СОГЛАСОВАНО
Зам. руководителя
Испытательного лабораторного центра
ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена»
Росмедтехнологий»
вед.н.с., к.ф.н.

_____ А.Г. Афиногенова

«19» января 2010 г.

УТВЕРЖДАЮ
По поручению фирмы
«Лаборатории АНИОС», Франция
Генеральный директор
ООО «РамТЭК»

_____ Р.Ю. Нажим

«19» января 2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ № 11/10А

по применению средства для мытья

эндоскопического оборудования в автоматических моющих машинах

«АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК»

(фирмы «Лаборатории АНИОС», Франция)

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ №_____
по применению средства для мытья
эндоскопического оборудования в автоматических моющих машинах
«АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК»
(фирмы «Лаборатории АНИОС», Франция)

Инструкция разработана в Испытательном лабораторном центре ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росиндтехнологий»
Авторы: А.Г. Афиногенова, Т.Я. Богданова, Г.Е. Афиногенов.

Инструкция предназначена для медицинского персонала лечебно-профилактических учреждений, работников дезинфекционных станций, других учреждений, имеющих право заниматься дезинфекционной деятельностью.

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. Средство «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» представляет собой прозрачную янтарную жидкость с приятным запахом. В состав средства в качестве действующих веществ входит комплекс натуральных энзимов – протеаза, альфа-амилаза и липаза, а также ряд функциональных добавок; pH средства – 6,0-8,0.
Средство расфасовано в полиэтиленовые канистры вместимостью 5 $дм^3$, 10 $дм^3$ и 25 $дм^3$.
Срок годности средства при условии его хранении в невскрытой упаковке изготовителя – 3 года.

1.2. Средство обладает хорошими моющими свойствами при малом пенообразовании. При транспортировании средства в зимнее время возможно его замерзание. Потребительские свойства средства после размораживания и перемешивания встряхиванием сохраняются.

1.3. Средство по классификации ГОСТ 12.1.007-76 по параметрам острой токсичности при введении в желудок и при нанесении на кожу относится к 4 классу малоопасных веществ; при введении в брюшную полость средство малотоксично. Пары растворов средства в насыщающих концентрациях при ингаляции малоопасны. Средство обладает слабым местно-раздражающим действием на кожу, на слизистые оболочки глаз; не обладает кожно-резорбтивным и сенсибилизирующим эффектом. Рабочие растворы средства оказывают раздражающее действие на слизистые оболочки глаз, при многократном воздействии на кожу могут вызвать её шелушение.
ПДК протеазы в воздухе рабочей зоны - 0,5 $мг/м^3$ (аэрозоль, "Аллерген"); ОБУВ $_{а.внм.}$ - 0,01 $мг/м^3$.

1.4. Средство предназначено для использования в лечебно-профилактических учреждениях:
- для предварительной очистки эндоскопического оборудования;
- для предстерилизационной очистки эндоскопического оборудования;
- для окончательной очистки эндоскопического оборудования перед дезинфекцией высокого уровня (ДВУ)

механизированным способом в специализированных автоматических моющих установках.

2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ СРЕДСТВА

2.1. Средство «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» используется в виде 0,2% рабочего раствора, который получают автоматически согласно программе моющей установки.

3. ПРИМЕНЕНИЕ СРЕДСТВА

3.1. Средство «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» предназначено для предварительной очистки эндоскопов; предстерилизационной очистки эндоскопов; окончательной очистки эндоскопов перед дезинфекцией высокого уровня (ДВУ) механизированным способом в специализированных автоматических моющих установках.

3.2. Очистку эндоскопического оборудования проводят с учетом требований санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.1275-03 «Профилактика инфекционных заболеваний при эндоскопических манипуляциях» и методических указаний «Очистка, дезинфекция и стерилизация эндоскопов и инструментов к ним» (МУ 3.5.1937-04 от 04.03.2004г.).

3.3. Стандартный цикл очистки эндоскопического оборудования **0,2% рабочим раствором средства составляет 10 минут** (табл.1) при комнатной температуре. Фактическое время обработки и температура рабочего раствора обуславливаются программой используемой специализированной автоматической моющей установки.

