

нескольких лунках N₁, N₂ и N₃ с положительными контролями K(+++), K(++) и K(+) при сохранении исходной желтой окраски среды в контрольной лунке N₄ с K(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе присутствует *U.u.*, т.е. результат является положительным.

Отсутствие изменений окраски среды (без помутнения) в лунках N₁, N₂ и N₃ с положительными контролями K(+++), K(++) и K(+) при сохранении исходной желтой окраски среды в контрольной лунке N₄ с K(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе отсутствует *U.u.*, т.е. результат является отрицательным.

Появление фиолетовой окраски среды (без помутнения) в одной или нескольких лунках N₅, N₆ и N₇ с положительными контролями K(+++), K(++) и K(+) при сохранении исходной зеленой окраски среды в контрольной лунке N₈ с K(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе присутствует *M.h.*, т.е. результат является положительным.

Отсутствие изменений окраски среды (без помутнения) в лунках N₅, N₆ и N₇ при сохранении исходной зеленой окраски среды в контрольной лунке N₈ с K(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе отсутствуют *M.h.*, т.е. результат является отрицательным.

Помутнение среды (при изменении или без изменения окраски) в какой-либо из лунок свидетельствует о росте посторонней микрофлоры. Результаты исследований таких проб учету не подлежат и требуют повторного проведения анализа или дополнительного посева образца на плотную питательную среду *U.u.* и (или) *M.h.*

2. Полуколичественная оценка титра.

Изменение окраски среды только в лунке N₁ (или N₅) с K(+++) при отсутствии изменений в окраске среды в лунках N₂, N₃ и N₄ (или N₆, N₇ и N₈) с K(++), K(+) и K(-) указывает на то, что титры соответствующих возбудителей составляют не более 10² колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл).

Изменение окраски среды только в лунках N₁, N₂ (или N₅, N₆) с K(+++) и K(++) при отсутствии изменений в окраске среды в лунке N₃ и N₄ (или N₇ и N₈) с K(+) и K(-) указывает на то, что титры соответствующих возбудителей составляют не более 10³ (КОЕ/мл).

Изменение окраски среды в лунках N₁, N₂, N₃ (или N₅, N₆, N₇) с K(+++), K(++) и K(+) при отсутствии изменения в окраске среды в лунке N₄ (или N₈) с K(-) указывает на то, что титры соответствующих возбудителей составляют не менее 10⁴ (КОЕ/мл).

Примечание. В исследуемой пробе могут одновременно обнаруживаться *U.u.* и *M.h.*, что свидетельствует о смешанной инфекции или носительстве.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор 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.

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 одновременного выявления

Ureaplasma urealyticum и *Mycoplasma hominis*

(УРЕА/МИКО-СКРИН-2)

по ТУ 9398-010-01967164-2009

Регистрационное
удостоверение
№ ФСР 2009/05987
от 16 августа 2011 г

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для одновременного выявления и идентификации двух видов урогенитальных микоплазм: *Ureaplasma urealyticum* (*U.u.*) и *Mycoplasma hominis* (*M.h.*).

Набор рассчитан на проведение 12 анализов, включая контроли.

ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунки стрипа, содержащего различные специфические реагенты, вносят селективную питательную среду, а затем раститрованную исследуемую пробу. При этом среда в 4 лунках, предназначенных для обнаружения, идентификации и полуколичественной оценки титра *U.u.*, окрашивается в желтый цвет, а среда в 4 лунках, предназначенных для обнаружения, идентификации и полуколичественной оценки титра *M.h.*, окрашивается в зеленый цвет. В процессе роста микоплазм образуются продукты метаболизма, которые приводят к изменению рН сред. Визуально это проявляется в изменении цветов рН-индикаторов и, соответственно, в различном изменении цвета сред. Цвет среды для *U.u.* меняется от желтого до красного или красно-малинового, для *M.h.* - от зеленого до фиолетового.

СОСТАВ НАБОРА

8-луночные стрипы с сорбированными субстратами	.	.	.	12 шт.
Питательная среда для выявления <i>M.h.</i> и <i>U.u.</i> , лиофилизированная	.	.	.	1 фл.
Транспортная среда для урогенитальных микоплазм, лиофилизированная	.	.	.	1 фл.
Пробирки для микропроб	.	.	.	24 шт.
Масло вазелиновое	.	.	.	1 фл. (10 мл).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор УРЕА/МИКО-СКРИН-2 предназначен только для *in vitro* диагностики.

