

Диагностика на урогенитални микоплазми

MYCOFAST® Screening Revolution

Откриване и диференциация
50 теста (РЕФ. 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution ATB+

Броене, идентификация и тест за чувствителност
25 теста (РЕФ. 00073)

UMMt Revolution

50 теста (РЕФ. 00061)

CPB 0396-4_BG-2018-03

Единствено за *in vitro* диагностика, само за професионална употреба



I - ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Наборът MYCOFAST Screening Revolution (РЕФ. 00063) позволява откриването и диференциацията на *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u) и на *Mycoplasma hominis* (M.h) от различни клинични проби. Той трябва да се използва в комбинация със средите от набора UMMt Revolution (РЕФ. 00061).

В случай на положителен скрининг анализът може да бъде допълнен с наборите COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+ (РЕФ. 00073), позволяващи броене и идентификация на U.u. и/или M.h., както и тест за чувствителност към антибиотици следвайки 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 β-лактами, както и мембрана, богата на стероли от мембраните на еукариотните клетки, към които се прикрепят. Микоплазмите са сравнително крехки организми, които се размножават в безклетъчна среда само при наличие на множество растежни фактори и при оптимална температурта 37°C (4).

Повечето 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* и *U. parvum* (U.u).

U.u. или M.h. могат да се държат като истински патогени. Те са отговорни за гениталните инфекции у мъжете (него-нококов уретрит, епидидимит, простатит, безплодие); гинекологична инфекция (бактериална вагиноза, ендометрит, салпингит); репродуктивни нарушения (хориоамнионит, ендометрит след раждане, нрдоносеност, спонтанен аборт); засягане на новородените (ниско често 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

| Описание | Количество | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|
| | реф. 00061 | реф. 00073 | реф. 00063 |
| UMMt: флакон 3 mL с микоплазма бульон с антибиотици и консервант. pH: 6,0 ± 0,1 | 50 | | |
| MYCOFAST SCREENING Revolution: Чупец се набор от 10 ямки за 5 теста, индивидуално опаковани в алуминиева торба с вграден десикант | | | 10 |
| Етикети: Лист от 5 отчупващи се етикета | | | 10 |
| S.Mh: Активатор на растежа Mh (4,5 mL) | | | 1 |
| MYCOFAST Revolution ATB+: Набор от 24 ямки за 1 тест, опакован в алуминиева торба с вграден десикант | | 25 | |
| Система за затваряне: Полупрозрачен пластмасов капак за набор MYCOFAST Revolution | | 25 | |

Техниката на MYCOFAST Screening Revolution е метод в течна среда, базиран на способността на U.u. и на M.h. да метаболизират съответно урея и аргинин. Растежът на микоплазмите в течна среда се визуализира чрез промяната на цветен индикатор – фенол 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 положителен резултат;
- броене въз основа на скоростта на хидролиза на субстратите, което е пропорционално на количеството на съдържащите се микроби в пробата.
- идентификация, базирана на чувствителността или на нечувствителността на микроорганизма към три антибиотика.
- изследване на чувствителността на U.u. и M.h. към антибиотици.

4 - РЕАГЕНТИ

Набор MYCOFAST Screening Revolution

Набор, съставен от 5 редици от по 2 ямки: една ямка *Ureaplasma urealyticum* (U.u.), съдържаща линкомицин и урея и една ямка *Mycoplasma hominis* (M.h.), съдържаща еритромицин и аргинин.

Набор MYCOFAST Revolution ATB+

Наборът MYCOFAST Revolution ATB+ съдържа в дехидратирана форма в 24-те ямки растежната среда на микоплазмите (серум от жребче, екстракт от дрожди, цистеин, аргинин, урея, фенол червено, антибиотици, pH: 6,1 ± 0,1) и 11 антибиотика с концентрации от 1 до 4:

