

## Dijagnostika urogenitalnih mikoplazmi MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Detekcija i diferencijacija  
50 testova (REF 00063)

## COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti

25 testova (REF 00062)

## UMMt *RevolutioN*

50 testova (REF 00061)

CPB 0396-HR-2015-12

Samo za *in vitro* dijagnostiku, isključivo za profesionalnu uporabu  
Testovi su samo za jednu uporabu.



### 1 - CILJ

Komplet MYCOFASTScreening *RevolutioN* (REF 00063) omogućava praćenje i diferencijaciju *Ureaplasme urealyticum* / *Ureaplasme parvum* (U.u.) i *Mycoplasme hominis* (M.h.) iz različitih kliničkih uzoraka. Koristi se zajedno s medijima iz kompleta UMMt *RevolutioN* (REF 00061).

U slučaju pozitivnog pregleda, analiza se može završiti zbirkama iz kompleta COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* (REF 00062) koji omogućuje prebrojavanje i identifikaciju U.u. i/ili M.h., kao i ispitivanje osjetljivosti na antibiotike prema preporukama CLSI-a (Institut za kliničke i laboratorijske standarde) (2).

### 2 - UVOD

Mikoplazme, kojih je do danas u ljudi zabilježeno više različitih vrsta, pripadaju razredu molikuta. One se razlikuju od drugih bakterija na mnogo načina, primjerice nedostatak stijenke što im pruža prirodnu otpornost na beta-laktamine i membrana bogata sterolima iz membrana eukariotskih stanica na koje se vežu. Mikoplazme su relativno krhki organizmi, koji se umnožavaju u acelularnom mediju samo u prisutnosti brojnih čimbenika rasta i na optimalnoj temperaturi od 37 °C (4).

Većina mikoplazmi koje prebivaju u ljudskom organizmu su jednostavni komensali. Vrste izolirane iz urogenitalnog trakta, *U. urealyticum* i *M. hominis* najčešće se nalaze. Vrsta *U. urealyticum* je podijeljena na dva biovara : *U. urealyticum* i *U. parvum* (U.u.).

U.u. ili M.h. se mogu ponašati kao pravi patogeni. Odgovorne su za muške genitalne infekcije (negonokokni uretritis, epididimitis, prostatitis, neplodnost); ginekološka infekcija (bakterijska vaginoza, endometritis, salpingitis); reproduktivni poremećaji (chorioamnionitis, postporodajni endometritis, prijevremeni porod, spontani pobačaj); neonatalni epileptični napadaji (mala porodajna težina, respiratorne infekcije, neurološke infekcije, bakterijemije, apsces); ekstragenitalne infekcije (septički artritis, reaktivni artritis, druge lokalizacije) (1).

Dijagnoza infekcija mikoplazmom ovisi o određivanju jednog patološkog praga, stoga i jednom prebrojavanju. Pojava otpornosti U.u. i M.h. na određene molekule vodi do ispitivanja osjetljivosti na antibiotike (5, 6). Testirani antibiotici i kriteriji interpretacije prikladni su za liječenje infekcija mikoplazmom u urogenitalnom traktu ili drugim ekstragenitalnim mjestima (2).

### 3 - NAČELO

Tehnika MYCOFASTScreening *RevolutioN* je metoda koja se koristi u tekućem mediju i temelji se na sposobnosti U.u. i M.h. da metaboliziraju ureu i arginin. Rast mikoplazami u tekućem mediju je vizualiziran promjenom boje indikatora - fenol crvena - od žuto-narančaste do crvene, što upućuje na alkalizaciju medija zbog oslobađanja amonijaka. Rast tako vizualizirane mikoplazme omogućuje:

- detekciju i diferencijaciju; u slučaju pozitivnosti:

- prebrojavanje koje se temelji na brzini hidrolize supstrata koje je proporcionalno količini klica sadržanih u uzorku.

- identifikaciju koja se temelji na osjetljivosti ili neosjetljivosti klice u odnosu na tri antibiotika.

