

"УТВЕРЖДАЮ"

Главный государственный
санитарный врач
Российской ФедерацииГ.Г.Онищенко
"31" 2008 г.

№ 01-11/24-08

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
бактериофагов диагностических холерных
ТЭПВ-1, ТЭПВ-2, ТЭПВ-3, ТЭПВ-4, ТЭПВ-5, ТЭПВ-6, ТЭПВ-7,
раствор для диагностических целей**

Бактериофаги диагностические холерные ТЭПВ-1, ТЭПВ-2, ТЭПВ-3, ТЭПВ-4, ТЭПВ-5, ТЭПВ-6, ТЭПВ-7, раствор для диагностических целей, представляют собой стерильные фильтраты фаголизатов бульонных культур штаммов-продуцентов, содержащие взвесь частиц соответствующего ТЭПВ бактериофага, специфически активного в отношении *V. cholerae* не O1 гомологичного фаготипа.

Количество фаговых частиц ТЭПВ- 1, 2, 4, 5, 6, 7 – не менее 1×10^7 , для ТЭПВ-3 – не менее 1×10^6 фаговых частиц в 1 мл.

Прозрачные жидкости светло-желтого цвета.

НАЗНАЧЕНИЕ

Фаготипирование и фагодиагностика вибрионов неагглютинируемых холерной O1 сывороткой.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Пробу с бактериофагами ТЭПВ-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ставят методом по Грациа.

Культуру холерного вибриона не O1 выращивают в 1 % пептонной воде, бульоне Мартена или Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ в течение 3-4 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Затем бактериологической петлей рассевают на 2 чашки Петри с агаром Мартена или Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ для получения роста в виде изолированных колоний.

Взамен инструкции по применению, утвержденной 27.09.06 г.

Через 18-20 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 5-6 типичных колоний высевают в пробирку с 5 мл бульона Мартена или Хоттингера и инкубируют 3-4 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Если культура диссоциирует, то отбирают наиболее типичные колонии и высевают на 1 % пептонную воду, через 3-4 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ высевают на агар Мартена или Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ и инкубируют в течении 18-20 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. До получения типичных колоний проводят один - два пересева.

В чашки Петри разливают агар Мартена или Хоттингера и подсушивают от 20 до 40 мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

В пробирку с 4-5 мл 0,6 - 0,8% агара Мартена pH $7,6 \pm 0,1$, расплавленного и охлажденного до температуры $(47 \pm 1)^\circ\text{C}$, добавляют 0,3 мл 3-4 ч бульонной культуры испытуемого штамма холерного вибриона не O1 и после равномерного перемешивания выливают на подсушенную поверхность агара Мартена pH $7,6 \pm 0,1$ в чашку Петри. После застывания второго слоя агара, бактериологической петлей диаметром 2 мм или репликатором наносят по одной капле каждого бактериофага в цельном виде. После подсыхания капель чашки Петри переворачивают дном вверх и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-20 ч.

Учет результатов

За положительный результат считают любую степень лизиса на месте нанесения бактериофагов по условной четырехкрестовой шкале:

- 4 креста - сливной полный лизис культуры с прозрачным дном литического пятна;
- 3 креста - прозрачное пятно с единичными колониями вторичного роста или много изолированных пятен лизиса;
- 2 креста - полупрозрачное пятно лизиса или единичные изолированные пятна лизиса;
- 1 крест - слабозаметное пятно лизиса.

По схеме фаготипирования бактериофагам ТЭПВ – 1 - 7 соответствует семь фаготипов вибрионов *V. cholerae* не O1 (табл. №1).

Таблица 1

Схема фаготипирования вибрионов *V. cholerae* не O1

Фаго- типы вибри- онов	Типирующие бактериофаги						
	ТЭПВ-1	ТЭПВ-2	ТЭПВ-3	ТЭПВ-4	ТЭПВ-5	ТЭПВ-6	ТЭПВ-7
1	+	-	-	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-
4	-	-	-	+	-	-	-
5	-	-	-	-	+	-	-
6	-	-	-	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	+

Условные обозначения: «+» – положительные результаты, «-» - отрицательные результаты, полное отсутствие лизиса культуры вибрионов.

Если штамм лизируется двумя или несколькими бактериофагами ТЭПВ, то проводят дальнейшее определение его фаготипа, для этого бактериофаги разводят бульоном Мартена или Хоттингера рН $7,6 \pm 0,1$ путем последовательных десятикратных разведений от 10^{-1} до 10^{-4} и применяют по выше описанной методике. Штамм относят к тому фаготипу, с бактериофагом которого наблюдается лизис в наибольшей степени разведения. При одинаковой степени разведения учитывают полноту лизиса.

БЕЗОПАСНОСТЬ РАБОТЫ

Работу проводят в соответствии с Санитарными правилами СП 1.3.1285-03. "Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)".

ФОРМА ВЫПУСКА

По 2 мл в ампуле. По 1 ампуле каждого бактериофага в пачке из картона коробочного с инструкцией по применению и ножом ампульным.

СРОК ГОДНОСТИ

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности 2 года. После окончания срока годности препарат подлежит уничтожению.

Хранят и транспортируют в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание.

Рекламации на качество препарата следует направлять в ФГУН ГИСК им.Л.А.Тарасевича Роспотребнадзора 119002, Москва, пер.Сивцев Вражек, 41, тел. (495) 241-39-22, факс (495) 241-92-38 и в предприятие-изготовитель – ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб" 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. Тел. (8452) 26-21-31, факс (8452) 51-52-12

Директор
ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб"



Кутырев В.В.
" " " 2008 г.