3.4. Качество предстерилизационной очистки изделий оценивают путем постановки амидопириновой или азопирамовой пробы на наличие остаточных количеств крови. Постановку амидопириновой пробы осуществляют согласно методикам, изложенным в «Методических указаниях по предстерилизационной очистке изделий медицинского назначения» (№ 28-6/13 от 08.06.82 г.), азопирамовой пробы согласно изложенному в методических указаниях «Контроль качества предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения с помощью реактива азопирам» (№ 28-6/13 от 25.05.88 г.). На наличие щелочных компонентов средства на изделиях проверку проводят путем постановки фенолфталеиновой пробы в соответствии с «Методическими указаниями по предстерилизационной очистке изделий медицинского назначения» (№ 28-6/13 от 08.06.82 г). Контролю подлежит 1% одновременно обработанных изделий одного наименования (но не менее трех изделий). При выявлении остатков крови (положительная проба) вся группа изделий, от которой отбирали изделия для контроля, подлежит повторной обработке до получения отрицательного результата.

ФГУ "РНИИТО им. Р.Р.Вредена Росмедтехнологий"
ИЛЦ
Испытательный лабораторный центр

Таблица 1. Режимы очистки эндоскопического оборудования 0,2% раствором средства «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» механизированным способом в специализированных автоматических моющих установках

Этапы очистки	Режимы очистки		
	Концентрация рабочего раствора (по препарату),%	Температура рабочего раствора, ^{0}C *	Время обработки, мин *
Обработка в специализированной автоматической моющей установке:			
• эндоскопического оборудования	0,2	20±2	10
Ополаскивание проточной питьевой водой вне установки	Не нормируется		5
Ополаскивание дистиллированной водой вне установки	Не нормируется		1

Примечание: * Фактическое время обработки и температура рабочего раствора обуславливаются программой используемой специализированной автоматической моющей установки.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Все работы со средством необходимо проводить с защитой кожи рук резиновыми перчатками, глаз – защитными очками.

4.2. Следует избегать контакта средства и его рабочих растворов с кожей и слизистыми оболочками глаз.

4.3. Не допускать к работе со средством лиц с повышенной чувствительностью к химическим веществам и страдающих хроническими аллергическими заболеваниями.

4.4. Средство необходимо хранить отдельно от лекарственных препаратов в местах, недоступных детям.

5. МЕРЫ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ

5.1. При попадании средства в глаза необходимо немедленно обильно промыть глаза под струей воды в течение 10-15 мин, закапать 30% раствор сульфацила натрия и срочно обратиться к врачу.

5.2. При случайном попадании средства на кожу следует смыть его водой.

5.3. При случайном попадании средства в желудок дать выпить пострадавшему несколько стаканов воды или адсорбента – активированного угля (10-20 измельченных таблеток на стакан воды) или любого другого заменяющего его адсорбента. При ухудшении состояния здоровья пострадавшего необходимо обратиться к врачу.

6. УПАКОВКА, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

6.1. Средство расфасовано в полиэтиленовые канистры вместимостью 5 дм^3, 10 дм^3 и 25 дм^3.

6.2. Средство транспортируют любым видом крытого транспорта в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на каждом виде транспорта и гарантирующими сохранность средства и тары.

6.3. Средство следует хранить в сухих складских помещениях в упаковке изготовителя при температуре от плюс 5°С до плюс 35°С в местах, защищенных от солнечных лучей, влаги от нагревательных приборов. При транспортировании средства в зимнее время возможно его замерзание. Потребительские свойства средства после размораживания и перемешивания встряхиванием сохраняются.

6.4. Пролившееся средство следует разбавить большим количеством воды или адсорбировать негорючими веществами (земля, песок, силикагель) и направить на утилизацию. Уборку пролившегося средства необходимо проводить, используя резиновый фартук, резиновые сапоги и средства индивидуальной защиты кожи рук (резиновые перчатки), глаз (защитные очки) и органов дыхания (универсальные респираторы типа РУ-60М, РПГ-67 с патроном марки В.

6.5. Слив средства в канализационную систему можно проводить только в разбавленном виде; не допускается попадание неразбавленного средства в сточные (поверхностные или подземные) воды.

7. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ СРЕДСТВА «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК»

7.1. Средство «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» контролируют по показателям, указанным в табл. 2.

Таблица 2. Показатели контроля средства «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК»

Наименование показателя	Нормы
Внешний вид, цвет	Прозрачная жидкость янтарного цвета
Запах	приятный
Ферментативная активность	Полное очищение фотографической пленки
Плотность при 20°С	1,05 – 1,09
Показатель активности водородных ионов средства при 20^0С, ед. pH	6,0 – 8,0

7.2. Определение внешнего вида

Внешний вид средства определяют визуально в соответствии с ГОСТ 14618.0.-78. Запах определяют органолептически.