- Ямки 1/2:** брой U.u. за стойности 10^3 и $\geq 10^4$ UCC/mL (буфериран разтвор и линкомицин, инхибиращ растежа на M.h.) (в синьо)
- Ямка 3:** Брой на M.h. за стойности $\geq 10^4$ UCC/mL (в червено)
- Ямки 4/5/6:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Левофлоксацин (LVX) при 1/2/4 µg/mL
- Ямки 7/8/9/10:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Моксифлоксацин (MXF) при 0,25/0,5/2/4 µg/mL
- Ямки 11/12/13/14:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Тетрациклин (TET) при 1/2/4/8 µg/mL
- Ямки 15/16:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Еритромицин (ERY) при 8/16 µg/mL (в червено)
- Ямки 17/18:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Клиндамицин (CLI) 0,25/0,5 µg/mL (в синьо)
- Ямки 19:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Телитромицин (TEL) при 4 µg/mL
- Ямки 20:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Рокситромицин (ORX) при 2 µg/mL
- Ямка 21:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Миноциклин (MIN) при 2 µg/mL
- Ямка 22:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Офлоксацин (OFX) при 1 µg/mL
- Ямка 23:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Джозамицин (JOS) при 2 µg/mL
- Ямка 24:** Оценка на чувствителността на микоплазмите към Пристинамицин (PRI) при 2 µg/mL

| | | 20 | 19 | 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | | | |
|----|-----|--------|---------------------------|-------------|------|-----|----|------|-----|----|----|---|-----|----|
| | | ROX | TEL | CLI | | ERY | | TET | | | | | | |
| | | 2 | 4 | 0.5 | 0.25 | 16 | 8 | 8 | 4 | 2 | 1 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| 24 | PRI | 2 | MYCOFAST® Revolution ATB+ | | | | | | | | | 1 | OFX | 22 |
| 23 | JOS | 2 | MYCOFAST® Revolution ATB+ | | | | | | | | | 2 | MIN | 21 |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Uu | Uu | Mh | 1 | 2 | 4 | 0.25 | 0.5 | 2 | 4 | | | |
| | | 10^3 | $\geq 10^4$ | $\geq 10^4$ | LVX | | | MXF | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | | |

5 - ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ЗА УПОТРЕБА

Реагентите от този набор са предназначени само за *in vitro* диагностициране 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 суровини 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 резултатът с набора MYCOFAST Revolution ATB+ показва колонизация от урогенитална микоплазма, но не може да се използва самостоятелно за клинична диагноза.

Това трябва да се извърши от лекаря въз основа на биологичните резултати и клиничните признаци.

6 - СЪБИРАНЕ И ОБРАБОТКА НА ПРОБИ

6.1 Събиране на проби

Цервико-вагинални проби:

Използвайте само тампон от Dascon 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 лигавиците, към които се закрепват, е изключително важно лигавицата да се остърже добре, за да се получи достатъчно материал.

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

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

6.2 Транспорт в среда UMMt

Проби от тампон: поставете тампона във флакон със среда UMMt.

Течни проби: инокулирайте флакон със среда UMMt с 300 µL хомогенизирана течност.

6.3 Съхранение в среда UMMt

След като се направи посевка, 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 РЕАГЕНТИТЕ

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 M.h. е стабилна 3 месеца след отваряне.

Средата UMMt може да се съхранява временно (3 месеца) при стайна температура, но показва по-добра стабилност при 2—8°C.

Не замразявайте реагентите в комплекта.

8 - НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СА ПРЕДОСТАВЕНИ

Оборудване за вземане на проби (тампони, циточетки, стерилни флакони за събиране на течни проби), пипети и крайници за прехвърляне MYCOPLASMA Stabilizer (РЕФ. 00064); фурна, калибрирана на 37±1°C. Контейнер за замърсени отпадъци и минерално масло

9 - ОПЕРАТИВНА ПРОЦЕДУРА

Оставете реагентите на стайна температура за 20—30 минути.

9.1 СКРИНИНГ - Набор MYCOFAST Screening *RevolutioN*

— Пригответе толкова редици ямки, колкото са пробите за тестване.

— Ако е необходимо, отделете една или повече редици ямки (U.u.)/(M.h.), като направите справка с маркировката на набора.

9.1.1 Инокулация на средата UMMt *RevolutioN*

Инокулирайте средата UMMt с тампона или с 300 µL течни проби (§ 6.2).

Хомогенизирайте.

9.1.2 Инокулация на U.u./M.h ямки

— Разпределете последователно:

Ямка (U.u.): 100 µL инокулирана среда UMMt.

Ямка (M.h.): 100 µL инокулирана среда UMMt.

50 µL среда Добавка M.h

— Добавете 2 капки минерално масло към двете ямки.

— Покрийте ямките с чулещия се етикет и идентифицирайте пробата.

