



# A.F. Genital System

**ENGLISH**

## System for detection, count and susceptibility testing of pathogenic urogenital microorganisms.

### DESCRIPTION

A.F. Genital System is a 24-well system containing desiccated biochemical and antibiotic substrates for detection, presumptive identification and susceptibility testing of microorganisms from urogenital specimens. The system also provides a semi-quantitative assessment of the presence of urogenital mycoplasmas, i.e. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*. The system is inoculated with the suspension of the clinical sample and incubated at  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . The test results are read after 24 hours of incubation and interpreted by assessing the change in color of the various wells and performing a microscopic examination.

**Note:** The species *Ureaplasma urealyticum* has been divided into two new species: *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum*. They are considered together as *Ureaplasma* spp. when using this device and indicated as Uu.

### CONTENT OF THE KIT (kit for 20 tests)

- 20 A.F. Genital System
- Instructions Sheet also available at [www.liofilchem.com/ifu-sds](http://www.liofilchem.com/ifu-sds)
- 20 Vials of Physiological Solution (7.0 mL/vial)
- Test Results Form

### ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

- A.F. Genital System Reagent (ref. 80258)
- Mycoplasma Transport Broth (ref. 20158)
- Strepto B Latex Kit (ref. 96153)
- Sampling swabs
- Cover slides and slides
- Microscope

### CONFIGURATION

Well	<b>Count and identification of mycoplasmas / ureaplasmas</b>
1-Uu $10^3$	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre = $10^3$ CFU/mL)
2-Uu $10^4$	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre = $10^4$ CFU/mL)
3-Uu $\geq 10^5$	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre $\geq 10^5$ CFU/mL)
4-Mh $10^4$	<i>Mycoplasma hominis</i> (titre = $10^4$ CFU/mL)
5-Mh $\geq 10^5$	<i>Mycoplasma hominis</i> (titre $\geq 10^5$ CFU/mL)
Well	<b>Detection of <i>T. vaginalis</i> and <i>Candida</i> spp.</b>
6-TR/YE	<i>Trichomonas vaginalis</i> / <i>Candida</i> spp.
Well	<b>Susceptibility test of the mycoplasmas / ureaplasmas</b>
7-TE	Tetracycline - 8 $\mu\text{g/mL}$
8-PEF	Pefloxacin - 16 $\mu\text{g/mL}$
9-OFX	Ofloxacin - 4 $\mu\text{g/mL}$
10-DO	Doxycycline - 8 $\mu\text{g/mL}$
11-E	Erythromycin - 16 $\mu\text{g/mL}$
12-CLA	Clarithromycin - 16 $\mu\text{g/mL}$
13-MN	Minocycline - 8 $\mu\text{g/mL}$
14-JOS	Josamycin - 8 $\mu\text{g/mL}$
15-CD	Clindamycin - 8 $\mu\text{g/mL}$
Well	<b>Detection and presumptive identification of other microorganisms</b>
16-ESC	<i>Escherichia coli</i>
17-PRO	<i>Proteus</i> spp. / <i>Providencia</i> spp.
18-PSE	<i>Pseudomonas</i> spp.
19-GAR	<i>Gardnerella vaginalis</i>
20-STF	<i>Staphylococcus aureus</i>
21-STR	<i>Enterococcus faecalis</i>
22-NES	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
23-STG	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)
24-CAN	<i>Candida</i> spp.

## PRINCIPLE OF THE METHOD

A.F. Genital System allows the detection, semi-quantitative count, presumptive identification and susceptibility test of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp., and the detection and presumptive identification of the microorganisms most frequently isolated from vaginal and urethral swabs and seminal fluid: *Trichomonas vaginalis*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp./*Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae* (Group B) and *Candida* spp.

