

## Диагностика на урогенитални микоплазми

### MYCOFAST® Screening Revolution

Откриване и диференциация  
50 теста (REF 00063)

### COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution

Преброяване, идентификация и тест за чувствителност  
25 теста (REF 00062)  
**UMMt Revolution**  
50 теста (REF 00061)

CPV 0396\_BG-2015-12

Единствено за *in vitro* диагностика, само за професионална употреба  
Промените спрямо предходната версия са маркирани в сиво.

#### 1-ЦЕЛ

Наборът MYCOFASTScreening Revolution(REF 00063) позволява откриването и диференцирането на *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) и *Mycoplasma hominis* (M.h.) от различни клинични проби. Той трябва да се използва в комбинация със среди от набор UMMt Revolution(REF 00061).

В случай на положителен скрининг, анализът може да бъде допълнен с метода на набор COMPLEMENT MYCOFAST Revolution(REF 00062), позволяващ преброяването и идентифицирането на U.u. и/или M.h., както и тест за чувствителност към антибиотици съгласно препоръките на CLSI (Институт за клинични и лабораторни стандарти) (2).

#### 2-ВЪВЕДЕНИЕ

Микоплазмите, които наброяват няколко вида, регистрирани до момента при хората, принадлежат към класа на моликутите. Те се различават от другите бактерии по много начини, включително по липсата на стена, която им дава естествена устойчивост на  $\beta$ -лактами, както и мембрана, богата на стероли от мембраните на еукариотните клетки, към които те се прикрепят. Микоплазмите са относително крехки организми, които се размножават в безклетъчна среда само при наличие на множество растежни фактори и при оптимална температура от 37°C (4).

Повечето човешки микоплазми са прости коменсали. Видове, изолирани от урогениталния тракт, *U. urealyticum* и *M. hominis* се откриват най-често. Видът *U. urealyticum* се подразделя на два биотипа: *U. urealyticum U. parvum* (U.u.).

U.u. или M.h. могат да се държат като истински патогени. Те са отговорни за мъжки генитални инфекции (негонококов уретрит, епидидимит, простатит, безплодие); гинекологична инфекция (бактериална вагиноза, ендометрит, салпингит); репродуктивни нарушения (хориоамнионит, ендометрит след раждане, недоносеност, спонтанен аборт); засягане на новородените (ниско тегло при раждане, респираторни и неврологични инфекции, бактериемия, абсцес); екстрагенитални инфекции (септичен артрит, реактивен артрит, други локализации) (1).

Диагнозата на микоплазмените инфекции зависи от определянето на патологичен праг и следователно от броя. Появата на резистентност на U.u. и M.h. към определени молекули води до провеждане на тест за чувствителност към антибиотици (5, 6). Тестваните антибиотици и критериите за тълкуване са подходящи за лечение на микоплазмени инфекции в урогениталния тракт или други екстрагенитални места (2).

#### 3-ПРИНЦИП

Техниката на MYCOFASTScreening Revolution е метод в течна среда, базиран на способността на U.u. и M.h. да метаболизират съответно урея и аргинин. Растежът на микоплазмите в течна среда се визуализира чрез промяната на цветен индикатор - фенолно червено - от жълто-оранжево до червено, което отразява алкализирването на средата поради отделянето на амониак. Така визуализираният растеж на микоплазмите позволява:

- откриване и диференциране; след това в случай на позитивност:
- броенето въз основа на скоростта на хидролиза на субстратите, която е пропорционална на количеството микроорганизми, съдържащи се в пробата.
- идентификацията, основаваща се на чувствителността на микроорганизма към три антибиотика.
- изследване на чувствителността на U.u. и M.h. към антибиотици.

