

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН

Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии

И.А. Дятлов



2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия

**«Питательная среда для выделения синегнойной палочки сухая (ЦПХ агар)
по ТУ 20.59.52-325-78095326-2020»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Медицинское изделие «Питательная среда для выделения синегнойной палочки, сухая (ЦПХ агар) по ТУ 20.59.52-325-78095326-2020» предназначено для проведения исследований в клинической микробиологии с целью выделения из клинического материала бактерий рода *Pseudomonas* – возбудителей инфекционных заболеваний человека, далее по тексту - ЦПХ агар.

Область применения ЦПХ агара - клиническая лабораторная диагностика.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

ЦПХ агар представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов.

ЦПХ агар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав среды обеспечивает питательные потребности для роста и выделения псевдомонад. N-цетилпиридиний хлористый подавляет рост, возможных бактерий ассоциантов и при этом не влияет на способность псевдомонад к росту и пигментообразованию. Комплекс антиоксидантов предотвращает окисление жирорастворимых витаминов А и Е, помогает вырабатывать больше необходимой клеткам энергии, способствует накоплению биомассы.

2.2. Состав

Питательная среда для выделения синегнойной палочки (ЦПХ агар) представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

– Панкреатический гидролизат рыбной муки	20,0
– Калий сернокислый	7,6
– Магний сернокислый 7-водный	2,4

– Калий фосфорнокислый однозамещенный	1,0
– Калий фосфорнокислый двузамещенный	1,0
– Фенозан-кислота	0,025
– Бутилгидрокситолуол.....	0,075
– N-цетилпиридиний хлористый 1 водн (ЦПХ)	0,2
– Агар бактериологический	9,0±2,0
– Натрий углекислый	0,5±0,05

рН от 7,0 до 7,4

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 сухого ЦПХ агара 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 приготовления среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность.

Специфическая активность ЦПХ агара оценивается по показателям чувствительности, скорости роста и проявлению типичных морфологических свойств контрольных тест-штаммов.

ЦПХ агар обеспечивает при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого тест-штамма *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 140 из разведения 10^{-6} через 44-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ визуально обнаруживаемый рост колоний лимонного или зеленовато-желтого цвета, диаметром от 2,0 до 5,0 мм с окрашиванием среды вокруг колоний

3.2. Ингибирующие свойства.

ЦПХ агар полностью подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *Proteus vulgaris* HX 19 222 из разведения 10^{-4} и *Staphylococcus aureus* Wood-46 из разведения 10^{-1} на всех засеянных чашках Петри при посеве по 0,1 мл микробной взвеси через 44-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

В ходе клинических испытаний была доказана диагностическая эффективность использования МИ «Питательная среда для выделения синегнойной палочки сухая (ЦПХ агар)» по ТУ 20.59.52-325-78095326-2020 производства ФБУН ГНЦ ПМБ при проведении бактериологического исследования клинического материала, с целью выделения бактерий рода *Pseudomonas* - возбудителей инфекционных заболеваний человека.

ского исследования клинического материала, с целью выделения бактерий рода *Pseudomonas* - возбудителей инфекционных заболеваний человека.

Диагностическая чувствительность культуральных исследований образцов с применением ЦПХ агара составила 98 % (по 49 положительных результатов, и по 1 ложноотрицательному результату на испытываемой среде из 50 исследованных «заведомо положительных образцов», полученных двумя независимыми испытателями). 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 ЦПХ агара - не менее 96% при доверительной вероятности 90% при нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл.

Диагностическая специфичность культуральных исследований образцов с применением ЦПХ агара составила 100 % (по 19 отрицательных результатов культурального исследования из 19 «заведомо отрицательных образцов», полученных двумя независимым испытателями. Рост всех тест-штаммов в концентрации 10^{-4} м.кл./мл полностью отсутствовал на испытываемой среде и среде сравнения (ЦПХ-агар, Махачкала). 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 специфичности культуральных исследований образцов с применением ЦПХ агара - не менее 94% при доверительной вероятности 90%, при нагруженности образцов не менее 10^{-4} м.кл./мл.

Диагностическая эффективность культурального исследования с применением ЦПХ агара составила 98,5 % (136 правильных результата теста из 138 исследованных заведомо отрицательных и положительных образцов), полученных в сумме двумя независимыми испытателями.

Прогностичность положительного результата культурального исследования - 100% (ложноположительных результатов нет), прогностичность отрицательного результата культурального исследования 97,4% (2 ложноотрицательных результата из 100 «положительных» образцов) при условии нагруженности образцов не менее 10^{-6} м.кл./мл (положительные) и при нагруженности образцов не более 10^{-4} м.кл./мл. (отрицательные).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения медицинского изделия «Питательная среда для выделения синегнойной палочки (ЦПХ агар)» в соответствии с Приказом МЗ РФ № 4н от 06.6.2012 – класс 2 б.

правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». В состав среды входит N-цетилпиридиний хлористый 1 водн (ЦПХ), поэтому необходимо использовать индивидуальные средства защиты органов дыхания и рук!

