



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО «Научно-производственная
фирма «Диагност-мед»

Е.С. Тришина

2018 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

«Набор реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая по ТУ 9385-001-49514934-2016»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая» предназначен для индикации *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) в пробах клинического материала в течение 1-2 суток.

1.2. *Ureaplasma urealyticum* (от лат. *urea* – мочевина) – мелкие, не имеющие клеточной стенки, размножающиеся простым делением бактерии, относящиеся к роду *Ureaplasma* семейства *Mycoplasmataceae* (Микоплазмы). Как и другие микоплазмы, *Ureaplasma urealyticum* обычно обитают на слизистых оболочках. Основным питательным субстратом для них является мочевина.

У взрослых людей заражение *U. urealyticum* происходит при половых контактах. *U. urealyticum* можно обнаружить у 40 - 80% здоровых сексуально активных женщин, в том числе и у здоровых беременных. Передача *U. urealyticum* возможна также вертикальным путем (от матери к ребёнку) – 1) внутриутробно: восходящим путём из инфицированных половых органов или трансплацентарно; 2) во время родов при прохождении плода по родовым путям.

У новорожденных уреоплазмы выявляются чаще всего в ротоглотке, носоглотке и половых органах, к 15 месяцам частота выявления инфекции снижается втрое, по мере взросления таких случаев становится еще меньше. С началом половой жизни доля инфицированных опять начинает увеличиваться.

Уреоплазмы могут вызывать воспалительные заболевания матки и придатков, сальпингиты и негонекокковые уретриты у ведущих половую жизнь людей. Продемонстрирована их связь с бесплодием, послеродовыми эндометритами, хориоамнионитами, спонтанными абортами, преждевременными родами, рождением детей с низким весом, перинатальной заболеваемостью и смертностью, пневмониями, бактериемиями, менингитами и бронхолегочной дисплазией у недоношенных детей.

1.3. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.4. Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

1.5. Область применения - клиническая лабораторная диагностика. Потенциальным потребителем является медицинский персонал клинко-диагностических лабораторий.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Принцип метода

Среда для индикации *U. urealyticum* жидкая содержит питательные компоненты и обогащающие добавки (гидролизат мяса, гидролизат казеина, пептон, дрожжевой аутолизат, лошадиную сыворотку), химические реактивы (индикаторный краситель бромтимоловый синий, калий фосфорнокислый однозамещенный, натрий хлористый), субстрат ферментативной активности (мочевину) и антибиотики (бензилпенициллин, ампициллин, линкомицин, амфотерицин В, нистатин).

Компоненты и добавки среды обеспечивают оптимальные условия для роста уреоплазм в течение 1-2 суток, антибиотики тормозят рост сопутствующих антибиотикочувствительных микроорганизмов. За счет проявления ферментативной активности происходит гидролиз мочевины, вследствие чего происходит сдвиг pH в щелочную сторону и цвет индикаторного красителя меняется с желтого на зеленый.

2.2. Состав набора

Среда для индикации *U. urealyticum* жидкая по 200 мл в градуированных стеклянных или пластиковых бутылках вместимостью 250 мл из расчета 1 бутылка на 100 исследований.

Набор реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая по ТУ 9385-001-49514934-2016»:

Варианты исполнения:

I. Комплект №1: «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая» в составе:

- Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая – 200 мл в стеклянной бутылке;
- Инструкция по применению;
- Паспорт;
- Пакет-гриппер полиэтиленовый (размер 180х250 мм).

II. Комплект №2: «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая» в составе:

- Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая – 200 мл в пластиковой бутылке;
- Инструкция по применению;
- Паспорт;
- Пакет-гриппер полиэтиленовый (размер 180х250 мм).

Набор рассчитан на проведение 100 исследований.

Валидация процесса стерилизации в соответствии с СОП ПО-03-03-01 «Порядок проведения стерилизующей фильтрации», с документом «Валидация процесса стерилизации набора реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая».

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитические характеристики набора

1. Внешний вид. Среда представляет собой прозрачную жидкость желтого или лимонно-желтого цвета без опалесценции, осадка, посторонних включений и хлопьев.
2. pH среды 6,0 - 6,5. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» (утв. Роспотребнадзором 18.01.2008).
3. Содержание аминного азота не ниже 0,07 %. Определение проводят формальным титрованием (МУК 4.2.2316-08).
4. Хлориды (в пересчете на натрия хлорид) от 0,5 до 0,7 %. Определение проводят методом аргентометрии (МУК 4.2.2316-08).
5. Сухой остаток от 2,0 до 2,4 %. Весовой метод определения содержания сухого остатка (МУК 4.2.2316-08).
6. Стерильность. Среда должна быть стерильной. Отсутствие микробного роста после инкубации в течение 48 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и последующих 14 суток при температуре от 20 до 25 $^\circ\text{C}$ (МУК 4.2.2316-08).
7. Специфическая активность (чувствительность, специфичность и скорость роста уреоплазм *U. urealyticum*): среда должна обеспечивать во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов уреоплазм *U. urealyticum*/Омск-21 не позднее 48 часов инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, визуально обнаруживаемый по изменению цвета среды с желтого на зеленый во всей пробирке без помутнения, не ниже, чем из разведения 10^{-3} при посеве по 0,2 мл микробной взвеси тест-штамма в каждую из 3-х пробирок.