#### 4-РЕАГЕНТИ

Описание	Количество		
	#00061	#00062	#00063
UMMt : флакон 3 ml микоплазма бульон с антибиотици и консерванти. pH: 6,0 ± 0,1	50	-	-
MYCOFASTSCREENING Revolution: набор с отчупване 10 гнезда за 5 теста, индивидуално опаковани в алуминиево саше с вграден десикант.	-	-	10
Етикети: Лист от 5 отчупващи се етикети	-	-	10
S. Mh.: Активатор на растежа Mh (4,5 mL)	-	2	1
MYCOFAST Revolution: набор от 20 гнезда за 1 изследване, опакован в алуминиево саше с вграден десикант	-	25	-
Система за затваряне: полупрозрачен пластмасов капак за набор MYCOFAST Revolution	-	25	-

#### Набор MYCOFAST Screening Revolution

Набор, съставен от 5 редици от по 2 гнезда: едно гнездо *Ureaplasma urealyticum* (U.u.), съдържащо линкомицин и урея и гнездо *Mycoplasma hominis* (M.h.), съдържащо еритромицин и аргинин.

#### Набор MYCOFAST Revolution

Наборът съдържа в 20 гнезда растежната среда в дехидратирана форма (серум от жребче, екстракт от дрожди, цистеин, аргинин, урея, фенолно червено, антибиотици, pH: 6,1 ± 0,1) и включва 4 отделни части:

- гнезда 1-3 брой U.u. за проценти от  $10^3$  до  $\geq 10^5$  UCC/mL (буферизиран разтвор и линкомицин, инхибиращ растежа на M.h.).
- гнезда 4-6 Идентификатор: идентификация на U.u. и M.h. според профила им устойчивост или чувствителност към: Линкомицин (L), Триметоприм-сулфаметоксазол (SXT) и Еритромицин (E).
- гнезда 7 Брой M.h. за проценти  $\geq 10^4$  UCC/ mL (буферизиран разтвор и еритромицин, инхибиращ растежа на U.u.).
- гнезда 8-20 Оценка на чувствителността на U.u. и M.h. към антибиотици Левофлоксацин (LVX) 1-2-4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Моксифлоксацин (MXF) 0,25-2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Еритромицин (E) 8-16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Клиндамицин (CM) 0,25-0,5  $\mu\text{g}$  / mL, тетрациклин (TE) 1-2-4-8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### 5-ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА УПОТРЕБА

- Реагентите от този набор са предназначени само за *in vitro* диагностика и с тях трябва да боравят само квалифицирани за това лица.
- Пробите и инокулираните реагенти са потенциално инфекциозни; с тях трябва да се работи при обичайните предпазни мерки, като същевременно се спазват хигиенните правила и разпоредбите, действащи в страната на употреба за този тип продукти.
- С реагентите, съдържащи сууровини от животински произход, трябва да се борави с обичайните предпазни мерки.
- Не използвайте реагентите след срока на годност.
- Не използвайте повредени или неправилно съхранявани преди тяхната употреба реагенти.
- Положителен резултат с набор MYCOFAST Revolution показва колонизация от урогенитална микоплазма, но не може да се използва самостоятелно за клинична диагноза. Това трябва да се извърши от лекар въз основа на биологичните резултати и клиничните признаци.

#### 6-ВЗЕМАНЕ ТРЕТИРАНЕ НА ПРОБИ

##### 6.1 Събиране на проби

Цервико-вагинални проби: използвайте само тампон с Dacron или вискоза или циточетка. Вземете пробата след внимателно отстраняване на секретата

от ектоцервикса с помощта на първи тампон. Тъй като микоплазмите имат силен афинитет към клетките на лигавицата, към които се закрепват, е изключително важно лигавицата да се остъргне добре, за да се получи достатъчно материал.

Натривки от уретрата: почистете канала и вземете проба чрез натриване или изстъргване на клетките.

Сперма, урина: съберете спермата или първата струя урина в стерилен флакон.

Стомашни течности: изтеглете стомашна течност от новородени чрез засмукване през катетър и съберете в стерилен флакон.

#### 6.2 Транспорт в среда UMMt

Проби от тампони: поставете тампона във флакон с среда UMMt.

Течни проби: направете посявка на флакон с UMMt среда с 300  $\mu\text{L}$  хомогенизирана течност.