— Запазете излишъка от флакона със среда UMMt, инокулиран при температура 2—8 °C, за да продължите изследването в случай на положителен скрининг.

9.1.3 Инкубиране на ямки U.u./M.h

Инкубирайте ямките от набора за 24 часа при 37 ± 1 °C. Инкубацията на набора може да се удължи до 48 часа само в случай на отрицателни тестове за 24 часа.

9.1.4 Отчитане и интерпретация на U.u./M.h ямките

— Проверете дали двете ямки (U.u.) (M.h.) са бистри. Мътна ямка говори за бактериално замърсяване. В този случай повторете теста.

— Наблюдавайте промяната на цвета в ямките U.u и M.h:

Оранжева или червена ямка U.u: наличие на *Ureaplasma urealyticum*

Оранжева или червена ямка M.h: наличие на *Mycoplasma homini*

Жълти U.u./M.h. ямки: отсъствие на микоплазми

В случай на положителен скрининг, продължете диагностиката с набора MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

9.2 ПРЕБОРЯВАНЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ТЕСТ ЗА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

9.2.1 Посевка на набора MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

Отстранете залепващото фолио, като издърпате езичето и разпределете последователно в ямките:

ямки 1—24 100 µL инокулирана среда UMMt

ямки 1—24 2 капки минерално масло

Покрийте набора, като затворите капака на „затварящата система“.

Идентифицирайте пробата.

Съхранявайте излишъка от флакона UMMt при 2—8°C най-малко 48 часа, за да позволите евентуална проверка.

9.2.2 Инкубация на набора

Инкубирайте набора при температура 37°C±1°C в продължение на 24 часа.

За броя на U.u. и M.h. отчетете резултатите за 24 часа. Инкубацията на набора може да се удължи до 48 часа само в случай на отрицателни течни проби за 24 часа.

9.2.3 Разчитане и тълкуване

Проверете дали всички ямки в набора са бистри. Мътна ямка говори за бактериално замърсяване. В този случай повторете изследването. Растежът на урогенитални микоплазми в ямките се изразява чрез алкализирание на средата, която се променя в червено. При липса на растеж на урогенитални микоплазми средата остава жълта. Оранжевият цвят трябва да се разглежда като положителен тест (гранична стойност).

Вижте листа с резултати за тълкуване на теста.

Броење (ямки 1, 2 и 3)

Определете ямките, които са станали червени и тълкувайте:

1 стойност на U.u. 10³ UCC/mL

1 et 2 стойност на U.u. ≥ 10⁴ UCC/mL

3 стойност на M.h. ≥ 10⁴ UCC/mL

Патологичната роля на микоплазмите при урогениталните инфекции е обект на тълкуване съгласно конкретни препоръки (1,3,7). Патологичните стойности, обикновено използвани за *U. urealyticum* са: ≥10⁴ UCC/mL за проба от уретрата, ≥10³ UCC/mL за 1-ва струя на урина или сперма (дори ако в нова местна препоръка се споменава праг от ≥10⁴UCC/mL за сперма (7)). За *M. hominis* наличието му със стойност ≥10⁴ UCC/mL в цервиковагинална проба не е нормално (1, 3).

Тест за чувствителност (ямки от 4 до 24)

Промяната в средата на ямките, съдържащи антибиотик, отразява способността на щама да расте в присъствието на тестваната концентрация на антибиотика. Жълтият цвят на средата отразява неспособността на щама да се развие в присъствието на тестваната концентрация на антибиотика. Шамовете са квалифицирани като чувствителни или резистентни на антибиотици съгласно следните критерии за тълкуване, определени от CLSI (2).

Критерии за тълкуване на CMI в µg/mL (критерии за тълкуване, определени в CLSI) :

Щамът се определя като **чувствителен**, когато растежът му е възпрепятстван при критичната концентрация или при двете

критични концентрации на антибиотика.

Щамът се определя като **резистентен**, ако:

1/ растежът на щама за тествания антибиотик е за единична концентрация.

