

A7 AGAR

Kultur, Aufzählung und Identifizierung von urogenitalen Mykoplasmen 8 tests (Art. 00090)

CP 0257-DE-2019-09

Für in-vitro-Diagnostik, für den professionellen Einsatz

Die Tests sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.



I - ZIEL

Das Agar A7 erlaubt die Kultur, die anzeigende Aufzählung und die morphologische Identifizierung von *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) / *Ureaplasma parvum* und von *Mycoplasma hominis* (M.h.) anhand von Vaginale / (Gebärmutterhals) Probeentnahmen, Harnröhren entnahmen, Urin entnahmen, Spermien entnahmen, Magenflüssigkeiten und andere Probeentnahmen, die, die Urogenitalen Mykoplasmen Aufspürung ermöglicht.

2 - VORTEIL

Die Urogenitalen Mykoplasmen, *U. urealyticum* und *M. hominis*, sind anerkannte Krankheitserreger (3). Sie können als Gastzustand im unteren Geschlechtapparat Teil anwesend sein. Eine quantitative Beurteilung ist also nützlich. *U. urealyticum* ist verantwortlich für männliche Geschlechtsinfektionen. *M. hominis* vermehrt sich bei Vaginalinfektionen und kann sich auf die oberen Geschlechtapparat Teile ausdehnen. Die Urogenitale Mykoplasmen sind ebenfalls verantwortlich für extra Genitale-Infektionen.

3 - PRINZIP

Mycoplasmen sind relativ empfindliche Organismen, die sich nur in Anwesenheit von zahlreichen Wachstumsfaktoren vermehren. Fakultative Anaérobie, sie sind in Sterol anspruchsvoll. Sie benutzen als Energiequelle die Umwandlung der Zucker oder Arginine (*Mycoplasma hominis*) oder vom Hornstoff (*Ureaplasma urealyticum*).

Das Agar A7 ist ein verändertes Shepard-Medium (4). Er enthält Serum, Peptone, Hefeextrakte und eine Vitaminmischung. Er ist zuckerfrei und enthält Harnstoff und Arginine als Energiequellen. Er wird durch den Zusatz von Antibiotika und von Antipilzmitteln selektiv gemacht, um die Entwicklung der Gram positiven Bakterien und der Gram negativen Bakterien und der Hefepilzen zu hemmen.

Das vorhanden sein von Magnesium-Sulfat gibt der Kolonien von *Ureaplasma urealyticum* eine schwarze Verfärbung in Anwesenheit von Hornstoff (4). Auf Agar Medien, sind die Kolonien von Mykoplasmen sehr klein und müssen optisch mit einem Mikroskop gesucht werden.

Für die Forschung von Mykoplasmen empfiehlt es sich, flüssige Medien und feste Medien zu benutzen (3).

Das Agar A7 kann sich mit den flüssigen Methoden MYCOSCREEN oder MYCOFAST assoziieren.

4 - REAGENZIEN

Konditionierung: 8 Agar Medien

Beschreibung

A7 AGAR: Sofort benutzbares Agar von 55 mm, einzeln in Zellofan Tütchen verpackt.

Zusammensetzung des Agars

Mykoplasma Brühe (25 g/L), Hefeextrakt (9.4 g/L), Fohlenserum (15%), Harnstoff (1.15 g/L), Arginine (0.4 g/L), Kalziumchlorid (0.3 g/L), Magnesium-Sulfat (0.1 g/L), Vitaminzusätze, Mischungen von Antibiotika und Antipilzmitteln und Agar (14 g/L).

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Agar Medien dieses Kitts sind ausschließlich für einen in vitro Gebrauch bestimmt und müssen von bevollmächtigten Personen behandelt werden.
- Die Probeentnahmen und die eingepfimte Agar Medien sind möglicherweise Ansteckungsfähig, sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden, indem die Hygieneregeln und die gültige Regelung des Benutzungslandes für diese Produktarten respektiert werden.
- Die Agar Medien enthalten Rohstoffe tierischen Ursprungs und müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden.
- Die Agar Medien dieses Kitts nach dem Verfallsdatum oder verseuchte oder schlecht aufbewahrte Agar Medien nicht benutzen.

6 - SAMMLUNG UND TRANSPORT DER PROBEENTNAHMEN

6.1 Sammlungen der Probeentnahmen

- **Endozervikale / vaginale Proben:** Verwenden Sie nur einen Dacron®- oder Rayon-Tupfer oder einen Zytobrush (wenn Sie ein 2-mL- oder 3-mL-UMMt verwenden) oder den mit seinem freundlichen oder universellen Transportmedium gelieferten Tupfer für Viren, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasma (bei Verwendung von UMMt AMIES 2.6 mL).

