

Федеральное бюджетное учреждение науки
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10
E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набора реагентов для визуального выявления
Ureaplasma urealyticum (УРЕАПЛАЗМА-50)
по ТУ 9398-005-01967164-2009
комплект № 2 (УРЕАПЛАЗМА-М)

Регистрационное
удостоверение
№ ФСР 2009/05984
от 16 августа 2011 г

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов УРЕАПЛАЗМА-50 (Комплект № 2) предназначен для одноэтапного визуального выявления *Ureaplasma urealyticum* (*U.u.*) в отделяемом из цервикального канала и влагалища, в семенной жидкости, в секрете предстательной железы, в отделяемом уретры и в центрифугате мочи.

Комплект № 2 рассчитан на проведение 96 анализов в лунках планшета.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В основе метода лежит использование селективной питательной среды для выявления *U.u.*, которая обеспечивает оптимальные условия для роста *U.u.* при подавлении роста других микоплазм, дрожжеподобных грибов и большинства представителей бактериальной флоры, потенциально содержащихся в исследуемом образце. Наличие в среде рН-индикатора позволяет проводить визуальную оценку результатов исследования по изменению цвета питательной среды в процессе культивирования.

СОСТАВ НАБОРА (Комплект № 2)

Питательная среда для выявления <i>U.u.</i> , лиофилизированная	.	.	.	1 фл.
96-луночный полимерный плоскостонный планшет	.	.	.	1 шт.
Пробирки для микропроб	.	.	.	10 шт.
Этикетки для маркировки пробирок	.	.	.	10 шт.
Масло вазелиновое	.	.	.	1 фл. (10 мл).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор УРЕАПЛАЗМА-50 (Комплект № 2) предназначен только для *in vitro* диагностики.

Входящие в компоненты набора вещества инактивированы и безопасны. Однако исследуемые клинические материалы, а также сточные растворы, оборудование и материалы, находящиеся с ними в контакте, представляют собой потенциально инфекционный материал, и обращаться с ними следует, соблюдая технику безопасности.

Следует избегать любого контакта компонентов набора со слизистыми оболочками.

При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Термостат, поддерживающий температуру 37±1 °С;
- дозаторы пипеточные;
- горелка газовая (спиртовка);
- вода дистиллированная;
- транспортная среда для урогенитальных микоплазм.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Приготовление жидкой питательной среды.

Во флакон с лиофилизированной питательной средой для выявления *U.u.* внести 10 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 мин). Полученный прозрачный раствор желтого цвета разлить по 1,0 мл в пробирки для микропроб, закрыть и хранить до применения при температуре 2-8 °С не более 7 сут или при температуре минус 7 °С и ниже не более 2 месяцев.

Перед проведением анализа пробирки со средой выдержать при комнатной температуре (18-25 °С) в течение

1 ч. Раствор в пробирках должен быть прозрачным, желтого цвета.

В случае помутнения раствора или изменения его цвета пробирки со средой в работе не использовать!

2. Приготовление проб для исследования.

Для выявления *U.u.* пригодны следующие биологические материалы: отделяемое влагалища, отделяемое шейки матки, отделяемое уретры, сперма, центрифугат мочи. Забор проб осуществлять с помощью ложки

Фолькмана или одноразового тампона (щетки)¹.

Исследуемые пробы внести в пробирки, содержащие 0,5 мл транспортной среды для урогенитальных микоплазм. Пробирки с пробами закрыть, промаркировать и доставить в лабораторию. Время транспортировки не должно превышать 8-12 ч при температуре 6-10 °С.

В зависимости от целей исследования, дальнейшее определение может быть проведено в варианте качественного или полуколичественного анализа.

3. Качественный анализ.

В зависимости от числа исследуемых проб удалить защитную пленку с необходимого количества лунок, плюс одна лунка для контроля питательной среды К(-), общая на данный день исследования.