2/ растежът му е при ниска концентрация или при двете концентрации на антибиотика за антибиотика, тестван при две концентрации.

| Клас | Антибиотик | Uu | | Mh | | Забележки |
|----------------|-----------------|----|-----|-------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | S | R | S | R | |
| Хинолони | Левифлоксацин* | ≤2 | ≥4 | ≤1 | ≥2 | |
| | Моксифлоксацин* | ≤2 | ≥4 | ≤0,25 | ≥0,5 | |
| | Офлоксацин | ≤1 | > 1 | ≤1 | >1 | |
| Линкозамиди | Клиндамицин* | / | / | ≤0,25 | ≥0,5 | Uu е естествено устойчив на клиндамицин |
| Тетрациклини | Тетрацидин* | ≤1 | ≥2 | ≤4 | ≥8 | Шамовете, чувствителни към тетрацидин, също ще бъдат чувствителни към доксициклин |
| | Миноциклин | ≤2 | >2 | ≤2 | >2 | |
| Макролиди | Еритромицин* | ≤8 | ≥16 | / | / | Шамовете, чувствителни към еритромицин, също ще бъдат чувствителни и към азитромицин. M.h. е естествено устойчив на еритромицин |
| | Рокситромицин | ≤2 | >2 | / | / | M.h. е естествено устойчив на рокситромицин |
| | Джоамицин | ≤2 | >2 | ≤2 | >2 | |
| Кетолиди | Телитромицин* | ≤4 | - | ≤4 | | |
| Стрептограмини | Пристинамицин | ≤2 | >2 | ≤2 | >2 | |

(*критерии за тълкуване, определени от CLSI)

M. hominis е естествено устойчив на 14- и 15-въглеродни макролиди, включително Еритромицин и Рокситромицин, но е чувствителен към 16-въглеродни макролиди като Джоамицин.

U. urealyticum е естествено резистентен на линкозамиди (клиндамицин).

При определени популации степента на резистентност към тетрациклин може да достигне 45% за U.u. и 39,6% за M.h. (2). Описана е резистентност към хинолони (U.u. и M.h.) (5, 6) и към клиндамицин (M.h.), но разпространението не е известно.

Помощ при тълкуване:

Тест за чувствителност на U.u.

| ATB* | LVX | | | | MXF | | | | TET | | | | ERY | | | | |
|---------------|-----|---|---|------|------|-----|---|---|------|---|---|---|-----|------|---|----|------|
| CONC* (µg/mL) | 1 | 2 | 4 | int* | 0,25 | 0,5 | 2 | 4 | int* | 1 | 2 | 4 | 8 | int* | 8 | 16 | int* |
| Профили | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | S |
| | + | - | - | S | + | - | - | - | S | + | - | - | - | R | + | - | R |
| | + | + | - | R | + | + | - | - | S | + | + | - | - | R | + | + | R |
| | + | + | + | R | + | + | + | - | R | + | + | + | - | R | / | / | / |
| | / | / | / | / | + | + | + | + | R | + | + | + | + | R | / | / | / |

* ATB = Антибиотици, *CONC = Концентрация, * INT = Тълкуване

Тест за чувствителност на U.u.

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

Тест за чувствителност на M.h.

| ATB* | LVX | | | | MXF | | | | TET | | | | CLI | | | | |
|---------------|-----|---|---|------|------|-----|---|---|------|---|---|---|-----|------|------|-----|------|
| CONC* (µg/mL) | 1 | 2 | 4 | int* | 0,25 | 0,5 | 2 | 4 | int* | 1 | 2 | 4 | 8 | int* | 0,25 | 0,5 | int* |
| Профили | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | - | - | S | - | - | S |
| | + | - | - | R | + | - | - | - | R | + | - | - | - | S | + | - | R |
| | + | + | - | R | + | + | - | - | R | + | + | - | - | S | + | + | R |
| | + | + | + | R | + | + | + | - | R | + | + | + | - | R | / | / | / |
| / | / | / | / | + | + | + | + | R | + | + | + | + | R | / | / | / | |

Тест за чувствителност на M.h.

| ATB* | TEL | | ROX | | MIN | | OFX | | JOS | | PRI | |
|---------------|-----|------|------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
| CONC* (µg/ml) | 4 | int* | 2 | int* | 2 | int* | 1 | int* | 2 | int* | 2 | int* |
| Профили | - | S | естествена устойчивост | | - | S | - | S | - | S | - | S |
| | + | / | | | + | R | + | R | + | R | + | R |

10 - СПЕЦИАЛНИ СЛУЧАИ

При много високи стойности на U.u. или M.h., цветът на всички съответни ямки, засегнати от микроорганизма, става червен. След това се препоръчва пробата да се разрежи, за да се получи по-точен резултат.

