

Mycoplasma HUF

10 test. Cat no 100339. - GR/CA01/GRM5/0/74. CE

Για την εργαστηριακή διάγνωση των ουρογεννητικών Μυκοπλάσμάτων *M. hominis* & *U. urealyticum*.



1. M. U-A (10 test)
Εμβολιασμός του δείγματος.



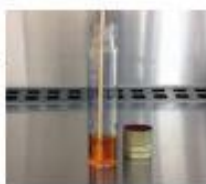
2. MYCOTEST (10 test)
Ταυτοποίηση (βιοχημική)
και ημισποστικός προσδιορισμός.



3. MYCOTEST AGAR (10 test)
Καλλιέργεια, ταυτοποίηση
(μικροσκοπική) και αρίθμηση.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

- 1** Εμβολιάστε το δείγμα στο M. U-A.
Για δείγματα από στειλεό εμβάψτε με περιστροφές του στειλεού.
Για υγρά δείγματα ρίξτε **200μl**.
Τα ούρα πρέπει να φυγοκεντρούνται.



- 2** Από το εμβολιασμένο M. U-A,
ρίξτε **100μl** σε κάθε
σωληνάριο του MYCOTEST
και **10μl** στο MYCOTEST AGAR.



- 3** Κλείστε τα πώματα και επώστε
στους 36 - 37 °C σε αερόθες
συνθήκες για 24 - 72 ώρες.
Το MYCOTEST AGAR πρέπει
να τοποθετείται ανάποδα.



- 4** Φυλάξτε το εμβολιασμένο
M. U-A στην κατάψυξη
(-15 έως -20 °C) μέχρι
να ολοκληρωθεί η εξέταση.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ελέγξτε το MYCOTEST στο πρώτο
24ώρο. Εάν έχει αναπτυχθεί *Mh* ή *Uu*,
το χρώμα του αντίστοιχου υλικού
γίνεται κόκκινο. Συνεχίστε τον έλεγχο
μέχρι και τρία 24ώρα.



Στο MYCOTEST AGAR θα παρατηρήσετε (στο μικροσκόπιο x10
μεγέθυνση) τις χαρακτηριστικές αποικίες των μυκοπλάσμάτων.

Ureaplasma urealyticum:

Αποικίες συμπαιγείς με σκούρο καφέ χρώμα
(σαν ακινός ή σαν καυθάρι).
Έχουν διάμετρο 50 - 100μm.
Αναπτύσσεται σε 36 - 72 ώρες.



Mycoplasma hominis:

Αποικίες στρογγυλές με κοκκώδη επιφάνεια
και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι).
Έχουν διάμετρο 100 - 200μm.
Αναπτύσσεται σε 36 - 72 ώρες.



| Αποικίες ανά οπτικό πεδίο (Μέσος όρος από 10 οπτικά πεδία) | Τίτλος στελέχους |
|---|--------------------|
| 1 έως 2 | $\geq 10^3$ CFU/ml |
| 2 έως 5 | $\geq 10^4$ CFU/ml |
| 5 έως 15 | $\geq 10^5$ CFU/ml |
| 15 και άνω | $\geq 10^6$ CFU/ml |

ΑΝΤΙΒΙΟΓΡΑΜΜΑ

MYCOTEST ST

Τεστ ευαισθησίας στα αντιβιοτικά
των ουρογεννητικών μυκοπλάσμάτων
Mycoplasma hominis,
Ureaplasma urealyticum
(10 test) Cat no 100332



Όταν το αποτέλεσμα του Mycoplasma HUF είναι θετικό για *Mh* ή *Uu*
τότε με το MycoTest ST ελέγξτε την ευαισθησία των Μυκοπλάσμάτων
στην Lincomycin (4μg/ml), Roxithromycin (4μg/ml),
Doxocycline (8μg/ml) και Ofloxacin (4μg/ml).

Σεπαγώστε το εμβολιασμένο M. U-A και ρίξτε 100μl σε κάθε σωληνάριο
του MycoTest ST. Επώστε για 24-48 ώρες στους 36-37 °C.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΟ MYCOTEST ST

| | ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ (Δεν αναπτύσσονται, Κίτρινο - Πορτοκαλί υλικό) | ΑΝΤΟΧΗ (Αναπτύσσονται, Κόκκινο υλικό) |
|-----------------------|---|---|
| <i>U. urealyticum</i> | Roxithromycin Doxycycline Ofloxacin | Lincomycin |
| <i>M. hominis</i> | Lincomycin Doxycycline Ofloxacin | Roxithromycin |

MYCOPLASMA U-A BROTH (M. U-A)

(ΚΩΔΙΚΟΣ: 080096)

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Mycoplasma U-A Broth (M. U-A) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση, τη συντήρηση και μεταφορά των ουρογεννητικών μυκοπλάσμάτων, *Mycoplasma hominis*(Mh) & *Ureaplasma urealyticum*(Uu). Το M. U-A δεν μπορεί από μόνο του να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό μέσο. Γι' αυτό πρέπει πάντα να συνοδεύετε από ένα ταυτοποιητικό μέσο για Μυκόπλασμα (Mycotest Cat. No 100081, Mycoplasma A7 agar Cat no 050080 ή Mycotest Agar Cat. No 100331).

Τα μυκοπλάσματα είναι οι μικρότεροι προκαρυωτικοί οργανισμοί οι οποίοι μπορούν να αναπτυχθούν εξωκυττάρια σε θρεπτικά υλικά. Στερούνται τελείως κυτταρικού τοιχώματος. Σ' αυτήν την ιδιότητά τους οφείλουν την ιδιαίτερη πλαστικότητα τους (πολυμορφισμός), την αντοχή τους στα β-λακταμικά αντιβιοτικά καθώς και άλλα βιολογικά τους χαρακτηριστικά. Περιβάλλονται από τρίστοιβη κυτταροπλασματική μεμβράνη και το σχήμα τους ποικίλει από σφαιρικό, ωοειδές, μέχρι νηματοειδές με εκβλαστήσεις. Η πρωτεϊνοσύνθεσή τους εμποδίζεται από αντιβιοτικά, όπως τετρακυκλίνες, αμινογλυκοσίδες, ερυθρομυκίνη και χλωραμφαινικόλη. Περιέχουν DNA και RNA. Το DNA αποτελεί το 1,5 – 4% του βάρους τους. Το εξαιρετικά μικρό αυτό μέγεθος του γενώματος περιορίζει τη βιοσυνθετική τους ικανότητα, βοηθά στην ερμηνεία των πολύπλοκων θρεπτικών τους απαιτήσεων για καλλιέργεια και συνεπάγεται την σαπροφυτική ή παρασιτική ύπαρξη για τα περισσότερα είδη. Τα μυκοπλάσματα του γεννητικού συστήματος *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* *Mycoplasma fermentans* & *Mycoplasma genitalium* αποτελούν τα πιο συχνά απομονούμενα Mollicutes από λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος. Κλινικές διαστάσεις αυτών των λοιμώξεων είναι υψίστης σημασίας για την ανθρώπινη υγεία.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το M. U-A χρησιμοποιείται για την ανίχνευση, μεταφορά και συντήρηση των Μυκοπλάσμάτων, *M. hominis*(Mh) & *U. urealyticum*(Uu).

