

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований

«Питательная среда для культивирования и выделения

туляремийного микроба, сухая» («FT-агар»)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«FT-агар» предназначен для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью выделения возбудителя туляремии из клинического материала и объектов внешней среды при диагностике инфекционных заболеваний «in vitro», а также для культивирования туляремийного микроба для научных работ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

«FT-агар» состоит из основы - сухого рыбно-солевого агара (далее - РСА), сухой глюкозо-витаминной добавки (далее - ГВД) и селективной добавки (далее - СД).

Основа расфасована по 250 г в полиэтиленовые банки, глюкозо-витаминная и селективная добавки расфасованы в стеклянные флаконы.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает питательные потребности для роста туляремийного микроба и ингибиции отдельных видов микроорганизмов.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Состав РСА, г/л:

Сернокислотный гидролизат рыбной муки марки ФКС по ТУ 9385-069-78095326-2007	17,0
Стимулятор роста гемофильных микроорганизмов по ТУ 9385-016-78095326-2007	5,0
Дрожжевой экстракт (Yeast Extract, Sanofi Diagnostics Pasteur, кат. № 64343, Франция) или другой фирмы	2,3
Магний сернокислый 7-водный по ГОСТ 4523-77	0,5
Натрий сернистокислый по ГОСТ 195-77	0,7
Цистеин по ФС 42-1048-86 или импортный	0,5
Агар микробиологический по ГОСТ 17206-96 или импортный	10,0±2,0

Состав ГВД, г/л:

Д-глюкоза по ГОСТ 6038-79 или глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975-88	6,0
Тиамин хлорид по ФС 42-2412-85.....	0,008
Кальция пантотенат по ВФС 42-2530-88.....	0,008

Состав СД, г/л:

кефзол или цефалексин по ВФС 42-1030-80.....	0,02
амфотерицин В по ФС 42-1373-89 или	0,01
амфоглюкамин по ФС 42-1628-89.....	0,07

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

«FT-агар» обеспечивает рост тест-штаммов *Francisella tularensis* 503, *Francisella tularensis* A. Cole, *Francisella tularensis* 120, *Francisella tularensis* 15 НИИГ при посеве по 0,1 мл взвеси каждого тест-штамма из разведения 10^{-7} (100 м.к/мл) через 72 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С в виде единичных беловато-серых блестящих колоний диаметром не менее 1,0 мм. Наличие атипичных колоний не допускается.

Показатель ингибиции. «FT-агар» полностью подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 F-51, *Proteus vulgaris* XI9M 3137, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 F-49, *Bacillus cereus* ATCC 10702 при посеве 0,1 мл взвеси из разведения 10^{-4} ($1\cdot 10^5$ м.к/мл).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.).

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37 ± 1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной микробиологии, научные исследования.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследования образцов проводятся по соответствующим Методическим указаниям и ГОСТам.

7.1. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление раствора РСА

РСА в количестве, указанном на этикетке, для приготовления конкретной серии питательной среды, растворяют в 970 мл дистиллированной воды и стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин, затем охлаждают до температуры 50-45 °С.

Приготовление раствора ГВД

6,02 г ГВД, растворяют в 20 мл дистиллированной воды и стерилизуют при температуре 110 °С в автоклаве в течение 30 мин.

Приготовление раствора СД.

СД растворяют в 10 мл дистиллированной воды.

Приготовление готовой питательной среды

В колбу с охлажденным до температуры 50-45 °С раствором РСА асептически вносят раствор ГВД, перемешивают, затем вносят раствор СД, все тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри. (Допускается селективную добавку не вносить при приготовлении среды для культивирования микроба).

Готовую питательную среду можно использовать в течение 5 суток при температуре хранения (8±2) °С.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально в соответствии с "Методическими рекомендациями к контролю питательных сред по биологическим показателям" (М.: 1980), при условии выращивания на среде единичных колоний туляремийного микроба, блестящих, прозрачных в проходящем свете, диаметром не менее 1,0 мм. Для изучения морфологии клеток готовят препараты фиксированных клеток, окрашенных по Граму. Бактерии, рассматриваемые под микроскопом, должны представлять собой грамотрицательные, кокковидные клетки. Выросшие культуры тест-штаммов должны агглютинироваться туляремийной сывороткой в разведении не ниже 1/2 ее титра. Реакция агглютинации проводится на стекле.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

«FT-агар» необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года.

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

По вопросам, касающимся качества «FT-агара» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.