7.3. Определение показателя активности водородных ионов, pH

Определение показателя активности водородных ионов, pH проводят по ГОСТ Р 50550-93 потенциометрическим методом.

7.4. Определение плотности средства

Показатель плотности определяют при 20^0С, г/см^3 в соответствии с ГОСТ Р 50550-93.

7.5. Определение ферментативной активности энзимного комплекса (протеаза, липаза, альфа-амилаза)

Оценку ферментативной активности средства «АНИОС ДЛ ТРИ-ЭНЗИМАТИК» проводят по эффективности ферментативного расщепления тест-субстратов при воздействии 0,5% раствором средства в течение 15 мин. при комнатной температуре с последующим обнаружением продуктов гидролиза.

Раствор средства с массовой долей 0,5% готовят растворением в водопроводной воде 0,5 г средства в мерной колбе вместимостью 100 мл.

Методики качественного анализа ферментного комплекса предоставлены фирмой-производителем.

7.5.1. Определение активности амилазы

Для оценки активности амилазы в средстве используют в качестве тест-субстрата 0,1% раствор гликогена, ферментативное расщепление которого происходит до глюкозы. Обнаружение гликогена и продуктов гидролиза проводят с помощью тонкослойной хроматографии.

7.5.1.1. Реактивы и растворы.

Тест - субстрат: гликоген (G 0885 Сигма); водный раствор массовой долей 0,1%.

Пластинки для хроматографии (Мерк 1.05553) - силикагель 60, толщина слоя 0,25мм на алюминиевой подложке

Этанол абсолютированный

Кислота уксусная х.ч.

Кислота серная х.ч.

Вода дистиллированная

Подвижная фаза: 29 мл дистиллированной воды

70 мл абсолютированного этанола

1 мл уксусной кислоты

Проявляющий реагент: раствор серной кислоты с массовой долей 10%.

7.5.1.2. Выполнение анализа.

ФГУ "ГНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологий" Испытательный лабораторный центр

Для проведения гидролиза гликогена в пробирку вносят 1 мл 0,5% раствора средства, добавляют 100 мкл 0,1% раствора гликогена и выдерживают в течение 15 мин. Через 15 мин. останавливают реакцию, охлаждая пробирку со смесью во льду, после чего проводят хроматографирование раствора.

На хроматографической пластинке намечают стартовую линию на расстоянии 1,5 см от края, на которую через 2 см наносят по 30 мкл анализируемой пробы и по 3 мкл 0,1% раствора гликогена (в качестве контрольного раствора). После нанесения проб пластинку подсушивают на воздухе. Затем пластинку помещают в хроматографическую камеру, в которую предварительно залита подвижная фаза в таком количестве, чтобы пластинка погружалась в нее не более, чем на 0,5 см. После того, как подвижная фаза поднимется до 1 см от верхнего края сорбента, пластинку вынимают из камеры и высушивают на воздухе в вытяжном шкафу, затем опрыскивают проявляющим реагентом, снова подсушивают и нагревают при 180°С. Зоны локализации продуктов гидролиза гликогена проявляются в виде темных пятен в средней и верхней части хроматограммы, пятно от контрольного раствора гликогена остается на стартовой линии хроматограммы.

7.5.2. Определение активности липазы.

Для оценки активности липазы в средстве используют в качестве тест-субстрата 0,1% раствор триолеина, ферментативное расщепление которого происходит до ди- и моноглицеридов.

Обнаружение триглицеридов и продуктов гидролиза проводят с помощью тонкослойной хроматографии. 14

7.5.2.1. Реактивы и растворы.

Тест-субстрат триглицеридов: триолеин (Т 9517 Сигма); раствор в абсолютированном этаноле с массовой долей 0,1% .

Контрольный раствор диглицеридов: 1,3-дилинолеин (D 9508 Сигма); раствор в абсолютированном этаноле с массовой долей 0,1%.

Контрольный раствор моноглицеридов: 1-монолинолеоилглицерол (М 7640 Сигма); раствор в абсолютированном этаноле с массовой долей 0,1% .

Пластинки для хроматографии (Мерк 1.05553) - силикагель 60, толщина слоя 0,25мм на алюминиевой подложке.