- proučavanje osjetljivosti U.u. i M.h. na antibiotike.

### 4 - REAGENSI

Opis	Količina		
	#00061	#00062	#00063
UMMt : Bočica zapremine 3 mL ispunjena mješavinom mikoplazmi s antibiotika i konzervansom. pH: 6,0 ± 0,1	50	-	-
MYCOFASTSCREENING <i>RevolutioN</i> : Djeljiva zbirka od 10 jažica za 5 ispitivanja, pojedinačno pakiranih u aluminijsku vrećicu s integriranom sušilicom	-	-	10
Etikete: Komplet od 5 djeljivih etiketa	-	-	10
S. Mh.: Aktivator rasta M.h (4,5 mL)	-	2	1
MYCOFAST <i>RevolutioN</i> : Zbirka od 20 jažica za 1 test, pakirana u aluminijsku vrećicu s integriranom sušilicom	-	25	-
Closing system: Zaštitni poklopac od prozirnog plastičnog materijala za zbirka MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	-	25	-

#### Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Komplet sadrži 5 serija od 2 jažice : jedna jažica *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) koja sadrži linomicin i ureu i jedna jažica *Mycoplasma hominis* (M.h.) koja sadrži eritromicin i arginin.

#### Komplet MYCOFAST *RevolutioN*

Komplet sadrži 20 jažica ispunjenih dehidriranim medijem za rast (serum ždrijebeta, ekstrakt kvasca, cistelin, arginin, ureu, fenol crveni, antibiotike, pH : 6,1 ± 0,1) i sastoji se od 4 različita dijela:

jažice 1-3 Prebrojavanje U.u. za koncentracije 10<sup>3</sup> do ≥10<sup>5</sup> CCU/mL (puferirana otopina i inhibicija rasta linomicina M.h.).

jažice 4-6 Identifikacija U.u. i M.h. prema njihovom profilu otpornosti ili osjetljivosti na : linkomicin (L), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT) i eritromicin (E).

jažica 7 Prebrojavanje M.h. za koncentracije ≥10<sup>4</sup> CCU/ mL (puferirana otopina i eritromicin inhibitor rasta U.u.).

jažice 8-20 Procjena osjetljivosti U.u. i M.h. na antibiotike levofloksacin (LVX) 1-2-4 µg/mL, moksifloksacin (MXF) 0,25-2 µg/mL, eritromicin (E) 8-16 µg/mL, klindamicin (CM) 0,25-0,5 µg/mL, tetraciklin (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

### 5 - MJERE OPREZA PRI UPORABI

• Reagensi su namijenjeni samo za dijagnozu *in vitro* i mogu ih koristiti samo ovlaštene osobe.

• Inokulirani uzorci i reagensi potencijalno su zarazni, potrebno je rukovati pridržavajući se uobičajenih mjera opreza u skladu s pravilima higijene i propisima koji su na snazi u zemlji uporabe za ovu vrstu proizvoda.

• Reagensi koji sadrže sirovine životinjskog podrijetla trebaju se rukovati uobičajenim mjerama opreza.

• Nemojte koristiti reagentne kojima je istekao rok valjanosti.

• Nemojte koristiti oštećene ili reagentne loše pohranjene prije uporabe.

• Pozitivan rezultat dobiven uporabom kompleta MYCOFAST *RevolutioN* upućuje na kolonizaciju urogenitalnih mikoplazmi, ali se sam ne može upotrijebiti za kliničku dijagnozu. To mora učiniti liječnik na temelju bioloških rezultata i kliničkih znakova.

### 6 - PRIKUPLJANJE I OBRADA UZORAKA

#### 6.1 Prikupljanje uzoraka

Cervikovaginalni uzorci: Koristite samo Dacron briseve ili briseve od umjetne svile ili četkicu za uzimanje citološkog uzorka. Uzmite uzorak nakon pažljivog uklanjanja sekreta exocola prvim brisom. Budući da mikoplazme imaju visok afinitet za stanice sluznice na koju se pridržavaju, neophodno je dobro sastrugati sluznicu kako bi se postigao dobar učinak.

