

## 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 *M.h.* 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 *M.h.* 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 *M.h.* в исследуемой пробе составляет не менее  $10^4$  КОЕ/мл.

## 3. Определение антибиотикоустойчивости.

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

### 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](mailto:pasteur@pasteurorg.ru); [www.pasteurorg.ru](http://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](mailto:pasteur@pasteurorg.ru); [www.pasteurorg.ru](http://www.pasteurorg.ru)  
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набора реагентов для определения антибиотикоустойчивости

*Mycoplasma hominis* (МИКОПЛАЗМА-АЧ) Комплект № 3

**(МИКОПЛАЗМА-АЧ-12)**

по ТУ 9398-008-01967164-2009

Регистрационное  
удостоверение  
№ ФСР 2009/05985  
от 16 августа 2011 г

### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для одноэтапного обнаружения, идентификации, полуколичественной оценки титра и определения чувствительности *Mycoplasma hominis* (*M.h.*) к 12 антибиотикам (доксциклин, тетрациклин, джозамицин, мидекамицин, офлоксацин, ципрофлоксацин, пефлоксацин, спарфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, линкомицин, клиндамицин), наиболее часто назначаемым при лечении урогенитальных микоплазмозов. Все антибиотики представлены в концентрациях, позволяющих оценить исследуемые штаммы *M.h.* как чувствительные или резистентные.

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

### ПРИНЦИП МЕТОДА

Питательная среда для выявления *M.h.* обеспечивает оптимальные условия для роста *M.h.* Селективные компоненты, входящие в состав среды, подавляют рост простейших, грибов, большинства представителей бактериальной флоры и других микоплазм, кроме *M.h.* В процессе роста *M.h.* в среде образуются щелочные продукты метаболизма, что проявляется в изменении цвета рН-индикатора от зелёного до фиолетового. Это позволяет проводить обнаружение, идентификацию и полуколичественную оценку титра *M.h.* 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>M.h.</i> , лиофилизированная	.	.	1 фл.
Масло вазелиновое	.	.	1 фл. (20 мл).
Пробирки для микропроб	.	.	15 шт.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор 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;
- транспортная среда для урогенитальных микоплазм.

## ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 1. Приготовление пробирок с жидкой питательной средой.

Во флакон с лиофилизированной питательной средой для выявления *M.h.* внести 25 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 мин). Полученный прозрачный раствор зеленого цвета разлить по 1,5 мл в пробирки для микропроб (12 пробирок для приготовления инокулятов и 3 пробирки для контролей) и хранить при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  не более 7 суток или при температуре минус  $7^\circ\text{C}$  и ниже не более 2 месяцев.

Перед проведением анализа пробирки со средой выдержать при комнатной температуре ( $18-25^\circ\text{C}$ ) в течение 1 ч. Раствор в пробирках должен быть прозрачным, зеленого 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 *M.h.* следующих объемов исследуемой пробы:

- для биопробы<sup>1</sup> (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;
- 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).

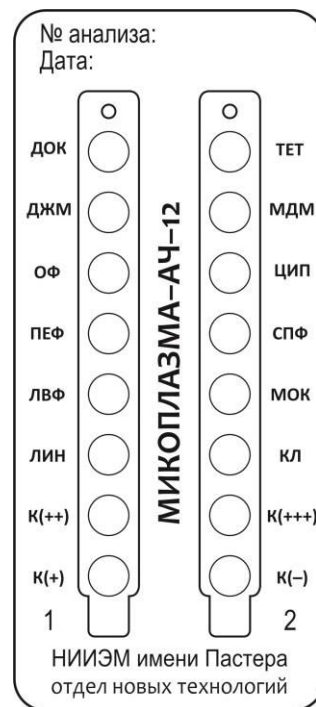
Извлечь стрип из коробки и из индивидуального пакета. В лунки стрипа (с отрицательным К(-) и положительными К(+) и К(++) контролями) внести по 90 мкл питательной среды для выявления *M.h.* (без пробы)<sup>2</sup>. Во все остальные лунки стрипа (с антибиотиками и К(+++)) внести по 100 мкл приготовленного 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 и поместить стрип в индивидуальный пакет, закрыв на молнию. Затем поместить стрип в пакете в термостат при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  на 24-72 ч.

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

<sup>2</sup> **Внимание!** Пробирку с оставшейся питательной средой хранить при температуре  $2-8^\circ\text{C}$  не более 7 сут или при температуре минус  $7^\circ\text{C}$  и ниже не более 2 мес.

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



### Колонка № 1:

ДОК - доксициклин  
ДЖМ - джозамицин  
ОФ - офлоксацин  
ПЕФ - пефлоксацин  
ЛВФ - левофлоксацин  
ЛИН - линкомицин

### Колонка № 2:

ТЕТ - тетрациклин  
МДМ - мидекамицин  
ЦИП - ципрофлоксацин  
СПФ - спарфлоксацин  
МОК - моксифлоксацин  
КЛ - клиндамицин

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 *M.h.* к антибиотикам учет результатов проводить через 24 ч. Окончательный учет результатов проводить через 72 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 зеленой окраски среды в лунке К(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе присутствует *M.h.*, 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 *M.h.*, 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.