

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для диагностики
урогенитальных инфекций и определения чувствительности
к антибиотикам (Уро-тест)

1. Назначение.

1.1. Набор предназначен для бактериологического анализа уrogenитальных инфекций, вызванных *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, и определения чувствительности к антибиотикам *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma genitalium*, выделенных из клинического материала (уретральные, вагинальные пробы, моча, сперма).

1.2. Набор рассчитан на обследование 6 пациентов по 4 уrogenитальным инфекциям *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*.

1.3. Набор применяется в клинической медицине.

2. Принцип метода.

2.1. Специфическое действие питательных сред для диагностики *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* или *Trichomonas vaginalis* обеспечено необходимыми ростовыми субстанциями:

- питательная среда для диагностики *Ureaplasma urealyticum* содержит богатую питательную основу, мочевины, играющую роль в метаболизме *Ureaplasma urealyticum* и индикатор роста - бромтимоловый синий, который выявляет подъем pH при внесении клинического материала, изменяя цвет среды от желтого до зеленого, а при большом содержании возбудителя - до синего.

- питательная среда для диагностики *Mycoplasma hominis* содержит богатую питательную основу, аргинин и индикатор - феноловый красный, который выявляет подъем pH при внесении клинического материала, изменяя цвет среды от оранжевого до розового, а при большом содержании возбудителя - до малинового.

- питательная среда для диагностики *Mycoplasma genitalium* содержит питательные компоненты и обогащающие добавки - инфуз сердечной мышцы, дрожжевой аутолизат, лошадиную сыворотку, цистеин, субстрат (глюкозу), антибиотики и индикатор - феноловый красный, который выявляет изменения pH при внесении клинического материала, изменяя цвет среды от красного до желтого разных оттенков.

- питательная среда для диагностики *Trichomonas vaginalis* содержит МПБ, минеральные соли, сахара, сыворотку крови животных, что обеспечивает придонный рост трихомонад в виде плотного беловатого осадка.

2.2. В основе оценки антибиотикочувствительности микоплазм лежит метод микроразведений в варианте двух пороговых концентраций, возникающих в крови при введении терапевтических доз препаратов. Данный метод позволяет дифференцировать микроорганизмы на 3 категории: чувствительные, умеренно-устойчивые и устойчивые.

3. Состав набора.

Таблица 1

№ п/п	Наименование компонента	Количество	Способ применения
1.	Питательная среда для диагностики <i>Ureaplasma urealyticum</i>	6 флаконов по 2,5 мл	Готова к употреблению.
2.	Питательная среда для диагностики <i>Mycoplasma hominis</i>	6 флаконов по 2,5 мл	Готова к употреблению.
3.	Питательная среда для диагностики <i>Mycoplasma genitalium</i>	6 флаконов по 2,5 мл	Готова к употреблению.
4.	Питательная среда для диагностики <i>Trichomonas vaginalis</i>	6 флаконов по 5 мл	Готова к употреблению.

№ п/п	Наименование компонента	Количество	Способ применения
5.	Полистироловый 96-луночный планшет (6 пар стрипов), сорбированный 7 антибиотиками в 2 пограничных концентрациях.	1 планшет	Распечатать, поместить в рамку-держатель необходимое количество пар стрипов, используя на 1 анализ 1 пару стрипов (по схеме 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10, 11-12). Не рекомендуется хранить распечатанные стрипы.
6.	Масло вазелиновое.	1 флакон 10 мл	Готово к употреблению.

Схема

	A	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	к.р.	
эритромицин ⇒	B	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	A - контроль роста
офлоксацин ⇒	C	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	
левофлоксацин ⇒	D	4	8	4	8	4	8	4	8	4	8	4	8	B-H - концентрация антибиотиков в мкг/мл
доксциклин ⇒	E	4	8	4	8	4	8	4	8	4	8	4	8	
ципрофлоксацин ⇒	F	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
азитромицин ⇒	G	0,12	4	0,12	4	0,12	4	0,12	4	0,12	4	0,12	4	
klarитромицин ⇒	H	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	1	4	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	

4. Аналитические характеристики набора.

4.1. Специфическая активность.

Специфическая активность компонентов набора отконтролирована стандартными штаммами *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* и клиническим материалом от больного с микроскопически подтвержденным трихомониазом.

5. Анализируемые образцы.

5.1. Материалом для исследования служат биопробы (соскоб эпителиальных клеток) из уретры, влагалища и цервикального канала. Исследованию могут быть подвергнуты биожидкости - моча, секрет предстательной железы, сперма и др.

