

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 антибиотикочувствительности.

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 реагентов для определения антибиотикочувствительности *Mycoplasma hominis* (МИКОПЛАЗМА-АЧ) Комплект № 1 (МИКОПЛАЗМА-АЧ-4) 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 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 определения антибиотикочувствительности

Mycoplasma hominis (МИКОПЛАЗМА-АЧ) Комплект № 1

(МИКОПЛАЗМА-АЧ-4)

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 4 антибиотикам (эритромицин, азитромицин, джозамицин, спирамицин), наиболее часто назначаемым при лечении урогенитальных микоплазмозов. Все антибиотики представлены в концентрациях, позволяющих оценить исследуемые штаммы *M.h.* как чувствительные или резистентные.

Комплект № 1 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 № 1)

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Набор 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°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 10 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения (в течение 1 мин). Полученный прозрачный раствор зеленого 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 °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 комнатной температуре (18-25 °С) 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.

Инокуляты готовят добавлением в пробирки с жидкой питательной средой для выявления *M.h.* 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 мкл;
- для пробы, оцененной как положительная по результатам анализа на плотной питательной среде – несколько колоний.

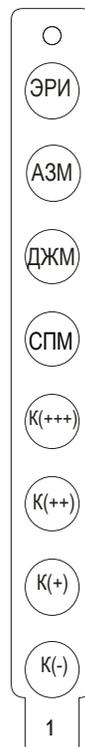
3. Проведение теста.

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

В три лунки стрипа (с отрицательным К(-) и положительными К(+), К(++) контролями) внести по 90 мкл питательной среды для выявления *M.h.* (без пробы)². Во все остальные пять лунок 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 с 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, затем стрип поместить в термостат при температуре 37±1 °С на 24-72 ч.

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



Сорбированные антибиотики:

ЭРИ - эритромицин

АЗМ - азитромицин

ДЖМ - джозамицин

СПМ - спирамицин

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.

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.