

SEROLOGY

Ποσοτική ανίχνευση αντισωμάτων έναντι Ουρεοπλάσματος και Μυκοπλάσματος hominis

14 δοκιμασίες (REF 00014)
120 δοκιμασίες (REF 00097)

EL-2010-09



1. ΕΝΔΕΙΚΝΥΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το SEROLOGY kit επιτρέπει την ποσοτική ανίχνευση στον ορό αντισωμάτων έναντι των κυριότερων ειδών ουρογεννητικών μυκοπλάσμάτων: όπως *Ureaplasma urealyticum* (U.u) και *Mycoplasma hominis* (M.h). Κάθε συσκευασία περιέχει 14 ή 120 τεστ.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μυκοπλάσματα είναι εύθραστα μικρόβια χωρίς κυτταρικό τοίχωμα. Απαιτούν για την ανάπτυξή τους ενισχυτικά ανάπτυξης, είναι προικισμένοι με μια ισχυρή ικανότητα προσκόλλησης και συχνά παρουσιάζονται σαν παράσιτοι οργανισμοί.

Τα είδη που απομονώθηκαν από την ουρογεννητική οδό, τα *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) και *Mycoplasma hominis* (M.h.) είναι αυτά που αντιμετωπίζουμε πιο συχνά. Τα U.u. και M.h. είναι σεξουαλικά μεταδιδόμενα και από την φύση τους μπορούν να γίνουν παθογόνα.

Δεδομένης της έλλειψης ανοσοαπάντησης, η ορολογική δοκιμασία των μυκοπλάσμάτων δεν αντικαθιστούν την άμεση διάγνωση από δείγματα ασθενών. Η ορολογική δοκιμασία για τα ουρογεννητικά μυκοπλάσματα χρησιμοποιείται ειδικά για την διάγνωση βαθιάς γενικής λοίμωξης όπως σαλπινγίτιδα ή προστατίτιδα.

Η τεχνική της αναστολής του μεταβολισμού χρησιμοποιώντας λυοφιλιμένα αντιδραστήρια και στελέχη αναφοράς είναι η πιο κατάλληλη τεχνική για χρήση από μη εξειδικευμένα εργαστήρια (1).

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.

Η ποσοτική ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι του U.u. ή/και του M.h επιτυγχάνεται με την τεχνική αναστολής μεταβολισμού (2). Η αντίδραση γίνεται σε ένα πλαστικό μέσο, που περιέχει στις σειρές του U.u λινκομυκίνη και στις σειρές M.h ερυθρομυκίνη. Τα πρώτα οκτώ (8) βυθίσματα κάθε πλευράς του πλαστικού μέσου εμβολιάζονται με θρεπτικό υλικό καλλιέργειας UMM το οποίο περιέχει δεικτη pH, το οποίο εκ των προτέρων έχει εμβολιαστεί με μια γνωστή ποσότητα των στελεχών U.u και M.h.

Ο ορός που θα εξεταστεί, διαλύεται σε διαδοχικές αραιώσεις μέσα στο πλαστικό μέσο. Η παρουσία των αντισωμάτων στον ορό προκαλεί αναστολή του πολλαπλασιασμού του μυκοπλάσματος και φαίνεται με μια κίτρινη απόχρωση του θρεπτικού υλικού.

Ωστόσο, στην απουσία αντισωμάτων το μυκοπλάσμα πολλαπλασιάζεται, καταναλώνοντας την ουρία ή την αργινίνη που υπάρχουν στο θρεπτικό υλικό το οποίο έχει ως αποτέλεσμα την πορτοκαλί, την κόκκινη ή την φούξια απόχρωση του θρεπτικού υλικού.

