

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник Управления
регистрации и медицинских
исследований
АО «НПО «Микроген»

А.Е. Ершов
« 10 » 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению медицинского изделия
Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации
микроорганизмов. Набор № 1 для идентификации вибрионов»
по ТУ 21.10.60-115-14237183-2017

Регистрационное удостоверение № ФСР 2009/04148

НАЗНАЧЕНИЕ

Изделие для диагностики *ин vitro* предназначено для идентификации и дифференциации микроорганизмов рода *Vibrio* по биохимической активности хромогенным методом (для дифференциации представителей рода *Vibrio* от сходных микроорганизмов и определения ферментативных групп вибрионов по Хейбергу).

Функциональное назначение - вспомогательное средство в диагностике холеры.

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

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

Состав медицинского изделия Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор №1 для идентификации вибрионов»:

1. СИБ с глюкозой - 1 флакон (50 дисков).
2. СИБ с лактозой - 1 флакон (50 дисков).
3. СИБ с сахарозой - 1 флакон (50 дисков).
4. СИБ с маннозой - 1 флакон (50 дисков).
5. СИБ с арабинозой - 1 флакон (50 дисков).
6. СИБ с маннитом - 1 флакон (50 дисков)
7. СИБ с инозитом - 1 флакон (50 дисков).
8. СИБ с лизином - 1 флакон (50 дисков).
9. СИБ с орнитином - 1 флакон (50 дисков).
10. СИБ аргинином - 1 флакон (50 дисков).
11. СИБ для определения оксидазы - 1 пробирка (5 полос).
12. СИБ для определения уреазы - 1 флакон (50 дисков).
13. СИБ для определения индола - 1 пробирка (50 полос).

В картонной пачке с инструкцией по применению. К комплекту поставки прикладывают паспорт.

Системы индикаторные бумажные (СИБ) для идентификации микроорганизмов представляют собой диски диаметром 9-10 мм 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 компонентов изделия (СИБ)

Наименование СИБ	Основной реагент СИБ	Индикатор	Стабилизатор	Внешний вид СИБ в сухом виде
СИБ с глюкозой	D(+) глюкоза	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с лактозой	D(+) лактозы моногидрат	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с сахарозой	Сахароза	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с маннозой	D(+) манноза	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с арабинозой	L(+) арабиноза	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с инозитом	Мезо-инозит	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ с маннитом	D(-) маннит	Феноловый красный	Спирт поливиниловый	Диски от оранжевого до красного цвета
СИБ для определения индола	L-триптофан	Реактив Эрлиха: п-диметиламинобензальдегид, кислота ортофосфорная	Спирт поливиниловый	Полоски, короткий конец – зеленовато-серый или желтый, длинный – белый
СИБ для определения уреазы	Карбамид (мочевина)	Фенолфталеин	Спирт поливиниловый	Диски белого цвета
СИБ с лизином	L-лизин гидрохлорид	Бромтимоловый синий	Спирт поливиниловый	Диски желто-горчичного цвета
СИБ с орнитином	L-орнитин гидрохлорид	Бромтимоловый синий	Спирт поливиниловый	Диски желто-горчичного цвета
СИБ с аргинином	L-аргинин гидрохлорид	Бромтимоловый синий	Спирт поливиниловый	Диски желто-горчичного 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 идентификации микроорганизмов по способности к ферментации углеводов (глюкозы, лактозы, сахарозы, маннозы, арабинозы) и многоатомных

спиртов (инозита, маннита), декарбоксилированию аминокислот (лизина, орнитина, аргинина), индолообразованию, уреазной и оксидазной активности, поскольку биохимическая активность различных групп микроорганизмов может отличаться.

Способность к ферментации углеводов и многоатомных спиртов оценивают по изменению окраски вследствие образования органических кислот (уменьшение pH), вызывающих изменение окраски индикатора.