- The semi-quantitative count of *Ureaplasma* spp. is indicated by a color change from yellow to red in wells **1-Uu 10<sup>3</sup>**, **2-Uu 10<sup>4</sup>** and **3-Uu  $\geq 10^5$** .
- The semi-quantitative count of *Mycoplasma hominis* is evidenced by a color change from yellow to red in wells **4-Mh 10<sup>4</sup>** and **5-Mh  $\geq 10^5$** .
- The presence of *Trichomonas vaginalis* and *Candida* spp. is determined by microscope (40x) examination of a drop of culture liquid taken from well **6-TR/YE** to assess the presence of mobile ciliated trophozoites for identification of *Trichomonas vaginalis* and/or the presence of chlamydozoites and hyphae for identification of *Candida* spp.
- The red color change of the medium in the wells containing an antibiotic (**7-TE**, **8-PEF**, **9-OFX**, **10-DO**, **11-E**, **12-CLA**, **13-MN**, **14-JOS**, **15-CD**) indicates the presence of bacterial growth and hence resistance to the antibiotic concentration being tested. The yellow color of the medium indicates the absence of bacterial growth and hence susceptibility to the antibiotic concentration being tested.
- The presence of *Escherichia coli* is detected by a color change from grey-red to blue in the well **16-ESC**. Confirm the presence of *Escherichia coli* by adding two drops of Kovacs Reagent into the well **17-PRO**; wait for the formation of a pink-red ring.
- The presence of *Proteus* spp./*Providencia* spp. is shown by a color change from yellow to brown-black in the well **17-PRO**.
- The presence of *Pseudomonas* spp. is shown by a color change from yellow to turbid green in the well **18-PSE**. Confirm by oxidase test (A.F. Genital System Reagent, ref. 80258).
- The presence of *Gardnerella vaginalis* is shown by a color change from red to yellow-orange in the well **19-GAR**. Confirm by isolation on selective media (*Gardnerella* Agar, ref. 11054) and biochemical tests (*Integral System Gardnerella*, ref. 71724).
- The presence of *Staphylococcus aureus* is shown by the appearance of a black ring on the bottom of well **20-STF**. Confirm by coagulase test (ref. 88030).
- The presence of *Enterococcus faecalis* is shown by a color change from yellow to black in the well **21-STR**.
- The presence of *Neisseria gonorrhoeae* is indicated by a positive oxidase test from the well **22-NES** (A.F. Genital System Reagent, ref. 80258). Confirm the result by isolation on selective media (*Thayer Martin Agar*, ref. 11040), and by performing biochemical and/or serological tests.
- The presence of *Streptococcus agalactiae* (Group B) is shown by a color change from yellow to green in the well **23-STG**. Confirm the presence of *Streptococcus agalactiae* with the following methods:
  - a) – Agglutination test *Strepto B Latex Kit* (ref. 96153)
  - b) – Cultural isolation with traditional methods
- The presence of *Candida* spp. is shown by a color change from green to yellow in the well **24-CAN**. Watch for the presence of chlamydozoites and hyphae at the microscope.

## COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLES

Obtain the vaginal or urethral secretion with synthetic fibre swabs.

Obtain the seminal fluid according to the technique envisaged for the microbiological culture examination.

The samples must be sent for inoculation in the A.F. Genital System immediately after they are taken.

Do not store in the refrigerator for even limited periods of time, since low temperatures may damage the vitality of some particularly sensitive microorganisms (e.g. *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* etc.) and alter the final result.

## TEST PROCEDURE

### PREPARATION OF THE CLINICAL SAMPLE

Carefully open a vial of Physiological Solution\* using the ampule cracker provided with the kit.

#### 1. VAGINAL SWAB – URETHRAL SWAB

Immerse the swab (after obtaining the clinical material) in the vial of physiological solution and wait 5 minutes. Carefully squeeze the swab against the vial wall so that the clinical material is dispersed homogeneously in the Physiological Solution.

**Note:** Keep the swab, dipped in a nutritive broth, until the conclusion of the test.

#### 2. SEMINAL FLUID

Add 0.2 mL of sample to the vial of Physiological Solution\*, shake and wait 5 minutes before inoculation.

#### 3. URINE

Centrifuge about 10 mL of urinary sample. Collect 0.1 mL of urinary sediment and add to the vial of Physiological Solution contained in the kit; shake and wait 5 minutes before inoculating the system.

#### 4. CLINICAL MATERIAL FROM Mycoplasma Transport Broth (ref. 20158)

Add 1 mL Mycoplasma Transport Broth, containing the sample under examination, to the vial of Physiological Solution, shake gently and wait 5 minutes before inoculation.

**Note:** Conserve the specimen in the vial of Mycoplasma Transport Broth until the conclusion of the test.

\* Physiological Solution (g\L): Sodium chloride 9 g; Distilled water 1000 mL; pH 6.8 ± 0.2

### INOCULATION OF THE SYSTEM

1. Take a system from its wrapper and bring it to room temperature.
2. Write down the name of the patient, the date of the start of the examination, and the type of clinical material.
3. Transfer 0.2 mL of suspension of the clinical sample into each well of the system.
4. Overlay with 1 drop vaseline oil for microbiological use all the wells including 19-GAR, except for the wells 6, 16, 17, 18, 20, 21, 22 and 23.
5. Cover the system with the lid provided and incubate at 36 ± 1°C for 24 hours, and up to 48 hours.
6. Observe and confirm the presence of mycoplasmas within 48 hours incubation.