5.2. Взятие биологического материала, по возможности, должно проводиться из предполагаемых очагов поражения в период обострения инфекции. За 10 дней до взятия материала на исследование необходимо прекратить прием химиопрепаратов и лечебные процедуры. Женщины накануне обследования не должны проводить туалет наружных половых органов и спринцевание.

Наиболее адекватным инструментом для взятия соскобов для диагностики микоплазм является специальный урогенитальный одноразовый зонд с дакроновым наконечником. Этот зонд собирает необходимое количество эпителия, при этом не травмируя слизистую, почти не впитывает образец и хорошо отдает собранный материал в жидкую питательную среду.

Внимание! Учитывая, что все микоплазмы являются эпителиотрофными паразитами, взятый биоматериал всегда должен содержать эпителиальные клетки.

5.3. БИОПРОБЫ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИНЫ.

5.3.1. соскоб эпителиальных клеток из уретры:

- перед взятием материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 часов;

- непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором;

- при наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15-20 мин после мочеиспускания.

При отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия материала;

- ввести зонд на глубину 3-4 см, собрать материал осторожными вращательными движениями;

- погрузить зонд во флакон с питательной средой, несколько раз вращать и, отжав остатки раствора о стенки, удалить из флакона. Флакон плотно закрыть и промаркировать.

5.3.2. секрет предстательной железы:

- перед взятием секрета простаты головку полового члена обработать стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором;

- после предварительного массажа простаты через прямую кишку из кавернозной части выдавливается простатический секрет;

- около 0,5-1 мл секрета простаты собрать в одноразовую сухую стерильную пробирку. Для исследования стерильной пипеткой отобрать 100 мкл секрета и внести во флакон с питательной средой, после чего содержимое флакона тщательно перемешать.

5.3.3. сперма:

- сперму собрать в одноразовую сухую стерильную пробирку и провести инокуляцию в среду аналогично секрету простаты.

5.4. БИОПРОБЫ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИНЫ.

5.4.1. соскоб эпителиальных клеток из цервикального канала:

- перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором;

- зонд ввести в цервикальный канал на глубину 0,5-1,5 см, собрать материал осторожными вращательными движениями;

- при наличии эрозий цервикального канала обработать их стерильным физиологическим раствором и брать материал на границе здоровой и измененной ткани;

- при извлечении зонда полностью исключить его касание со стенками влагалища.

5.4.2. соскоб эпителиальных клеток из уретры:

- непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором;

- провести массаж уретры о лобковое сочленение;

- ввести зонд на глубину 1,0-1,5 см, собрать материал осторожными вращательными движениями.

5.4.3. соскоб с заднего свода влагалища:

- материал должен быть взят до проведения мануального исследования;

- зеркало перед манипуляцией можно смочить горячей водой, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано;

- в случае избытка слизи или обильных выделений удалить их стерильным ватным тампоном;

- влагалищное отделяемое собрать, проводя стерильным одноразовым зондом по поверхности слизистой влагалища в области заднего нижнего свода или патологически измененных участков слизистой;

- у девочек материал забирать со слизистой оболочки преддверия влагалища, а в отдельных случаях - из заднего свода влагалища через гименальные кольца.

5.4.4. моча:

- собрать первую порцию утренней мочи в количестве 20 мл в сухой стерильный флакон;

- перелить мочу в стерильную пробирку и центрифугировать при 3000-4000 об/мин в течение 30 мин;

- для посева использовать 50 мкл осадочной фракции. Моча для исследования должна быть свежей (не охлаждать и не замораживать!).

Внимание! При выполнении всех микробиологических манипуляций необходимо строго соблюдать правила асептики и антисептики.

Все, что касается пациента должно быть стерильно - металлические инструменты многократного использования прокаливаются в пламени горелки, одноразовый пластик после каждого забора материала выбрасывается в специальный контейнер с дезраствором.

Флакон с питательной средой открывается над пламенем горелки, пробка держится так, чтобы она ни к чему не прикасалась.

В течение двух недель перед обследованием не рекомендуется принимать антибиотики тетрациклинового ряда и макролиды.

6. Меры предосторожности.

6.1. Потенциальный риск применения набора - класс 2б.

6.2. Все компоненты в исследуемых концентрациях являются нетоксичными.

6.3. При работе с набором следует соблюдать основные правила работы согласно «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Минздрава СССР», 1981 г.