В среде, содержащей В₆ (кофактор декарбоксилаз), стимулируется декарбоксилазная активность в отношении лизина/орнитина/аргинина, в результате декарбоксилирования лизина образуется кадаверин, орнитина – путресцин, аргинин вначале гидролизует до орнитина, а затем образуется путресцин. Образовавшиеся амины защелачивают среду и ее цвет меняется в присутствии индикатора, если декарбоксилирования нет, цвет среды не меняется.

Определение индолообразования в выращенной культуре проводят по появлению окрашивания с реактивом Эрлиха, которое свидетельствует о наличии индола.

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

Определение уреазной активности. При расщеплении мочевины образуется аммиак, который защелачивает среду, что сопровождается изменением цвета индикатора.

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор №1 для идентификации вибрионов» рассчитан на проведение 50 анализов.

Изделие предназначено для клинической лабораторной диагностики, для однократного применения по назначению. Вид анализа – качественный. Ремонту и обслуживанию не подлежит.

Пользователями изделия могут быть специалисты бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений 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 для определения индола от 40 мин до 2 ч; СИБ для определения уреазы от 40 мин до 5 ч; СИБ с глюкозой, СИБ с лактозой, СИБ с сахарозой, СИБ с маннозой, СИБ с маннитом, СИБ с инозитом, СИБ с арабинозой, СИБ с лизином, СИБ с орнитином, СИБ с аргинином – от 5 до 18 ч.

Чувствительность: при суспендировании полной бактериологической петли культуры положительно реагирующих тест-штаммов микроорганизмов рода *Vibrio*, должен изменяться цвет

раствора (после погружения СИБ-дисков) или цвет полоски (после погружения или нанесения культуры тест-штамма) спустя время срабатывания в соответствии с таблицей учета результатов испытаний и биохимическими характеристиками тест - штаммов.

Специфичность (правильность дифференциации тест-штамма *Vibrio cholerae non 01 P-9741* от тест-штаммов, не принадлежащих к бактериям рода *Vibrio*): тест-штаммы *Vibrio cholerae non 01 P-9741* и бактерий не принадлежащих к бактериям рода *Vibrio* (*Klebsiella pneumoniae* 579, *Aeromonas hydrophila* 401, *Alcaligenes faecalis* 73, *Proteus vulgaris* HX 19 № 222, *Escherichia coli* 9001) должны изменять цвет раствора (после погружения СИБ-дисков) или цвет полоски (после погружения или нанесения культуры тест-штамма) 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 2 б.

Изделие Набор реагентов «Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов. Набор №1 для идентификации вибрионов» 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 1.3.3118-13 «Безопасность работы с I - II групп патогенности (опасности)» (для лабораторий (отделов) особо опасных инфекций центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, ведомств и противочумных учреждений);

- МУК 4.2.2218-07 Методические указания «Лабораторная диагностика холеры»;

- МУК 4.2.2870-11 Методические указания. «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней».

- МУ 3.4.3008-12 «3.4. Санитарная охрана территории. Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, «новых» и «возвращающихся» инфекционных болезней. Методические указания».

Утилизация изделий, пришедших в негодность и с истекшим сроком годности в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» как эпидемиологически безопасных отходов Класса А. Изделия после контакта с биологическими образцами утилизируют в соответствии СанПиН 2.1.7.2790-10 как эпидемиологически опасные отходы класса Б.

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, 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) пригодны к использованию в течение срока годности, при условии хранения в закрытых пробкой флаконах (пробирках) в сухом и защищенном от света месте, при температуре от 2 до 25 °С;

- исследования проводят с чистой культурой, а также с отдельными колониями с питательного агара для выделения и культивирования вибрионов;

- погружение дисков (полосок) в пробирки производят обожженным пинцетом;

- критерием правильности учета реакции должны быть четкие различия в окраске по сравнению с контролем (за исключением аминокислот, где в опытной пробирке слабое зеленое окрашивание свидетельствует об отрицательном результате, в то время как в контроле диски с аминокислотами окрашены в желтый цвет).

ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ

- Термостат, обеспечивающий температуру (37 ± 1) °С;
- Бокс микробиологической безопасности II класса;
- Автоклав;
- Пробирки стеклянные;
- Чашки Петри;
- Пинцеты;
- Петля бактериологическая № 3;
- Палочка стеклянная;
- Вата медицинская гигроскопическая;
- Натрия хлорида раствор 0,9% рН $(7,3 \pm 0,1)$, стерильный;
- Фосфатно-солевой буферный раствор рН $(5,5 \pm 0,2)$ (ТУ 20.59.52-117-14237183-2017);
- Масло вазелиновое стерильное.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Исследования проводят с использованием чистой культуры или отдельных колоний с питательных сред для выделения и культивирования вибрионов, полученных с использованием материала для санитарных и бактериологических исследований, которым могут служить испражнения, рвотные массы, желчь, трупный материал (отрезки тонкого кишечника и желчный пузырь); предметы, загрязненные испражнениями (постельное и нательное белье и др.); вода, ил, гидробионты, сточные воды, в том числе воды поверхностных водоемов; содержимое выгребных туалетов; смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты, мухи и др.

Для отбора проб используют чистую стерильную посуду, не содержащую следов дезинфицирующих растворов. Стерилизацию посуды и других средств, используемых для 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 МУК 4.2.2218-07 и МУК 4.2.2870-11.

Все исследуемые образцы должны быть промаркированы.

ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (АНАЛИЗА)

Для получения культур используют питательные среды в соответствии с п.7 МУК 4.2.2218-07 и приложению 3 МУК 4.2.2870-11.

Определение оксидазной активности

Культуру, выросшую на поверхности рекомендованных питательных сред, растирают платиновой петлей или стеклянной палочкой на индикаторной полоске СИБ, помещенной в чашку Петри. На одной полоске можно исследовать 10-14 культур (не более). Время реакции указано в таблице 2.

Определение утилизации углеводов (глюкозы, лактозы, сахарозы, маннозы, арабинозы) и многоатомных спиртов (инозита, маннита)

В пробирке с 0,3 мл стерильного натрия хлорида раствора 0,9 % рН (7,3±0,1) суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности рекомендованных питательных сред, затем погружают в пробирку СИБ-диск с соответствующим углеводом или многоатомным спиртом. Среда в пробирках в результате быстрой диффузии в нее индикатора становится красной. В случае необходимости учета газообразования рекомендуется использовать небольшой комочек стерильной гигроскопической ваты, который помещают в пробирку. В качестве контроля служат СИБ-диски, погруженные в пробирки со стерильным натрием хлорида раствором 0,9 % рН (7,3±0,1). Пробирки инкубируют при температуре (37±1) °С, время инкубирования указано в таблице 2.

Определение индолообразования

В пробирке с 0,3 мл стерильного натрия хлорида раствора 0,9 % рН (7,3±0,1) суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности рекомендованных питательных сред. Полоску для определения индола складывают по намеченной на ней линии вдвое и пинцетом опускают на дно пробирки так, чтобы длинный бесцветный конец погрузился в суспензию культуры, а короткий окрашенный: конец находился над поверхностью суспензии. В качестве контроля используют полоску, помещенную в пробирку со стерильным натрием хлорида раствором 0,9 % рН (7,3±0,1). Инкубируют при температуре (37±1) °С, время инкубирования указано в таблице 2.

Определение уреазной активности

В пробирке с 0,3 мл стерильного натрия хлорида раствора 0,9 % рН (7,3±0,1) суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности рекомендованных питательных сред, затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с мочевиной. В качестве контроля используют СИБ-диск, помещенный в пробирку со стерильным натрием хлорида раствором 0,9 % рН (7,3±0,1).

Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, время инкубирования указано таблице 2.