#### 6.3 Съхраняване в среда UMMt

След като се направи посявка, UMMt средата може да се съхранява при стайна температура (18-25°C) в продължение на 20 часа или при 2-8°C в продължение на 56 часа. За съхранение в продължение на 3 дни при -20°C, добавете предварително 2 капки "MYCOPLASMAstabilizer".

#### 7-ПОДГОТОВКА И СЪХРАНЕНИЕ НА РЕАГЕНТИ

- Реагентите, съхранявани при 2-8°C в първоначалното си състояние, са стабилни до срока на годност, посочен на етикетите.

- Ако се използва само една серия гнезда (U.u.) (M.h.) или две, три, четири серии гнезда, останалата част от набора MYCOFAST Screening Revolution, която не е използвана и е запечатана в оригиналната алуминиева опаковка, може да се съхранява до 4 седмици при температура 2-8°C.

- Добавката Mh е стабилна 3 месеца след отваряне.

- UMMt средата може временно да се съхранява при стайна температура, но показва по-добра стабилност при 2-8°C.

- Не замразявайте реагентите в комплекта.

#### 8-ИЗИСКВАН, НО НЕПРЕДОСТАВЕН МАТЕРИАЛ

- Оборудване за вземане на проби (тампони, циточетки, стерилни флакони за събиране на течни проби), пилети и накрайници за прехвърляне
- MYCOPLASMAstabilizer (REF 00064), сушилни, калибрирана при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$
- Контейнер за замърсени отпадъци
- Минерално масло

#### 9-РЕЖИМ НА РАБОТА

Оставете реагентите на стайна температура за 20-30 минути.

#### 9.1 ОТКРИВАНЕ - набор MYCOFAST Screening Revolution

- Пригответе толкова редици гнезда, колкото са пробите за тестване.
- Ако е необходимо, отделете една или повече редици гнезда (U.u.)/(M.h.), като направите справка с маркировката на набора.

#### 9.1.1 Инокуляция на среда UMMt Revolution

Инокулирайте UMMt средата с тампона или с 300  $\mu\text{L}$  течни проби (§ 6.2). Хомогенизирайте.

#### 9.1.2 Инокуляция на Uu/Mh гнезда

- Разпределете след това:
  - Гнездо (U.u.): 100  $\mu\text{L}$  инокулирана среда UMMt.
  - Гнездо (M.h.): 100  $\mu\text{L}$  инокулирана среда UMMt.
  - 50  $\mu\text{L}$  добавка Mh.

- Добавете 2 капки минерално масло в двете гнезда.

- Покрийте гнездата с отделяща се етикет и идентифицирайте пробата.

- **Съхранявайте излишъка от флакона с UMMt среда** инокулиран при температура 2-8°C, за да продължите изследването в случай на положителен скрининг.

#### 9.1.3 Инкубация на Uu/Mh гнезда

Инокулирайте гнездата от набора за 24 часа при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Инкубацията на набора може да се удължи до 48 часа само в случай на отрицателни течни проби за 24 часа.

#### 9.1.4 Разчитане и тълкуване на Uu/Mh гнезда

- Проверете дали двете гнезда (U.u.) (M.h.) са бистри. Мътно гнездо говори за бактериално замърсяване. В този случай повторете теста.

- Наблюдавайте промяната на цвета в гнездата U.u. и M.h.:

- Оранжево или червено U.u. гнездо: наличие на *Ureaplasma urealyticum*

- Оранжево или червено M.h. гнездо: наличие на *Mycoplasma hominis*

- Жълти U.u./M.h. гнезда: отсъствие на микоплазми

**При положителен резултат, продължете диагнозата с набор MYCOFAST Revolution**



сравнителен метод са се оказали положителни за U.u. и M.h. с MYCOFAST *RevolutioN*.

	n = 179	MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	МЕТОД СРАВНИТЕЛЕН
U.u. (n = 118)	111	U.u	U.u
	5	U.u	Отсъствие
	2	Отсъствие	U.u
M.h. (n = 4)	4	M.h	M.h
U.u/M.h (n = 57)	39	U.u/M.h	U.u/M.h
	11	U.u/M.h	U.u
	2	U.u/M.h	Отсъствие
	4	U.u	U.u/M.h
	1	M.h	U.u/M.h