Uretralni uzorci: Očistite otvor i skupljajte ih zapljuskivanjem ili struganjem stanica. Sperma, urin: Skupite spermu ili prvi mlaz mokraće u sterilnu bočicu.

Želučane tekućine: Želučanu tekućinu novorođenčadi prikupite pomoću postupka aspiracije kateterom, zatim ju stavite u sterilnu bočicu.

#### 6.2 Transport u mediju UMMt

Uzimanje brisa: Stavite bris u bočicu medija UMMt.

Tekući uzorci: Inokulirajte jednu bočicu medija UMMt s 300 µL homogenizirane tekućine.

#### 6.3 Skladištenje medija UMMt

Nakon inokulacije, medij UMMt može se čuvati na sobnoj temperaturi (18-25 °C) 20 sati, ili na temperaturi od 2-8 °C tijekom 56 sati. Za skladištenje 3 dana na -20 °C, prethodno dodajte 2 kapi stabilizator "MYCOPLASMA Stabilizer".

### 7 - PRIPREMA I ČUVANJE REAGENSA

• Reagensi pohranjeni na temperaturi od 2-8 °C u izvornom stanju su stabilni do datuma isteka roka trajanja navedenog na naljepnicama.

• Ako se koristi samo jedan set jažica (U.u.) (M.h.) ili dva, tri ili četiri seta, neupotrebljeni ostatak kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN* koji je hermetički zatvoren u aluminijskoj vrećici, može se čuvati 4 tjedna na temperaturi od 2-8 °C.

• Suplement M.h. je stabilan 3 mjeseca nakon otvaranja.

• Medij UMMt može se privremeno pohraniti na sobnoj temperaturi, ali ima bolju stabilnost na temperaturi od 2-8 °C.

• Nemojte zamrzavati reagentne iz kompleta.

### 8 - POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU ZAJEDNO S KOMPLETOM

• Oprema za uzimanje uzoraka (štipači, četkice za uzimanje citoloških uzoraka, sterilne bočice za sakupljanje tekućih uzoraka), pipete i prijenosni tulci

• MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)

• Sušilo je kalibrirano na temperaturu od 37 ± 1 °C

• Spremnik za kontaminirani otpad

• Mineralno ulje

### 9 - POSTUPAK

Ostavite reagentne na sobnoj temperaturi 20 do 30 minuta.

#### 9.1 PRAČENJE - Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

- Pripremite onoliko setova jažica koliko ćete uzoraka testirati.

- Ako je potrebno, odvojite jedan ili više setova jažica (U.u.)/(M.h.) pridržavajući se oznaka na kompletu.

#### 9.1.1 Inokulacija medija UMMt *RevolutioN*

Inokulirajte medij UMMt pomoću štipača ili 300 µL tekućih uzoraka (§ 6.2). Dobro promiješajte.

#### 9.1.2 Inokulacija jažica U.u./M.h.

- Dozirajte prema sljedećem redoslijedu:

Jažica (U.u.) : 100 µL inokuliranog medija UMMt.

Jažica (M.h.) : 100 µL inokuliranog medija UMMt.

50 µL suplementa M.h.

- Dodajte dvije kapi mineralnog ulja u obje jažice.

- Na jažice stavite naljepnice i označite uzorak.

- Višak sadržaja iz bočice s medijem UMMt čuvajte na temperaturi od 2-8 °C kako biste u slučaju pozitivnog rezultata mogli nastaviti s analizom.

#### 9.1.3 Inokulacija jažica U.u./M.h.

Jažice iz kompleta inkubirajte 24 sata na temperaturi od 37 ± 1 °C. Inkubacija kompleta može se produžiti do 48 sati samo u slučaju negativnih tekućih uzoraka unutar 24 sata.

#### 9.1.4 Očitavanje i interpretacija jažica U.u./M.h.

- Provjerite je li sadržaj 2 jažice (U.u.) (M.h.) bistar. Zamućeni sadržaj jažice označava bakterijsku kontaminaciju. U tom slučaju ponovite test.

