

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от 06.02.2003 № 543-р/п/з

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН
Государственный научный центр прикладной микробиологии и
биотехнологии



И.А. Дятлов

20/2 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

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

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Набор реагентов состоит из одной банки с Бруцеллагаром и 12 фляконов 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 фляконов с поливиниловым сульфатом — мелкодисперсный порошок белого цвета.

СД 2: 6 фляконов с афторицином В — пористая масса желтого цвета.

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

2.1. Принцип действия

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

- Вода дистилированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЫ

Объекты исследований в клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Приготовление Бруцеллагара для культивирования бруцеля.

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

7.2 Приготовление Бруцеллагара с селективными добавками для выделения бруцеля.

Для приготовления 1 л среды с селективными добавками во фляконы с СД 1 и СД 2 наливают по 5 мл дистилированной 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 включениями.

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 3.3.2.0124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, лептоспироза», 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 ранномерно распределяют микробную известь покашливанием 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 бруцеля - выпуклые, гладкие, бесцветные, мутно-матовые, крутые колонии диаметром 1,0-1,5 мм.

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

2.2. Состав набора

Бруцеллагар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:	
Панкреатический гидролизат раковой муки (ПГРМ)	7,5
Лептон мясной	7,5
Панкреатический гидролизат казеина (ПГК)	10,0
Стимулятор роста гемофильтральных микроорганизмов	5,0
Дрожжевой экстракт	3,0
Д-глюкоза	2,0
Натрий хлористый	3,5
Тиамина хлорид	0,005
meso-Erythritol	0,01
Натрий пироксернистокислый (натрия метабисульфит)	0,1
Агар микробиологический	10,043,0
СД 1, г/л:	
Полиоксикисина В сульфат	0,005
СД 2, г/л:	
Амфотерицин В	0,01

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Бруцеллагар обес печивает рост бруцеля не позднее 72 ч инкубации при температуре (37±1) °С и подавляет рост эпидермий 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 °C
- Всес 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

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 °C. СД хранят при температуре 2-8 °C.

Срок годности набора реагентов: Бруцеллагар – 2 года, СД 1 и СД 2 – не менее срока годности среды. Среда с истекшим сроком годности использования 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 бруцеллеза сухой (Бруцеллагар)» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Ободенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел./факс (4967) 36-01-16.

Зам. директора
по научно-производственной работе

А.П. Шепкин