Είναι ένας θρεπτικός ζωμός 2ml, διαυγής, χρώματος πορτοκαλί, σε γυάλινο σωληνάριο με βιδωτό μεταλλικό πώμα. Είναι εμπλουτισμένος με όλα τα απαραίτητα στοιχεία που χρειάζεται το Μυκόπλασμα για τον πολλαπλασιασμό και συντήρηση του. Περιέχει μια θρεπτική βάση με πεπτόνη καζεΐνης, εκχύλισμα καρδιακού ιστού από βοοειδή, εκχύλισμα κρέατος και εκχύλισμα μαγιάς. Επίσης εμπλουτίζεται με ορό αλόγου και φρέσκο εκχύλισμα μαγιάς απαραίτητα στοιχεία για τον μεταβολισμό των Μυκοπλάσμάτων. Τέλος περιέχει ουρία, αργινίνη, ερυθρό της φαινόλης, L-Cysteine, NaCl, τρία αντιβιοτικά και ένα αντιμυκητιασικό.

Η ανίχνευση επιτυγχάνεται με την αλλαγή του χρώματος του υλικού από πορτοκαλί σε κόκκινο Το αποτέλεσμα της μεθόδου φαίνεται σε 24 έως 72 ώρες.

Η ουρία είναι πηγή ενέργειας για το *Uu* το οποίο την υδρολύει σε αμμωνία και CO₂, το pH του υλικού γίνεται αλκαλικό και ο δείκτης ερυθρό της φαινόλης από κίτρινος, γίνεται κόκκινος.

Η αργινίνη είναι πηγή ενέργειας για το *Mh* το οποίο την αποκαρβοξυλιώνει, το pH του υλικού γίνεται αλκαλικό και το χρώμα του λόγω του δείκτη ερυθρό της φαινόλης, από κίτρινο γίνεται κόκκινο.

Ο ζωμός παρουσιάζει μόλις υποσημεινόμενη θολερότητα στην περίπτωση ανάπτυξης του *M.h*, ενώ η ανάπτυξη του *U.u* δεν προκαλεί θολερότητα στον ζωμό.

Η συντήρηση των μυκοπλάσμάτων επιτυγχάνεται χάρη στα απαραίτητα συστατικά του ζωμού, την οσμωτική ισορροπία, και το ιδανικό pH. Τα μυκοπλάσματα χρησιμοποιούν το περιβάλλον του ζωμού για να συντηρηθούν χωρίς να πολλαπλασιάζονται αφού για τον μεταβολισμό τους χρειάζονται απαραίτητα θερμοκρασία 35 – 37 °C.

Διατηρούνται σε σταθερό αριθμό για 8 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (22 – 27 °C), 24 ώρες στο ψυγείο(2 – 8 °C) και 15 μέρες στην κατάψυξη (-15 έως – 20 °C).

Τα μίγμα αντιβιοτικών αναστέλλει την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων βακτηρίων.

| ΣΥΝΘΕΣΗ | g/litre |
|---------------------------|----------|
| MYCOPLASMA BROTH | 20 |
| PHENOL RED | 75mg |
| L-CYSTINE | 120mg |
| HORSE SERUM | 100ml |
| POLYENRICHMENT SUPLEMENT | 10ml |
| L-ARGININE | 10 |
| UREA | 5 |
| FRESH YEAST EXTRACT (15%) | 50ml |
| PENICILLINE -G | 100.000U |
| AMPHOTERICIN-B | 0.5mg |

Εμφάνιση: Πορτοκαλί διαυγές

Τελικό pH 6,0 ± 0.1. στους 25 °C

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το M. U-A είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό αντιδραστήριο και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Κατά τη χρήση του φοράμε γάντια.

Λόγω της ύπαρξης τεσσάρων αντιβιοτικών στη σύνθεσή του, σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Ο χειρισμός των δειγμάτων με το M. U-A πρέπει να γίνεται μέσα σε Laminar flow Class II.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το M. U-A είναι ακατάλληλο για χρήση.

Εάν για οποιοδήποτε λόγο (ράγισμα, αποσφράγιση) το αντιδραστήριο έχει περάσει εξωτερικά, μην το χρησιμοποιήσετε.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Το Μ. U-A διατηρείται στους 2 έως 8 °C για 3 μήνες από την ημέρα παραγωγής.

Επίσης διατηρείται στους -18 έως -25 °C για 6 μήνες από την ημέρα παραγωγής.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα σωληνάκια μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 5 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

ΛΗΨΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

1. Κολπικό: Λαμβάνεται με στείλεό. (Χρησιμοποιούμε κολποδιαστολέα).

2. Τραχηλικό: Αφαιρούμε τη βλέννη από το τράχηλο με βαμβακοφόρο στείλεό. Με δεύτερο στείλεό λαμβάνουμε το δείγμα από τον ενδοτράχηλο. Προσοχή, πρέπει να συλλέγονται κύτταρα, διότι σε αυτά βρίσκονται προσκολλημένα τα μυκοπλάσματα.

3. Ουρηθρικό: Το δείγμα λαμβάνεται με περιστροφή του στείλεού στον ουρηθρικό βλεννογόνο.

4. Σπέρμα - Πύον σαλπινγίτιδας: Συλλέγουμε το δείγμα σε αποστειρωμένο φιαλίδιο.

5. Ούρα: Συλλέγουμε τα πρώτα πρωινά ούρα σε αποστειρωμένο ουροσυλέκτη. Γίνεται φυγοκέντρηση 15ml ούρων στις 2000 rpm για 5 λεπτά. Αδειάζουμε το υπερκείμενο και αφήνουμε περίπου 0,5ml ούρων. Αναδεύουμε πολύ καλά μέχρι να διαλυθεί το ίζημα.

6. Γαστρικό έκκριμα: Συλλέγουμε το γαστρικό έκκριμα από το νεογνό σε στείρες συνθήκες σε αποστειρωμένο φιαλίδιο.

ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΟΥ ΖΩΜΟΥ

- Φέρουμε το ζωμό σε θερμοκρασία δωματίου.
- Ανοίγουμε το καπάκι του σωληναρίου και το τοποθετούμε με προσοχή ανεστραμμένο στον πάγκο.
- Για δείγματα από στείλεό, εμβολιάζουμε με περιστροφικές κινήσεις.
- Για υγρά δείγματα, προσθέτουμε 200μl από το δείγμα στο Μ. U-A.
- Κλείνουμε το καπάκι και επωάζουμε στους 35 – 37 °C για 24 - 72 ώρες σε αερόβιες συνθήκες.

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΟ MYCOPLASMA AGAR A7 (Cat no 050080) ή MYCOTEST AGAR (Cat no 100331)

- Τοποθετούμε το τρυβλίο στον επωαστικό μέχρι να στεγνώσει η επιφάνεια του
- Ρίχνουμε 10μl από τον εμβολιασμένο ζωμό στην επιφάνεια του τρυβλίου.
- Τοποθετούμε ανεστραμμένο το τρυβλίο στον επωαστικό (35 - 37 °C) και επωάζουμε σε αερόβιες ή μικροαερόφιλες συνθήκες (5 – 10%) για 24 – 72 ώρες.

