

2. Полуколичественный анализ.

Изменение окраски среды только в лунке с K(+++) при отсутствии изменений в окраске среды в лунках K(++), K(+) и K(-) указывает на то, что титр *U. u.* в исследуемой пробе составляет не более 10^2 колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл).

Изменение окраски среды в двух лунках K(+++) и K(++) при отсутствии изменений в окраске среды в лунках K(+) и K(-) указывает на то, что титр *U. u.* в исследуемой пробе составляет не более 10^3 КОЕ/мл.

Изменение окраски среды в трех лунках K(+++), K(++) и K(+) при отсутствии изменения в окраске среды в лунке K(-) указывает на то, что титр *U. u.* в исследуемой пробе составляет не менее 10^4 КОЕ/мл.

3. Определение антибиотикочувствительности.

При изменении цвета среды «+» в лунках с антибиотиками штамм *U. u.* расценивается как резистентный (R). При отсутствии изменения цвета среды «-» - как чувствительный (S).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор УРЕАПЛАЗМА-АЧ-12 (Комплект № 3) 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 мес.

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 мес.

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

По вопросам, касающимся качества набора УРЕАПЛАЗМА-АЧ-12 (Комплект № 3), следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера по адресу:

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, тел./факс: (812) 233-17-03, 313-69-89, телефон (812) 325-27-10, 313-69-88.

<http://www.dntpasteur.ru>; e-mail: pasteurdnt@ya.ru



ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Отдел Новых Технологий

"УРЕАПЛАЗМА-АЧ-12"

инструкция по применению
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
Ureaplasma urealyticum
(Комплект № 3)

Регистрационное
удостоверение
№ ФСР 2009/05986
от 16 августа 2011 г

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов УРЕАПЛАЗМА-АЧ-12 (Комплект № 3) предназначен для одноэтапного обнаружения, идентификации, полуколичественной оценки титра и определения чувствительности *Ureaplasma urealyticum* (*U. u.*) к 12 антибиотикам (доксикалин, тетрацилин, эритромицин, кларитромицин, рокситромицин, азитромицин, джозамицин, мидекамицин, офлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин, левофлоксацин), наиболее часто назначаемым при лечении урогенитальных микоплазмозов. Все антибиотики представлены в концентрациях, позволяющих оценить исследуемые штаммы *U. u.* как чувствительные или резистентные.

Примечание: Питательная среда для выявления *U. u.* является родоспецифичной, поэтому на ней растут оба вида уреаплазм.

Комплект № 3 рассчитан на проведение 12 анализов, включая контроли.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Питательная среда для выявления *U. u.* обеспечивает оптимальные условия для роста *U. u.* Селективные компоненты, входящие в состав среды, подавляют рост простейших, грибов, большинства представителей бактериальной флоры и других микоплазм, кроме *U. u.* В процессе роста *U. u.* в среде образуются щелочные продукты метаболизма, что проявляется в изменении цвета рН-индикатора от желтого до красного или красно-малинового. Это позволяет проводить обнаружение, идентификацию и полуколичественную оценку титра *U. u.* по изменению цвета среды в тех лунках стрипов, на поверхности которых не сорбированы антибиотики.

СОСТАВ НАБОРА (Комплект № 3)

16-луночные стрипы с сорбированными антибиотиками	.	.	12 шт.
Питательная среда для выявления <i>U. u.</i> , лиофилизированная	.	.	1 фл.
Масло вазелиновое	.	.	1 фл. (20 мл).
Пробирки для микропроб	.	.	15 шт.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор УРЕАПЛАЗМА-АЧ-12 (Комплект № 3) 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 «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

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

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Приготовление пробирок с жидкой питательной средой.

Во флакон с лиофилизированной питательной средой для выявления *U. u.* внести 25 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 мин). Полученный прозрачный раствор желтого цвета разлить по 1,5 мл в пробирки для микропроб (12 пробирок для приготовления инокулятов и 3 пробирки для контролей) и хранить при температуре 2-8 °С не более 7 сут или при температуре минус 7 °С и ниже не более 2 мес.