Die Probeabnahme nach einer sorgfältigen Eliminierung der exocool Sekretionen mittels eines ersten Wischers durchführen. Mykoplasmen, die eine starke Affinität für die Zellen der Schleimhäute

haben, auf denen sie anhaften, es ist notwendig, die Schleimhaut gut abzukratzen, um ein gutes Resultat zu erhalten (1).

- **Probeentnahmen der Harnröhre:** Die Harnröhren Öffnung reinigen und durch Auswischen oder Kratzen die Zellen entnehmen.

- **Sperma, Urine, andere Flüssigkeiten:** Die Spermien Sammlung oder der erste Urinwurf oder andere flüssige Probeentnahmen in sterilen Fläschchen Einsammeln.

6.2 Transporte der Probeentnahmen

UMMt 2 oder 3 ml

Inokulieren Sie ein Fläschchen Und-Medium mit dem Wattestäbchen, oder übertragen Sie bei Verwendung einer flüssigen Probe 200 µl oder 300 µl der flüssigen Probe in 2 ml oder 3 ml UMMt. Das Eingepfimte UMMt Medium kann bei Zimmertemperatur (18-25 °C) während 20 Stunden aufbewahrt werden, oder bei 2-8 °C während 56 Stunden.

Für eine Aufbewahrung während 3 Tagen bei -20 °C, müssen zuvor zwei Tropfen "MYCOPLASMA Stabilizer" zugegeben werden.

Medium AMIES oder universelles Medium für Viren, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasma

Siehe die Bedienungsanleitung des Herstellers

UMMt AMIES medium

Entladen Sie 300 µL des Transportmediums AMIES oder Universalmediums für Virus, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasmen, die in ein Fläschchen mit Medium AMIES ausgesät werden Nach dem Inokulieren ist das UMMt AMIES-medium (2,6 mL)

kann 20 Stunden bei Raumtemperatur (18-25 °C) oder 56 Stunden bei 2-8 °C gelagert werden.

Für eine Lagerung von 3 Tagen bei -20 °C geben Sie vorher 2 Tropfen "MYCOPLASMA Stabilizer" hinzu.

7 - VORBEREITUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

Die Agar Medien sind Gebrauchsfertig; in ihrer Ursprungsverpackung sind sie bis zum, auf der Verpackung angegebenen, Verfallsdatum stabil.

Die Agar Medien keine starken Temperaturunterschiede aussetzen.

8 - ERFORDERLICHES, ABER NICHT GELIEFERTES MATERIAL

- Probenahmegeräte (Dacron-Tupfer, Cytobrush, Amies-Transportmedium oder Universalmedium für Viren, Chlamydien, Mycoplasma und Ureaplasmen, sterile Flasche zum Sammeln von flüssigen Proben), Pipetten
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
- UMMt-Medium (REF 00835; 00061; 00083) für Abstrich- oder Transportproben Freundliches oder universelles Medium für Viren, Chlamydien, Mycoplasma und Ureaplasma
- Auf 35-37 °C Kalibrierter Brutschrank, Vorrichtung für Anaerobiose, Optisches Mikroskop (Ziel Nr. x10), Gefäß für verseuchte Abfälle
- Liquid samples:** Mix the sample and place 3 drops, each of about 30 µL (or a single transfer of 100 µL) directly in the centre of an agar plate. If the sample must be transported, inoculate a vial of UMMt medium with 200 µL of the liquid sample (§6.2).

9 - DURCHFÜHRUNGS

9.1 Einimpfung

- **Probeentnahme auf Wischer:** Den Wischer in einem UMMt-Medium entladen. Im der Agar Mitte 3 Tropfen von ungefähr 30 µL (oder eine Ablagerung von 100 µL) eingepfimer und gut gemischtes Medium (Nährlösung) ablegen.

- **Mit seinem Transportmedium AMIES oder Universalmedium für Virus, Chlamydien, Mycoplasma und Ureaplasma assoziierte Abstrichprobe:** Das Transportfläschchen homogenisieren und 300 µL in ein UMMt AMIES-Medium überführen. Geben Sie in die Mitte des Agars 3 Tropfen von etwa 30 µL UMMt AMIES-Medium (oder eine Ablagerung von 100 µL) inokuliert und homogenisiert.

- **Flüssige Probeentnahme:** Die Probeentnahme gut mischen und in der Agar Mitte 3 Tropfen von ungefähr 30 µL direkt ablegen (oder eine Ablagerung von 100 µL). Wenn die Probeentnahme transportiert werden soll, **Inokulieren Sie ein Medium UMMt 2 ml mit 200 µl Flüssigkeit oder UMMt 3 ml mit 300 µl Flüssigkeit (§6.2).**

9.2 Incubation of the agar plate

Allow the agar plate to dry for at least 30 minutes at room temperature.

Incubate the agar plate for 48 hours at 35 to 37 °C under anaerobic conditions.