В този случай действайте по следния начин:

Инокулирайте нов флакон 3 mL UMMt с 300 µL оригинална среда UMMt, съхранявана при 2—8°C (§ 9.1).

Инокулирайте нов набор, като използвате новата инокулирана среда UMMt.

Вземете под внимание разреждането (1:10), когато тълкувате преброяването. Ако е необходимо, потвърдете наличието на микоплазми върху агар A7 чрез повторно изолиране от оригиналната среда UMMt, съхранявана при 2—8°C (§ 9.1). Непостоянната температура на инкубация или <36 °C (често отваряне на фурната, хетерогенност на температурата във фурната и др.) може да забави кинетиката на растеж на микоплазмите.

11 - КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Контролът на качеството може да се извърши от щамове *U. urealyticum* или *M. hominis* от набора MYCOPLASMA CONTROL (PEF. 00900) или от лиофилизиран събирателен щам (*U. urealyticum* ATCC 27815 или *M. hominis* ATCC 23114), калибриран преди това на 10⁴⁻⁵ UCC/mL. Инокулирайте набора MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ и продължете теста, както е посочено в тази инструкция (§9.2)

Очаквани резултати по-долу (ATCC):

MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

| | Uu 10 ³ | Uu ≥10 ⁴ | Mh ≥10 ⁴ | LVX | MXF | TET | ERY |
|-------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-----|-----|-----|-----|
| Щам Uu ATCC 27815 | + | + | - | S | S | S/R | S |
| Щам Mh ATCC 23114 | - | - | + | S/R | S | S | R |
| | CLI | TEL | ROX | MIN | OFX | JOS | PRI |
| Щам Uu ATCC 27815 | R | S | S/R | S | S/R | S | S |
| Щам Mh ATCC 23114 | S | S/R | R | S | S | S | S |

12- ОГРАНИЧЕНИЯ НА МЕТОДА

12.1 - Скрининг:

Наборът MYCOFAST Screening *RevolutioN* има праг на чувствителност ≤10³UCC/mL и не позволява преброяване. Преброяването, получено с набор MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ може да се окаже отрицателно след положителен скрининг

12.2 - Преброяване, идентификация и тест за чувствителност

Някои бактерии присъстват в количество >10⁶⁻⁷ CFU/mL и наличието на уреазата може да доведе до промяна на всички ямки в набора. Тяхното наличие може да се провери чрез повторно изолиране върху шоколадов агар от оригиналната среда UMMt, съхранявана при 2—8°C (§ 9.1).

Основно рН на пробата (рН>7) може да промени средата. В този случай пробата се разрежда (1:10) в друга UMMt среда и се тълкува, като се вземе предвид разреждането.

Кисело рН на пробата (рН≤5,5) може да забави появата на промяна на цвета.

Проба, съдържаща кръв, може да доведе до промяна на цвета на ямките в набора MYCOFAST *RevolutioN* ATB+, което се тълкува като положителни резултати. В този случай пробата се разрежда (1:10) в друга UMMt среда и се тълкува, като се вземе предвид разреждането. Проба, слабо натоварена с микоплазми (<10³ UCC/mL) може да даде произволна промяна в различните ямки на набора. Както при всеки метод за откриване на микроорганизми, качеството на пробата определя резултата от теста. Следователно отрицателният тест не означава непременно липса на инфекция.

13 - НАДЕЖНОСТ

13.1 - Скрининг и диференциация

Набор MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Проведено е сравнително изследване с помощта на клинични вагинални проби (n = 40; 2 вида U.u. и M.h.) върху сухи тампони. Резултатите, получени с MYCOFAST Screening *RevolutioN*, са сравнени с тези от метода за броене с течни микроразреждания. За скрининг на 2 вида U.u. и M.h., съответствието е 97,5%.

Преброихме 1 фалшиво отрицателен U.u. за стойност 10³ UCC/ml по метода за броене с течни микроразреждания, като се знае, че тази скорост се счита за инфрапатологична за вагинални проби. За U.u. и M.h. общото съответствие е 100% за надпатологичните стойности. За диференциацията, всички тествани проби позволиха правилно идентифициране на U.u. или M.h. в ямките на набора MYCOFAST Screening *RevolutioN*.