- Promatrajte promjenu boje u jažicama U.u. i M.h.:

Jažica U.u. je narančasta ili crvena: prisutnost *Ureaplasme urealyticum*

Jažica M.h. je narančasta ili crvena: prisutnost *Mycoplasme hominis*

Jažica U.u. / M.h. je žuta : odsutnost mikoplazmi

**U slučaju pozitivnog rezultata, nastavite postupak dijagnostike pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN***

### 9.2 PREBROJAVANJE, IDENTIFIKACIJA I ISPITIVANJE OSJETLJIVOSTI

#### 9.2.1 Inokulacija kompleta MYCOFAST *RevolutioN*

• Uklonite samoljepljivu traku povlačenjem 2 ježička i dozirajte po sljedećem rasporedu u jažice:

jažice 1-20 100 µL inokuliranog medija UMMt

jažice 6-7 50 µL suplementa S.Mh

jažice 1-20 2 kapi mineralnog ulja

• Pokrijte komplet uključivanjem poklopca "closing system".

• Identificirajte uzorak.

Pohranite višak sadržaja iz bočice UMMt na temperaturi od 2-8 °C kako bi se omogućila eventualna provjera.

#### 9.2.2 Inkubacija zbirke

Inkubirajte zbirku na temperaturi od 37 ± 1 °C tijekom 24 sata.

Za prebrojavanje U.u. i M.h. pročitajte rezultate nakon 24 sata. Inkubacija kompleta može se produžiti do 48 sati samo u slučaju negativnih rezultata tekućih uzoraka unutar 24 sata.

#### 9.2.3 Očitavanje i interpretacija

Provjerite je li sadržaj svih jažica iz kompleta bistar. Zamućeni sadržaj jažice označava bakterijsku kontaminaciju. U tom slučaju ponovite analizu.

Rast urogenitalnih mikoplazmi u jažicama rezultira alkalizacijom medija koji postaje crven. U odsutnosti rasta urogenitalnih mikoplazmi, medij ostaje žut. Narančastu boju treba smatrati pozitivnim rezultatom (granična stopa).

Za interpretaciju testa, pogledajte tablicu rezultata.

## Identifikacija (jažice 4, 5 i 6)

Identifikacija se vrši prema specifičnoj promjeni boje jažica 4, 5 i 6:

	4(L)	5(SXT)	6 (E)
<i>U. urealyticum</i>	crvena	crvena	žuta
<i>M. hominis</i>	žuta	crvena	crvena

## Prebrojavanje (jažice 1, 2, 3 i 7)

Identificirajte jažice koje su se obojile crveno i interpretirajte sljedeće:

1	koncentracija U.u. od $10^3$ CCU/mL
1 a 2	koncentracija U.u. od $10^4$ CCU/mL
1, 2 a 3	koncentracija U.u. $\geq 10^5$ CCU/mL
7	koncentracija M.h. $\geq 10^4$ CCU/mL

Patološke stope obično odabrane za *U. urealyticum* su:  $\geq 10^4$  CCU / mL za uretralni uzorak ili endotrahealni uzorak,  $\geq 10^3$  CCU / mL za 1<sup>st</sup> urina ili sperma. Za *M. hominis*, njena prisutnost u koncentraciji  $\geq 10^4$  CCU/mL u cervikovaginalnom uzorku je abnormalna (1, 3).

## Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike (jažice 8 do 20)

Promjena boje medija u jažicama koje sadrže antibiotike odražava sposobnost soja bakterije da raste u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Žuta boja medija ukazuje na nesposobnost razvijanja soja u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Sojevi su kvalificirani kao osjetljivi ili otporni na antibiotike prema sljedećim kriterijima interpretacije na način kako ih definira CLSI:

