

Kmen je **odolný** při:

1 / růstu kmene pro testované antibiotikum v jediné koncentraci.

2 / růstu v nízké koncentraci nebo v obou koncentracích antibiotik pro testované antibiotikum ve dvou koncentracích.

| Třída | Antibiotikum | U.u. | | M.h. | | Poznámky |
|---------------|----------------|------|------|--------|-------|--|
| | | S | R | S | R | |
| Chinolon | Levofloxacin* | ≤ 2 | ≥ 4 | ≤ 1 | ≥ 2 | |
| | Moxifloxacin* | ≤ 2 | ≥ 4 | ≤ 0.25 | ≥ 0.5 | |
| | Ofloxacin | ≤ 1 | > 1 | ≤ 1 | > 1 | |
| Lincosamidy | Clindamycin* | / | / | ≤ 0.25 | ≥ 0.5 | U.u. jsou přirozeně rezistentní proti clindamycinu |
| Tetracyklin | Tetracyklin* | ≤ 1 | ≥ 2 | ≤ 4 | ≥ 8 | Kmeny citlivé na tetracyklin jsou také citlivé na doxycyklin. |
| | Minocyklin | ≤ 2 | > 2 | ≤ 2 | > 2 | |
| Makrolidy | Erythromycin* | ≤ 8 | ≥ 16 | / | / | Kmeny, které jsou citlivé na erythromycin, jsou také citlivé na azithromycin. M.h. jsou přirozeně rezistentní proti erythromycinu. |
| | Roxithromycin | ≤ 2 | > 2 | / | / | U.u. jsou přirozeně rezistentní na roxythromycin |
| | Josamycin | ≤ 2 | > 2 | ≤ 2 | > 2 | |
| Ketolidy | Telithromycin* | ≤ 4 | / | ≤ 4 | / | |
| Streptogramin | Pristinamycin | ≤ 2 | > 2 | ≤ 2 | > 2 | |

(* kritéria pro interpretaci definovaná CLSI)

M. hominis je přirozeně rezistentní na 14 a 15 uhlíkových makrolidů, včetně erythromycinu a roxythromycinu, ale citlivý na 16 uhlíkových makrolidů, jako je josamycin.

U. urealyticum je přirozeně rezistentní na linkosamidy (klindamycin).

V některých populacích může rezistence na tetracyklin dosáhnout 45 % pro U.u. a 39,6% pro M.h. (2). Byla hlášena rezistence na chinolon (U.u. a M.h.) (5, 6) a klindamycin (M.h.), ale prevalence není známa.

Pomůcka pro interpretaci:

Test citlivosti U.u.

| ATB* | LVX | | | | MXF | | | | | TET | | | | | ERY | | |
|--------|-----|---|---|------|------|-----|---|---|------|-----|---|---|---|------|-----|----|------|
| | 1 | 2 | 4 | int* | 0.25 | 0.5 | 2 | 4 | int* | 1 | 2 | 4 | 8 | int* | 8 | 16 | int* |
| Profil | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | S |
| | + | - | - | S | + | - | - | - | S | + | - | - | - | R | + | - | R |
| | + | + | - | R | + | + | - | - | S | + | + | - | - | R | + | + | R |
| | + | + | + | R | + | + | + | - | R | + | + | + | - | R | / | / | / |
| | / | / | / | / | + | + | + | + | R | + | + | + | + | R | / | / | / |

* ATB = antibiotika, * CONC = koncentrace, * INT = interpretace

Test citlivosti U.u.

| ATB* | TEL | ROX | MIN | OFX | JOS | PRI |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CONC* (µg/mL) | 4 int* | 2 int* | 2 int* | 1 int* | 2 int* | 2 int* |
| Profil | - S | - S | - S | - S | - S | - S |
| | + / | + R | + R | + R | + R | + R |

Test citlivosti M.h.

