

Появление фиолетовой окраски среды (без помутнения) в одной или нескольких лунках N₅, N₆ и N₇ при сохранении исходной зеленой окраски среды в контрольной лунке N₈ с К(-) 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 К(-) 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.

8.2. Полуколичественная оценка титра.

Изменение окраски среды только в лунке N₁ (или N₅) при отсутствии изменений в окраске среды в лунках N₂, N₃ и N₄ (или N₆, N₇ и N₈) 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) при отсутствии изменений в окраске среды в лунке N₃ и N₄ (или N₇ и N₈) 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) при отсутствии изменения в окраске среды в лунке N₄ (или N₈) 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.*

8.3. Определение антибиотикоустойчивости.

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

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

Примечание. Результаты визуального учета анализов рекомендуется хранить в виде фотоматериалов в базе данных лаборатории.

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация отходов после использования набора реагентов осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 («Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор УРЕА/МИКО-СКРИН-АЧ следует хранить при температуре 2-8⁰С в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до 25⁰С не более 2 недель.

Срок годности набора – 12 месяцев.

Приготовленные питательную и транспортную среды можно хранить при температуре 2-8⁰С не более 1 недели или при температуре не выше минус 18⁰С 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 и определения
антибиотикоустойчивости

Ureaplasma urealyticum и *Mycoplasma hominis*

(УРЕА/МИКО-СКРИН-АЧ)

по ТУ 9398-018-01967164-2014

Регистрационное
удостоверение
№ РЗН 2016/3747
от 15 апреля 2016 г

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для одновременного выявления и определения антибиотикоустойчивости *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* (УРЕА/МИКО-СКРИН-АЧ) предназначен для одновременного выявления и полуколичественной оценки титра на основе культурального метода двух видов уrogenитальных микоплазм *Ureaplasma urealyticum* (*U.u.*) и *Mycoplasma hominis* (*M.h.*), а также определения их антибиотикоустойчивости.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

В лунки первого стрипа, содержащего различные специфические реагенты, вносят селективную питательную среду, а затем раститрованную исследуемую пробу. При этом среда в лунках, предназначенных для обнаружения, идентификации и полуколичественной оценки титра *U.u.*, окрашивается в желтый цвет, а среда в 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 цвета сред. Цвет среды для *U.u.* меняется от желтого до красного или красно-малинового, для *M.h.* - от зеленого до фиолетового.

В лунках других двух стрипов сорбированы антибиотики. После внесения в эти лунки инокулята сорбированные антибиотики растворяются. В тех лунках, где антибиотики подавляют рост уrogenитальных микоплазм, изменение цвета среды не происходит и штамм считается чувствительным к данным антибиотикам. В тех лунках, где антибиотики не подавляют рост уrogenитальных микоплазм, происходит изменение цвета среды и штамм считается резистентным к данным антибиотикам.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

8-луночные стрипы с сорбированными субстратами.....	12 шт.
8-луночные стрипы с сорбированными субстратами и антибиотиками.....	24 шт.
Питательная среда для выявления <i>M.h.</i> и <i>U.u.</i> , лиофилизированная.....	2 фл.
Транспортная среда для уrogenитальных микоплазм, лиофилизированная.....	1 фл.
Принадлежности:	
Пробирки типа Эппендорф, 1,5 мл.....	48 шт.
Масло вазелиновое с крышкой-капельницей, 20 мл.....	1 фл.
Этикетки для маркировки пробирок типа Эппендорф.....	12 шт.
Набор рассчитан на проведение 12 анализов, включая контроли.	

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для выявления *M.h.* и *U.u.* культуральный метод является «золотым стандартом» диагностики. При работе с чистыми культурами набор обеспечивает выявление *M.h.* и *U.u.* в концентрации 10² КОЕ/мл и выше, диагностически значимым является содержание возбудителя 10⁴ КОЕ/мл.

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор УРЕА/МИКО-СКРИН-АЧ предназначен только для *in vitro* диагностики. Входящие в компоненты набора вещества инактивированы и безопасны. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

5. ДОПЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, поддерживающий температуру 37 ± 1 °С;
- дозаторы пипеточные с объемом 5-50 мкл, 50-200 мкл, 100-1000 мкл;
- горелка газовая (спиртовка);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для обнаружения *M.h./U.u.* пригодны следующие биологические материалы: отделяемое влагалища, отделяемое шейки матки, отделяемое уретры, сперма, моча.

Отобранные образцы биоматериала для исследования в пробирках с 0,5 мл транспортной среды для урогенитальных микоплазм (см пункт 7.2.) доставить в лабораторию. Доставка должна быть осуществлена при температуре 6-10 °С в течение не более 12 ч от момента взятия материала.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление жидкой питательной среды.