### Kriteriji za interpretaciju MIC u $\mu\text{g} / \text{mL}$ :

Klasa	Antibiotik	U.u.		M.h.		Komentari
		S	R	S	R	
Kinoloni	Levofloksacin	$\leq 2$	$\geq 4$	$\leq 1$	$\geq 2$	
	Moksifloksacin	$\leq 2$		$\leq 0,25$		
Makrolide	Eritromicin	$\leq 8$	$\geq 16$			Sojevi osjetljivi na eritromicin su osjetljivi na azitromicin
Linkozamidi	Klindamicin			$\leq 0,25$	$\geq 0,5$	
Tetracikline	Tetraciklin	$\leq 1$	$\geq 2$	$\leq 4$	$\geq 8$	Sojevi bakterija osjetljivi na osjetljivi su na doksiciklin

- Soj se smatra **osjetljivim** kada je njegov rast spriječen u dvije kritične koncentracije antibiotika.
- Soj se smatra **otpornim** kada je njegov rast spriječen pri visokokritičnoj koncentraciji antibiotika, a nije spriječen pri niskokritičnoj koncentraciji ili kada njegov rast nije spriječen u obje kritične koncentracije antibiotika.
- Za Moxifloxacin samo je niska kritična koncentracija testirana za U.u. i za M.h.
- *M. hominis* prirodno je otporan na makrolide od 14 i 15  $\mu\text{g}$ lika, uključujući eritromicin i azitromicin.
- U nekim populacijama stopa otpornosti na tetraciklin može doseći vrijednost od 45% za U.u. i 39,6% za M.h. (2). Otpornost na kinolone (U.u. i M.h.) (5, 6) i na klindamicin (M.h.) je opisana, ali prevalencija nije poznata.

## 10 - POSEBNI SLUČAJEVI

- Zbog vrlo visokih razina koncentracije U.u. i M.h., sve jažice iz zbirke su promijenile boju. Stoga se preporučuje razrjeđivanje uzorka kako bi se dobio precizniji rezultat. U tom slučaju postupite na sljedeći način:
- Inokulirajte novu bočicu UMMt s 300  $\mu\text{L}$  izvornog medija UMMt pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (vidi § 9.2.1).
- Inokulirajte novu zbirku pomoću novog inokuliranog medija UMMT.
- Vodite računa o omjeru razrjeđivanja (1:10) za interpretaciju prebrojavanja.
- Ako je potrebno, na agaru A7 potvrdite prisutnost mikoplazmi njihovim odstranjivanjem iz originalnog medija UMMT pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (vidi § 9.2.1).

## 11 - KONTROLA KVALITETE

Kontrola kvalitete se može izvršiti iz soja *U. urealyticum* koji se nalazi u kompletu MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ili iz soja liofilizirane zbirke (*U. urealyticum* ATCC 33175) prethodno kalibrirane na  $10^{4-5}$  CCU/mL.

**Praćenje** : Inokulirajte dvije jažice iz jedne zbirke MYCOFAST Screening *RevolutioN* i nastavite s testom na način kako je opisano u ovoj uputi (§ 9.1). Očekivani rezultati : U.u. (+) et M.h. (-).

**Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti**: Inokulirajte zbirku MYCOFAST *RevolutioN* i nastavite s testom kako je opisano u ovoj uputi (§ 9.2). Očekivani rezultati (ATCC 33175):

U.u.	U.u.	U.u.	L	SXT	E	M.h.	LVX	LVX	LVX
+	+	+/-	+	+	-	-	+/-	-	-
MXF	MXF	E	E	CM	CM	TE	TE	TE	TE
+/-	-	-	-	+	+	+	+	+	+/-

## 12 - OGRANIČENJA LAMETHODE

**12.1 - Praćenje**: Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN* ima prag osjetljivosti  $< 10^3$  CCU/mL i ne dopušta prebrojavanje. Broj dobiven u kompletu MYCOFAST *RevolutioN* može biti negativan nakon pozitivnog rezultata.