С помощью набора реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая» проанализировано 50 образцов, содержащих *Ureaplasma urealyticum* и 50 образцов, не содержащих *Ureaplasma urealyticum*. Диагностическая чувствительность набора составила 94,2%; диагностическая специфичность набора - 94,2% с доверительной вероятностью 95% (доверительный интервал 95 - 100%).

8. Ингибирующие свойства. Среда должна полностью подавлять рост тест-штаммов *S. aureus* ATCC 25923, *P. mirabilis* 3177, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans*/Омск-03 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-3} через 24-48 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (МУК 4.2.2316-08).

3.2. Диагностические характеристики набора

Среда для индикации и определения количества *U.urealyticum* жидкая (культуральный метод), в отличие от других методов позволяет накапливать (выращивать) *U.urealyticum* и одновременно определять ее количество (титр), проводить индикацию *U.urealyticum* и в комплексе с другими средами дифференциацию урогенитальных микоплазм для назначения адекватного лечения. Дифференциацию урогенитальных микоплазм культуральным методом можно производить по следующей схеме:

Дифференциация урогенитальных микоплазм культуральным методом

Используемые среды	Изменение цвета среды			
	Уреаплазмы (<i>U.urealyticum</i> <i>U. parvum</i>)	Аргининзависимые микоплазмы (<i>Mycoplasma hominis</i> и др.)	Глюкозо-ферментирующие микоплазмы (<i>Mycoplasma genitalium</i> и др.)	<i>Mycoplasma fermentans</i>
Среда для индикации <i>U.urealyticum</i>	+	-	-	-
Среда для индикации аргининзависимых микоплазм (<i>M. hominis</i> и др.)	--	+	-	+
Среда для индикации глюкозо-ферментирующих микоплазм (<i>M. genitalium</i> и др.)	-	-	+	+

Определение титра (количества) уреаплазм/микоплазм имеет значение для постановки диагноза, назначения лечения и контроля излеченности. Посев на среду для индикации - единственный метод контроля излеченности в ранние сроки, так как направлен на обнаружение живой *U. urealyticum*, а не ее антигенов или генома (так называемые «шлаки» - выход нежизнеспособной *U. urealyticum* после лечения в течение 1 - 2 мес.). Если результаты анализа не превышают 10^4 ЦОЕ, лечить уреаплазмоз с помощью антибиотиков ведущими клиницистами не рекомендуется.

Набор реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая по ТУ 9385-001-49514934-2016» предназначен для первичного визуального выявления (индикации) *Ureaplasma urealyticum* в диагностически значимых титрах ($\geq 10^4$ ЦОЕ/мл). *Ureaplasma parvum* может присутствовать у части несанированных пациентов. Дифференциация геномовидов уреаплазм может быть осуществлена на следующем этапе диагностики с помощью молекулярно-генетического исследования в полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Ureaplasma urealyticum и *Ureaplasma parvum* – два близких вида (ранее – биовары одного вида). Отличий между данными видами уреаплазмы практически не существует. Для клинической медицины дифференциация *Ureaplasma urealyticum* и *Ureaplasma parvum* не имеет принципиального значения. Существенных отличий в их клиническом проявлении и лечении нет, характеризуются одинаковыми симптомами и последствиями, против них применяются одинаковые препараты. Дифференциация уреаплазм возможна только на основе полимеразной цепной реакции. Для выбора тактики лечения имеет значение выявление уреаплазм как таковых и их титр (диагностически значимым считается титр 10^4 и более ЦОЕ), а не дифференциация этих близкородственных геновидов.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 №

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г., в методических указаниях МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998, СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

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

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113. Отработанные реагенты набора обезвреживают в 3% растворе хлорамина или в 6% растворе перекиси водорода, или другого дезинфицирующего средства в соответствии с инструкцией по применению.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

1. Термостат электрический суховоздушный (37±1)°C (ТС-1/80 СПУ, ТУ 9452-002-00141798-97).
2. Холодильник бытовой электрический (6±2) °C (ГОСТ 16317-95).
3. Спиртовка лабораторная стеклянная ГОСТ 25336-82.
4. Дозаторы пипеточные с переменным объемом дозирования (ТУ 9452-002-33189998-2002).
5. Пробирка стеклянная бактериологическая (П2-10-90 ХС; ПЗ-5ХС; ГОСТ 25336).
6. Пробка ватно-марлевая для укупоривания пробирок ПБ-14, ПБ-15 (ГОСТ 25336-82).
7. Петли микробиологические из платины/иридия, никеля/стали, никеля, хрома или нихромовой проволоки диаметром 0,4 - 0,5 мм. Внутренний диаметр петли 2 - 3 мм.
8. Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150 (ТУ 9444-011-03965956-2008).