### INTERPRETATION OF THE RESULTS

#### Count and Identification of *mycoplasmas* / *ureaplasmas*

Watch for the color change in the wells **1-Uu 10<sup>3</sup>** to **5-Mh ≥ 10<sup>5</sup>** and interpret the results using Table 1.

#### Detection of *Trichomonas vaginalis* and *Candida* spp.

Take a drop of liquid from the well, deposit it on a glass slide, place a cover slip on top and examine at the microscope (40x) for the presence of *T. vaginalis* and *Candida* spp. Interpret as indicated in Table 1.

#### Antimicrobial Susceptibility Testing of *mycoplasmas* / *ureaplasmas*

Watch for the color change in the wells **7-TE** to **15-CD** and interpret the results using Table 1.

#### Identification of *Escherichia coli*

Watch for the color change in the well **16-ESC** and interpret the results using Table 1. To confirm the presence of *E. coli*, add two drops of Kovacs Reagent to the well and wait for the formation of a pink-red ring.

#### Identification of *Neisseria gonorrhoeae*

Take a drop of liquid from the well **22-NES**, deposit it on an Oxidase Test Stick and observe the immediate development (in about 10 seconds) of a blue color (positive oxidase test). Confirm the presence of *N. gonorrhoeae* through isolation on selective media: streak the vaginal or urethral swab, previously kept in a nutritive broth (see point 1 in the TEST PROCEDURE), directly on the surface of a selective plate (Thayer Martin Agar ref. 11040). Incubate the plate at 36 ± 1°C under microaerobic atmosphere, and perform biochemical and serological tests for final identification.

#### Identification of *Streptococcus agalactiae*

Watch for the color change in the well **23-STG** and interpret the results using Table 1. Confirm the presence of *S. agalactiae* with Strepto B Latex Kit Agglutination test (ref. 96153) and by cultural isolation with traditional methods.

#### Presumptive Identification of *other microorganisms*

Watch for the color change in the wells **17-PRO** to **24-CAN** ed and interpret the results using Table 1.

Note the results on the TEST RESULTS FORM (copy as many forms as necessary).

Table 1.

Well	COUNT AND IDENTIFICATION OF MYCOPLASMAS / UREAPLASMAS	Well colour	
		Positive reaction*	Negative reaction
1-Uu 10 <sup>3</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre = 10 <sup>3</sup> CFU/mL) <sup>(1)</sup>	red	yellow
2-Uu 10 <sup>4</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre = 10 <sup>4</sup> CFU/mL) <sup>(2)</sup>	red	yellow
3-Uu ≥ 10 <sup>5</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titre ≥ 10 <sup>5</sup> CFU/mL) <sup>(3)</sup>	red	yellow
4-Mh 10 <sup>4</sup>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titre = 10 <sup>4</sup> CFU/mL)	red	yellow
5-Mh ≥ 10 <sup>5</sup>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titre ≥ 10 <sup>5</sup> CFU/mL)	red	yellow

CFU: Colony Forming Units

\* An orangey colouring should be considered as a positive test.

Well	T. VAGINALIS AND CANDIDA spp.	Microscope examination (40x)
6-TR/YE	<i>Trichomonas vaginalis</i> / <i>Candida</i> spp.	<i>T. vaginalis</i> : mobile ciliated protozoites <i>Candida</i> spp.: chlamydospores and hyphae

Well	SUSCEPTIBILITY TESTING OF THE MYCOPLASMAS / UREAPLASMAS	Well colour	
		S	R**
7-TE	Tetracycline - 8 µg/mL	yellow	red
8-PEF	Pefloxacin - 16 µg/mL	yellow	red
9-OFX	Ofloxacin - 4 µg/mL	yellow	red
10-DO	Doxycycline - 8 µg/mL	yellow	red
11-E	Erythromycin - 16 µg/mL	yellow	red
12-CLA	Clarithromycin - 16 µg/mL	yellow	red
13-MN	Minocycline - 8 µg/mL	yellow	red
14-JOS	Josamycin - 8 µg/mL	yellow	red
15-CD	Clindamycin - 8 µg/mL	yellow	red

S = Sensitive

R = Resistant

\*\* An orangey colouring should be considered as presence of growth and hence resistance to the tested antibiotic concentration.

Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION OF OTHER MICROORGANISMS	Well colour	
		Positive reaction	Negative reaction
16-ESC	<i>Escherichia coli</i>	blue	grey-red
17-PRO	<i>Proteus</i> spp. / <i>Providencia</i> spp.	brown-black	yellow
18-PSE	<i>Pseudomonas</i> spp.	turbid green	yellow-blue
19-GAR	<i>Gardnerella vaginalis</i>	yellow-orange	red
20-STF	<i>Staphylococcus aureus</i>	black ring	yellow
21-STR	<i>Enterococcus faecalis</i>	black	yellow
22-NES	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	blue <sup>(4)</sup>	colourless <sup>(4)</sup>
23-STG	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)	green	yellow
24-CAN	<i>Candida</i> spp.	turbid yellow	green

#### LEGEND

(1) = Equivalent to 5-20 colonies grown on Mycoplasma Agar A7

(2) = Equivalent to 20-50 colonies grown on Mycoplasma Agar A7

(3) = Over 50 colonies grown on Mycoplasma Agar A7

(4) = Oxidase Test Result

**QUALITY CONTROL**

Every batch of A.F. Genital System is subjected to quality control using the following reference microorganisms:

<i>Mycoplasma hominis</i>	ATCC 23114	<i>Gardnerella vaginalis</i>	ATCC 14018
<i>Ureaplasma urealiticum</i>	ATCC 27618	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 19433
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 19424
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC 30001

**FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS**

Poor standardisation of the inoculum; clinical material unsuitable; use of expired systems and/or reagents; non compliance with temperatures and times of incubation.

**LIMITS AND WARNINGS**

- *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae* and *Gardnerella vaginalis* require appropriate culture media, and additional biochemical and/or serological tests for complete identification.
- Some bacteria that are present in quantities of  $\geq 10^{6-7}$  CFU/mL and produce urease, may cause all the wells in the panel to change colour. The presence of these can be verified by reisolating on agar medium (e.g. chocolate agar) from the original broth (see TEST PROCEDURE).

**PRECAUTIONS**

The product A.F. Genital System is not classified as hazardous under current legislation, however see the safety data sheet for a correct use. A.F. Genital System is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*. It must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.





**STORAGE**

Store at 2-8°C in the original packaging. Keep away from sources of heat and avoid excessive changes in temperature. In such conditions, the product will remain valid until the expiry date indicated on the label. Do not use beyond that date. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

**DISPOSAL OF USED MATERIAL**

After use, A.F. Genital System and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with the techniques used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>IVD</b> <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limitation
<b>REF</b> Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	<b>LOT</b> Batch code

Product	Packaging	Ref.
A.F. Genital System	20 tests	74156
A.F. Genital System	4 tests	79156





# A.F. Genital System

ITALIANO

Sistema per ricerca, conta e antibiogramma germi patogeni urogenitali.

## DESCRIZIONE

A.F. Genital System è un sistema a 24 pozzetti contenenti substrati biochimici ed antibiotici essiccati per la ricerca, l'identificazione presuntiva e l'antibiogramma di microrganismi provenienti da campioni urogenitali.

Il sistema fornisce anche una valutazione semiquantitativa della presenza di micoplasmi urogenitali (*Mycoplasma hominis* ed *Ureaplasma* spp.). Il sistema viene inoculato con la sospensione del campione clinico ed incubato a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . I risultati del test vengono letti dopo 24 ore di incubazione ed interpretati valutando il viraggio di colore dei vari pozzetti ed eseguendo un esame microscopico.

**Nota:** La specie *Ureaplasma urealyticum* è stata divisa in due nuove specie: *Ureaplasma parvum* e *Ureaplasma urealyticum* vengono considerati insieme come *Ureaplasma* spp. nell'utilizzo di questo dispositivo e indicati con il simbolo Uu.

## CONTENUTO DELLE CONFEZIONI (kit da 20 test)

- 20 Sistemi A.F. Genital System
- Foglio istruzioni
- 20 Fiale di Soluzione Fisiologica (7.0 mL/fiala)
- Modulo TEST RESULTS FORM

## PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI

- A.F. Genital System Reagent (ref. 80258)
- Mycoplasma Transport Broth (ref. 20158)
- Strepto B Latex Kit (ref. 96153)
- Tamponi di prelievo
- Vetrini coprioggetto e portaoggetto
- Microscopio

