A. TEST SİSTEMİ

A.F. Genital System, ürogenital örneklerden mikroorganizmaların tespiti ve antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık testi için tasarlanmış, dehidre biyokimyasal ve antibiyotik substratlar içeren ve 24 kuyucuktan (**Ek 1**) oluşan bir test panelidir.

A.F. Genital System, *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum*'un varlığının yarı kantitatif tespitine olanak sağlamaktadır. Test kuyucukları klinik numunenin süspansiyonu ile inoküle edilir ve 36 ± 1°C'de inkübe edilir. İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki renk değişimleri ve mikroskobik inceleme ile sonuçlar değerlendirilir.

Not: *Ureaplasma urealyticum* türü iki yeni tür olarak (*Ureaplasma parvum* ve *Ureaplasma urealyticum*) yeniden tanımlanmıştır. Bu iki tür A.F. Genital System'de *Ureaplasma* spp. olarak kabul edilmiş ve test paneli üzerinde **Uu** olarak belirtilmiştir.

B. PROSEDÜR

⚠ **Uygun olmayan inkübasyon şartları** ve **kuyucukların yetersiz doldurulması yanlış sonuçlara** neden olabilir.

Potansiyel patojen mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalarda gerekli **biyogüvenlik önlemleri** alınmalıdır.

Test panelleri **2-8°C**'da muhafaza edilmelidir. Aşırı sıcaklık değişimlerine maruz bırakılmamalıdır.

Örnekte üreaz pozitif bazı mikroorganizmaların yüksek düzeyde (≥ 10^{6-7} KOB/mL) bulunması tüm kuyucuklarda renk değişimine neden olabilir.

B1. Numunelerin hazırlanması

⚠ Vajinal veya üretral sekresyon örneği **sentetik lifli steril bir eküvyon** ile alınmalıdır.

Seminal sıvı örneği mikrobiyolojik kültür incelemesi için uygun teknik ile alınmalıdır.

Örnek alındıktan sonra **mümkün olduğunca kısa süre içinde** A.F. Genital System'e aktarılmalıdır.

Örneklerin düşük sıcaklıkta muhafaza edilmesi bazı mikroorganizmaları (Örn., *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*) olumsuz etkileyebilir ve sonuçları değiştirebilir. Bu nedenle, örneklerin **test öncesinde buzdolabı sıcaklığında sınırlı bir süre dahi muhafaza edilmesi önerilmez**.

B1.1 Vajinal – üretral eküvyonlar

A.F. Genital System ile birlikte sağlanan **fizyolojik solüsyon** (**Physiological Solution**; Sodyum klorür 9 g/L, pH 6.8 ± 0.2) ampulünü kırın. Örnekleme sonrasında eküvyonu fizyolojik solüsyon ampulü içine daldırın ve 5 dakika bekleyin. Eküvyonu ampul iç duvarına bastırarak klinik materyalin fizyolojik solüsyon içine aktarıldığından emin olun.

Test sonucunu elde edinceye kadar eküvyonu zengin içerikli uygun bir sıvı besiyeri içinde muhafaza edin.

B1.2 Seminal sıvı

Fizyolojik solüsyon ampulü içine 0.2 mL seminal sıvı örneği ekleyin ve 5 dakika bekleyin.

B1.3 İdrar

Yaklaşık 10 mL idrar örneğini santrifüjleyin. Santrifüj sonrasında 0.1 mL idrar sedimentini fizyolojik solüsyon ampulü içine aktarın ve 5 dakika bekleyin.

B1.3 Mycoplasma Transport Broth içinde bulunan klinik materyal

Klinik materyali içeren Mycoplasma Transport Broth besiyerinden 1 mL alın ve fizyolojik solüsyon içine aktarın. Sonrasında fizyolojik solüsyon ampulünü yavaşça çalkalayın ve 5 dakika bekleyin.

B2. Test panelinin inokülasyonu

1. A.F. Genital System panelini ambalajından çıkartın ve **oda sıcaklığını** gelmesi için bekleyin.
2. Örnek bilgilerini panel üzerindeki örnek alanına kaydedin.
3. Her bir kuyucuğa **steril bir pipet ile 0.2 mL** örnek içeren **fizyolojik solüsyondan** ilave edin.
4. İnokülasyon sonrasında panel üzerindeki **6, 16, 17, 18, 20, 21, 22** ve **23 numaralı kuyucukların <u>dışındaki</u> kuyucuklara 1 damla vazelin yağı** ilave edin.

B3. Test panelinin inkübasyonu

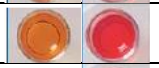
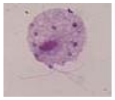
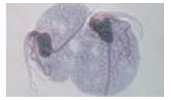
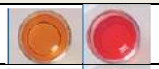
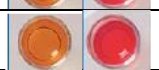
1. İnokülasyon sonrasında panelin kapağını kapatın.
2. Panel **35-37°C'da 24-48 saat aerobik** ortamda inkübe edilmelidir. Sonuçların elde edilebilmesi için genellikle 24 saat inkübasyon yeterlidir. Bazı durumlarda 48 saat inkübasyon gerekebilir.