Этанол абсолютированный.

н-Гексан х.ч.

Диэтиловый эфир х.ч.

Метанол х.ч.

Кислота фосфорная; раствор с массовой долей 75%.

Кислота уксусная х.ч.

Сульфат меди х.ч.

Вода дистиллированная.

Подвижная фаза: 100 мл н-гексана
1 мл диэтилового эфира
2 мл уксусной кислоты
3 мл метанола

Проявляющий реагент: в мерную колбу вместимостью 50 мл вносят 5 г сульфата меди, 4,5 мл 75% раствора фосфорной кислоты, добавляют до калибровочной метки дистиллированную воду и перемешивают.

7.5.2.2. Выполнение анализа.

Для проведения гидролиза липидов в пробирку вносят 1 мл 0,5% раствора средства, добавляют 100 мкл 0,1% раствора триолеина и выдерживают в течение 15 мин. Через 15 мин. останавливают реакцию, охлаждая пробирку со смесью во льду, после чего проводят хроматографирование раствора.

На хроматографической пластинке намечают стартовую линию на расстоянии 1,5 см от края, на которую через 2 см наносят по 60 мкл анализируемой пробы и по 60 мкл 0,1% контрольного раствора. После нанесения проб пластинку подсушивают на воздухе. Затем пластинку помещают в хроматографическую камеру, в которую предварительно наливают подвижную фазу в таком количестве, чтобы пластинка погружалась в нее не более, чем на 0,5 см. После

того, как подвижная фаза поднимется до 1 см от верхнего края сорбента, пластинку вынимают из камеры и сушат на воздухе в вытяжном шкафу, затем опрыскивают проявляющим реагентом, снова подсушивают и нагревают при 180°С. Зоны локализации продуктов гидролиза липидов проявляются в виде темных пятен в средней и верхней части хроматограммы.

Обнаружение продуктов ферментативного расщепления триолеина проводят путем сравнения Rf триолеина и продуктов гидролиза в пробе и Rf триолеина в контрольном растворе.

7.5.3. Определение активности протеазы.

Для оценки активности протеазы в средстве используют в качестве тест-субстрата 0,3% раствор сыворотки человеческого белка (альбумин), ферментативное расщепление которого происходит до пептидов. Обнаружение продуктов гидролиза проводят с помощью электрофореза в полиакриловом геле в присутствии додецилсульфата натрия.

7.5.3.1. Приборы, реактивы и растворы.

Прибор для вертикального электрофореза (165-5051 BIO-RAD).

Микрошприц, вместимостью 5 мкл.

Сыворотка человеческого белка (альбумин) /А 163 SIGMA/.

Раствор акриламида 40% /161-0146 BIO-RAD/. 15

Буферный раствор для электрофореза TSG: (Tris/glycine/SDS Buffer) /161-0772 BIO-RAD/; готовят раствор в дистиллированной воде с массовой долей 10%.

Разделяющий буфер (Лаемнли буфер) /161-0730 BIO-RAD/.

Натрий додецилсульфат (SDS) /161-0300 BIO-RAD/; водный раствор с массовой долей 10%.

Персульфат аммония (161-0710 BIO-RAD); водный раствор с массовой долей 10%.

Раствор меркаптоэтанола (161-0710 BIO-RAD).

TEMED (N,N,N,N, tetra-metyl-ethylenediamin) (161-0800 BIO-RAD).

Подвижная фаза: готовят раствор TSG в дистиллированной воде с массовой долей 10%.

Проявляющий раствор следующего состава:

Кумасси синий 2 г

Дистиллированная вода 225 мл

Уксусная кислота 225 мл

Метанол 225 мл

Обесцвечивающий раствор следующего состава:

Этанол 600 мл

Дистиллированная вода 1250 мл

Уксусная кислота 150 мл

7.5.3.2. Приготовление полиакрилового геля.

Концентрирующий и разделяющий полиакриловый гель следующего состава:	Разделяющий гель	Концентрирующий гель
Компонент		
Акрилоамид 40 %	3,5 мл	3,5 мл
Буфер	2,5 мл (pH 8,8)	2,5 мл (pH 6,8)
10 % раствор натрий додецил сульфата	0,1 мл	0,1 мл
Дистиллированная вода	3,9 мл	3,9 мл

ФГУ "РНИИТО им. Р.Р. Вреден Росмедтехнологий" Испытательный лабораторный центр