6.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

6.5. Обезвреживание. Отработанные реагенты набора (планшеты, флаконы со средой) обезвреживают в 3% растворе хлорамина или 6% растворе перекиси водорода в течение 24 ч.

7. Оборудование, материалы, реагенты:

- рН-метр милливольтметр;

- термостат, поддерживающий температуру 37 °С;

- холодильник бытовой;
- пипетки стеклянные мерные, 0,5-1,0 мл или автоматический дозатор;
- шприцы одноразовые, 2,0 мл;
- ложка Фолькмана;
- урогенитальный одноразовый зонд с одноразовым наконечником.

8. Подготовка к анализу.

8.1. Перед работой извлечь набор из холодильника и необходимое количество флаконов с питательной средой поставить в термостат на 1 час для принятия средой температуры 37 °С.

8.2. Необходимое количество стрипов поместить в рамку-держатель, промаркировать, выдержать при комнатной температуре 30 минут. Перед работой снять липкую ленту, закрывающую стрип.

9. Проведение анализа.

9.1. После посева проб не позже чем через 1 час флаконы со средами для диагностики *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* или *Trichomonas vaginalis* перенести в термостат, поддерживающий температуру 36 ± 1 °С на 24-72 ч.

9.2. При наличии роста *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* или *Mycoplasma genitalium* (определяется по изменению цвета среды) провести определение чувствительности к антибиотикам с помощью планшета **по схеме**.

Для этого стерильной пипеткой или шприцом перенести 0,2 мл содержимого из флакона с положительной пробой в новый флакон с соответствующей питательной средой, перемешать, легко встряхивая флакон. Внести из флакона по 0,1 мл в каждую лунку парного стрипа (**по схеме**).

Затем в каждую лунку парного стрипа внести по 2 капли стерильного вазелинового масла. Парные стрипы поместить в рамку-держатель, закрыть крышкой и перенести в термостат. Инкубировать при температуре 37 °С в течение 24-72 ч.

10. Учет результатов.

10.1. Рост *Ureaplasma urealyticum* наблюдается в течение 24-48 часов. При этом цвет среды меняется от желтого до зеленого, а при большом содержании возбудителя - до синего во флаконе равномерно, может наблюдаться легкое облачко, вызванное дисперсией мазка в среде.

10.2. Рост *Mycoplasma hominis* наблюдается в течение 24-72 часов. При этом цвет среды меняется от оранжевого до розового, а при большом содержании возбудителя до малинового во флаконе равномерно без помутнений и осадка.

10.3. Рост *Mycoplasma genitalium* наблюдается в течение 18-72 часов. При этом цвет среды меняется от красного до желтого разных оттенков.

10.4. Рост *Trichomonas vaginalis* наблюдается в течение 24-72 часов, при этом наблюдается придонный рост в виде плотного беловатого осадка.

10.5. Определение антибиотикочувствительности проводят визуально после инкубации в течение 24-72 часов по изменению цвета без помутнений в ячейках контроля роста (к.р.). При отсутствии изменения цвета в ячейках (к.р.) остальные тесты учету не подлежат.

10.6. Культура в ячейках В, С, D, E, F, G, H при изменении цвета среды от желтого до зеленого для *Ureaplasma urealyticum*, от оранжевого до розового для *Mycoplasma hominis* и от красного до желтого для *Mycoplasma genitalium* оценивается как:

- чувствительная, если отсутствует рост в ячейках с малой и большой концентрацией антибиотиков;
- устойчивая, если наблюдается рост в обеих ячейках;
- умеренно-устойчивая, при наличии роста в ячейке с меньшей концентрацией и отсутствии роста в ячейках с большей концентрацией антибиотика.

11. Условия хранения и эксплуатации набора.

11.1. Набор хранится при температуре от +2 до +8 °С в течение всего срока годности. Не замораживать!

11.2. Срок годности набора - 6 месяцев.

11.3. При нарушении условий хранения и схемы постановки анализа рекламации не принимаются.

11.4. В остальных случаях рекламации на качество набора направлять в адрес предприятия, изготовившего препарат, ООО НПО «Иммунотэкс» (355021, г. Ставрополь, ул. Доваторцев, 177Г, стр. 1, телефон/факс +7(8652)28-34-60).

Внимание!

Уважаемые потребители!

Обратите внимание: рост *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* изменяет цвет среды при 10^4 КОЕ, более интенсивное окрашивание наблюдается при 10^5 и более КОЕ.