Φυλάμε το εμβολιασμένο Μ. U-A στην κατάψυξη (-20 °C) μέχρι να ολοκληρωθεί η εξέταση.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟ ΜΥC. U-A BROTH

- Αλλαγή του χρώματος από κίτρινο σε κόκκινο στο σωληνάριο, υποδηλώνει παθολογική συγκέντρωση στο δείγμα ($>10^3$ CCU/ml) για *Mycoplasma hominis* ή *Ureaplasma urealyticum*.
- Μικρή αλλαγή του χρώματος από κίτρινο σε ροζ, υποδηλώνει ασθενώς θετικό δείγμα ($\leq 10^3$ CCU/ml). Εδώ εξετάζουμε τις εξής περιπτώσεις: α) Είναι πιθανών το δείγμα να έφτασε στο εργαστήριο όχι καλά συντηρημένο (μεταφορά χωρίς ειδικό υλικό για μυκοπλάσματα, όπως stuart ή amies όπου το pH τους είναι απαγορευτικό για τα μυκοπλάσματα, αλλά και τα θρεπτικά συστατικά τους δεν επαρκούν για τη συντήρησή τους). Γι' αυτό παρατείνουμε την επώαση του ζωμού για άλλο ένα εικοσιτετράωρο. Εάν το χρώμα παραμείνει ροζ, και παράλληλα στο τρυβλίο δεν έχουμε καμία ανάπτυξη, ζητάμε επανάληψη της εξέτασης. β) Για δείγματα κατά φύση στείρα, όπως σπέρμα, ούρα κ.α, στα οποία αξιολογούμε και τις μικρότερες συγκεντρώσεις *μυκοπλάσμάτων*, επωάζουμε για 24 ώρες ακόμα. Εάν το χρώμα παραμείνει ροζ το δείγμα χαρακτηρίζεται σαν ασθενώς θετικό ($\leq 10^3$ CCU/ml).
- Καμία αλλαγή του χρώματος και καμία ανάπτυξη στο τρυβλίο A7, υποδηλώνει αρνητικό αποτέλεσμα για *μυκοπλάσματα*.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ ΣΤΟ A7 AGAR (ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ - ΑΡΙΘΜΗΣΗ)

- Mycoplasma hominis*: Αποικίες διαμέτρου 100-200μm. Στρογγυλές, με κοκκώδη επιφάνεια και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι).
- Ureaplasma urealyticum*: Αποικίες πολύ μικρές, διαμέτρου 15 – 25 μm. Συμπαγείς με σκούρο καφέ χρώμα (σαν αχινός).
- Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων γίνεται με την μέτρηση των αποικιών πάνω στο τρυβλίο, ανά οπτικό πεδίο (x10 μεγέθυνση) και εκφράζεται σε CFU (Colony Forming Units).

| Αποικίες ανά οπτικό πεδίο (Μέσος όρος απ' όλη την επιφάνεια) | Τίτλος στελέχους CFU: Colony Forming Units |
|--|--|
| 1 αποικία | $< 10^3$ CFU/ml |
| 2 έως 5 αποικίες | 10^4 CFU/ml |
| 7 έως 10 αποικίες | 10^5 CFU/ml |
| 12 έως 20 αποικίες | 10^6 CFU/ml |
| >20 αποικίες | $>10^6$ CFU/ml |

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

| Μικρόβιο | Χρώμα ζωμού |
|--|---|
| <i>Mycoplasma hominis</i> NCTC 1011110 ⁴ CCU/ml | Κόκκινο ελαφρώς θολερό. Αναπτύσσεται σε 24 – 36 ώρες. |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> NCTC 1017710 ⁴ CCU/ml | Κόκκινο. Αναπτύσσεται σε 24 ώρες. |



ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Όπως αναφέραμε και πιο πάνω το M. U-A περιλαμβάνει τρία αντιβιοτικά και ένα αντιμυκητιασικό για την αναστολή κυρίως των βακτηρίων που διασπούν την ουρία ή την αργινίνη. Όμως εάν η αριθμός τους είναι $>10^6$ CCU/ml τότε μπορεί να αναπτυχθούν και να προκαλέσουν αλλαγή στο χρώμα του υλικού, συνήθως με έντονη θολερότητα.
- Μερικά δείγματα έχουν αλκαλικό pH >8 (σπέρμα) και μπορεί να προκαλέσουν αλλαγή του χρώματος αμέσως μετά τον εμβολιασμό.
- Εάν το δείγμα δεν έχει συντηρηθεί καλά μπορεί να δώσει λανθασμένο αποτέλεσμα.. Γι' αυτό ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν υποδηλώνει πάντα την απουσία λοίμωξης.
- Εάν το M. U-A Broth δεν έχει συντηρηθεί σωστά ή έχει λήξει, δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί.
- Το *Ureaplasma parvum* παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με το *Ureaplasma urealyticum* κατά την ανάπτυξη του στο ζωμό.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

MYCOPLASMA U-A BROTH (M. U-A) - **CE**

| ΕΙΔΟΣ | ΚΩΔΙΚΟΣ | ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ | ΦΥΛΑΞΗ | ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ |
|---------------|---------|------------|----------|-------------|
| Σωληνάριο 2ml | 080096 | 10 τεμάχια | 2 – 8 °C | 3 μήνες |

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714020207WU. EDMA: (14 02 02 07) Mycoplasma / Ureaplasma - (incl. combined ID-AST).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Γ.Β. Χριστάκης Ν.Ι. Λεγάκης: Γυναικολογικές και Μαιευτικές Λοιμώξεις. Κεφ.9 Σελ. 173. Μυκοπλάσματα.

Αντωνιάδης Α. Αντωνιάδης Γρ. Λεγάκης Ν. Τσελέντης Ι.: Ιατρική Μικροβιολογία. Σελ. 177. Μυκοπλάσματα.

Αντιγόνη Αρσένη: Κλινική Μικροβιολογία. Κεφάλαιο 27^ο Μυκοπλάσματα. Σελ. 722-740.

David Greenwood. Richard Slack. John Peutherer: 42 Mycoplasmas. Page 381 – 391.

Bebear C., De Barbeyrac B., Bernet C., Renaudin H., (1989) Ann. Biol. Clin., 47, 415 – 420

Bebear C. (1988) Pathologie Biologie, 36, 496-499

Bebear, C. Et B. De Barbeyrac. 1994. Les mycoplasmes, p. 1443-1463. Dans J. Freney, F. Renaud, W. Hansen et C. Bollet(ed)., Manual bacteriologi clinique vol.3, 2 edition. Elsevier, Paris.

MYCOTEST™

(ΚΩΔΙΚΟΣ:100081)

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Mycotest χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση και τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των ουρογεννητικών Μυκοπλασμάτων *M. hominis* (*M.h.*) και *U. urealyticum* (*U.u.*).

Τα μυκοπλάσματα *Mh* και *Uu* είναι μικροί (0,2 – 0,5 μm) πλειομορφικοί μικροοργανισμοί που στερούνται κυτταρικού τοιχώματος, περικλειόμενοι μόνο από κυτταρική μεμβράνη, πλούσια σε στερόλες.

Λόγω της ελλείψεως κυτταρικού τοιχώματος, το σχήμα τους δεν είναι σταθερό και δεν χρωματίζονται με Gram χρώση. Για τον ίδιο λόγο, τα β-λακταμικά αντιβιοτικά δεν είναι δραστικά εναντίον τους.

Είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα και έχουν μεγάλες τροφικές απαιτήσεις. Για να γίνει σωστή διάγνωση, απαιτείται ειδική φροντίδα στα δείγματα όπως, σωστή λήψη, μεταφορά και συντήρηση με ειδικό υλικό για μυκοπλάσματα (MYC. U-A Broth) και διάγνωση με θρεπτικά υλικά εμπλουτισμένα με τα απαραίτητα συστατικά.

Τα *Mh* και *Uu* σε ορισμένες κατηγορίες υγιών ανδρών και γυναικών συμβιών και αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του κατώτερου ουρογεννητικού συστήματος. Ο αποικισμός αυτός ποικίλει και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως την ηλικία, τη φυλή, την ορμονική κατάσταση, τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων και είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες, ιδιαίτερα στην εγκυμοσύνη.

ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΑ

ΑΝΔΡΕΣ: 1) Ουρηθρίτιδα (NCNGU) (μη χλαμυδιακή, μη γονοκοκκική). 2) Προστατίτιδα.

3) Επιιδυμίτιδα. 4) Υπογονιμότητα (Μορφολογικές και λειτουργικές διαταραχές σπερμ/ρίων).

ΓΥΝΑΙΚΕΣ: 1) Κολπίτιδα, τραχηλίτιδα, βαρθολινίτιδα, σύνδρομο ουρήθρας. 2) Επιλόχειος πυρετός.

3) Φλεγμονή της πυέλου (PID). 4) Συμμετοχή σε παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την αναπαραγωγή όπως: καθ' έξιν αποβολές, θνησιγενή προωρότητα, χοριοαμνίτιδα, γέννηση νεογνών με χαμηλό βάρος.

ΝΕΟΓΝΙΚΗ – ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ: 1) Βακτηριαμία. 2) Σηψαιμία. 3) Λοιμώξεις αναπνευστικού και νευρικού συστήματος. 4) Βρογχοπνευμονική δυσπλασία, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα..

Ο αποικισμός των νεογνών συμβαίνει είτε κατά την ενδομήτρια ζωή, είτε από επαφή με τα μυκοπλάσματα του κόλπου κατά τον τοκετό. Η συχνότητα αποικισμού σε νεογνά φθάνει το 50% και είναι ιδιαίτερα υψηλή σε νεογνά χαμηλού βάρους γέννησης, όταν ο κόλπος των μητέρων παρουσιάζει υψηλό αποικισμό μυκοπλασμάτων.

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

Αρθρίτιδα (σηπτική σε άτομα με υπογαμμασφαιριναιμία, SARA), περιτονίτιδα, επίδραση στο ουροποιητικό σύστημα (ουρολοιμωξη, πυελονεφρίτιδα, σχηματισμός λίθων).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Mycotest είναι ένα κιτ δύο σωληναρίων με υγρό υλικό έτοιμο προς χρήση.

Το Σωληνάριο με την ένδειξη **Mh** ταυτοποιεί το *Mycoplasma hominis* και το σωληνάριο με την ένδειξη **Uu** το *Ureaplasma urealyticum*.

Η ταυτοποίηση βασίζεται στην ιδιότητα των *Mh* και *Uu* να διασπούν την αργινίνη και την ουρία αντίστοιχα. Με τη διάσπαση τους το pH του υλικού γίνεται αλκαλικό και το χρώμα του αλλάζει από πορτοκαλί σε κόκκινο.

Το παθολογικό αποτέλεσμα με συγκέντρωση $\geq 10^4$ CFU/ml φαίνεται σε 24 ώρες.

Ο ημιποσοτικός προσδιορισμός υπολογίζεται, με βάση την ποσότητα της αργινίνης και της ουρίας.

Η προσθήκη πέντε αντιβιοτικών θωρακίζει τους ζωμούς με υψηλή ανασταλτικότητα έναντι βακτηρίων και μυκήτων που θα μπορούσαν κατά την ανάπτυξη τους να μας δώσουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

| ΣΥΝΘΕΣΗ | g/litre |
|---------------------------|----------|
| MYCOPLASMA BROTH | 20 |
| PHENOL RED | 75mg |
| L-CYSTINE | 120mg |
| HORSE SERUM | 200ml |
| POLYENRICHMENT SUPPLEMENT | 10ml |
| L-ARGININE | 10 |
| UREA | 5 |
| FRESH YEAST EXTRACT (15%) | 50ml |
| PENICILLINE -G | 100.000U |
| AMPHOTERICIN-B | 0.5mg |

Εμφάνιση: Πορτοκαλί διαυγές

Τελικό pH $6,0 \pm 0,1$ στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το Mycotest είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό αντιδραστήριο και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Κατά τη χρήση του φοράμε γάντια.

Λόγο της ύπαρξης πέντε αντιβιοτικών στη σύνθεση του, σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλένουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Ο χειρισμός των δειγμάτων με το Mycotest να γίνεται μέσα σε Laminar air flow Class II.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το Mycotest είναι ακατάλληλο για χρήση.

Εάν για οποιονδήποτε λόγο (ράγισμα, αποσφράγιση) το αντιδραστήριο έχει περάσει εξωτερικά μην το χρησιμοποιήσετε.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Το Mycotest διατηρείται στους 2 έως 8 °C για 3 μήνες από την ημέρα παραγωγής.

Επίσης διατηρείται στους -18 έως -25 °C για 6 μήνες από την ημέρα παραγωγής.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα σωληνάκια μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 5 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ: ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ Προσοχή το δείγμα πρέπει να συλλέγεται πριν από οποιαδήποτε θεραπεία. Η διαδικασία συλλογής πρέπει να γίνεται με σωστό και σταθερό τρόπο ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση του δείγματος από άλλους μικροοργανισμούς. Η μεταφορά του πρέπει να γίνεται με ειδικό υλικό για μυκοπλάσματα (M. U-A 2ml Κωδ. 080096) μέσα σε 24 ώρες και να συντηρείται με παγοκύστες σε χαμηλή θερμοκρασία. Εάν η λήψη γίνει στο εργαστήριο, κάντε τον εμβολιασμό όσο το δυνατόν συντομότερα. Εάν ο εμβολιασμός γίνει στο M. U-A το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί σταθερό για 8 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, 24 ώρες στους 2 – 8 °C και 15 μέρες στους -20 °C. **Κολπικό – τραχηλικό δείγμα:** Με τη χρήση κολποδιαστολέα και με ένα βαμβακοφόρο στειλεό αφαιρούμε τη βλέννη

από τον έξω κόλπο. Με δεύτερο στειλέο λαμβάνουμε το δείγμα από τον ενδοτράχηλο. Προσοχή, πρέπει να συλλέγονται κύτταρα, διότι σε αυτά βρίσκονται προσκολλημένα τα μυκοπλάσματα. **Ουρηθρικό δείγμα:** Καθαρίζουμε την ουρήθρα και τη γύρω περιοχή χωρίς τη χρήση αντισηπτικού. Μετά συλλέξτε το δείγμα με περιστροφή του στειλεού στον ουρηθρικό βλεννογόνο. Το δείγμα πρέπει να συλλέγεται μετά από δύο έως τρεις ώρες από την τελευταία ενούρηση. **Σπέρμα – Πύον σαλπγγίτιδας – Γαστρικό έκκριμα:** Συλλέγουμε το σπέρμα και το πύον σαλπγγίτιδας μέσα σε αποστειρωμένο ουροσυλλέκτη Το γαστρικό έκκριμα συλλέγεται από τον καθετήρα του νεογνού μέσα σε αποστειρωμένο σωληνάριο. Γίνεται αραιώση 1:10 σε ζωμό μυκοπλάσματος (MYC. U-A Broth). Προσοχή ποτέ μην ρίξετε το σπέρμα χωρίς αραιώση στο MycoTest διότι το αλκαλικό του pH αλλάζει το χρώμα του υλικού από κίτρινο σε ροζ. **Ούρα:** Συλλέγουμε τα πρώτα πρωινά ούρα σε αποστειρωμένο ουροσυλλέκτη. Γίνεται φυγοκέντρηση 15ml ούρων στις 2000 rpm για 5 λεπτά. Αδειάζουμε το υπερκείμενο και αφήνουμε περίπου 0,5ml ούρων αναδεύουμε καλά και ρίχνουμε 200μl στο σωληνάριο M. U-A.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ MYCOTEST

A. ΜΕΘΟΔΟΣ: ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

ΑΜΕΣΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MYCOTEST ΜΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΠΟ ΣΤΕΙΛΕΟ (ΚΟΛΠΙΚΟ, ΟΥΡΗΘΡΙΚΟ)

- Φέρουμε το Mycotest σε θερμοκρασία δωματίου. Βγάζουμε το πώμα και το ακουμπάμε ανεστραμμένο σε καθαρό μέρος.
- Εμβαπτίζουμε το στειλέο με ήπιες περιστροφές, πρώτα στο σωληνάριο ουρίας (*Uu*) και έπειτα στο σωληνάριο αργινίνης (*Mh*) για τρία δεύτερα σε κάθε σωληνάριο.
- Κλείνουμε το καπάκι και επωάζουμε στους 36 – 37 °C για 24 – 48 ώρες σε αερόβιες συνθήκες.