### 12.2 - Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti

- Neke bakterije koje su prisutne u koncentraciji  $\geq 10^{6-7}$  CFU/mL i posjeduju enzim ureazu mogu promijeniti boju svih jažica iz zbirke. Njihova prisutnost može se potvrditi ponovljenom izolacijom na čokoladnom agaru iz izvornog medija UMMIyo pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (vidi § 9.2).
- pH-vrijednost osnovnog uzorka (pH  $\leq 8$ ) može promijeniti boju medija. U tom slučaju razrijedite uzorak (1:10) u drugom mediju UMMt i interpretirajte ga uzimajući u obzir razrjeđivanje.
- Uzorak s niskim razinama mikoplazmi ( $< 10^3$  CCU/mL) može prouzročiti slučajnu promjenu boje različitih jažica iz kompleta.
- Kao i kod svake metode pretraživanja klica, kvaliteta uzorka uvjetuje rezultat testiranja. Negativni test ne mora nužno ukazivati na odsutnost infekcije.

## 13 - IZVEDBA

### 13.1 Izolirani sojevi

#### 13.1.1 Praćenje i diferencijacija - Identifikacija i prebrojavanje

Komparativna studija provedena je iz 9 izoliranih sojeva (sojevi ATCC i sojevi iz zbirke) koji su testirani odvojeno (U.u. ili M.h.) u dvije koncentracije ili u mješovitoj koncentraciji (U.u./M.h.). Dobiveni rezultati su uspoređeni s onima dobivenim korištenjem druge metode u tekućem mediju.

Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

- Za praćenje (n=19), podudarnost je 100%

- Za diferencijaciju (n=21), svi testirani sojevi U.u. i M.h. pravilno su identificirani u jažicama iz zbirke MYCOFAST Screening *RevolutioN*.

Komplet MYCOFAST *RevolutioN*

- Za identifikaciju (n=21), podudarnost je 100%.

- Za prebrojavanje U.u. (n = 11), 10 testova je podudarno, a 1 test prikazuje koncentraciju od  $10^3$  CCU/mL s kompletom MYCOFAST *RevolutioN* i  $\geq 10^4$  CCU/mL korištenjem komparativne metode ( $\leq 10^3$  CCU/mL s AGAR-om A7).

- Za prebrojavanje M.h. (n = 10), 6 testova je podudarno, a 4 testa prikazuju koncentraciju  $\geq 10^3$  CCU/mL s kompletom MYCOFAST *RevolutioN* i  $< 10^4$  CCU/mL korištenjem komparativne metode ( $10^4$  CCU/mL s AGAR-om A7).

#### 13.1.2 Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike

U nacionalnom referentnom laboratoriju provedena je usporedna studija između metode za određivanje minimalnih inhibicijskih koncentracija (MIC) u tekućem mediju i metode *RevolutioN*. Testirani sojevi (5 *U. urealyticum*, 10 *U. parvum* i 10 *M. hominis*) su referentni sojevi, klinički sojevi divljeg tipa ili sojevi koji su stekli otpornost. Svaki se testira u otopinama koncentracije  $10^3$ ,  $10^4$  i  $10^5$  CCU/mL. Rezultati obje metode interpretirani su kao senzibilni (S) ili rezistentni (R) sukladno preporukama CLSI M43-A.

Ukupna podudarnost za *U. urealyticum* je 96,7 % (174/180).

Ukupna podudarnost za *M. hominis* je 99,2% (119/120).

	<i>U. urealyticum/parvum</i> (n = 45)				<i>M. hominis</i> (n = 30)			
	LVX	MXF	E	TE	LVX	MXF	CM	TE
Podudarnost	43	42	45	44	30	30	29	30
DM	2	3	0	0	0	0	0	0
DTM	0	0	0	1*	0	0	1**	0

Podudarnost: S/S ili R/R, DM : Velika nepodudarnost (R/S), DTM : Vrlo velika nepodudarnost (S/R)

\*: Postignuta podudarnost pri koncentraciji od  $10^4$  CCU/mL u otopini približne koncentracije (referentni MIC za 2  $\mu\text{g}$ /mL)

\*\*\*: Postignuta nepodudarnost pri koncentraciji od  $10^5$  CCU/mL u otopini približne koncentracije (referentni MIC za 0,5  $\mu\text{g}$ /mL)

#### 13.2 Klinički sojevi

Komparativna studija provedena je iz kliničkih uzoraka prikupljenih u duplikatu, među kojima je detektirano 179 pozitivnih uzoraka (U.u. i/ili M.h.) primjenom barem jedne od dviju metoda. Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN* uspoređeni su s rezultatima dobivenim primjenom rutinske metode u evaluacijskom laboratoriju.