### 13.2.2 Преброяване

Резултатите от преброяването на U.u. шамове (n = 175) и M.h. шамове (n = 61) получени със сравнителния метод и/или с MYCOFAST *RevolutioN* са дадени в следните две таблици:

U.u (n = 175)	MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	МЕТОД СРАВНИТЕЛЕН
147	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL
2	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL	< 10 <sup>6</sup> UCC/mL
5	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL	Отсъствие
9	10 <sup>4</sup> UCC / mL	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL
1	10 <sup>4</sup> UCC / mL	Отсъствие
5	10 <sup>3</sup> UCC / mL	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL
1	10 <sup>3</sup> UCC / mL	< 10 <sup>6</sup> UCC/mL
1	10 <sup>3</sup> UCC / mL	Отсъствие
2	Отсъствие	≥ 10 <sup>6</sup> UCC/mL
1	Отсъствие	< 10 <sup>6</sup> UCC/mL
1	< 10 <sup>3</sup> UCC / mL	< 10 <sup>6</sup> UCC/mL

M.h (n=61)	MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	МЕТОД СРАВНИТЕЛЕН
10	≥ 10 <sup>4</sup> UCC/mL	≥ 10 <sup>4</sup> UCC/mL
34	≥ 10 <sup>4</sup> UCC/mL	< 10 <sup>4</sup> UCC/mL
13	≥ 10 <sup>4</sup> UCC/mL	Отсъствие
4	Отсъствие	< 10 <sup>4</sup> UCC/mL

Сред 165-те проби, положителни за U.u. по двата метода, 158 проби имат идентичен брой. Сред 44-те положителни проби за M.h. два метода, 10 проби показват идентичен брой и 34 проби показват брой с патологичен процент за метод MYCOFAST *RevolutioN* и инфрапатологичен процент за сравнителния метод.

### 14-ИЗХВЪРЛЯНЕ НА ОТПАДЪЦИ

Отпадъците трябва да се изхвърлят в съответствие с правилата за хигиена и действащите в страната на употреба разпоредби за този тип продукт.

### 15-БИБЛИОГРАФИЯ

- 1 - **ВЕВЕАР С., ВЕВЕАР С.М., 2007.** Инфекции на хора с микоплазма. Френскоезично списание на лабораториите. №391, 63-69.
- 2 - **Институт за клинични и лабораторни стандарти (CLSI). 2011 г.** Методи за антимикробно изпитване за чувствителност за човешки микоплазми; Одобрена насока. Документ CLSI M43-A. Том31 - №19.
- 3 - **PEREYRE S., ВЕВЕАР С.М., ВЕВЕАР С. 2001.** Микоплазми в патологиите при хората. Френско списание на лабораториите. Приложение към №329, 34-36.
- 4 - **TAYLOR-ROBINSON D. 1995.** *Ureaplasma urealyticum* (Т-шам Мусорласма) и *Mycoplasma hominis*, стр. 1713-1718. В MANDELLG. L., BENNETTJ.E. и DOLIN R. (изд.). Принципи и практики на инфекциозните болести, 4-то издание, том 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - **WAITES KEN B., BRENDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA.2005.** Микоплазми и уреаплазми като неонатални патогени. Clin. Microbiol. Ред. Том18 -№4 -757-789.

6 - **WAITES KEN B, DONNAM. CRABB и LYNN B. DUFFY. 2008.** Сравнителни ин витро дейности на изследователския флуорохинолон DC-159a и други антимикробни агенти срещу *Микоплазми* и *Уреаплазми при хората*. АНТИМИКРОБНИ АГЕНТИ И ХИМИОТЕРАПИЯ, том 52, № 10, 3776-3778.

7 - Remic 2015 - Справочен документ по медицинска микробиология (Френско дружество по микробиология) - (5-то издание)

MYCOFAST® е регистрирана търговска марка на ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau  
19, allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
Tél. : 04 94 88 55 00

