

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 ____ г. № _____

Директор ФБУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии,
д-р мед. наук, проф.
_____ И.А.Дятлов
« ____ » _____ 2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований
«Питательная среда для культивирования и выделения чумного микроба, сухая»
(ЧПС селективная)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для культивирования и выделения чумного микроба, сухая (ЧПС селективная) (далее – ЧПС селективная) предназначена для культивирования музейных и свежевыделенных штаммов чумного микроба и выделения возбудителя чумы из инфицированного материала.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

ЧПС селективная представляет собой мелкодисперсный порошок серовато-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

3. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав питательной среды, обеспечивает рост возбудителя чумы и подавление роста микробов-контаминантов.

4. СОСТАВ, г/л:

панкреатический гидролизат казеина (ПГК).....	15,0
экстракт пекарных дрожжей.....	3,0
натрий хлористый.....	3,0
натрий сернистокислый.....	1,0
натрий фосфорнокислый двузамещенный.....	1,0
железо (II) сернокислое.....	0,01

аммоний молибденовокислый 4-х водный.....	0,6
стимулятор роста гемофильных микроорганизмов.....	1,0
кристаллический фиолетовый.....	0,003
иргазан.....	0,002
агар микробиологический	(17,0±2,0) *)

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда должна обеспечивать на всех засеянных чашках Петри рост тест-штаммов *Yersinia pestis EV* и *Yersinia pestis И-2377* при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого штамма из разведения 10^{-7} (10 м.к.) и подавление роста тест-штаммов *Bacillus cereus NCTC 8035*, *Staphylococcus aureus Wood-46*, *Candida albicans 885-653*, *Escherichia coli 3912/ 41 (055:K59)* при посеве по 0,1 мл микробной взвеси каждого штамма из разведения 10^{-4} через (48 ± 2) ч инкубации при температуре $(29 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Через 18-20 ч рост тест-штаммов наблюдается в виде плоских фестончатых колоний в форме "платочков" и колоний с кружевной периферией, через 48 ч - колоний диаметром до 1,0 мм с темным шероховатым центром с маленькой кружевной зоной или без нее.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Использовать только для диагностики *in vitro*.
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдение Санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (М., 1981г.).
- Не использовать по истечении срока годности.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру $(29 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- Микроскоп;
- Чашки Петри;
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 2 и 10 мл;
- Вода дистиллированная, стерильная.

*) Варьирование величины связано с различной прочностью студня агара

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Клинический материал от больных людей с подозрением на чуму и контактных лиц, секционный и полевой материал.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследования образцов проводятся в соответствии с МУ 3.1.1098-02 «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории Российской Федерации».

9.1. Приготовление питательной среды.

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара, стерилизуют в автоклаве при температуре (110 ± 1) °С в течение 30 мин, охлаждают до температуры 45-55 °С, разливают в стерильные чашки Петри.

9.2. Готовая к применению питательная среда, разлитая в чашки Петри, плотная, прозрачная, серовато-синего цвета. Допускается наличие темных вкраплений.

9.3. Чашки с готовой средой можно использовать в течение 7-10 дней при условии хранения ее при температуре 2-8 °С.

9.5. Посев и инкубация

Инокулированные чашки инкубируют при температуре (29 ± 1) °С. Время инкубации зависит от целей исследования и составляет, как правило, 48-120 ч.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Посевы начинают просматривать через 18-20 ч, когда можно заметить рост молодой культуры чумного микроба в виде плоских фестончатых образований - "платочков" и колоний с кружевной периферией, из которых в дальнейшем формируются колонии с темным шероховатым центром с маленькой кружевной зоной или без нее. Наблюдение за посевами инфицированного материала ведут в течение 5 дней.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор реагентов «Питательная среда для культивирования и выделения чумного микроба, сухая (ЧПС селективная)» хранить в сухом защищенном от света месте.