## CONFIGURAZIONE

Pozzetto	<b>Conteggio ed identificazione dei micoplasmi / ureaplasmi</b>
<b>1-Uu 10<sup>3</sup></b>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo = $10^3$ UFC/mL)
<b>2-Uu 10<sup>4</sup></b>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo = $10^4$ UFC/mL)
<b>3-Uu <math>\geq 10^5</math></b>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo $\geq 10^5$ UFC/mL)
<b>4-Mh 10<sup>4</sup></b>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titolo = $10^4$ UFC/mL)
<b>5-Mh <math>\geq 10^5</math></b>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titolo $\geq 10^5$ UFC/mL)
Pozzetto	<b>Ricerca di <i>T. vaginalis</i> e <i>Candida</i> spp.</b>
<b>6-TR/YE</b>	<i>Trichomonas vaginalis</i> / <i>Candida</i> spp.
Pozzetto	<b>Antibiogramma dei micoplasmi / ureaplasmi</b>
<b>7-TE</b>	Tetraciclina - 8 µg/mL
<b>8-PEF</b>	Pefloxacina - 16 µg/mL
<b>9-OFX</b>	Ofloxacina - 4 µg/mL
<b>10-DO</b>	Doxiciclina - 8 µg/mL
<b>11-E</b>	Eritromicina - 16 µg/mL
<b>12-CLA</b>	Claritromicina - 16 µg/mL
<b>13-MN</b>	Minociclina - 8 µg/mL
<b>14-JOS</b>	Josamicina - 8 µg/mL
<b>15-CD</b>	Clindamicina - 8 µg/mL
Pozzetto	<b>Ricerca ed identificazione presuntiva di altri microrganismi</b>
<b>16-ESC</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>17-PRO</b>	<i>Proteus</i> spp. / <i>Providencia</i> spp.
<b>18-PSE</b>	<i>Pseudomonas</i> spp.
<b>19-GAR</b>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<b>20-STF</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>21-STR</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<b>22-NES</b>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<b>23-STG</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Gruppo B)
<b>24-CAN</b>	<i>Candida</i> spp.

## PRINCIPIO DEL METODO

A.F. Genital System permette la ricerca, il conteggio semiquantitativo, l'identificazione presuntiva e l'antibiogramma di *Mycoplasma hominis* ed *Ureaplasma* spp., e la ricerca e l'identificazione presuntiva dei microrganismi più frequentemente isolati da tamponi vaginali, uretrali e liquido seminale quali: *Trichomonas vaginalis*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp./*Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae* (Gruppo B) e *Candida* spp.

- La presenza e il conteggio semiquantitativo di *Ureaplasma* spp. viene evidenziato dal viraggio di colore dal giallo al rosso dei pozzetti **1-Uu 10<sup>3</sup>**, **2-Uu 10<sup>4</sup>** e **3-Uu ≥ 10<sup>5</sup>**.
- La presenza e il conteggio semiquantitativo di *Mycoplasma hominis* viene evidenziato dal viraggio di colore dal giallo al rosso dei pozzetti **4-Mh 10<sup>4</sup>** e **5-Mh ≥ 10<sup>5</sup>**.
- La presenza di *Trichomonas vaginalis* e *Candida* spp. viene evidenziata dall'osservazione microscopica (40x) di una goccia di liquido colturale prelevato dal pozzetto **6-TR/YE** valutando la presenza di trofozoiti ciliati mobili per l'identificazione *Trichomonas vaginalis* e/o presenza di clamidospore ed ife per l'identificazione di *Candida* spp.
- Il viraggio di colore dal giallo al rosso dei pozzetti contenenti un antibiotico (**7-TE**, **8-PEF**, **9-OFX**, **10-DO**, **11-E**, **12-CLA**, **13-MN**, **14-JOS**, **15-CD**) indica la capacità del ceppo di crescere in presenza della concentrazione testata di antibiotico. Il colore giallo del terreno indica l'incapacità del ceppo di crescere in presenza della concentrazione testata di antibiotico.
- La presenza di *Escherichia coli* viene evidenziata dal viraggio di colore dal grigio-rosso al blu del pozzetto **16-ESC**. Confermare la presenza di *Escherichia coli* aggiungendo due gocce di Reagente di Kovacs al pozzetto **17-PRO**; attendere la comparsa di un anello rosa-rosso.
- La presenza di *Proteus* spp./*Providencia* spp. viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al marrone-nero del pozzetto **17-PRO**.
- La presenza di *Pseudomonas* spp. viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al verde torbido del pozzetto **18-PSE**. Confermare mediante test dell'ossidasi (A.F. Genital System Reagent, ref. 80258).
- La presenza di *Gardnerella vaginalis* viene evidenziata dal viraggio di colore dal rosso al giallo-arancio del pozzetto **19-GAR**. Confermare mediante isolamento su terreni selettivi (*Gardnerella* Agar, ref.11054) e test biochimici (Integral System *Gardnerella*, ref. 71724).
- La presenza di *Staphylococcus aureus* viene evidenziata dalla comparsa di un anello nero sul fondo del pozzetto **20-STF**. Confermare mediante test della coagulasi (Coagulase Test, ref. 88030).
- La presenza di *Enterococcus faecalis* viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al nero del pozzetto **21-STR**.
- La presenza di *Neisseria gonorrhoeae* nel pozzetto **22-NES** viene evidenziata con il test positivo dell'ossidasi (A.F. Genital System Reagent, ref. 80258). Confermare la positività del test tramite isolamento colturale su terreni selettivi (Thayer Martin Agar, ref.11040), test biochimici o prove sierologiche.
- La presenza di *Streptococcus agalactiae* (Gruppo B) viene evidenziata dal viraggio di colore da giallo a verde del pozzetto **23-STG**. Confermare la presenza di *Streptococcus agalactiae* con i seguenti metodi:
  - a) - Test agglutinazione con Strepto B Latex Kit (ref. 96153).
  - b) - Isolamento colturale con metodi tradizionali.
- La presenza di *Candida* spp. viene evidenziata dal viraggio di colore dal verde al giallo del pozzetto **24-CAN**. Osservare al microscopio la presenza di clamidospore ed ife miceliari.

## RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare il secreto vaginale o uretrale con tamponi in fibra sintetica. Prelevare il liquido seminale in accordo con la tecnica prevista per l'esame microbiologico colturale. I campioni devono essere inviati al laboratorio per la semina nel sistema A.F. Genital System subito dopo il prelievo. Evitare la conservazione in frigorifero anche per tempi limitati in quanto le basse temperature possono danneggiare la vitalità di alcuni microrganismi particolarmente sensibili quali *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* etc. pregiudicando il risultato finale.

**PROCEDURA DEL TEST****PREPARAZIONE DEL CAMPIONE CLINICO**

Aprire con attenzione una fiala di Soluzione Fisiologica\* utilizzando il rompifiala contenuto nel kit.

**1. TAMPONE VAGINALE – TAMPONE URETRALE**

Immergere il tampone (dopo il prelievo del materiale clinico) nella fiala di Soluzione Fisiologica ed attendere 5 min. Strizzare con cura il tampone contro la parete della fiala in modo che il materiale clinico risulti omogeneamente disperso nella Soluzione Fisiologica.

**Nota:** Conservare il tampone, immerso in un terreno nutritivo liquido, fino alla conclusione del test.

**2. LIQUIDO SEMINALE**

Dispensare 0.2 mL di campione nella fiala di Soluzione Fisiologica\*, agitare ed attendere 5 minuti prima della semina.

**3. URINE**

Centrifugare circa 10 mL di campione di urine. Raccogliere 0.1 mL di sedimento urinario e dispensarlo nella fiala di Physiological Solution; agitare ed attendere 5 minuti prima di trasferire la sospensione del campione nel sistema.

**4. MATERIALE CLINICO DA Mycoplasma Transport Broth (ref. 20158)**

Dispensare 1 mL di Mycoplasma Transport Broth, contenente il campione in esame, nella fiala di Soluzione Fisiologica\*, agitare delicatamente ed attendere 5 minuti prima della semina.

**Nota:** Conservare la fiala di Mycoplasma Transport Broth fino alla conclusione del test.

\* Soluzione Fisiologica (g\L): Sodio cloruro 9 g; Acqua distillata 1000 mL; pH 6.8 ± 0.2

**INOCULO DEL SISTEMA**

1. Prelevare un sistema dal suo involucro e portarlo a temperatura ambiente.
2. Annotare nome del paziente, data di inizio esame ed tipo di materiale clinico.
3. Trasferire 0.2 mL di sospensione del campione clinico in ciascun pozzetto del sistema.
4. Coprire con una goccia di olio di vaselina per uso microbiologico tutti i pozzetti compreso il 19-GAR, ad eccezione dei pozzetti 6, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23.
5. Coprire il sistema con l'apposito coperchio ed incubare a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  per 24 ore fino ad un massimo di 48 ore.
6. Osservare e confermare la presenza dei micoplasmi entro 48 h di incubazione.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**Conteggio ed Identificazione dei micoplasmi / ureaplasmi

Osservare il viraggio di colore dei pozzetti da **1-Uu 10<sup>3</sup>** a **5-Mh  $\geq 10^5$**  ed interpretare i risultati servendosi della Tabella 1.

Ricerca di *Trichomonas vaginalis* e *Candida spp.*

Prelevare una goccia di liquido dal pozzetto **6-TR/YE**, depositarla su un vetrino portaoggetto e, dopo aver deposto il vetrino coprioggetto, osservare al microscopio (40x) la presenza di *Trichomonas vaginalis* e *Candida spp.* Interpretare come indicato in Tabella 1.

Antibiogramma dei micoplasmi / ureaplasmi

Osservare il viraggio di colore dei pozzetti da **7-TE** a **15-CD** ed interpretare i risultati servendosi della Tabella 1.

