

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 20 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и
биотехнологии, д.м.н.
_____ И.А. Дятлов
« ____ » _____ 20 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований «ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ СУХАЯ»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Питательная среда для выделения возбудителя сибирской язвы сухая» предназначен для выделения возбудителя сибирской язвы от больных людей, животных, от свежих и загнивших трупов, из материалов растительного и животного происхождения, а также из объектов внешней среды при проведении бактериологических исследований в клинической и санитарной микробиологии.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор реагентов состоит из одной банки с питательной средой и 6-и флаконов с селективной добавкой (СД).

Питательная среда представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета, который получают смешиванием сухих компонентов. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

СД представляет собой мелкодисперсный порошок белого цвета. Порошок гигроскопичен, светочувствителен.

Питательная среда выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г, СД во флаконах по 0,011 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает питательные потребности для роста возбудителя сибирской язвы при проведении бактериологических

исследований. Наличие селективной добавки подавляет рост сопутствующей микрофлоры.

2.2. Состав

Питательная среда, г/л:

Вариант 1.

Панкреатический гидролизат рыбной муки	30,0
Натрий хлористый	3,0
Триметоприм	0,025
Натрий углекислый.....	0,1-0,5
Агар микробиологический	10,0±3,0

Вариант 2.

Панкреатический гидролизат рыбной муки	15,0
Пептон сухой ферментативный	15,0
Натрий хлористый	4,5
Триметоприм	0,025
Натрий углекислый.....	0,1-0,5
Агар микробиологический	10,0±3,0

СД, г/л:

Полимиксина В сульфат	0,001
Крахмал кукурузный	0,01

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов обеспечивает рост возбудителей сибирской язвы через 18-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С и подавляет рост эшерихий и протеев.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пипетки стеклянные объемом 1 и 2 мл

- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической, санитарной микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление питательной среды с СД.

Препарат в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в емкости и стерилизуют автоклавированием при температуре 120 °С в течение 20 мин. Содержимое флакона с селективной добавкой растворяют в 5 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают и вносят в стерильную, охлажденную до температуры 45-50 °С питательную среду из расчета 5 мл на 1 л среды. Разливают в стерильные чашки Петри и после застывания подсушивают в течение (40±5) мин.

Готовая среда в чашках прозрачная желтого цвета.

Готовую среду, разлитую в чашки Петри, можно использовать в течение 14 суток при температуре хранения 2-8 °С.

7.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с «Инструкцией и методическими указаниями по лабораторной и клинической диагностике, профилактике и лечению сибирской язвы у людей», Минздрава СССР, 1980, МУК 4.2.29-06-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителей сибирской язвы», М. 2008, «Методические рекомендации по отбору проб почвы для бактериологических исследований на наличие возбудителей сибирской язвы и актиномицетов – антагонистов», М. 1984.

7.3. Исследуемый материал засевают соответственно на две чашки Петри с питательной средой и покачиванием чашки распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-24 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 18-24 ч инкубации посевов при температуре (37 ± 1) °С.

На питательной среде наблюдают характерный рост *Bacillus anthracis* – колонии в R-форме, матовые, полупрозрачные, с неровными краями, «локоны», диаметром не менее 2,0 мм.

Колонии близкородственных сапрофитов (*B. cereus*, *B. thuringiensis*) имеют типичный рост – шероховатые, с извитым краем или гладкие, блестящие с ровным краем.

Все выделенные культуры, имеющие типичную морфологию *Bacillus anthracis*, обязательно подвергают дальнейшему изучению биологических свойств, служащих критерием видовой идентификации, в соответствии с МУК 4.2.2413-08.

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 в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С. СД хранят при температуре (4 ± 2) °С.

Срок годности набора реагентов: питательной среды – 2 года, СД - не менее срока годности среды. Набор реагентов с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Питательная среда для выделения возбудителя сибирской язвы сухая» 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.