Входящие в компоненты набора вещества инаktivированы 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 $37\pm 1^\circ\text{C}$;
- дозаторы пипеточные;
- горелка газовая (спиртовка);
- вода дистиллированная.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Приготовление жидкой питательной среды.

Во флакон с лиофилизированной питательной средой для выявления *M. h.* и *U. u.* внести 15 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 минуты). Полученный прозрачный раствор желтого цвета разлить в 12 пробирок по 1,2 мл. Пробирки закрыть, промаркировать и хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток или при температуре минус 7 °С и ниже не более 2 месяцев.

Перед проведением анализа пробирки со средой выдержать при температуре (18-25 °С) в течение 1 ч. Растворы в пробирках должны быть прозрачными, желтого цвета.

В случае помутнения раствора или образования видимых хлопьев и осадка пробирки со средой в работе не использовать!

2. Приготовление транспортной среды для урогенитальных микоплазм.

Во флакон с лиофилизированной транспортной средой для урогенитальных микоплазм внести 10 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 минуты). Полученный прозрачный раствор светло-желтого цвета разлить в 12 пробирок по 0,5 мл. Пробирки закрыть, промаркировать и хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток или при температуре минус 7°С и ниже не более 2 месяцев.

Перед проведением анализа пробирки со средой выдержать при температуре (18-25 °С) в течение 1 ч. Растворы в пробирках должны быть прозрачными, светло-желтого цвета.

В случае помутнения раствора или образования видимых хлопьев и осадка пробирки со средой в работе не использовать!

3. Приготовление проб для исследования.

Для обнаружения *M.h./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 не выше 6-10 °С.

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

4. Ход анализа.

Достать из пакета необходимое количество стрипов и установить их в рамку-держатель. Далее описана процедура для одного анализа (см. рис. 1).

Из пробирки, содержащей 1,2 мл питательной среды без пробы, внести по 90 мкл раствора во все лунки стрипа.

Затем из пробирки, содержащей транспортную среду с исследуемой пробой (0,5 мл), добавить 10 мкл в лунку N₁, тщательно перемешать пипетированием и перенести 10 мкл

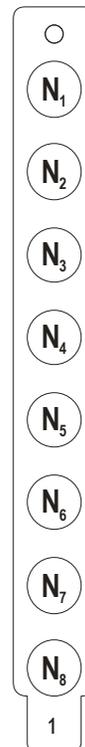
раствора из лунки N₁ в лунку N₂ (разведение в 10 раз) и перемешать пипетированием. Затем перенести 10 мкл раствора из лунки N₂ в лунку N₃ (разведение в 100 раз) и перемешать пипетированием.

Сменив наконечник пипетки, из той же пробирки с транспортной средой и исследуемой пробой внести 10 мкл раствора в лунку N₅, тщательно перемешать раствор пипетированием и перенести 10 мкл из лунки N₅ в лунку N₆ (разведение в 10 раз) и перемешать пипетированием. Затем перенести 10 мкл раствора из лунки N₆ в лунку N₇ (разведение в 100 раз) и перемешать пипетированием.

Во все лунки добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла.

Стрип в рамке-держателе поместить в термостат при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$.

Рис. 1. Схема расположения сред и проб в лунках стрипа.



Тест на *Ureaplasma urealyticum*

- Лунка N₁ - исходная проба с возбудителем K(+++);
- Лунка N₂ - 10-кратное разведение исходной пробы K(++);
- Лунка N₃ - 100-кратное разведение исходной пробы K(+);
- Лунка N₄ - контроль питательной среды (среда без пробы) K(-)

Тест на *Mycoplasma hominis*

- Лунка N₅ - исходная проба с возбудителем K(+++);
- Лунка N₆ - 10-кратное разведение исходной пробы K(++);
- Лунка N₇ - 100-кратное разведение исходной пробы K(+);
- Лунка N₈ - контроль питательной среды (среда без пробы) K(-)

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводить через 24 ч для *U.u.* (лунки N₁₋₄) и для *M.h.* (лунки N₅₋₈). Окончательный учет результатов проводить через 48 ч для *U.u.* (лунки N₁₋₄) и через 72 ч для *M.h.* (лунки N₅₋₈).

Изменение окрасок сред в лунках стрипа оцениваются визуально: при изменении цвета «+», при отсутствии изменения цвета «-».

1. Качественный анализ.

Появление красной или красно-малиновой окраски среды (без помутнения) в одной или

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