B. ΜΕΘΟΔΟΣ: ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΗΜΙΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

ΔΕΙΓΜΑΤΑ: ΚΟΛΠΙΚΟ, ΟΥΡΗΘΡΙΚΟ, ΣΠΕΡΜΑ, ΟΥΡΑ κτλ.

Για να δουλέψουμε τη B. μέθοδο θα χρειαστούμε το M. U-A Broth 2ml. Κωδικός 080096.

- Εμβολιάζουμε το δείγμα το συντομότερο δυνατόν, στο σωληνάριο **M. U-A**.
- Όταν το δείγμα είναι από στειλέο εμβαπτίζουμε με περιστροφές και στη συνέχεια πετάμε το στειλέο.
- Όταν το δείγμα είναι υγρό (ούρα, σπέρμα) ρίχνουμε 200μl στο **M U-A** και ανακατεύουμε σε βόλτερ.

Τα ούρα πρέπει να φυγοκεντρούνται. (Συλλέγουμε τα πρώτα πρωινά ούρα σε αποστειρωμένο ουροσυλλέκτη. Γίνεται φυγοκέντρηση 15ml ούρων στις 2000 rpm για 5 λεπτά. Ρίχνουμε 200μl από το ίζημα στο σωληνάριο M. U-A).

- Από το εμβολισμένο M U-A ρίχνουμε 100μl σε κάθε σωληνάριο του MYCOTEST.
- Κλείνουμε τα σωληνάρια και επωάζουμε στους 36 - 37 °C σε αερόβιες συνθήκες για 24 – 72 ώρες.

Φυλάμε το εμβολιασμένο M. U-A στην κατάψυξη (-20 °C) μέχρι να ολοκληρωθεί η εξέταση.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ A. ΜΕΘΟΔΟΥ

- Κάνουμε διαδοχικούς ελέγχους στις 24 και 48 ώρες.
- Αλλαγή του χρώματος από πορτοκαλί σε κόκκινο μετά από 24 ώρες σε ένα από τα δύο σωληνάρια, υποδηλώνει την παρουσία και ανάπτυξη *Mh* ή *Uu* αντίστοιχα σε παθολογικό αριθμό συγκέντρωσης, περίπου $>10^3$ CCU/ml.
- Μικρή αλλαγή του χρώματος μετά από 24 ώρες υποδηλώνει ασθενώς θετικό δείγμα με αριθμό συγκέντρωσης $\leq 10^3$ CCU/ml. Αυτή η συγκέντρωση μπορεί να χαρακτηριστεί σαν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας για ορισμένες κατηγορίες ανθρώπων (βλέπε εισαγωγή). Σε άλλες κατηγορίες όπως μικρή ηλικία, το MycoTest αξιολογείται σαν θετικό. Και στις δύο περιπτώσεις επωάζουμε για 24 ώρες ακόμα. Στο δεύτερο εικοσιτετράωρο το σωληνάριο συνήθως γίνεται θετικό (κόκκινο).
- Καμία αλλαγή του χρώματος υποδηλώνει απουσία για *Mh* και *Uu* στο δείγμα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΓΚΥΩΝ ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ Η ΠΑΡΑΛΛΗΛΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MYCOTEST AGAR Ή ΤΟΥ MYCOPLASMA AGAR A7 ΔΙΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΝΑ ΚΑΘΟΡΙΖΟΥΜΕ ΜΕ ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΤΗΝ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΩΝ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ. (1 – 2 ΑΠΟΙΚΙΕΣ 10^3 CFU/ml)

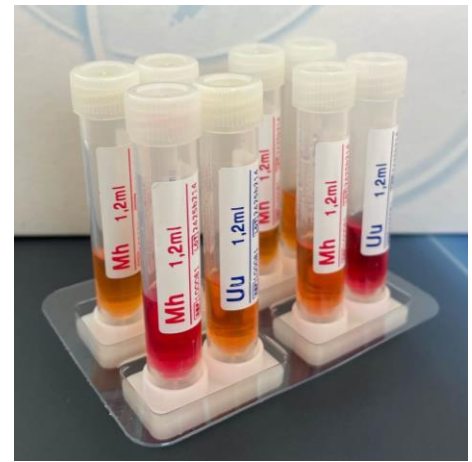
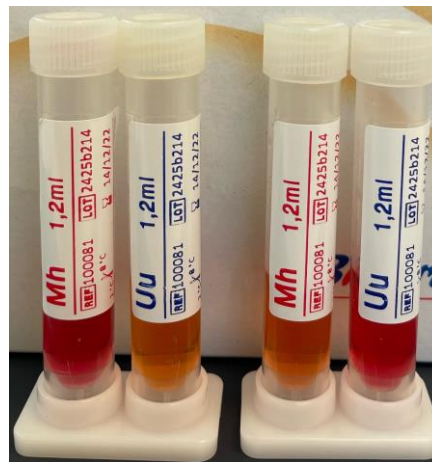
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ B. ΜΕΘΟΔΟΥ

- Κάνουμε διαδοχικούς ελέγχους σε 24, 48 και 72 ώρες.
- Αλλαγή του χρώματος από πορτοκαλί σε κόκκινο μετά από 24 ώρες, στο ένα ή και στα δύο σωληνάρια, υποδηλώνει την παρουσία και ανάπτυξη *Mh* ή *Uu* σε παθολογικό αριθμό συγκέντρωσης ($\geq 10^4$ CCU/ml).
- Μικρή αλλαγή του χρώματος σε ροζ, υποδηλώνει μικρότερο αριθμό συγκέντρωσης ($\leq 10^3$ CCU/ml) για *Mh* ή *Uu*. Αυτή η συγκέντρωση μπορεί να χαρακτηριστεί σαν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας για ορισμένες κατηγορίες ανθρώπων (βλέπε εισαγωγή). Σε άλλες κατηγορίες όπως μικρή ηλικία, το MycoTest αξιολογείται σαν θετικό. Και στις δύο περιπτώσεις επωάζουμε για 24 ώρες ακόμα. Στο δεύτερο εικοσιτετράωρο το σωληνάριο συνήθως γίνεται θετικό (κόκκινο).
- Καμία αλλαγή του χρώματος μετά από 72 ώρες επώασης υποδηλώνει απουσία για *Mh* και *Uu* στο δείγμα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΓΙΑ ΤΑ ΥΓΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΥΝΙΣΤΑΤΑΙ Η ΠΑΡΑΛΛΗΛΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ MYCOTEST AGAR Ή ΤΟΥ MYCOPLASMA AGAR A7 ΔΙΟΤΙ ΕΙΝΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΝΑ ΚΑΘΟΡΙΖΕΤΑΙ Η ΑΚΡΙΒΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

| Μικρόβιο | Χρώμα ζωμού |
|---|--|
| <i>Mycoplasma hominis</i> NCTC 10111 (10^4 CCU/ml) | Κόκκινο. Αναπτύσσεται σε 24 – 36 ώρες. |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> NCTC 10177 (10^4 CCU/ml) | Κόκκινο. Αναπτύσσεται σε 24 ώρες. |