Из пробирки, содержащей 1,0 мл питательной среды для выявления *U.u.*, внести 100 мкл в контрольную лунку К(-), в остальные лунки – по 90 мкл раствора. Затем в каждую лунку, кроме контрольной, добавить по 10 мкл раствора из пробирок с пробами в транспортной среде для урогенитальных микоплазм из расчета: одна лунка – одна проба. Каждое внесение проводить с помощью индивидуального наконечника для пипетки, тщательно перемешивая раствор в лунке пипетированием.

Во все лунки добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла. Планшет поместить в термостат при температуре 37±1 °С. Учет результатов проводить через 24 ч. Окончательный учет результатов проводить через 48 ч.

Положительным результатом «+» считается появление красной или красно-малиновой окраски среды в лунке с исследуемой пробой при сохранении желтой (исходной) окраски среды в контрольной лунке К(-). Отсутствие изменения окраски среды в исследуемой лунке с пробой по сравнению с окраской среды в контрольной лунке К(-) оценивается как отрицательный результат «-».

4. Полуколичественный анализ.

В зависимости от числа исследуемых проб удалить защитную пленку с необходимого количества лунок из расчета: три лунки (К(++); К(+); К(+)) – одна проба, плюс одна лунка для контроля питательной среды К(-), общая на данный день исследования.

Из пробирки, содержащей 1,0 мл питательной среды, внести 100 мкл раствора в контрольную лунку К(-), в остальные открытые лунки по 90 мкл.

Анализ для одной пробы. Из пробирки с пробой в транспортной среде для урогенитальных микоплазм внести 10 мкл раствора в лунку К(+++), тщательно перемешать пипетированием и перенести 10 мкл раствора из лунки К(+++) в следующую лунку К(++), (разведение в 10 раз) и перемешать пипетированием. Затем перенести 10 мкл раствора из лунки К(+++) в лунку К(+) (разведение в 100 раз) и перемешать пипетированием. Для каждой пробы внесение проводить с помощью индивидуального наконечника для пипетки.

Во все лунки, включая контрольную К(-), добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла. Планшет поместить в термостат при температуре 37±1 °С. Результаты анализов учитывать через 24 ч. Окончательный результат анализов проводить через 48 ч.

Появление красной или красно-малиновой окраски среды только в лунке К(+++) при отсутствии изменений в окраске в лунках К(++), К(+) и К(-) указывает на то, что титр *U.u.* составляет не более 10² колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл). Появление красной или красно-малиновой окраски среды в лунках К(+++) и К(+++) при отсутствии изменений в окраске в лунках К(+) и К(-) указывает на то, что титр *U.u.* составляет не более 10³ КОЕ/мл. Появление красной или красно-малиновой окраски среды в лунках К(+++), К(+++) и К(+) при отсутствии изменений в окраске в контрольной лунке К(-) указывает на то, что титр *U.u.* составляет не менее 10⁴ КОЕ/мл.

Отсутствие изменения окраски среды в трех лунках с пробой К(+++), К(+++) и К(+) по сравнению с окраской среды в контрольной пробирке К(-) оценивается как отрицательный результат «-».

Примечание: помутнение среды во время культивирования (при изменении или без изменения окраски в пробирках с исследуемыми пробами) свидетельствует о росте посторонней микрофлоры. Результаты исследования таких проб учету не подлежат и требуют повторного проведения анализа или дополнительного посева на плотную питательную среду для морфологической идентификации колоний *U.u.*

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор УРЕАПЛАЗМА-М (Комплект № 2) следует хранить при температуре 2-8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25 °С не более 2 недель. Срок годности набора – 12 месяцев.

Приготовленную питательную среду можно хранить при температуре 2-8 °С не более 1 недели или при температуре минус 7 °С и ниже не более 2 месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14.

Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 232-92-17.

E-mail: pasteur@pasteurorg.ru; www.pasteurorg.ru.

¹ Методические указания от 11.03.2003 г. «Обеспечение качества подготовки образцов биологических материалов для цитологических исследований» МЗ РФ, Москва, 2003 г.