

УТВЕРЖДЕНА  
Приказом Росздравнадзора  
от \_\_\_\_\_ 20 г. № \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор ФГУН  
Государственный научный центр при-  
кладной микробиологии и  
биотехнологии  
\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению набора реагентов для бактериологических исследований**

### **«ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ВЫДЕЛЕНИЯ ТУЛЯРЕМИЙНОГО МИКРОБА, ГОТОВАЯ К ПРИМЕНЕНИЮ»**

#### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов «Питательная среда для культивирования и выделения туляре-  
мийного микроба», готовая к применению (далее – набор реагентов) предназначена для  
бактериологических исследований в клинической и санитарной микробиологии с целью  
культивирования и выделения туляремиийного микроба.

#### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА**

Набор реагентов состоит из Основы, глюкозо-витаминной добавки, селективной  
добавки и стерильной дистиллированной воды.

Основа представляет собой непрозрачный гель коричневого цвета, стерильный,  
разлитый по 250 мл в бутылки вместимостью 250 мл. Глюкозо-витаминная добавка  
(ГВД) - порошок белого цвета, стерильный, расфасован по 1,5 г во флаконы вместимо-  
стью 10 мл. Селективная добавка (СД) - порошок желтого цвета, стерильный, расфасо-  
ван по 0,075 г во флаконы вместимостью 10 мл.

Набор реагентов состоит из четырех флаконов: готовая стерильная Основа (далее  
Основа) – 1 флакон, стерильная глюкозо-витаминная добавка (далее ГВД) – 1 флакон, се-  
лективная добавка (далее СД) – 1 флакон, стерильная дистиллированная вода (далее ДВ) –  
1 флакон.

## 2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивает рост возбудителя туляремии и ингибирование микробов-ассоциантов за счет введения селективной добавки.

## 2.2. Состав

Состав Основы, г/л:

Сернокислотный гидролизат рыбной муки марки ФКС ...	17,0
Стимулятор роста гемофильных микроорганизмов .....	5,0
Дрожжевой экстракт .....	2,3
Магний сернокислый 7-водный .....	0,5
Натрий сернистокислый .....	0,7
Цистеин .....	0,5
Крахмал растворимый .....	1,0
Агар микробиологический .....	12,0±2,0

Состав ГВД, г/л:

Д-глюкоза или

глюкоза кристаллическая гидратная .....	6,0
Тиамин хлорид .....	0,008
Кальция пантотенат.....	0,008

Состав СД, г/л:

Цефазолин.....	0,02
амфотерицин В .....	0,01

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда, приготовленная в соответствии с настоящей инструкцией, обеспечивает рост туляремийного микроба через 60-96 ч инкубации при температуре (37±1)°С и подавляет рост микробов-сапрофитов.

## 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±1) °С;

- Водяная баня или автоклав, работающий в режиме "стерилизации текущим паром";
- Чашки Петри;
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 2 и 10 мл;
- Вода дистиллированная, стерильная.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты внешней среды, переносчики возбудителя туляремии (блохи, клещи и др.), клинический материал (органы животных).

Среду можно использовать также для пересева и выделения чистых культур *F. tularensis*.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление раствора ГВД.

Содержимое флакона с ГВД растворяют в 5,0 мл стерильной ДВ.

7.2. Приготовление раствора СД.

Содержимое флакона с СД растворяют в 1,0 мл стерильной ДВ.

7.3. Приготовление питательной среды.

Бутылку с Основой выдерживают в кипящей водяной бане до полного расплавления, охлаждают до температуры 50-45 °С.

В асептических условиях вводят стерильный раствор ГВД из расчета 5,0 мл на 250 мл основы (1 флакон ГВД на 1 бутылку Основы), осторожно перемешивают и разливают в стерильные чашки Петри слоем 4-5 мм. Для придания среде селективных свойств необходимо в среду добавить раствор селективной добавки из расчета 1,0 мл на 250 мл основы (1 флакон СД на 1 бутылку Основы).

Не использовать флаконы со следами контаминации.

После добавления ГВД и СД среду следует полностью разлить в чашки Петри (не плавить повторно!).

Чашки с готовой средой можно хранить при температуре 4-8 °С не более 7 сут.

7.4. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с методическими указаниями «Эпизоотологический мониторинг за природными очагами туляремии», приложение 2 к приказу Минздрава РФ от 14 апреля 1999 г. №125 «Об усилении мероприятий по профилактике туляремии», «Методические указания по лабораторным методам диагностики при эпизоотологическом обследовании природных очагов туляремии». М., 1983 и другими нормативными документами.

7.5. Перед посевом выдержите чашки со средой до достижения комнатной температуры. Посев производят на чашки Петри сразу после получения образцов. Инкубируют чашки в перевернутом положении (крышкой вниз) при температуре 37 °С. Время инкубации зависит от типа образца и целей исследования. Как правило, учет результатов проводится через 60-96 ч.

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

Учет результатов проводят в зависимости от типа образца и цели исследования, визуально учитывая наличие и характер роста.

Туляремийный микроб растет на среде в виде беловато-серых, блестящих, прозрачных в проходящем свете, колоний диаметром не менее 1,0 мм. В мазках, окрашенных по Граму, бактерии представляют собой грамотрицательные, кокковидные клетки.

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

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

Набор реагентов хранят в герметично закрытой упаковке в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 2- 30 °С не более 7 суток.

Срок годности набора реагентов: 1 год со дня изготовления.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Питательная среда для культивирования и выделения туляремийного микроба, готовая к применению» 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.