4.4 Уничтожение приготовленной питательной среды для выделения псевдомонад после проведения биологического исследования образцов осуществляется по СанПиН 2.1.3684-21 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 90 мин при температуре $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$.

4.5 При использовании ЦПХ агара по назначению и в соответствии с инструкцией противопоказаний к применению нет.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- 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: испражнения, моча, кровь, мокрота, гнойное отделяемое ожоговых и хирургических ран, отделяемое глаз.

Род *Pseudomonas* относится к семейству *Pseudomonadaceae*. Среди достаточно большого числа микроорганизмов, входящих в этот род, наибольшее значение для медицины и ветеринарии представляют виды *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) и *P. mallei*. Кроме того, сейчас все чаще можно выделить из различного патологического материала и другие псевдомонады, такие как *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, которые являются возбудителями различных гнойных поражений.

Инфекции, вызываемые представителями рода *Pseudomonas*, часто имеют госпитальный характер. Характерной особенностью большинства штаммов, принадлежащих к данному роду, является положительный тест на образование цитохромоксидазы, а также образование различных пигментов (сине-зеленого, зеленовато-желтого, флуоресцирующего, фиолетового, красного и др.). В зависимости от условий роста и состава питательной среды пигменты образуются в

различных количественных соотношениях, и поэтому окраска культуральной среды и колоний может меняться, иногда какой-либо из пигментов может утрачиваться совсем. Все виды, входящие в этот род, каталазоположительны, дают отрицательные реакции на индол, не реагируют с метиловым красным и не образуют ацетилметилкарбинола, а также термофильны (растут при 37- 42°C), за исключением *P. fluorescens* (рост при 5- 25°C, отсутствие роста при 42°C).

6.2. Для проведения бактериологического исследования материал должен быть взят по возможности до назначения антибактериальных препаратов, точно из больного органа, в достаточном количестве и доставлен в лабораторию в течении двух часов в термоконтейнере или в течении 2 суток при условии хранения и транспортирования материала при температуре 2-8°C в специальных транспортных средах, разрешенных к применению и зарегистрированных в установленном порядке.

6.3 Идентификацию исследуемого материала проводят в соответствии с Методическими рекомендациях «Выделение и идентификация штаммов синегнойной палочки из клинического материала», М., 1984 г и другими нормативными документами, регламентирующими исследования по выделению и идентификации штаммов синегнойной палочки из клинического материала. Лабораторная диагностика основана на результатах бактериологического исследования. Бактериологическое исследование включает в себя микроскопию мазков из исследуемого материала, выделение чистой культуры и идентификацию возбудителя по культурально-морфологическим, ферментативным и патогенным свойствам

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследование проводят 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 ЦПХ агара.

Навеску среды ЦПХ агар в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Среду разливают в стерильные чашки Петри. После застывания среды чашки со средой подсушивают.

После каждого вскрытия банку с сухой средой плотно закрыть и хранить до окончания срока годности в сухом месте при температуре от 2 до 30°C, избегая попадания влаги.

Готовая питательная среда ЦПХ агар в чашках Петри непрозрачная, светло-желтого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °C.

7.2. После соответствующей подготовки по п. 6.2 исследуемый материал вносят на чашки Петри с ЦПХ агаром и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 44-48 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 44-48 ч инкубации посевов при температуре $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$. Визуально учитывают наличие и характер роста, отбирая колонии с образованием различных пигментов (сине-зеленого, зеленовато-желтого, флуоресцирующего, фиолетового, красного и др) или без них, диаметром от 2,0 до 5,0 мм. При этом, необходимо учитывать, что полученные результаты не являются единственным, определяющим диагноз признаком и требуют дополнительной информации для принятия медицинского решения.

Дальнейшую идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводят в соответствии с нормативной документацией по биохимическим и антигенным признакам.

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

9. ТРЕБОВАНИЯ К УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

9.1 Серии ЦПХ агара, 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) 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 Питательную среду для выделения синегнойной палочки (ЦПХ агар) необходимо хранить на складе, в герметично закрытой упаковке изготовителя, в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30°C и относительной влажности не более 60 %.

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

Медицинское изделие «Питательная среда для выделения синегнойной палочки, сухая (ЦПХ агар)» хранившееся с нарушением регламентированного режима, с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке применению не подлежит!

10.3 ЦПХ агар транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре хранения, допускается транспортирование при температуре от минус 18 до плюс 40 °С не более 7 суток.

Медицинское изделие «Питательная среда для выделения синегнойной палочки, сухая (ЦПХ агар)» транспортируемое с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит!

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

Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия «Питательная среда для выделения синегнойной палочки сухая (ЦПХ агар)» заявленным в ТУ 20.59.52-325-78095326-2020 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования в течение всего срока годности и при соблюдении условий хранения и транспортирования и применения.

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия «Питательная среда для выделения синегнойной палочки сухая (ЦПХ агар)», получения консультации и поддержки обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., г.о. Серпухов, лп. Оболенск, территория «Квартал А», д. 24, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора
по научно-производственной работе

А.П. Шепелин

«Согласовано»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДИЦЕНТР»

Варнавичук П.К.
«15» 2021 г.



ПРОШУ
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

2016 год

Ген. директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.