Identificazione di *Escherichia coli*

Osservare il viraggio di colore del pozzetto **16-ESC** ed interpretare servendosi della tabella interpretativa. Confermare la presenza di *E. coli* aggiungendo due gocce di Reagente di Kovacs al pozzetto **17-PRO**; attendere la comparsa di un anello rosa-rosso.

Identificazione di *Neisseria gonorrhoeae*

Prelevare una goccia di liquido dal pozzetto **22-NES**, depositarla su Oxidase Test Stick ed osservare lo sviluppo immediato (~10 secondi) di una colorazione blu (test dell'ossidasi positivo). Confermare la presenza di *N. gonorrhoeae* tramite isolamento colturale; strisciare il tampone vaginale o uretrale, precedentemente conservato in brodo nutritivo (vedere il punto 1 nella PROCEDURA DEL TEST), direttamente sulla superficie di una piastra selettiva (Thayer Martin Agar, ref.11040). Incubare la piastra a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  in atmosfera microaerobica, e sulle colonie coltivate eseguire test biochimici e prove sierologiche.

Identificazione di *Streptococcus agalactiae*

Osservare il viraggio di colore del pozzetto **23-STG** ed interpretare servendosi della tabella. Confermare la presenza di *S. agalactiae* mediante test di agglutinazione con Strepto B Latex Kit (ref. 96153) ed isolamento colturale con metodi tradizionali.

Identificazione presuntiva di altri microrganismi

Osservare il viraggio di colore dei pozzetti da **17-PRO** a **24-CAN** ed interpretare i risultati servendosi della Tabella 1.

Annotare i risultati sul modulo TEST RESULTS FORM (fotocopiare il numero necessario di moduli).



Tabella 1.

Pozzetto	CONTEGGIO ED IDENTIFICAZIONE DEI MICOPLASMI / UREAPLASMI	Colore pozzetto	
		Reazione positiva*	Reazione negativa
1-Uu 10 <sup>3</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo = 10 <sup>3</sup> UFC/mL) <sup>(1)</sup>	rosso	giallo
2-Uu 10 <sup>4</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo = 10 <sup>4</sup> UFC/mL) <sup>(2)</sup>	rosso	giallo
3-Uu ≥ 10 <sup>5</sup>	<i>Ureaplasma</i> spp. (titolo ≥ 10 <sup>5</sup> UFC/mL) <sup>(3)</sup>	rosso	giallo
4-Mh 10 <sup>4</sup>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titolo = 10 <sup>4</sup> UFC/mL) <sup>(2)</sup>	rosso	giallo
5-Mh ≥ 10 <sup>5</sup>	<i>Mycoplasma hominis</i> (titolo ≥ 10 <sup>5</sup> UFC/mL) <sup>(3)</sup>	rosso	giallo

UFC: Unità Formanti Colonie

\* Una colorazione arancio deve essere considerata come un esito positivo del test.

Pozzetto	RICERCA DI <i>T. VAGINALIS</i> E <i>CANDIDA</i> spp.	Osservazione microscopica (40x)
6-TR/YE	<i>Trichomonas vaginalis</i> / <i>Candida</i> spp.	<i>T. vaginalis</i> : protozoi ciliati mobili <i>Candida</i> spp.: clamidospore ed ife

Pozzetto	ANTIBIOGRAMMA DEI MICOPLASMI / UREAPLASMI	Colore pozzetto	
		S	R**
7-TE	Tetraciclina - 8 µg/mL	giallo	rosso
8-PEF	Pefloxacina - 16 µg/mL	giallo	rosso
9-OFX	Ofloxacina - 4 µg/mL	giallo	rosso
10-DO	Doxiciclina - 8 µg/mL	giallo	rosso
11-E	Eritromicina - 16 µg/mL	giallo	rosso
12-CLA	Claritromicina - 16 µg/mL	giallo	rosso
13-MN	Minociclina - 8 µg/mL	giallo	rosso
14-JOS	Josamicina - 8 µg/mL	giallo	rosso
15-CD	Clindamicina - 8 µg/mL	giallo	rosso

S = Sensibile

R = Resistente

\*\* Una colorazione arancio deve essere considerata come una crescita, dunque resistenza alla concentrazione di antibiotico testata.