| ATB* | LVX | | | | MXF | | | | TET | | | | CLI | | | | |
|--------|-----|---|---|------|------|-----|---|---|------|---|---|---|-----|------|------|-----|------|
| | 1 | 2 | 4 | int* | 0.25 | 0.5 | 2 | 4 | int* | 1 | 2 | 4 | 8 | int* | 0.25 | 0.5 | int* |
| Profil | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | S |
| | + | - | - | R | + | - | - | - | R | + | - | - | - | S | + | - | R |
| | + | + | - | R | + | + | - | - | R | + | + | - | - | S | + | + | R |
| | + | + | + | R | + | + | + | - | R | + | + | + | - | R | / | / | / |
| | / | / | / | / | + | + | + | + | R | + | + | + | + | R | / | / | / |

Test citlivosti M.h.

| ATB* | TEL | ROX | MIN | OFX | JOS | PRI |
|---------------|--------|-----------------|--------|--------|--------|--------|
| CONC* (µg/mL) | 4 int* | 2 int* | 2 int* | 1 int* | 2 int* | 2 int* |
| Profil | - S | přirozený odpor | - S | - S | - S | - S |
| | + / | + R | + R | + R | + R | + R |

11 - ZVLÁŠTNÍ PŘÍPADY

Pokud jsou hodnoty U.u. nebo M.h. velmi vysoké, všechny fontány v galerii zčervenají. Potom se doporučuje vzorek zředit, aby byl výsledek přesnější. V takovém případě postupujte následovně:

Naočkejte novou nádobu UMMT (3 mL) s 300 µL původního média UMMT, které bylo skladováno při teplotě 2-8°C (§ 9.1).

Naočkejte novou soupravu nově naočkováním médiem UMMT.

Při interpretaci počtu je třeba vzít v úvahu ředění (1:10). V případě potřeby potvrďte přítomnost mykoplazmat na agaru A7 opětovnou izolací z původního média UMMT skladovaného při teplotě 2-8°C (§ 9.1). Nestálá inkubační teplota nebo <36°C (časté otevírání temperační komory, heterogenita teploty v temperační komoře ...) může zpomalit kinetiku růstu mykoplazmat.

12 - KONTROLA KVALITY

Kontrola kvality může být prováděna z kmenů *U. urealyticum* nebo *M. hominis* sady MYCOPLASMA CONTROL Kits (výř. 00900) nebo z lyofilizovaného hromadného kmene (*U. urealyticum* ATCC 27815 nebo *M. hominis* ATCC 23114), který byl dříve kalibrován na 10⁴⁻⁵ CCU/mL. Naočkejte soupravu MYCOFAST RevolutioN ATB+ a pokračujte v testu, jak je uvedeno v této příručce (§9 a 10)

Očekávané výsledky níže (ATCC):

MYCOFAST RevolutioN ATB +

| | U.u. 10 ³ | U.u. ≥10 ⁴ | M.h. ≥10 ⁴ | LVX | MXF | TET | ERY |
|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|
| U.u. kmen ATCC 27815 | + | + | - | S | S | S/R | S |
| M.h. kmen ATCC 23114 | - | - | + | S/R | S | S | R |

| | CLI | TEL | ROX | MIN | OFX | JOS | PRI |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| U.u. kmen ATCC 27815 | R | S | S/R | S | S/R | S | S |
| M.h. kmen ATCC 23114 | S | S/R | R | S | S | S | S |

13 - OMEZENÍ METODY

Některé bakterie, které jsou přítomny v množství >10⁶⁻⁷ CFU/mL a mají ureázu, mohou změnit barvu všech jamek v soupravě. Jejich přítomnost lze ověřit jejich izolací na čokoládovém agaru z média UMMT původně skladovaného při teplotě 2-8°C (§ 9.1).

Zásaditá hodnota pH vzorku (pH ≥ 7) může vést ke změně barvy média. V tomto případě zředit vzorek (1:10) v jiném médiu UMMT a interpretujte znovu s přihlédnutím k ředění.

Kyselá pH vzorku (pH ≤ 5,5) může zpomalit výskyt zbarvení.

