

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
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 коклюшного микроба сухая»
(БОРДЕТЕЛАГАР)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для культивирования и выделения коклюшного микроба, сухая (Бордетелагар), далее по тексту – Бордетелагар предназначен для выделения коклюшного микроба из инфицированного материала от больных коклюшем и контактных лиц, а также для культивирования штаммов бордетелл.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Бордетелагар представляет собой мелкодисперсный порошок от темно-серого до черного цвета с белыми вкраплениями, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

3. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Совокупность компонентов, входящих в состав питательной среды, обеспечивает рост возбудителя коклюша.

4. СОСТАВ, г/л:

Солянокислотный гидролизат казеина	12,0
Стимулятор роста гемофильных микроорганизмов	1,0
Панкреатический гидролизат казеина	8,0
Дрожжевой экстракт.....	5,0

Натрий хлористый	1,0
Крахмал растворимый.....	2,0
Уголь активный	5,0
Натрий углекислый	0,5-0,7
Магний сернокислый 7-водный	0,4
Медь сернокислая 5-водная	0,005
Железо сернокислое 7-водное.....	0,01
Цистеина гидрохлорид	0,03
Кислота аскорбиновая	0,02
Агар микробиологический.....	12,0±2,0

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда должна обеспечивать рост тест-штаммов *Bordetella pertussis* 39, *Bordetella pertussis* 143, *Bordetella pertussis* 688, *Bordetella pertussis* 796 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения не ниже 10^{-6} через 70-72 ч инкубации при температуре $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ в виде изолированных выпуклых, гладких, круглых, блестящих серых колоний с ровными краями диаметром до 1,0 мм.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Использовать только для диагностики *in vitro*.
- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать требования Санитарно-эпидемиологических правил «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (СП 1.3.2322-08) и «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981г.).
- Не использовать по истечении срока годности.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Термостат, обеспечивающий температуру $(36\pm 1)^\circ\text{C}$;

Чашки Петри;

Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 2 и 10 мл;

Вода дистиллированная, стерильная.

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Клинический материал от больных коклюшем и контактных лиц. Питательную среду можно использовать также для посева и выделения чистых культур *B.pertussis*.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Исследования образцов проводятся в соответствии с "Инструкцией по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше" (М., 1983).

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 $(112 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 30 мин, охлаждают до температуры $45-55^\circ\text{C}$, разливают в стерильные чашки Петри слоем 5-6 мм, закрывают крышками и ставят для застывания при температуре $18-25^\circ\text{C}$. После застывания среду подсушивают при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 50-60 мин, соблюдая правила асептики.

9.2. Для придания Бордетелагару селективных свойств следует внести антибиотики согласно "Инструкции по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше" (М., 1983).

9.3. Готовая к применению питательная среда, разлитая в чашки Петри, непрозрачная, черного цвета. Допускается наличие темных вкраплений.

9.4. Чашки с готовой средой можно использовать в течение 7-10 дней при условии хранения ее при температуре $2-8^\circ\text{C}$.

9.5. Посев и инкубация

Инокулированные чашки инкубируют в неперевернутом положении (крышкой вверх) при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$. Время инкубации зависит от типа образца и целей исследования. Как правило, учет результатов проводится через 48-72 ч.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

По окончании инкубации следует оценить бактериальный рост. Коклюшный микроб растет на среде в виде изолированных, выпуклых, гладких, круглых, блестящих, серых колоний с ровными краями.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Бордетелагар 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 набора реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для культивирования и выделения коклюшного микроба, сухая (Бордетелагар)» в течение срока годности, следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», (4967) тел./факс 36-01-16.