

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200 г. № \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению набора реагентов для бактериологических исследований  
«Питательный агар для культивирования и выделения  
возбудителя бруцеллёза сухой (Бруцеллагар)»**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов для бактериологических исследований «Питательный агар для культивирования и выделения возбудителя бруцеллёза сухой (Бруцеллагар)» предназначен для культивирования бруцелл и выделения их из клинического материала при бактериологическом исследовании.

### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

Набор реагентов состоит из одной банки с Бруцеллагаром и 12 флаконов с селективными добавками (СД 1 и СД 2).

Бруцеллагар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного гигроскопичного порошка светло-коричневого цвета.

СД 1: 6 флаконов с полимиксином В сульфат – мелкодисперсный порошок белого цвета.

СД 2: 6 флаконов с афотерицином В – пористая масса желтого цвета.

Бруцеллагар выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, СД 1 и СД 2 во флаконах по 0,005 г и 0,01 г соответственно.

#### **2.1. Принцип действия**

Совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста бруцелл и др. высокотребовательных микроорганизмов.

## 2.2. Состав набора

Бруцеллагар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки (ПГРМ) .....	7,5
Пептон мясной .....	7,5
Панкреатический гидролизат казеина (ПГК) .....	10,0
Стимулятор роста гемофильных микроорганизмов .....	5,0
Дрожжевой экстракт .....	3,0
Д-глюкоза .....	2,0
Натрий хлористый .....	3,5
Тиамин хлорид .....	0,005
meso-Erythritol .....	0,01
Натрий пироксернистокислый (натрия метабисульфит) .....	0,1
Агар микробиологический .....	10,0±3,0
СД 1, г/л:	
Полимиксина В сульфат .....	0,005
СД 2, г/л:	
Амфотерицин В .....	0,01

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Бруцеллагар обеспечивает рост бруцелл не позднее 72 ч инкубации при температуре (37±1)°С и подавляет рост эшерихий и грибов.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», 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±1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- 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 клинической микробиологии.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

7.1 Приготовление Бруцеллагара для культивирования бруцелл.

Препарат в количестве, указанном на этикетке, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 3 мин до полного расплавления агара и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

7.2 Приготовление Бруцеллагара с селективными добавками для выделения бруцелл.

Для приготовления 1 л среды с селективными добавками во флаконы с СД 1 и СД 2 наливают по 5 мл дистиллированной воды, вносят в стерильный, охлажденный до температуры 50-55 °С Бруцеллагар (п. 7.1), тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри.

Готовая питательная среда непрозрачная коричневого цвета с темно-коричневыми вкраплениями.

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

7.3. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с МУК 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза», МУ 3.1.7.1189-03 «Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей» и других нормативных документов.

7.4. Исследуемый материал вносят соответственно на две чашки Петри с Бруцеллагаром с СД и равномерно распределяют микробную взвесь покачиванием чашек по всей поверхности. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 72 ч.

## **8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Учет результатов проводят не позднее 72 ч инкубации визуально учитывая наличие и характер роста бруцелл - выпуклые, гладкие, бесцветные, мутноватые, круглые колонии диаметром 1,0-1,5 мм.

Отмечают отсутствие роста тест-штаммов *E.coli* и *S. albicans* на чашках Петри со средой Бруцеллагар и наличие роста на контрольных средах.

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

## **9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ**

Набор реагентов необходимо хранить в герметично закрытой упаковке при температуре от 2 до 30 °С. СД хранят при температуре 2-8 °С.

Срок годности набора реагентов: Бруцеллагара – 2 года, СД 1 и СД 2 – не менее срока годности среды. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит. После вскрытия банки с Бруцеллагаром 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 «Питательный агар для культивирования и выделения возбудителя бруцеллёза сухой (Бруцеллагар)» 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./факс (4967) 36-01-16.