Για κάθε σειρά δοκιμασιών U.u και M.h υπάρχει μάρτυρας

(control) ανάπτυξης (Βύθισμα 1, σηματομενόμενο με T). Αυτό πραγματοποιείται με σκοπό την επιβεβαίωση της ζωτικότητας των στελεχών U.u και M.h, καθώς και της σωστής εκτέλεσης της δοκιμασίας.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Περιγραφή	Ποσότητα	
	00014	00097
UMMt: Φιαλίδιο με 2 mL υγρή βάση θρεπτικού υλικού ανάπτυξης μυκοπλάσμάτων	14	120
UMMIyo: φιαλίδιο με λυοφιλιμένο θρεπτικού ανάπτυξης μυκοπλάσμάτων (+ 2 mL UMMt)	14	120
Uu/Mh: φιαλίδιο που περιέχει λυοφιλοποιημένα στελέχη <i>U. urealyticum</i> και <i>M. hominis</i>	14	120
SEROLOGY: Πλαστικό μέσο με 20 βυθίσματα συσκευασμένο ατομικά σε συσκευασία αλουμινοχάρτου	14	120
Positive control: Θετικός μάρτυρας: Φιαλίδιο που περιέχει διάλυμα γνωστού τίτλου, για την επιβεβαίωση λειτουργίας των αντιδραστηρίων	1	5

Ανασυσταμένο θρεπτικό υλικό (UMMt + UMMIyo) – Σύσταση σε g/L απεσταγμένου νερού.

Ζυμός Μυκοπλάσματος	20
Θρός Πουλαριού	200 mL
Εκχύλισμα ζυμομυκήτων	5,8
Κυστεΐνη	0,3
Αργινίνη	9
Ουρία	3,6
Φαινόλη Κόκκινη	0,04
Αντιβιοτικά	10 mL
pH :6.1± 0.1	

Στελέχη Uu/Mh.

Λυοφιλοποιημένα στελέχη αναφοράς: *U. urealyticum*, ορότυπος 8 και *M. hominis* στέλεχος PG 21.

Πλαστικό μέσο “SEROLOGY” (§9.1)

Γραμμή *U. urealyticum* : Σειρά των πρώτων 8 βυθισμάτων που περιέχουν ένα ειδικό αναστολέα M.h με λινκομυκίνη.
Γραμμή *M. hominis* : Σειρά των πρώτων 8 βυθισμάτων που περιέχουν ένα ειδικό αναστολέα U.u με ερυθρομυκίνη.

Θετικός μάρτυρας

Υγρό θρεπτικό υλικό μυκοπλάσμάτων με ένα μίγμα ειδικών αντιβιοτικών.

5. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Τα αντιδραστήρια σε αυτό το kit ενδείκνυται μόνο για εργαστηριακή χρήση και πρέπει να χειρίζονται μόνο από εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
- Τα δείγματα και τα εμβολιασμένα αντιδραστήρια είναι δυνητικά μολυσματικά και πρέπει να χειρίζονται με προσοχή, σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους ισχύοντες κανόνες για αυτού του τύπου τα προϊόντα στη χώρα της χρήσης.

• Τα θρεπτικά υλικά UMMt και UMMIyo, όσο και το θετικό control περιέχουν πρώτες ύλες ζωικής προέλευσης και πρέπει να χειρίζονται με προσοχή.

• Τα Uu και Mh φιαλίδια περιέχουν βακτήρια της ομάδας 2 (*M. hominis*) και πρέπει να χειρίζονται με προσοχή. Κίνδυνος επιμόλυνσης από βιολογικό παράγοντα.

• Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.

• Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια που έχουν πάθει ζημιά ή δεν έχουν συντηρηθεί σωστά πριν τη χρήση.

• Μετά από το άνοιγμα της συσκευασίας, βγάξτε από το ψυγείο μόνο τα απαιτούμενα αντιδραστήρια. Τα στελέχη Uu και Mh είναι ευαίσθητα στην ζέση και στις αλλαγές της θερμοκρασίας.

• Ένα θετικό αποτέλεσμα με την μέθοδο του SEROLOGY δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί από μόνο του για κλινική διάγνωση. Ο γιατρός έχοντας λάβει υπόψη του τα βιολογικά αποτελέσματα και τα κλινικά συμπτώματα.

6. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ.

- Συλλέξτε το δείγμα αίματος σε ένα απλό, χωρίς πρόσθετα, σωληνάριο.

- Φυγοκεντρήστε για 10 λεπτά στις 2500 στροφές.

- Συλλέξτε τον ορό.

Ο ορός μπορεί να φυλαχτεί για 3 ώρες σε θερμοκρασία 2 - 8 °C ή να καταψυχθεί στους - 20 °C .

Δείγματα από τον ίδιο ασθενή που έχουν ληφθεί σε διάστημα 15 ημερών πρέπει να εξεταστούν ταυτόχρονα.

7. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ.

- Τα αντιδραστήρια, αποθηκευμένα στους 2-8 °C στην αρχική τους συσκευασία, είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί.

- Το UMMIyo (+ 2 mL UMMt) θρεπτικό υλικό της συσκευασίας πρέπει να αναγεννηθεί με το υλικό UMMt (2 ml).

- Τα φιαλίδια των στελεχών Uu και Mh πρέπει να ανασυσταθούν με 1 mL αποστειρωμένο νερό. Αναδεύστε καλά αναποδογυρίζοντας απαλά το φιαλίδιο. Μην το διατηρήσετε μετά την χρήση.

- Το φιαλίδιο με τον θετικό μάρτυρα πρέπει να ανασυσταθεί με 1 ml αποστειρωμένο νερό. Αναδεύστε καλά. Μην το διατηρήσετε μετά την χρήση.

8. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ.

- Αποστειρωμένες πιπέτες
- Αποστειρωμένο νερό
- Παραφινέλαιο
- Επωαστικός Κλίβανος στους 37 °C
- Κουτί απόρριψης μολυσματικών αντικειμένων.

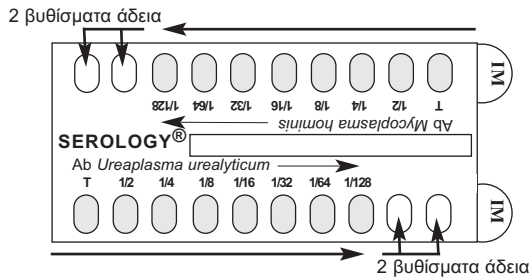
9. ΜΕΘΟΔΟΣ

Αφήνουμε τα αντιδραστήρια να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου (18 - 25 °C) πριν τη χρήση .

9.1 Προετοιμασία και διανομή του εναιωρήματος.

- Εμβολιάστε το αναγεννημένο θρεπτικό υλικό UMMIyo με 400 μL από το βακτηριακό εναιώρημα (στελέχη U.u /M.h).

- Κολλήστε ετικέτα σε κάθε tray, ανασηκώστε την αυτοκόλλητη ταινία, έπειτα προσθέστε 100 μL προετοιμασμένου αντιδραστηρίου σε καθένα από τα 8 βυθίσματα της U.u και της M.h σειράς. Τα δύο τελευταία βυθίσματα κάθε σειράς (άδεια βυθίσματα) δεν χρειάζεται να γεμισθούν.



9.2. Διανομή του προς εξέταση ορού (ή του θετικού μάρτυρα)

- Προσθέστε 100 μL ορού στο δεύτερο βύθισμα στην μία από τις δύο σειρές των πηγαδιών. Κάνετε διαδοχικές αραιώσεις ορού παίρνοντας 100 μL από το βύθισμα 2 στο βύθισμα 3 και συνεχίστε με αυτό τον τρόπο για κάθε βύθισμα μέχρι το βύθισμα 8 (1/128). Απορρίψτε τα επιπλέον 100 μL από το βύθισμα 8.
- Επαναλάβεται τον ίδιο χειρισμό για την δεύτερη σειρά βυθισμάτων.
- Πριν χρησιμοποιήσετε τη συσκευασία για να εξετάσετε ορό ασθενούς, τα βυθίσματα των 2 σειρών του SEROLOGY πλαστικό μέσο θα πρέπει να εμβολιαστούν με θετικό μάρτυρα.
- Προσθέστε 2 σταγόνες παραφινέλαιο σε κάθε βύθισμα του πλαστικού μέσου.
- Καλύψτε το πλαστικό μέσου με την αυτοκόλλητη ταινία.