Определение декарбоксилаз лизина, орнитина и дегидролазы аргинина

В пробирке с 0,3 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора pH $(5,5 \pm 0,2)$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности рекомендованных питательных сред, затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с одной из аминокислот: лизином, орнитином или аргинином и вносят 0,2 мл стерильного вазелинового масла. В качестве контроля используют СИБ-диски с соответствующими аминокислотами, погруженные в пробирки со стерильным фосфатно-солевым буферным раствором pH $(5,5 \pm 0,2)$ с добавлением 0,2 мл стерильного вазелинового масла. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, время инкубирования указано таблице 2.

Примечание: стерильный натрия хлорида раствор 0,9 % pH $(7,3 \pm 0,1)$ готовит потребитель непосредственно перед использованием.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрацию результатов анализа проводят визуально.

Учет результатов производят в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2

Учет результатов испытаний

Тесты	Цвет раствора после погружения СИБ	Время срабатывания	Результат испытаний	
			положительный	отрицательный
Определение оксидазы (СИБ для определения оксидазы)	-	от 30 до 60 с	синий цвет	окрашивание отсутствует
Утилизация углеводов и многоатомных спиртов (СИБ с глюкозой, СИБ с лактозой, СИБ с сахарозой, СИБ с маннозой, СИБ с маннитом, СИБ с инозитом, СИБ с арабинозой)	красный	от 5 до 18 ч	желтый или оранжевый цвет	красный цвет
Индолообразование (СИБ для определения индола)	бесцветный	от 40 мин до 2 ч	окрашивание короткого конца в розово-малиновый цвет	окрашивание отсутствует
Уреазная активность (СИБ для определения уреазы)	бесцветный	от 40 мин до 5 ч	розово-малиновый цвет	окрашивание отсутствует

Определение декарбоксилаз лизина, орнитина, дегидролазы аргинина (СИБ с лизином, СИБ с орнитином, СИБ с аргинином)	желтый	от 5 до 18 ч	синий или интенсивно зеленый цвет	желтый или светло- зеленый цвет
---	--------	--------------	---	---------------------------------------

Полученные результаты используют для дифференциации представителей рода *Vibrio* от сходных микроорганизмов (таблица 3) и определения групп Хейберга (таблица 4). Интерпретацию результатов проводят в соответствии с Таблицами 3,4 и МУК 4.2.2218-07.

Таблица 3

Биохимические характеристики микроорганизмов рода *Vibrio* и сходных микроорганизмов рода *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas* и бактерий семейства *Enterobacteriaceae*

Тест	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Plesiomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Proteus</i>
Оксидаза	+	+	+	+	-
Индол	+	+	±	-	±
Уреаза	-	-	-	-	+
Лактоза	-	-	-	-	-
Глюкоза	+	+	+	+	+
Сахароза	±	±	±	±	±
Манноза	±	±	±	±	-
Арабиноза	±	±	-	-	-
Маннит	+	+	-	-	-
Инозит	-	-	+	-	-
Аргинин	-	+	±	+	-
Орнитин	+	-	±	-	±
Лизин	+	-	±	-	-

Условные обозначения: + положительный
- отрицательный
± встречаются разные варианты

Таблица 4

Определение ферментативных групп вибрионов по Хейбергу с помощью СИБ.

Группа	Тест на утилизацию маннозы	Тест на утилизацию сахарозы	Тест на утилизацию арабинозы
I	+	+	-
II	-	+	-
III	+	+	+
IV	-	+	+
V	+	-	-
VI	-	-	-
VII	+	-	+
VIII	-	-	+

Дифференциация представителей рода *Vibrio* от сходных микроорганизмов по биохимической активности является частью комплекса идентификационных тестов, включая культурально-морфологические и тинкториальные свойства, токсигенные свойства и др. Для полной идентификации микроорганизмов необходимо следовать МУК 4.2.2870-11.

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.

При вскрытии флаконов (пробирок) в асептических условиях компоненты набора подлежат хранению до истечения срока годности в герметично закрытых флаконах (пробирках) при температуре от 2 до 25 °С в защищенном от света месте.

Срок годности - 2 года 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. Набор № 1 для идентификации вибрионов» 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, тел. (495) 710-37-87, 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.