9.2 Inkubationen des Agars

Das Agar ungefähr 30 Minuten bei Raumtemperatur trocknen lassen.

Das Agar bei 35-37 °C während 48 Stunden in Anaerob, inkubieren.

10 - ABLESUNG UND INTERPRETATION

Die Kolonien müssen mit dem Mikroskop gesucht werden (Objektiv x10), umgedrehte Dose.

10.1 Morphologische Identifizierung

Ureaplasma urealyticum: Aspekt braun- schwarze Niederschläge ("in Seeigelförmig" unterschiedlicher Größe).

Die Kolonien sind sehr klein.

Mycoplasma hominis: Aspekt "Spiegelelförmig". Die Kolonien sind größer als die Kolonien von *U. urealyticum*.

10.2 Aufzählung

Die Aufzählung auf umgedrehte Dosen durchführen, mit dem objektiv x10 des Mikroskops, **nach dem Durchschnitt der Anzahl der Kolonien in 10 mikroskopischen Feldern:**

- Weniger als 1 Kolonie/ Feld: <10³ CFU/mL
- 1 bis 5 Kolonien/ Feld: ungefähr 10⁴ CFU/mL
- 5 bis 10 Kolonien/ Feld: ungefähr 10⁵ CFU/mL
- 10 bis 20 Kolonien/ Feld: ungefähr 10⁶ CFU/mL
- > 20 Kolonien/ Feld: > 10⁶ CFU/mL

CFU: Einheit, die, die Kolonie bildet

11 - QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrolle kann ab einen Gefrieretrockneten Sammlungsstamm, durchgeführt werden (*Ureaplasma urealyticum* ATCC 27618) und Kalibriert auf 10⁴ CFU/mL. Ein Agar A7 einimpfen und, wie auf dieser Notiz (§9 et §10) abgegeben, vorgehen.

Erwartetes Ergebnis: Anwesenheit von 1 bis 5 Kolonien, Seeigelförmig (*U.urealyticum*).

12 - FEHLER URSACHEN

Probenahme mit Tupfern oder ungeeigneten Transportmedien.

Direktes Einimpfen mit dem Wischer.

Aerobe Inkubation.

Nichtbeachtung der Inkubationstemperatur.

13 - METHODENGRENZE

Probeentnahmen die zu wenig Mykoplasmen enthalten (< 10³ CFU/mL)

Feste Methode auf Agar A7 die mit einer flüssigen Methode zu verbinden ist.

Wie für jede Methode der Keimforschung, ist das Ergebnis des Tests, von der Qualität der Probeentnahme Abhängig. Ein negativer Test bedeutet also nicht unbedingt eine Infektions-Abwesenheit.

14 - LEISTUNGEN

Die Leistungen der Agar Kultur A7 von IM wurden mit der flüssigen Methode MYCOFAST verglichen (2). Die Studie wurde in einem Krankenhaus auf 544 klinische Probeentnahmen durchgeführt (266 Spermientnahmen, 155 Vaginalentnahmen, 82 Plazenten, 19 Harnröhrenentnahmen und 22 unterschiedliche Probeentnahmen). Für 475 Probeentnahmen (88%) von denen 140 positive und die 335 negativ Ergebnisse übereinstimmend waren. Die Unstimmigkeiten betrafen 69 Probeentnahmen, von denen 8 nur mit dem Agar A7 (1,5%) positiv waren, 48 waren nur mit der MYCOFAST-Methode positiv (8,8%) und 13 wurden verseucht (2,4%). Einige Mykoplasmen Stämme, die aus verseuchten Probeentnahmen stammen, konnten mit dem Agar A7 festgestellt werden.

15 - ABFALL BESEITIGUNG

Die Abfälle müssen mit Rücksicht, auf die Gesundheitsregeln und die vorgesetzte Gesetzliche Regelungen die im Benutzungsland, für diese Reagenzarten vorgesehen sind, beseitigt werden.

16 - LITERATURVERZEICHNIS

BOUCAUD-MAITRE Y. et THOINET S. 1993. Analyse des prélèvements en bactériologie médicale - 2^{ème} partie : prélèvements génitaux. Feuil. Biol., 34: 21-24.

BRES P., J.P. CASALTA, M. DRANCOURT, G. PAPIEROK, D. RAOULT. 1991. Comparison of mycofast test kit and conventional culture methods for the isolation of Genital Mycoplasma and Ureaplasma species A.S.M. 91th General Meeting - Poster : G-14.

PEREYRE S., BEBEAR M.C. et BEBEAR C. 2001. Les mycoplasmes en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires, Supplément au N°329 : 34-36.

SHEPARD, M.C. and LUNCEFORD C.D. 1976. Differential agar medium (A7) for identification of Ureaplasma urealyticum (human T mycoplasmas) in primary cultures of clinical material. J. Clin. Microbiol. 3: 613-625.

Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