M. hominis (+)

U. Urealyticum (+)

Βάση ομαδοποίησης Mycotest.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Όπως αναφέραμε και πιο πάνω το Mycotest περιλαμβάνει τέσσερα αντιβιοτικά και ένα αντιμυκητιασικό, για την αναστολή κυρίως των βακτηρίων που διασπούν την ουρία ή την αργινίνη. Όμως εάν η αριθμός τους είναι $>10^6$ CFU/ml τότε μπορεί να αναπτυχθούν και να προκαλέσουν αλλαγή στο χρώμα του υλικού. Συνήθως με έντονη θολερότητα.
- Μερικά δείγματα έχουν αλκαλικό pH (≥ 8 σπέρμα) και μπορεί να προκαλέσουν αλλαγή του χρώματος αμέσως μετά τον εμβολιασμό.
- Εάν το δείγμα δεν έχει συντηρηθεί σωστά μπορεί να δώσει λανθασμένο αποτέλεσμα.. Γι' αυτό ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν υποδηλώνει πάντα την απουσία λοίμωξης.
- Mycotest που δεν έχουν συντηρηθεί σωστά ή έχουν λήξει δεν πρέπει να χρησιμοποιηθούν.
- Το *Ureaplasma parvum* παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με το *Ureaplasma urealyticum* κατά την ανάπτυξη του στο ζωμό.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικός μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

MYCOTEST™ - CE

| ΕΙΔΟΣ | ΚΩΔΙΚΟΣ | ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ | ΦΥΛΑΞΗ | ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ |
|-------------------|---------|------------|----------|-------------|
| Σωληνάκια 2X1,2ml | 100081 | 10 τεμάχια | 2 – 8 °C | 3 μήνες |

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Βιοργεράρε σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714020207WU. EDMA: (14 02 02 07) Mycoplasma / Ureaplasma - (incl. combined ID-AST).

Η εταιρεία Βιοργεράρε έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Γ.Β. Χριστάκης Ν.Ι. Λεγάκης: Γυναικολογικές και Μαιευτικές Λοιμώξεις. Κεφ.9 Σελ. 173. Μυκοπλάσματα.

Αντωνιάδης Α. Αντωνιάδης Γρ. Λεγάκης Ν. Τσελέντης Ι.: Ιατρική Μικροβιολογία. Σελ. 177. Μυκοπλάσματα.

Λιτωγόνη Αρσένη: Κλινική Μικροβιολογία. Κεφάλαιο 27° Μυκοπλάσματα. Σελ. 722-740.

Λοιμώξεις από μυκοπλάσματα. Νεότερα Δεδομένα.: Ημερίδα Ιασώ (5^{ος} 2005). Π.Ι. Βασιλοπούλος (Επ. καθ. Μαιευτ. – Γυν.) Δ. Στεφανίδης (Επ. καθηγ. Μικροβιολογίας, διευθ.

Κεντρικών εργαστηρίων Ιασώ). Δ.Σ. Φαναριώτης (Δρ. Ιατρ. Παν. Αθηνών).

Mycoplasmas of Humans: A. Blanchard and Cecile M. Bebear. Charte 25. In Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas Ed. By Rin and Herman N. 2002

David Greenwood. Richard Slack. John Peutherer: 42 Mycoplasmas. Page 381 – 391.

Bebear, C. Et B. De Barbeyrac. 1994. Les mycoplasmes, p. 1443-1463. Dans J. Freney, F. Renaud, W. Hansen et C. Bollet(ed), Manual bacteriologie clinique vol.3, 2 edition. Elsevier, Paris.

MYCOTEST AGAR®™

(ΚΩΔΙΚΟΣ: 100331)

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το MYCOTEST AGAR είναι ένα τρυβλίο μικροσκοπίου το οποίο χρησιμοποιείται για την εργαστηριακή διάγνωση των ουρογεννητικών μυκοπλάσμάτων *M. hominis* (Mh), *U. urealyticum* (Uu) και *M. Fermentans* (Mf). Αυτό επιτυγχάνεται με την εκλεκτική καλλιέργεια, την μικροσκοπική ταυτοποίηση και την αριθμητική εκτίμηση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μυκοπλάσματα Mh και Uu είναι μικροί (0,2 – 0,5 μm) πλειομορφικοί μικροοργανισμοί που στερούνται κυτταρικού τοιχώματος, περικλειόμενοι μόνο από κυτταρική μεμβράνη, πλούσια σε στερόλες.

Λόγω της ελλείψεως κυτταρικού τοιχώματος, το σχήμα τους δεν είναι σταθερό και δεν χρωματίζονται με Gram χρώση. Για τον ίδιο λόγο τα β-λακταμικά αντιβιοτικά δεν είναι δραστικά εναντίον τους.

Είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα και έχουν μεγάλες τροφικές απαιτήσεις. Για να γίνει σωστή διάγνωση, απαιτείται ειδική φροντίδα στα δείγματα όπως, σωστή λήψη, μεταφορά και συντήρηση με ειδικό υλικό για μυκοπλάσματα (MYCOPLASMA U-A BROTH 2ml Cat no 080096) και διάγνωση με θρεπτικά υλικά εμπλουτισμένα με τα απαραίτητα συστατικά.

Τα *Mh* και *Uu* σε ορισμένες κατηγορίες υγιών ανδρών και γυναικών συμβιών και αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του κατώτερου ουρογεννητικού συστήματος. Ο αποικισμός αυτός ποικίλει και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως την ηλικία, τη φυλή, την ορμονική κατάσταση, τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων και είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες, ιδιαίτερα στην εγκυμοσύνη.

ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΑ

ΑΝΔΡΕΣ: 1) Ουρηθρίτιδα (NCNGU) (μη χλαμυδιακή, μη γονοκκοκική). 2) Προστατίτιδα.

3) Επιδιδομίτιδα. 4) Υπογονιμότητα (Μορφολογικές και λειτουργικές διαταραχές σπερμ/ρίων).

ΓΥΝΑΙΚΕΣ: 1) Κολπίτιδα, τραχηλίτιδα, βαρθολινίτιδα, σύνδρομο ουρήθρας. 2) Επιλόχειος πυρετός.

3) Φλεγμονή της πυέλου (PID). 4) Συμμετοχή σε παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την αναπαραγωγή όπως: καθ' ἑξιν αποβολές, θνησιγενή προωρότητα, χοριοαμνίτιδα, γέννηση νεογνών με χαμηλό βάρος.

ΝΕΟΓΝΙΚΗ – ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ: 1) Βακτηριαμία. 2) Σηψαιμία. 3) Λοιμώξεις αναπνευστικού και νευρικού συστήματος. 4) Βρογχοπνευμονική δυσπλασία, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα.

Ο αποικισμός των νεογνών συμβαίνει είτε κατά την ενδομήτρια ζωή, είτε από επαφή με τα μυκοπλάσματα του κόλπου κατά τον τοκετό. Η συχνότητα αποικισμού σε νεογνά φθάνει το 50% και είναι ιδιαίτερα υψηλή σε νεογνά χαμηλού βάρους γέννησης, όταν ο κόλπος των μητέρων παρουσιάζει υψηλό αποικισμό μυκοπλασμάτων.

