесты	Цвет раствора после погружения СИБ-диска	Время срабатывания	Результат испытаний	
			положительный	отрицательный
Оксидазная активность (СИБ для определения оксидазы)	-	30-60 с	синий (колонии приобретают синий ободок или синеют полностью)	окрашивание отсутствует
Ферментация лактозы (СИБ с лактозой)	красный	5-18 ч	цвет среды желтый или оранжевый, наличие газа	цвет среды красный, газ отсутствует или цвет среды желтый или оранжевый, газ отсутствует

Интерпретацию результатов и вывод о наличии в образце общих и термотолерантных колиформных бактерий проводят в соответствии с МУК 4.2.1018-01.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 25 °С. Допускается транспортирование при температуре от минус 20 до 2 °С не более 14 суток.

Хранение при температуре от 2 до 25 °С в защищенном от света месте.

Набор № 3. При вскрытии флакона (пробирки) в асептических условиях компоненты набора подлежат хранению до истечения срока годности в герметично закрытом(ой) флаконе (пробирке) при температуре от 2 до 25 °С в защищенном от света месте.

Набор № 4. При вскрытии флакона (пакета) в асептических условиях компоненты набора подлежат хранению до истечения срока годности в герметично закрытых флаконах при температуре от 2 до 25 °С в защищенном от света месте.

Срок годности – 12 месяцев со дня приемки. Изделие с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Рекламации по вопросам, касающимся качества и обращения медицинского изделия Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Наборы № 3, 4 для санитарно-бактериологического анализа воды» в течение срока годности с обязательным указанием серии и даты изготовления следует направлять в адрес Акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»): Россия, 115088, г. Москва, ул. 1-я Дубровская, д. 15, строение 2, e-mail: info@microgen.ru и в адрес производства: Россия, 603006, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, д. 44, тел. (831) 434-42-77.

Взамен инструкции утвержденной 07.12.2017 г.