Pozzetto	RICERCA ED IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA DI ALTRI MICRORGANISMI	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
16-ESC	<i>Escherichia coli</i>	blu	grigio-rosso
17-PRO	<i>Proteus</i> spp. / <i>Providencia</i> spp.	marrone-nero	giallo
18-PSE	<i>Pseudomonas</i> spp.	verde torbido	giallo-azzurro
19-GAR	<i>Gardnerella vaginalis</i>	giallo-arancio	rosso
20-STF	<i>Staphylococcus aureus</i>	anello nero	giallo
21-STR	<i>Enterococcus faecalis</i>	nero	giallo
22-NES	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	blu <sup>(4)</sup>	incolore <sup>(4)</sup>
23-STG	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Gruppo B)	verde	giallo
24-CAN	<i>Candida</i> spp.	giallo torbido	verde

#### LEGENDA

(1) = Equivalente a 5-20 colonie coltivate su Mycoplasma Agar A7

(2) = Equivalente a 20-50 colonie coltivate su Mycoplasma Agar A7

(3) = Superiore a 50 colonie coltivate su Mycoplasma Agar A7

(4) = Risultato del Test dell'Ossidasi

**CONTROLLO QUALITÀ**

Ogni lotto di A.F. Genital System viene sottoposto al controllo qualità utilizzando i microrganismi di riferimento seguenti:

<i>Mycoplasma hominis</i>	ATCC 23114	<i>Gardnerella vaginalis</i>	ATCC 14018
<i>Ureaplasma urealiticum</i>	ATCC 27618	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 19433
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 19424
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC 30001

**FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI**

Imprecisa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non idoneo; uso di sistemi e reagenti supplementari scaduti; temperatura e tempi di incubazione non rispettati.

**LIMITI ED AVVERTENZE**

- Per l'identificazione definitiva di *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae* e *Gardnerella vaginalis* sono necessari terreni di coltura adatti, e ulteriori test biochimici e/o sierologici.
- Alcuni batteri presenti in quantità  $> 10^{6-7}$  UFC/mL, produttori di ureasi, possono determinare un viraggio dei pozzetti del sistema. Confermare la loro presenza seminando una goccia di brodo colturale, precedentemente conservato (vedere PROCEDURA DEL TEST) su terreno agarizzato (es. chocolate agar).

**PRECAUZIONI**

Il prodotto A.F. Genital System non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per un suo corretto impiego si consiglia comunque di consultare la Scheda di Sicurezza. A.F. Genital System è un dispositivo monouso da usare solo per uso diagnostico *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

**CONSERVAZIONE**

Conservare a 2-8°C nella sua confezione originale. Non conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

**ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO**

Dopo l'utilizzazione A.F. Genital System ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infetto.

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>IVD</b> Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Limiti di temperatura
<b>REF</b> Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	<b>LOT</b> Codice del lotto

Prodotto	Confezione	Ref.
A.F. Genital System	20 test	74156
A.F. Genital System	4 test	79156



## BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFIA

1. Horner P, Donders G, Cusini M, *et al.* Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? - a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(11):1845-1851.
2. Capoccia R, Greub G, Baud D. *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26(3):231-40.
3. Waites KB, Bebear CM, Robertson JA, Talkington DF, and Kenny GE. Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. Cumulative techniques and procedures in clinical microbiology (Cumitech 34). American Society for Microbiology Press, Washington, D.C. 2001; 1-30.
4. Ullmann U, Schubert S, Krausse R. Comparative in-vitro activity of levofloxacin, other fluoroquinolones, doxycycline and erythromycin against *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. *J Antimicrob Chemother.* 1999;43 Suppl C:33-6.
5. Taylor-Robinson D, Bébéar C. Antibiotic susceptibilities of mycoplasmas and treatment of mycoplasmal infections. *J Antimicrob Chemother* 1997;40(5):622-30.
6. Grattard F, Soleihac B, De Barbeyrac B *et al.* Epidemiologic and molecular investigations of genital mycoplasmas from women and neonates at delivery. *Pediatr Infect Dis J.* 1995;14(10):853-8.
7. Bébéar C, de Barbeyrac B, Dewilde A *et al.* Multicenter study of the in vitro sensitivity of genital mycoplasmas to antibiotics. *Pathol Biol.* 1993;41(4):289-93.
8. Kenny GE, Cartwright FD. Effect of pH, inoculum size, and incubation time on the susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* to erythromycin in vitro. *Clin Infect Dis.* 1993;17 Suppl 1:S215-8.
9. Bauriaud R, Séror C, Lareng MB, Lefèvre JC. In vitro sensitivity to antibiotics of genital mycoplasmas isolated in Toulouse. Study of new molecules (macrolides and quinolones). *Pathol Biol.* 1992;40(5):479-82.
10. Renaudin H, Bébéar C. Comparative in vitro activity of azithromycin, clarithromycin, erythromycin and lomefloxacin against *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1990;9(11):838-41.
11. Bebear C, de Barbeyrac B, Bernet C, Renaudin H. Methods of studying mycoplasma infections. *Ann Biol Clin.* 1989;47(7): 415-20.



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

[www.liofilchem.com](http://www.liofilchem.com)

[liofilchem@liofilchem.com](mailto:liofilchem@liofilchem.com)