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

Αρθρίτιδα (σηπτική σε άτομα με υπογαμασφαιριναιμία, SARA), περιτονίτιδα, επίδραση στο ουροποιητικό σύστημα (ουρολοίμωξη, πυελονεφρίτιδα, σχηματισμός λίθων).

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Mycotest Agar χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια, απομόνωση, ταυτοποίηση και αριθμητική εκτίμηση των Μυκοπλασμάτων *M. hominis*, *U. urealyticum* και *M. fermentans*.

Το Mycotest Agar συνδυάζει μια πολλή πλούσια σε θρεπτικά συστατικά βάση και υψηλή ανασταλτικότητα στα ανεπιθύμητα βακτήρια και μύκητες.

Η πλήρης ανάπτυξη των μυκοπλασμάτων επιτυγχάνεται σε 24 ώρες εκτός από περιπτώσεις εξασθενημένων στελεχών που χρειάζονται και δεύτερο εικοσιτετράωρο.

Η καινοτόμος σχεδίαση του τρυβλίου μικροσκοπίου βοηθάει τον εργαστηριακό γιατρό στην καλύτερη και πιο σταθερή διάγνωση, αφού με την πλήρη επίστρωση του δείγματος σε όλη την επιφάνεια του άγαρ πετυχαίνουμε ακριβέστερη καταμέτρηση των αποικιών, πιο εύκολη εύρεση οπτικού πεδίου και καλύτερη ανάπτυξη των μυκοπλασμάτων λόγω της νέας σύνθεσης του υλικού.

Το Mycotest Agar μπορεί να χρησιμοποιηθεί μαζί με το Mycotest, για μια ολοκληρωμένη διάγνωση η οποία θα μας οδηγήσει στο επόμενο βήμα που είναι ο έλεγχος ευαισθησίας στα αντιβιοτικά (Mycotest ST).

Οι πεπτόνες, ο ορός αλόγου, το εκχυλίσιμα μαγιάς, η ουρία και τα θρεπτικά εμπλουτιστικά, παρέχουν όλα τα απαραίτητα συστατικά για τον πολλαπλασιασμό των *Mh*, *Mf* και *Uu*.

Το pH του υλικού παραμένει πάντα στο 6,4 που είναι ιδανικό για τον πολλαπλασιασμό του *Uu*.

Το MnSO₄ οξειδώνεται κατά την ανάπτυξη του *Uu* και έτσι οι αποικίες του αποκτούν ένα καφέ - μαύρο χρώμα.

Ένα μίγμα δύο αντιβιοτικών και ενός αντιμυκητιασικού αναστέλλει την ανάπτυξη των περισσότερων βακτηρίων και των στελεχών *Candida*.

Έτσι επιτυγχάνουμε την απομόνωση των *Mh*, *Uu* & *Mf*.

Η ταυτοποίηση επιτυγχάνεται με τον έλεγχο του πλακιδίου στο μικροσκόπιο (x10 μεγέθυνση) όπου τα μυκοπλάσματα έχουν χαρακτηριστικές διαφορές. *Mh* αποικίες σαν αυγό μάτι. *Mf* αποικίες σαν αυγό μάτι με φυσαλιδώδη περιφέρεια. *Uu* αποικίες σαν αχινός ή σαν κουβάρι.

| ΣΥΝΘΕΣΗ | g/litre |
|---------------------------|-----------|
| Mycoplasma agar base | 42g |
| Horse Serum | 200ml |
| Yeast extract | 5g |
| MnSO ₄ | 0,1g |
| Polyenrichment supplement | 10ml |
| L-Cysteine | 0,1g |
| Penicillig - G | 600.000 U |
| Amphotericin - B | 6 mg |
| Polymyxin - B | 50 mg |

Εμφάνιση: Μπεζ σκούρο διαυγές

Τελικό pH 6,4 ± 0.1 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το Mycotest Agar είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό αντιδραστήριο και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσιμα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των δειγμάτων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Εάν το κιτ είναι ραγισμένο, μην το χρησιμοποιήσετε.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό λείο και διαυγές.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το Mycotest Agar είναι ακατάλληλο για χρήση.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλι ή με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 18 - 25 °C για 4 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ: ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Προσοχή το δείγμα πρέπει να συλλέγεται πριν από οποιαδήποτε θεραπεία. Η διαδικασία συλλογής πρέπει να γίνεται με σωστό και σταθερό τρόπο ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση του δείγματος από άλλους μικροοργανισμούς. Η μεταφορά του πρέπει να γίνεται με ειδικό υλικό για μυκοπλάσματα

(M. U-A, Cat no 080096) μέσα σε 24 ώρες και να συντηρείται με παγοκύστες σε χαμηλή θερμοκρασία. Εάν η λήψη γίνει στο εργαστήριο, κάντε τον εμβολιασμό στο M. U-A όσο το δυνατόν συντομότερα. Το εμβολιασμένο δείγμα μπορεί να διατηρηθεί σταθερό για 6 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, για 24 ώρες στους 2 – 8 °C και για 15 μέρες στους –20 °C .

Κολπικό – τραχηλικό δείγμα

Με τη χρήση κολποδιαστολέα και με ένα βαμβακοφόρο στελεό αφαιρούμε τη βλέννη από τον έξω κόλπο. Με δεύτερο στελεό λαμβάνουμε το δείγμα από τον ενδοτράχηλο. Προσοχή, πρέπει να συλλέγονται κύτταρα, διότι σε αυτά βρίσκονται προσκολλημένα τα μυκοπλάσματα.

Ουρηθρικό δείγμα

Καθαρίζουμε την ουρήθρα και τη γύρω περιοχή χωρίς τη χρήση αντισηπτικού. Μετά συλλέξτε το δείγμα με περιστροφή του στειλεού στον ουρηθρικό βλεννογόνο. Το δείγμα πρέπει να συλλέγεται μετά από δύο έως τρεις ώρες από την τελευταία ενούρηση.

Σπέρμα – Πύον σαλπγγίτιδας – Γαστρικό έκκριμα

Συλλέγουμε το σπέρμα και το πύον σαλπγγίτιδας μέσα σε αποστειρωμένο ουροσυλέκτη

Το γαστρικό έκκριμα συλλέγεται από τον καθετήρα του νεογνού μέσα σε αποστειρωμένο σωληνάριο.

Ρίχνουμε 200μl στο σωληνάριο M. U-A.

Ούρα

Συλλέγουμε τα πρώτα πρωινά ούρα σε αποστειρωμένο ουροσυλέκτη. Γίνεται φυγοκέντρηση 15ml ούρων στις 2000 rpm για 5 λεπτά.

Ρίχνουμε 200μl από το ίζημα στο σωληνάριο M. U-A.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΧΡΗΣΗΣ ΤΟΥ MYCOTEST AGAR

Για να είναι δυνατή η χρήση του Mycotest Agar χρειαζόμαστε τα εξής:

α) M. U-A BROTH (Cat no 080096).

β) Πιπέτες των 10 και 200μl.

- Τοποθετούμε το MYCOTEST AGAR στον επωαστικό κλίβανο μισή ώρα περίπου, με το πώμα χαλαρωμένο για να στεγνώσει η επιφάνεια του.
- Σε ένα σωληνάριο M. U-A εμβολιάζουμε το δείγμα. Εάν το δείγμα είναι από στελεό εμβαπτίζουμε στο υλικό με ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Εάν το δείγμα είναι υγρό ρίχνουμε 200μl και αναδεύουμε το τελικό εναιώρημα.
- Από το εμβολιασμένο M. U-A ρίχνουμε 10μl στην επιφάνεια του MYCOTEST AGAR.
- Επιστρώνουμε τη σταγόνα σε όλη την επιφάνεια του άγαρ με οριζόντιες περιστροφικές κινήσεις του πλακιδίου.
- Βιδώστε τα πώματα του M. U-A και του MYCOTEST AGAR και επώαστε στους 36 - 37 °C σε αερόβιες συνθήκες για 48 ώρες.
- Για να εξοικονομήσετε χώρο στον επωαστικό σας κλίβανο χρησιμοποιήστε το ειδικό στατό της *Bioprepare*. Το Mycotest Agar να τοποθετείται πάντα με το πώμα προς τα κάτω (ανάποδα).