Допускается использование других видов оборудования и материалов аналогичного назначения, разрешенных к применению в установленном порядке и с характеристиками, обеспечивающими проведение работ в соответствии с данной инструкцией по применению.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Образцы клинического материала для исследования на микоплазмы отбирают до начала лечения антибиотиками. Применяют стандартную методику, предотвращающую контаминацию другими микроорганизмами.

Вагинальные образцы отбирают, удалив излишек слизи с экзоцервикса (без использования местного антисептика). Для взятия эндоцервикального образца используют бактериологическую петлю, влагалищный пинцет или тампон. У беременных женщин материал для посева берут с экзоцервикса.

Уретральные образцы отбирают (после очищения наружного отверстия мочеиспускательного канала) путем соскоба со слизистой оболочки бактериологической петлей или ложкой Фолькмана, спустя три часа после последнего мочеиспускания. Для посева также можно использовать первую порцию мочи: исследуется центрифугированный осадок после ресуспендирования в небольшом количестве среды (0,1 мл). Сперму исследуют путем прямой инокуляции.

Посев проб клинического материала производят непосредственно в среду для индикации *U. urealyticum* жидкую или в транспортную среду с последующим высевом на среды для индикации.

Взятие и посев материала для бактериологического исследования, а также работу с культурой *U.urealyticum* проводят в соответствии с Методическими указаниями № 2003/34 «Обеспечение качества подготовки образцов биологических материалов для цитологических исследований», МЗ РФ, Москва, 2003 г. и Приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

7. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Перед использованием среду разливают по 2 мл в стерильные бактериологические пробирки с резиновыми или ватно-марлевыми пробками и хранят до использования при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Посев материала в маркированные пробирки с предварительно прогретой до $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ питательной средой осуществляют щеточкой или тампоном однократного применения. Засеянные пробирки сразу же (не позднее 1 часа после посева) помещают в термостат и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48 часов.

9. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. ИНДИКАЦИЯ *U.urealyticum*.

Рост уреоплазм наблюдается в течение 24, реже - 48 часов. При этом цвет среды меняется от желтого до зеленого во всей пробирке без помутнений. При росте уреоплазм возможно образование незначительного придонного осадка. Осадок может наблюдаться при избытке посеянного клинического материала (особенно, если он взят из влагалища), при неправильном хранении среды, реже - при росте антибиотикорезистентных бактерий.

9.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРА (КОЛИЧЕСТВА) *U.urealyticum*.

Перед постановкой в термостат из пробирки с засеянной средой переносят 0,2 мл во вторую пробирку с 2 мл среды для индикации уреоплазм. Учет результатов в обеих пробирках проводят одновременно не позднее 48 часов индикации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. При изменении цвета среды только в одной пробирке титр уреоплазм соответствует менее 10^4 цветообразующих единиц (титр $< 10^4$ ЦОЕ), при изменении цвета в обеих пробирках - больше или равно 10^4 ЦОЕ.

10. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Учет результатов проводят в течение 24 - 48 часов.

11. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Набор реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая» предназначен для диагностических целей, однако окончательный диагноз не должен основываться только на результатах данного теста. Диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

12. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

12.1. Транспортирование.

12.1.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от 2 до 8 °С в соответствии с СП 3.3.2.1248-03. Допускается кратковременное транспортирование при температуре до 25 °С в течение не более 7 суток.

12.1.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

12.2. Хранение.

12.2.1. Хранение набора должно осуществляться в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре от 2 до 8 °С в сухом темном месте в течение всего срока годности (6 месяцев) в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 "Условия транспортирования и хранения медицинских иммунобиологических препаратов".

Срок годности набора – 6 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя. Не

пускается применение наборов по истечении срока их годности.

12.2.2. Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

12.3. Эксплуатация.

12.3.1. При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Набор после окончания срока годности.
- не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена.
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте

каждый флакон своей крышкой.

12.3.2. Все компоненты Набора реагентов при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте Набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

12.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

12.3.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования среду разливают в стерильные бактериологические пробирки с резиновыми или ватно-марлевыми пробками и хранят до использования при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

12.4. Утилизация.

12.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

12.4.2. Медицинские отходы класса Б. Утилизацию или уничтожение наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

12.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют лицензию на право утилизации медицинских отходов.

13. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие качества среды для индикации *U. urealyticum* жидкой требованиям технических условий ТУ 9385-001-49514934-2016 (технической документации) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями ТУ 9385-001-49514934-2016 (технической документации).

14. КЛИЕНТСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Среда для индикации *Ureaplasma urealyticum* жидкая», следует обращаться в ООО «Научно-производственная фирма «Диагност-мед» по адресу: 644080, г. Омск, пр. Мира 7, тел./факс: (3812) 60-68-83; e-mail: diagnostmed1@yandex.ru.

Контролер ООО «НПФ «Диагност-мед»

«15» 03 2018 г.

Г.В. Березкина

М.П.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

«15» 03 2018 г.

П.К. Варнавичус

М.П.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 6 ЛИСТОВ

«15» 02 2018 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавинус П.К.



Прошито в
кол-во 6 листов