Во флаконы с лиофилизированной питательной средой для выявления *M.h.* и *U.u.* внести по 15 мл дистиллированной воды. Содержимое флаконов перемешать до полного растворения (в течение 1 минуты). Полученный прозрачный раствор желтого цвета разлить по 0,85 мл в промаркированные пробирки (12 пробирок для приготовления инокулятов на антибиотикочувствительность *M.h.* и 12 пробирок для приготовления инокулятов на антибиотикочувствительность *U.u.*) и по 0,8 мл в 12 промаркированных пробирок (для контролей). Пробирки закрыть и хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток или при температуре не выше минус 18 °С 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!

7.2. 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 мин). Полученный прозрачный раствор светло-желтого цвета разлить в 12 промаркированных пробирок по 0,5 мл. Пробирки закрыть и хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток или при температуре не выше минус 18 °С 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!

7.3. Проведение теста.

Выделение урогенитальных микоплазм.

Использовать стрип без полосок (рис.1). Из пробирки, содержащей 0,8 мл питательной среды без пробы, внести по 90 мкл раствора во все лунки стрипа (8 шт.).

Затем из пробирки, содержащей исследуемую пробу в транспортной среде, добавить 10 мкл в лунку N₁, тщательно пропипетировать, перенести 10 мкл раствора из лунки N₁ в лунку N₂ (разведение в 10 раз) и пропипетировать. Затем перенести 10 мкл раствора из лунки N₂ в лунку N₃ (разведение в 100 раз) и пропипетировать.

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

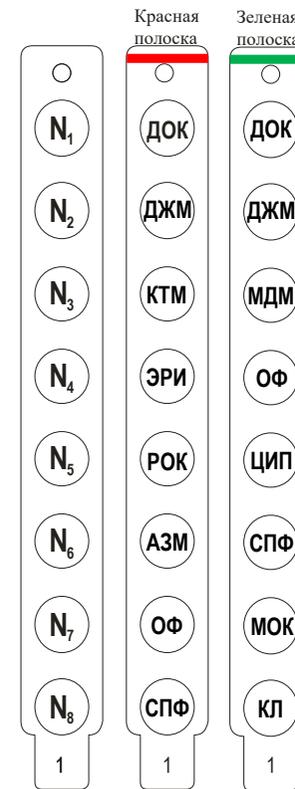
Во все лунки добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла. Открытый стрип поместить в термостат при температуре 37 ± 1 °С на 72 ч.

Определение антибиотикочувствительности.

Готовят два инокулята добавлением по 85 мкл раствора из пробирки, содержащей исследуемую пробу в транспортной среде, в две пробирки с жидкой питательной средой для выявления *M.h.* и *U.u.*

Согласно рис.1 во все лунки стрипов (16 шт) с красной и зеленой полосками (стрипы с антибиотиками) внести по 100 мкл приготовленных инокулятов. Оба стрипа осторожно перемешать встряхиванием до растворения сорбированных субстратов. Во все лунки стрипов добавить по 2-3 капли (50-75 мкл) вазелинового масла. Открытые стрипы поместить в термостат при температуре 37 ± 1 °С на 72 ч.

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



Тест на выделение и идентификацию урогенитальных микоплазм (стрип без полоски)

Тест на *Ureaplasma urealyticum*

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

Тест на *Mycoplasma hominis*

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

Тест на определение антибиотикочувствительности

Тест на *Ureaplasma urealyticum* (стрип с красной полоской)

- ДОК – доксицилин
- ДЖМ – джозамицин
- КТМ – кларитромицин
- ЭРИ – эритромицин
- РОК – рокситромицин
- АЗМ – азитромицин
- ОФ – офлоксацин
- СПФ - спарфлоксацин

Тест на *Mycoplasma hominis* (стрип с зеленой полоской)

- ДОК – доксицилин
- ДЖМ – джозамицин
- МДМ – мидекамицин
- ОФ – офлоксацин
- ЦИП – ципрофлоксацин
- СПФ – спарфлоксацин
- МОК – моксифлоксацин
- КЛ - клиндамицин

8. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводить поэтапно: для *U.u.* (лунки N₁₋₄) через 24 ч, окончательно через 48 ч; для *M.h.* (лунки N₅₋₈) через 48 ч, окончательно через 72 ч. Изменение окрасок сред в лунках стрипов оцениваются визуально: при изменении цвета «+», при отсутствии изменения цвета «-».

8.1. Качественный анализ.

Появление красной или красно-малиновой окраски среды (без помутнения) в одной или нескольких лунках N₁, N₂ и N₃ при сохранении исходной желтой окраски среды в контрольной лунке N₄ с К(-) 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 при сохранении исходной желтой окраски среды в контрольной лунке N₄ с К(-) свидетельствует о том, что в исследуемой пробе отсутствует *U.u.*, т.е. результат является отрицательным.