

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 201 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФБУН
Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и
биотехнологии
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов для бактериологических исследований
«Питательная среда для выделения и культивирования возбудителя холеры
и других энтеропатогенных вибрионов сухая (TCBS-агар)»**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

TCBS-агар предназначен для выделения и культивирования возбудителя холеры и других энтеропатогенных вибрионов из клинического материала, а также из объектов внешней среды при проведении бактериологических исследований.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

TCBS-агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Высокие концентрации натрия цитрата, желчи, а также щелочность среды в значительной степени подавляют рост сопутствующей микрофлоры.

Дифференцирующие свойства среды основаны на изменении рН в кислую сторону при росте сахарозоферментирующих бактерий, которые образуют на среде колонии желтого цвета (комплекс индикаторов - бромтимоловый синий и тимоловый синий).

2.2. Состав

TCBS-агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Пептон мясной и/или панкреатический гидролизат	
рыбной муки	15,0
Дрожжевой экстракт.....	5,0
Желчь крупного рогатого скота очищенная сухая	7,0±1,5
Натрий сернистоокислый безводный	10,0
Натрий лимоннокислый 5,5 водный	10,0
Сахароза	20,0
Натрий хлористый	10,0
Железо (III) лимоннокислое	1,0
Бромтимоловый синий	0,04
Тимоловый синий	0,04
Натрий углекислый.....	2,0±0,5
Агар бактериологический	10,0±3,0

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда обеспечивает через 18-20 ч инкубации при температуре (37±1) °С рост холерных вибрионов и их четкую дифференциацию от протеев по морфологии и окраске колоний, а также подавляет рост эшерихий, шигелл и псевдомонад.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Чашки Петри
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Пробирки
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической и санитарной микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление TCBS-агара.

Перед приготовлением питательной среды содержимое банки тщательно перемешать. После взятия навески необходимо банку со средой закрыть герметично во избежание попадания влаги. Среда не требует автоклавирования!

TCBS-агар в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят при постоянном перемешивании в течение 3-4 мин на медленном огне до полного расплавления агара. Охлаждают до температуры 40-50 °С и разливают в чашки Петри, подсушивают на рабочем столе с открытыми крышками при температуре 18-25 °С.

Готовая среда в чашках прозрачная сине-зеленого цвета.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 7 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

Контроль питательной среды проводится по МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза».

7.2. Взятие, посев исследуемого материала производят в соответствии с МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры», МУК 4.2.1793-03 «Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых паразитическими и другими патогенными для человека вибрионами».

7.3. Исследуемый материал засевают соответственно на три чашки с проверяемой и контрольной средами, взвесь равномерно распределяют по поверхности питательной среды покачиванием чашки. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-20 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 18-20 ч инкубации, отмечая наличие роста холерных вибрионов в виде круглых, гладких колоний желтого цвета диаметром не менее 1,0 мм, в количестве не менее 30 % от расчетной посевной дозы 100 м.к., при наличии единичных колоний на чашках Петри с посевной дозой 10 м.к. Отмечают наличие дифференциации представителей рода вибрионов от протеев по морфологии и окраске колоний (вибрионы - круглые, блестящие, выпуклые, с ровными краями желтого цвета).

Отсутствует рост микробов-ассоциантов, или они вырастают отдельными колониями, не мешающими выделению вибрионов.

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

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

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

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит. После вскрытия банки с TCBS-агаром гарантируется соответствие требуемым параметрам при соблюдении условий хранения (влажность, температура, герметичность) до окончания срока годности.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Питательная среда для выделения и культивирования возбудителя холеры и других энтеропатогенных вибрионов сухая (TCBS-агар)» 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», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.