9.3 Επώαση του πλαστικού μέσου

- Επώαση το SEROLOGY πλαστικό μέσο για 24 ώρες (48 ώρες αν είναι απαραίτητο (10.1)) στους 37 °C.
- Το tray με το αντιδραστήριο με το θετικό control πρέπει να επωαστεί μόνο για 24 ώρες .

10. ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

10.1 Επικύρωση

Επαληθεύστε ότι τα περιεχόμενα των βυθισμάτων είναι διαυγή.

Μην διαβάσετε το πλαστικό μέσο, εκτός και αν οι μάρτυρες ανάπτυξης (Τ βυθίσματα) είναι θετικοί:

U.u.: Αλλαγή χρώματος από κίτρινο σε κόκκινο ή φούξια.

M.h.: Αλλαγή χρώματος από κίτρινο σε πορτοκαλοκόκκινο ή φούξια.

Ο χρόνος επώασης των δύο στελεχών είναι ανεξάρτητος και εξαρτάται από την αλλαγή χρώματος του θρεπτικού υλικού στα Τ βυθίσματα της κάθε σειράς.

10.2 Ανάγνωση του πλαστικού μέσου

Η παρουσία των αντισωμάτων καθορίζεται από την απουσία αλλαγής χρώματος του θρεπτικού υλικού. Στην απουσία αντισωμάτων το θρεπτικό υλικό χρωματίζεται πορτοκαλοκόκκινο ή φούξια.

Η μεγαλύτερη ανασταλμένη αραιώση (το τελευταίο κίτρινο βύθισμα) αποτελεί τον τίτλο των αντισωμάτων.

10.3 Αξιολόγηση

Η αξιολόγηση πρέπει να βασίζεται στην δοκιμασία δύο δειγμάτων που λήφθηκαν σε διάστημα 15 ημερών και δοκιμάστηκαν ταυτόχρονα. Μόνο μία διαφοροποίηση του τίτλου αντισωμάτων αυτών των δειγμάτων, μεγαλύτερη ή ίση με 2 αραιώσεις, είναι μια ένδειξη προοδευτικής λοίμωξης.

11. ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

11.1 Αντιδραστήριο θετικού μάρτυρα

Ο έλεγχος λειτουργίας των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μετά τη λήψη της συσκευασίας, χρησιμοποιώντας το φιαλίδιο με το θετικό μάρτυρα στην θέση του ορού. Η ανάγνωση των αποτελεσμάτων γίνεται ύστερα από επώαση 24 ωρών. Ο αναμενόμενος τίτλος και των δύο σειρών του πλαστικού μέσου αναφέρεται στην ετικέτα του.

Σημείωση: Ο τίτλος του θετικού μάρτυρα της συσκευασίας, όπως αναφέρεται στην ετικέτα, μπορεί να διαφέρει κατά μια αραιώση.

11.2 Δοκιμασία θετικού μάρτυρα

Η ανάπτυξη του στελέχους στο πρώτο βύθισμα (Τ) της κάθε Uu και Mh σειράς επιβεβαιώνει τη δοκιμασία.

12. ΟΡΙΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Οι ασθενείς, τα δείγματα των οποίων θα δοκιμαστούν δεν πρέπει να βρίσκονται υπό θεραπεία με αντιβιοτικά. Η παρουσία αντιβιοτικών στον ορό μπορεί να αναστείλει των πολλαπλασιασμό των μυκοπλασμάτων και να μας οδηγήσει σε λανθασμένα ανιχνεύσιμα επίπεδα.
- Η ερμηνεία πρέπει να βασίζεται στην δοκιμασία των δύο δειγμάτων που λάβαμε σε διάστημα 15 ημερών και δοκιμάστηκαν ταυτόχρονα.
- Η ορολογική δοκιμασία των μυκοπλασμάτων δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να γίνει υποκατάστατο της καλλιέργειας των οργανισμών για την επιβεβαίωση μίας λοίμωξης ή μίας ανισορροπίας στην μικροβιακή χλωρίδα.

13. ΑΙΤΙΕΣ ΛΑΘΩΝ

- Κακή συντήρηση του ορού
- Κακή συντήρηση των αντιδραστηρίων και της συσκευασίας, και συγκεκριμένα των στελεχών U.u και M.h.
- Θερμοκρασία επώασης μικρότερη των 35 °C ή μεγαλύτερη των 37 °C .
- Ανάγνωση των αποτελεσμάτων πριν το βύθισμα δείκτης ανάπτυξης, Τ, στην U.u. ή στην M.h. πλευρά του πλαστικού μέσου, αλλάζει χρώμα.

14. ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Μια συγκριτική μελέτη έγινε μεταξύ του αντιδραστηρίου SEROLOGY και MYCOKIT SERO αντιδραστηρίου της PBS ORGENICS, σε 100 συνηθισμένα δείγματα ανθρώπινου ορού. (64 δείγματα ορού αρνητικά για anti-Uu και anti-Mh αντισώματα, 28 δείγματα ορού για anti-Uu και anti-Mh αντισώματα, 6 δείγματα ορού θετικά για anti-Uu και αρνητικά για anti-Mh, και 2 δείγματα ορού αρνητικά για anti-Uu και θετικά για anti-Mh.). Και οι 2 μέθοδοι βασίζονται στο ίδιο χημικό συστατικό της αναστολής του μεταβολισμού. Η ανάγνωση του πλαστικού μέσου SEROLOGY έγινε μετά από επώαση 48 ωρών:

- Για την ανίχνευση anti-Uu αντισωμάτων, η ευαισθησία είναι 88,2% και η ειδικότητα είναι 100%. Τα 4 ψευδώς αρνητικά αντιστοιχούσαν σε ένα θετικό δείγμα ορού σε αραιώσεις 1/2 και 1/4 .

- Για την ανίχνευση anti-Mh αντισωμάτων, η ευαισθησία είναι 96.6 % και η ειδικότητα είναι 98.5 %.

- Για τον προσδιορισμό του τίτλου αντισωμάτων , τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν μια συμφωνία 92,5 % , ανεξάρτητα από το μέγεθος της διαφοράς του τίτλου, και μια συμφωνία του 97,5 % για τίτλους εντός μίας αραιώσης.

15. ΕΞΑΛΕΙΨΗ ΑΠΟΡΡΙΜΑΤΩΝ

Τα απόβλητα απορρίπτονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους ισχύοντες κανονισμούς για αυτού του είδους τα προϊόντα στη χώρα χρήσης.

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Escarguel C. et G. Papieroc. 1998. La sérologie des mycoplasmes uro-génitiaux, Spectra Biologie, 88,39-42.
2. Lin J.Sand Kass e.h 1974. Serological reactions of *Mycoplasma hominis* : difference mycoplasmaacidail metabolic inhibition and growth agglutination tests, Infect Immunity .10 535-540.
3. Taylor –Robinson D. 1995. *Ureaplasma urealyticum* (t-strain *Mycoplasma*)and *Mycoplasma hominis* p.1713-1718. Dans Mandell G. L. ,Bennet J.E and Dolin R..Principles and Practices of Infectious Diseases , 4th ed vol2 , Churchill Livingstone , New York.

ELITECH MICROBIO

Parc d'activités du plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
(FRANCE)

Tél : 33 (0)4 94 88 55 00
Fax : 33 (0)4 94 88 55 22