B4. Sonuçların değerlendirilmesi

1. İnkübasyon sonrasında kuyucuklarda gözlenen sonuçlar **Değerlendirme Tablosu (Ek 1)** ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Bazı kuyucuklardaki sonuçlar **mikroskobik gözlem** veya **ayıraç ilavesi** sonrasında gözlemlenmelidir;
   a) **Mikoplazma** ve **üreplazmaların** varlığı ve düzeyleri **1-5 numaralı kuyucuklardaki** renk değişimleri ile değerlendirilir.
   b) ***Trichomonas vaginalis*** ve ***Candida* spp.** varlığının teyidi için **6 numaralı TR/YE** kuyucuğundan bir damla sıvı alın ve bir lam üzerine yayın. Üzerine bir lamel yerleştirin ve mikroskopta **40x büyütme** ile inceleyin.
   c) **Antibiyotiklere** karşı duyarlılık **7-15 numaralı kuyucuklardaki** renk değişimleri ile değerlendirilir.
   d) **16-24 numaralı** kuyucuklardaki renk değişimleri **mikoplazma ve üreplazmalar dışındaki** mikroorganizmaların varlığını işaret etmektedir.
   e) **16 numaralı ESC** kuyucuğunda **pozitif reaksiyonun gözlenmesi** durumunda kuyucuğa bir damla **Kovac's** ayıracı damlatın. **Birkaç dakika sonra** gözlenen **kırmızı halka** örnekte ***Escherichia coli*** varlığının teyidi olarak kabul edilir.
   f) **22 numaralı NES** kuyucuğundan bir damla sıvı alın ve bir **oksidaz** test çubuğunun test alanına yayın. Gözlenen **mavi** renk örnekte ***Neisseria gonorrhoeae*** varlığının teyidi olarak kabul edilir.
   g) **23 numaralı STG** kuyucuğunda pozitif reaksiyonun gözlenmesi durumunda örnekte ***Streptococcus agalactiae*** varlığını kültürel izolasyon ve lateks aglütinasyon testleri ile doğrulayabilirsiniz.

2. Sonuçlar A.F. Genital System ile birlikte sağlanan sonuç formuna (Test Results Form) kaydedilir.

EK 1 Değerlendirme Tablosu

Kuyucuk	Test		Değerlendirme	
			Kuyucuk rengi	
			Pozitif	Negatif
1-Uu 10^3	**Mikoplazma ve Üreplazmaların tespiti ve düzeylerinin belirlenmesi**	*Ureaplasma* spp. (Düzey = 10^3 KOB/mL)	Turuncu-Kırmızı 	Sarı 
2-Uu 10^4		*Ureaplasma* spp. (Düzey = 10^4 KOB/mL)	Turuncu-Kırmızı 	Sarı 
3-Uu ≥ 10^5		*Ureaplasma* spp. (Düzey ≥ 10^5 KOB/mL)	Turuncu-Kırmızı 	Sarı 
4-Mh 10^4		*Mycoplasma hominis* (Düzey = 10^4 KOB/mL)	Turuncu-Kırmızı 	Sarı 
5-Mh ≥ 10^5		*Mycoplasma hominis* (Düzey ≥ 10^5 KOB/mL)	Turuncu-Kırmızı 	Sarı 
			Mikroskobik gözlem (40 X)	
6-TR/YE	***Trichomonas vaginalis* / *Candida* spp. varlığının teyidi**		*T. vaginalis*: Kamçılı siliyat protozoitlerin gözlenmesi   *Candida* spp: Klamidospor ve hifaların gözlenmesi 	
			Kuyucuk rengi	
			Hassas	Dirençli
7-TE	**Antibiyotik duyarlılık testleri**	Tetrasiklin 8 µg/mL	Sarı 	Turuncu-Kırmızı 
8-PEF		Pefloksasin 16 µg/mL	Sarı 	Turuncu-Kırmızı 
9-OFX		Ofloksasin 4 µg/mL	Sarı 	Turuncu-Kırmızı 
10-DO		Doksisiklin 8 µg/mL	Sarı 	Turuncu-Kırmızı 
11-E		Eritromisin 16 µg/mL	Sarı 	Turuncu-Kırmızı 

12-CLA		Klaritromisin 16 µg/mL	Sarı	Turuncu-Kırmızı
13-MN		Minosiklin 8 µg/mL	Sarı	Turuncu-Kırmızı
14-JOS		Josamisin 8 µg/mL	Sarı	Turuncu-Kırmızı
15-CD		Klindamisin 8 µg/mL	Sarı	Turuncu-Kırmızı
			Kuyucuk rengi	
			Pozitif	**Negatif**
16-ESC	**Diğer mikrooragnizmaların varlığına ilişkin testler**	*Escherichia coli*	Mavi	Kırmızı
17-PRO		*Proteus* spp. / *Providencia* spp.	Kahverengi-Siyah	Sarı
18-PSE		*Pseudomonas* spp	Yeşil	Mavi-Sarı
19-GAR		*Gardnerella vaginalis*	Sarı-Turuncu	Kırmızı
20-STF		*Staphylococcus aureus*	Siyah halka	Sarı
21-STR		*Enterococcus faecalis*	Siyah	Sarı
22-NES		*Neisseria gonorrhoeae*	Mavi (Oksidaz sonucu) Pos. +	Renksiz (Oksidaz sonucu) Neg. -
23-STG		*Streptococcus agalactiae* (Grup B)	Yeşil	Sarı
24-CAN		*Candida* spp.	Bulanık sarı	Yeşil