##### 13.2.1 Identifikacija

**Pozitivni uzorci za U.u.** : Sojevi U.u. detektirani primjenom komparativne metode identificirani su pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN* osim u slučaju uzorka. 5 negativnih uzoraka tijekom komparativne metode pokazalo se pozitivnima s kompletom MYCOFAST *RevolutioN*.

**Pozitivni uzorci za M.h.** : 4 soja M.h. detektirana komparativnom metodom identificirana su pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN*.

**Pozitivni uzorci za U.u. i M.h.** : Pozitivni uzorci za U.u. i M.h. korišteni tijekom komparativne metode pokazali su se pozitivni za U.u. i M.h. tijekom upotrebe kompleta MYCOFAST *RevolutioN*, osim 5 preostalih uzoraka. 11 pozitivnih uzoraka za U.u. i 2 negativna uzorka korištena tijekom komparativne metode pokazalo se pozitivnima za U.u. i M.h. tijekom uporabe kompleta MYCOFAST *RevolutioN*.

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

### 13.2.2 Prebrojavanje

Rezultati prebrojavanja sojeva U.u. (n = 175) i sojeva M.h. (n = 61) dobiveni korištenjem komparativne metode i/ili kompleta MYCOFAST *RevolutioN* navedeni su u sljedećim dvjema tablicama:

U.u. (n=175)	MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	KOMPARATIVNA METODA
147	$\geq 10^5$ CCU/mL	$\geq 10^4$ CCU/mL
2	$\geq 10^5$ CCU/mL	$< 10^4$ CCU/mL
5	$\geq 10^5$ CCU/mL	Odsutnost
9	$10^4$ CCU/mL	$\geq 10^4$ CCU/mL
1	$10^4$ CCU/mL	Odsutnost
5	$10^3$ CCU/mL	$\geq 10^4$ CCU/mL
1	$10^3$ CCU/mL	$< 10^4$ CCU/mL
1	$10^3$ CCU/mL	Odsutnost
2	Odsutnost	$\geq 10^4$ CCU/mL
1	Odsutnost	$< 10^4$ CCU/mL
1	$< 10^3$ CCU/mL	$< 10^4$ CCU/mL

M.h. (n=61)	MYCOFAST <i>RevolutioN</i>	KOMPARATIVNA METODA
10	$> 10^4$ UCC/ml	$> 10^4$ UCC/ml
34	$> 10^4$ UCC/ml	$< 10^4$ UCC/ml
13	$> 10^4$ UCC/ml	Odsutnost
4	Nincs	$< 10^4$ UCC/ml

Od 165 uzoraka pozitivnih za U.u. s obje metode, 158 uzoraka imalo je identične brojeve. Od 44 pozitivnih uzoraka za M.h. dvije metode, 10 uzoraka ima identično prebrojavanje,

a njih 34 ima prebrojavanje s patološkom koncentracijom kod korištenja metode MYCOFAST *RevolutioN* i infra-patološkom koncentracijom kod korištenja komparativne metode.

## 14 - ODLAGANJE OTPADA

Otpad mora biti zbrinut u skladu s higijenskim pravilima i propisima koji su na snazi za ovu vrstu reagensa u zemlji uporabe.

## 15 - BIBLIOGRAFIJA

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., BENNETT J.E. and DOLIN R. (ed.), Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed., vol. 2. Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES KEN B., BRENDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Vol.18 -N°4 -757-789.

6 - WAITES KEN B., DONNAM. CRABB, and LYNN B. DUFFY. 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.

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

Promjene u odnosu na prethodnu verziju su označene sivom bojom.

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