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ (ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ - ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ)

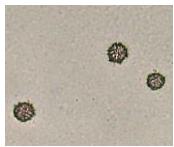
- Μετά από 48 ώρες ελέγχουμε το MYCOTEST AGAR και το M. U-A.
- Στο M. U-A εάν έχει αναπτυχθεί *Mh* ή *Uu*, το χρώμα του υλικού γίνεται κόκκινο. Το *Mh* προκαλεί μικρή θολερότητα στο υλικό. Το *M. fermentans* διασπά την αργινίνη πολύ αργά και αλλάζει το χρώμα στο υλικό από πορτοκαλί σε κόκκινο μετά από 6 έως 8 μέρες
- Από το MYCOTEST AGAR βγάζουμε το καπάκι και το τοποθετούμε στο μικροσκόπιο.
- Κλείνουμε τελείως το διάφραγμα του μικροσκοπίου και ανεβάζουμε την ένταση του φωτισμού. Φέρουμε το 10αρι φακό στη θέση του και βρίσκουμε οπτικό πεδίο.
- Η αριθμητική εκτίμηση γίνεται υπολογίζοντας τον μέσο όρο από 10 οπτικά πεδία (βλέπε πίνακα). Η μικροσκοπική ταυτοποίηση γίνεται εύκολα από τα γενικά χαρακτηριστικά των αποικιών.
- *Mycoplasma hominis*: Αποικίες διαμέτρου 100-200μm. Στρογγυλές, με κοκκώδη επιφάνεια και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι).
- *Ureaplasma urealyticum*: Αποικίες πιο μικρές, διαμέτρου 50 – 100 μm. Συμπαγείς με σκούρο καφέ χρώμα (σαν αχινός ή σαν κουβάρι).

- *Mycoplasma fermentans*: Αποικίες στρογγυλές με φυσαλιδώδη επιφάνεια και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι). Έχουν διάμετρο 100 – 400μm. Αναπτύσσεται σε 4 – 5 μέρες.
- Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων γίνεται με την μέτρηση των αποικιών πάνω στο τρυβλίο, ανά οπτικό πεδίο (x10 αντικειμενικός) και εκφράζεται σε CFU (Colony Forming Units).

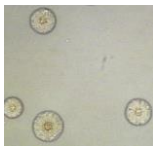
| Αποικίες ανά οπτικό πεδίο (Μέσος όρος απ' όλη την επιφάνεια) | Τίτλος στελέχους CFU: Colony Forming Units |
|---|---|
| 1 αποικία | < 10 ³ CFU/ml |
| 2 έως 5 αποικίες | 10 ⁴ CFU/ml |
| 7 έως 10 αποικίες | 10 ⁵ CFU/ml |
| 12 έως 20 αποικίες | 10 ⁶ CFU/ml |
| >20 αποικίες | >10 ⁶ CFU/ml |

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

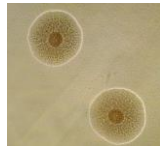
| Μικρόβιο | Χαρακτηριστικά αποικιών |
|---|--|
| <i>Mycoplasma hominis</i> NCTC 10111 | Αποικίες στρογγυλές με κοκκώδη επιφάνεια και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι). Έχουν διάμετρο 100 – 200μm. Αναπτύσσεται σε 24 – 48 ώρες. |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> NCTC10177 | Αποικίες συμπαγείς με σκούρο καφέ χρώμα (σαν αχινός ή σαν κουβάρι). Έχουν διάμετρο 50 – 100μm. Αναπτύσσεται σε 36 – 48 ώρες. |
| <i>Mycoplasma fermentans</i> NCTC 10117 | Αποικίες στρογγυλές με φυσαλιδώδη επιφάνεια και σκούρα κεντρική θηλή (σαν αυγό μάτι). Έχουν διάμετρο 100 – 400μm. Αναπτύσσεται σε 4 – 5 μέρες. |



U. urealyticum



M. hominis



M. fermentans

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το *Ureaplasma parvum* παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με το *Ureaplasma urealyticum* κατά την ανάπτυξη του στο άγαρ.

Υπάρχει πιθανότητα, να μην παρατηρούνται αποικίες μυκοπλάσματος στο Mycotest Agar, ενώ έχουμε θετικό αποτέλεσμα στο M. U-A. Αυτό συμβαίνει σε περιπτώσεις όπως:

- Κακή μεταφορά και συντήρηση του δείγματος.
- Δείγματα ασθενών που κάνουν αντιμικροβιακή θεραπεία.
- Δείγμα μολυσμένο με οριακό αριθμό μυκοπλάσμάτων.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

MYCOTEST AGAR®™ - CE

| ΕΙΔΟΣ | ΚΩΔΙΚΟΣ | ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ | ΦΥΛΑΞΗ | ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ |
|--------------------------|---------|------------|----------|-------------|
| Τρυβλίο μικροσκοπίου 2cm | 100331 | 10 τεμάχια | 2 – 8 °C | 2,5 μήνες |

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepere σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714020207WU. EDMA: (14 02 02 07) Mycoplasma / Ureaplasma - (incl. combined ID-AST).

Η εταιρεία Bioprepere έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Λοιμώξεις από μυκοπλάσματα. Νεότερα Δεδομένα.: Ημερίδα Ιασώ (5^{ος} 2005). Π.Ι. Βασιλοπούλος (Επ. καθ. Μαιευτ. – Γυν.) Δ. Στεφανίδης (Επ. καθηγ. Μικροβιολογίας, διευθ.

Κεντρικών εργαστηρίων Ιασώ). Δ.Σ. Φαναριώτης (Δρ. Ιατρ. Παν. Αθηνών).

Γ.Β. Χριστάκης Ν.Ι. Λεγάκης: Γυναικολογικές και Μαιευτικές Λοιμώξεις. Κεφ.9 Σελ. 173. Μυκοπλάσματα.

Αντωνιάδης Α. Αντωνιάδης Γρ. Λεγάκης Ν. Τσελέντης Ι.: Ιατρική Μικροβιολογία. Σελ. 177. Μυκοπλάσματα.

Αντιγόνη Αρσένη: Κλινική Μικροβιολογία. Κεφάλαιο 27^ο Μυκοπλάσματα. Σελ. 722-740.

Mackie McCartney, Medical Microbiology, Thirteenth edition. New York, 1984.

David Greenwood. Richard Slack. John Peutherer: 42 Mycoplasmas. Page 381 – 391.

Bebear C., De Barbeyrac B., Bernet C., Renaudin H., (1989) Ann. Biol. Clin., 47, 415 – 420.

Bebear C. (1988) Pathologie Biologie, 36, 496-499

Bebear, C. Et B. De Barbeyrac. 1994. Les mycoplasmes, p. 1443-1463. Dans J. Freney, F. Renaud, W. Hansen et C. Bollet(ed), Manual bacteriologie clinique vol.3, 2 edition. Elsevier, Paris.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO

Bioprepere
microbiology



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprepere.gr