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 инокулята.

Инокулят готовят добавлением в пробирки с жидкой питательной средой для выявления *U. u.* следующих объемов исследуемой пробы:

- для биопробы¹ (отделяемое влагалища, отделяемое шейки матки, отделяемое уретры, сперма, центрифугат мочи), которая вносится с помощью ложки Фолькмана или одноразового тампона (щетки) в пробирку, содержащую 0,5 мл транспортной среды для урогенитальных микоплазм – 150 мкл;

- для пробы, оцененной как положительная по результатам анализа на жидких питательных средах – 150 мкл. **Внимание!** Пересев проводят в момент изменения окраски сред или не позднее 2 ч после изменения окраски. В противном случае жизнеспособность *U. u.* будет сильно снижена из-за изменения рН среды;

- для пробы, оцененной как положительная по результатам анализа на плотной питательной среде – несколько колоний.

3. Проведение теста.

Ниже описана процедура для одного анализа (см. рис. 1).

Извлечь стрип из коробки, удалить защитную пленку, оставить её приклеенной к концу стрипа для последующего заклеивания лунок. В лунки стрипа (с отрицательным К(-) и положительными К(+) и К(++) контролями) внести по 90 мкл питательной среды для выявления *U. u.* (без пробы)². Во все остальные лунки стрипа (с антибиотиками и К(+++)) внести по 100 мкл приготовленного инокулята, который перед внесением перемешать встряхиванием. Из лунки с К(+++) перенести 10 мкл инокулята в лунку с К(++) и перемешать

пипетированием. Затем из лунки К(+++) перенести 10 мкл инокулята в лунку с К(+) и перемешать пипетированием.

Во все лунки стрипа добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла, заклеить лунки защитной пленкой. Затем поместить стрип в термостат при температуре 37±1 °С на 24-48 ч.

Рис. 1. Схема расположения антибиотиков и контролей в лунках стрипа.



Колонка № 1:

ДОК - доксициклин
ЭРИ - эритромицин
РОК - рокситромицин
ДЖМ - джозамицин
ОФ - офлоксацин
МОК - моксифлоксацин

Колонка № 2:

ТЕТ - тетрациклин
КТМ - кларитромицин
АЗМ - азитромицин
МДМ - мидекамицин
СПФ - спарфлоксацин
ЛВФ - левофлоксацин

К(+++) - положительный контроль (исходная проба с возбудителем)

К(++) - положительный контроль (10-кратное разведение исходной пробы)

К(+) - положительный контроль (100-кратное разведение исходной пробы)

К(-) - отрицательный контроль (среда без пробы)

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для определения чувствительности штаммов *U. u.* к антибиотикам учет результатов проводить через 24 ч. Окончательный учет результатов проводить через 48 ч.

Изменения цвета среды в лунках стрипа оцениваются визуально: при изменении цвета «+», при отсутствии изменения цвета «-».

1. Качественный анализ.

Изменение окраски среды (без помутнения) в одной или нескольких лунках с положительными контролями К(+++), К(++) и К(+) при сохранении исходной желтой окраски среды в лунке К(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе присутствует *U. u.*, т.е. результат является положительным.

Отсутствие изменений окраски среды (без помутнения) в лунках с положительными контролями К(+++), К(++) и К(+) по сравнению с окраской среды в лунке К(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе отсутствует *U. u.*, т.е. результат является отрицательным.

Помутнение среды в любой из контрольных лунок свидетельствует о росте посторонней микрофлоры. В этом случае результаты учету не подлежат. Требуется повторное проведение анализа.

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

² **Внимание!** Пробирку с оставшейся питательной средой хранить при температуре 2-8 °С не более 7 сут или при температуре минус 7 °С и ниже не более 2 мес.