

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г.

№ _____

" УТВЕРЖДАЮ"

Директор ФГУЗ

РосНИПЧИ «Микроб»

Роспотребнадзора

В.В.Кутырев

" _____ 2007 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению **фага дифференциально-диагностического (ДДФ) вида**
V.cholerae, лиофилизат для диагностических целей.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Ускоренная идентификация вирулентных микроорганизмов вида *V. cholerae*: *V. cholerae* O1 классического и эльтор биоваров, *V. cholerae* не O1, *V. albensis* и дифференциация их от микроорганизмов *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Commamonas*, *Pseudomonas* и *Escherichia*.

2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Фаг дифференциально-диагностический (ДДФ) вида *V. cholerae*, лиофилизат для диагностических целей, представляет собой стерильные фильтраты фаголизатов бульонных культур, содержащие взвесь частиц фагов XII, 182/154 (2), 78 и 92, взятых в равном соотношении по объему, специфически активных в отношении вирулентных микроорганизмов вида *V. cholerae*.

Препарат должен содержать не менее 1×10^7 фаговых частиц в 1 мл.

Стабилизатор: натрий глутаминовокислый 1-водный 2,5 %, пептон 5 % и желатин 0,75 %.

Аморфная масса светло-коричневого цвета. Растворенный препарат – прозрачная жидкость светло-желтого цвета, допускается легкая опалесценция.

3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказаний не зарегистрировано.

4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ

Пробу с фагом ставят методом агаровых слоев по Грациа.

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

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 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 рН $7,6 \pm 0,1$ и инкубируют 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 рН $7,6 \pm 0,1$ и подсушивают 1,5 часа при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ

Содержимое ампулы растворяют в 1 мл дистиллированной воды.

В пробирку с 5 мл 0,6-0,8 % агара Мартена или Хоттингера, расплавленного и остуженного до температуры $(47 \pm 1) ^\circ\text{C}$, добавляют 0,3 мл 3-4 ч бульонной культуры испытуемого штамма холерного вибриона, тщательно смешивают и быстро выливают на агаровую пластинку в чашку Петри. После застывания верхнего слоя агара, на его поверхность наносят бактериологической петлей диаметром 2 мм или тонко оттянутой пастеровской пипеткой одну каплю фага ДДФ в цельном виде. После

подсыхания каплей фага чашки переворачивают агаром вверх и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 14-18 ч.

Учет результатов.

Результаты учитывают предварительно через 4-5 ч, окончательно – через 14-18 ч. За положительный результат считают любую степень лизиса по условной четырехкрестовой шкале:

- 4 креста – сливной полный лизис культуры с прозрачным дном литического пятна;
- 3 креста – прозрачное пятно с колониями вторичного роста или много изолированных негативных колоний;
- 2 креста – полупрозрачное пятно или единичные колонии;
- 1 крест – слабо заметное пятно лизиса культуры.

На основании пробы с фагом ДДФ делают предварительное заключение о видовой принадлежности культуры, окончательное – на основании ее изучения по всем тестам, предусмотренным МУ 4.2.1097-02 "Лабораторная диагностика холеры" (Москва, 2002).

6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

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

По 1 мл в ампуле. По 10 ампул в пачке из картона коробочного с Инструкцией по применению и ножом ампульным.

Срок годности 3 года. Препарат с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Хранят и транспортируют в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 0 до 8°C .

Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

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

Зам. директора

по научной и производственной работе

ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб"

Роспотребнадзора



Никифоров А.К.

Директор ФГУН

ГИСК им. Л.А.Тарасевича

Роспотребнадзора

Медуницын Н.В.