

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-4 (Комплект № 1) 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-4 (Комплект № 1), 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-4"

инструкция по применению
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
Ureaplasma urealyticum
(Комплект № 1)

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов УРЕАПЛАЗМА-АЧ-4 (Комплект № 1) предназначен для одноэтапного обнаружения, идентификации, полуколичественной оценки титра и определения чувствительности *Ureaplasma urealyticum* (*U. u.*) к 4 антибиотикам (эритромицин, азитромицин, джозамицин, спирамицин), наиболее часто назначаемым при лечении урогенитальных микоплазмозов. Все антибиотики представлены в концентрациях, позволяющих оценить исследуемые штаммы *U. u.* как чувствительные или резистентные.

Комплект № 1 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 pH-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 № 1)

8-луночные стрипы с сорбированными антибиотиками	.	.	12 шт.
Питательная среда для выявления <i>U. u.</i> , лиофилизированная	.	.	1 фл.
Масло вазелиновое	.	.	1 фл. (10 мл).
Пробирки для микропроб	.	.	18 шт.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор УРЕАПЛАЗМА-АЧ-4 (Комплект № 1) 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 «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 $37\pm 1^\circ\text{C}$;
- 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 *U. u.* внести 10 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 мин). Полученный прозрачный раствор желтого цвета разлить по 0,54 мл в пробирки для микропроб (12 пробирок для приготовления инокулятов и 6 пробирок для контролей) и хранить при температуре 2-8 °C не более 7 сут или при температуре минус 7 °C и ниже не более 2 мес.

Перед проведением анализа пробирки со средой выдержать при комнатной температуре (18-25 °C) 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 – 60 мкл;
- для пробы, оцененной как положительная по результатам анализа на жидких питательных средах – 60 мкл²;
- для пробы, оцененной как положительная по результатам анализа на плотной питательной среде – несколько колоний.

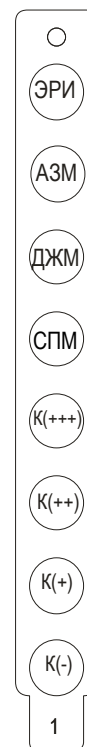
3. Проведение теста.

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

В три лунки стрипа (с отрицательным K(-) и положительными K(+), K(++) контролями) внести по 90 мкл питательной среды для выявления *U. u.* (без пробы)³. Во все остальные пять лунок стрипа (с антибиотиками и K(+++)) внести по 100 мкл приготовленного инокулята, который перед внесением перемешать встряхиванием. Из лунки с K(+++) перенести 10 мкл инокулята в лунку с K(++) и перемешать пипетированием. Затем из лунки с K(++) перенести 10 мкл инокулята в лунку с K(+) и перемешать пипетированием.

Во все лунки стрипа добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла и стрип поместить в термостат при температуре $37\pm 1^\circ\text{C}$ на 24-48 ч.

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



Сорбированные антибиотики:

ЭРИ - эритромицин

АЗМ - азитромицин

ДЖМ - джозамицин

СПМ - спирамицин

K(+++) – положительный контроль (исходная проба с возбудителем);

K(++) – положительный контроль (10-кратное разведение исходной пробы)

K(+) – положительный контроль (100-кратное разведение исходной пробы)

K(-) – 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 K(+++), K(++) и K(+) при сохранении исходной желтой окраски среды в лунке K(-) 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 K(+++), K(++) и K(+) по сравнению с окраской среды в лунке K(-) 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!** 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 pH среды.

³ **Внимание!** Пробирку с оставшейся питательной средой хранить при температуре 2-8 °C не более 7 сут или при температуре минус 7 °C и ниже не более 2 мес.