Vzorek obsahující krev může způsobit, že se barva jamek v soupravě MYCOFAST RevolutioN ATB + změní, což bude interpretováno jako pozitivní výsledek. V tomto případě zředit vzorek (1:10) v jiném médiu UMMT a interpretujte znovu s přihlédnutím k ředění. Vzorek lehce nasycený mykoplazmaty (<10³ CCU/mL) může způsobit náhodné zbarvení v různých jamkách soupravy. Stejně jako u jiných testovacích metod zárodků závisí kvalita vzorku na výsledku testu. Negativní test nemusí nutně znamenat, že nedochází k žádné infekci.

14 - SLUŽBY

14.1 Identifikace - sčítání

| % z celkové shody | U.u. | M.h. | U.u./M.h. |
|---|------|------|-----------|
| Izolované kmeny (hodnoty ≤ 10 ³ CCU/mL) (viz § 14.1.1) | 97,7 | NA | NA |
| Izolované kmeny (hodnoty ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (viz § 14.1.1) | 96,5 | 98,9 | 97,8 |
| Vaginální klinické vzorky | 100 | 95,7 | 97,8 |
| Tekuté klinické vzorky: moč | 96,6 | 97,7 | 97,1 |

NA: neaplikováno

14.1.1 Na izolovaných kmenech

Byla provedena srovnávací studie s 21 izolovanými kmeny (ATCC a kolektivními kmeny), které byly testovány samostatně (U.u. nebo M.h.) při více ředěních (celkem 85 testů).

Získané výsledky jsou porovnány s výsledky ze sčítání mikroředění.

Pro interpretaci s patologickým prahem nastaveným na 10³ CCU/mL je globální souběžnost pro U.u. 97,7% (v postupu sčítání mikroředění jsme uvedli 2 falešně pozitivní hodnoty pro hodnoty 10³ CCU/mL).

Pro interpretaci s patologickým prahem nastaveným na 10⁴ CCU/mL je celková shoda U.u. 96,5% (v postupu počítání mikroředění jsme uvedli 3 falešně pozitivní hodnoty pro hodnoty 10³ CCU/mL). Celková shoda pro M.h. je 98,9 % (v metodě sčítání mikroředění jsme uvedli falešně pozitivní výsledek pro hodnotu 10³ CCU/mL).

Celková shoda U.u. a M.h. je 97,8 %.

14.1.2 Na klinických vzorcích

První srovnávací studie byla provedena na vaginálních klinických vzorcích (n = 23) odebraných v suchých výtěrech. Výsledky získané pomocí MYCOFAST RevolutioN ATB + jsou porovnány s metodou sčítání kapalného mikroředění.

Celková shoda pro U.u. je 100% a pro M.h. je celková shoda 95,7% (při hodnotě 10² CCU/mL v metodě mikroředění kapaliny jsme uvedli falešně pozitivní výsledek). Byla provedena druhá srovnávací studie s klinickými vzorky moči (n = 88).

Výsledky byly odečteny po 48 hodinách inkubace a interpretovány, pokud byl test negativní po 24 hodinách. Byla uvedena pouze přítomnost mykoplazmat, bez počítání, jak se doporučuje pro vzorek tekutiny.

Výsledky získané pomocí MYCOFAST RevolutioN ATB + jsou porovnány s metodou sčítání kapalného mikroředění.

Celková shoda pro U.u. je 96,6% (v metodě počítání mikroředění jsme uvedli 1 falešně negativní pro hodnotu 10⁴ CCU/mL a 2 falešně pozitivní výsledky pro hodnoty 10² CCU/mL v metodě počítání mikroředění).

Celková shoda pro M.h. je 97,7% (v postupu počítání mikroředění jsme uvedli 2 falešně pozitivní výsledky pro hodnotu 10² CCU/mL).

Celková shoda pro U.u. a M.h. je 97,1%.

14.2 Test citlivosti

Srovnávací studie byla provedena v národní referenční laboratoři mezi metodou stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) v kapalném médiu a metodou MYCOFAST RevolutioN ATB+.

Testované kmeny (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* a 16 *M. hominis*) jsou referenční kmeny, divoké klinické kmeny nebo kmeny, u kterých se vyvinula rezistence. Každý kmen je testován při ředění 10^3 – 10^4 und 10^5 CCU/mL.

U hodnot 10^4 a 10^5 CCU/mL byly výsledky odečteny a interpretovány po 24 hodinách inkubace.

U hodnot 10^3 CCU/mL byly výsledky odečteny po 48 hodinách inkubace a interpretovány, pokud byl test negativní do 24 hodin.

Výsledky obou metod jsou podle doporučení CLSI interpretovány jako sensitiv (S) nebo resistant (R).

Celková shoda pro *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* je 93,8% (394/420).

Celková shoda pro *Mycoplasma hominis* pro hodnoty pod 10^4 - 10^5 CCU/mL je 93,4% (227/243).

| Shoda | <i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>parvum</i> (n=42) | | | | | | | | | |
|-------|--|-----|----------------|-----|----------------|-----|-----|-----|-----|----------------|
| | TET | MIN | MXF | LVX | OFX | ERY | JOS | PRI | TEL | ROX |
| | 39 | 38 | 37 | 40 | 34 | 41 | 42 | 42 | 42 | 39 |
| DM | 3 | 4 | 4 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| DTM | 0 | 0 | 1 ^a | 0 | 4 ^b | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 ^c |

DM: Velká diskordance, DTM: Velmi velká diskordance

^a: diskordance při 10^4 CCU/mL (referenční MIC při 4 µg/mL)

^b: 1 diskordance při 10^4 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL), 1 diskordance při 10^4 CCU/mL (referenční MIC při 1 µg/mL), 1 diskordance při 10^5 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL) (referenční MIC při 1 µg/mL), 1 diskordance při 10^5 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL)

^c: 1 diskordance při 10^3 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL), 1 diskordance při 10^4 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL), 1 diskordance při 10^5 CCU/mL (referenční MIC při 4 µg/mL)

| Shoda | <i>Mycoplasma hominis</i> (n=27) | | | | | | | | |
|-------|----------------------------------|----------------|-----|-----|----------------|-----|-----|-----|-----|
| | TET | MIN | MXF | LVX | OFX | JOS | PRI | TEL | CLI |
| | 26 | 26 | 27 | 27 | 26 | 27 | 27 | 14 | 27 |
| DM | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 0 |
| DTM | 1 ^a | 1 ^b | 0 | 0 | 1 ^c | 0 | 0 | 0 | 0 |

^a: Diskordance při 10^4 CCU/mL (referenční MIC >32 µg/mL)

^b: Diskordance při 10^5 CCU/mL (referenční MIC při 4 µg/mL)

^c: Diskordance při 10^5 CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL)

15 - LIKVIDACE ODPADU

Likvidace odpadu musí být prováděna v souladu s hygienickými předpisy platnými pro tento typ činnosti v zemi použití.

16 - SEZNAM LITERATURY

1 - BEBEAR C., BEBEAR C.M., 2007. Infections humaines à mycoplasmes. Revue Francophone des Laboratoires. N°391, 63-69.

2 - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing for Human Mycoplasmas; Approved Guideline. CLSI Document M43-A. Vol.31 - N°19.

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

4 - 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. (ed.). principles and practices of infectious

diseases, 4. Ausg., Bd. 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES Ken B. , Brenda Katz and Robert L. Schelonka. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Micro- biol. Rev. Vol.18 -N°4 -757-789.

6 - Waites KEN B, Donna M. Crabb, and Lynn B. DuGy. 2008. Comparative In Vitro Activities of the Investigational Fluoroquinolone DC- 159a and Other Antimicrobial Agents against Human Mycoplasmas and Ureaplasmas. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Vol. 52, No. 10, 3776–3778.5

7 - Rémic 2015 - Référentiel en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5. Ausgabe)

Změny od poslední revize jsou zvýrazněny šedě.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎: 33 (0)4 94 88 55 00
Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>