13.2 - Идентификация и преброяване

Директен метод с набор MYCOFAST ATB+

| % общо съответствие | Uu | Mh | Uu/Mh |
|--------------------------------------------------------------------|------|------|-------|
| Изолирани щамове (стойност ≤10 ³ UCC/mL) (вж. § 14.1.1) | 97,7 | NA | NA |
| Изолирани щамове (стойност ≥10 ⁴ UCC/mL) (вж. § 14.1.1) | 96,5 | 98,9 | 97,8 |
| Клинични вагинални проби | 100 | 95,7 | 97,8 |
| Течни клинични проби: урина | 96,6 | 97,7 | 97,1 |

NA: неприложимо

Проведено е сравнително проучване, като се използват 21 изолирани щамове (ATCC щамове и събирателни щамове), тествани поотделно (U.u. или M.h.) при няколко разреждания (общо 85 теста). Получените резултати са сравнени с тези, получени с метода за броене в течни микроразреждания.

За тълкуване с патологичен праг, зададен на 10³ UCC/mL; общото съответствие за U.u. е 97,7% (преброихме 2 фалшиви положителни резултата за стойности до 10³ UCC/ml по метод за броене с микроразреждане).

За тълкуване с патологичен праг, зададен на 10⁴ UCC/mL; общото съответствие за U.u. е 96,5% (преброихме 3 фалшиви положителни резултата за стойности до 10³ UCC/ml по метода за броене с микроразреждане). Общото съответствие за M.h. е 98,9% (преброихме 1 фалшиво положително за стойност 10³ UCC/mL по метода за броене с микроразреждане).

Общото съответствие за U.u. и M.h. е 97,8%.

Проведено е сравнително проучване с помощта на клинични вагинални проби (n = 23), проведени в сухи тампони. Резултатите, получени с MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ са сравнени с тези от метода за броене с течни микроразреждания.

Общото съответствие за U.u. е 100%, а за M.h. общото съответствие е 95,7% (преброихме фалшиво положително за стойност до 10² UCC/ml по метода с течни микроразреждания).

Беше проведено второ сравнително проучване с помощта на клинични проби от урина (n = 88).

Резултатите бяха отчетени и тълкувани след 48 часа инкубация, ако тестът беше отрицателен в рамките на 24 часа. Отчетено е наличието на микоплазма самостоятелно без преброяване, тъй като се препоръчва да се процедира така в случай на течна проба.

Получените резултати с MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ са сравнени с тези, получени по метода за броене с течни микроразреждания. Общото съответствие за U.u. е 96,6% (преброихме 1 фалшиво отрицателен за стойност 10⁴ UCC/mL по метода за броене с микроразреждане и 2 фалшиво положителни резултата за стойност 10² UCC/ml по метода за броене с микроразреждане).

Общото съответствие за M.h. е 97,7% (преброихме 2 фалшиво положителни резултата за стойност 10² UCC/mL по метода за броене с микроразреждане).

Общото съответствие за U.u. и M.h. е 97,1%.

13.3 - Тест за чувствителност

В национална референтна лаборатория е проведено сравнителното проучване за метода за определяне на минимални инхибиторни концентрации (MIC) в течна среда и метода MYCOFAST *RevolutioN* ATB+.

Тестваните щамове (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* и 16 *M. hominis*) са референтни щамове, див тип клинични щамове или щамове с

придобита резистентност. Всеки щам се тества при разреждания 10^3 - 10^4 и 10^5 UCC/mL. Резултатите от двата метода се тълкуват като чувствителни (S) или резистентни (R) според препоръките на CLSI.

За стойностите 10^4 и 10^5 UCC/mL резултатите бяха разчетени и интерпретирани след 24 часа инкубация.

За стойности 10^3 UCC/mL резултатите бяха разчетени и тълкувани след 48 часа инкубация, ако тестът беше отрицателен в рамките на 24 часа.

Общото съответствие за *Ureaplasma urealyticum/Ureaplasma parvum* е: 93,8% (394/420).

Общото съответствие за *Mycoplasma hominis* за стойности до 10^4 - 10^5 UCC/mL е: 93,4% (227/243).

| Съответствие | <i>Ureaplasma urealyticum/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: Голямо несъответствие, DTM: Много голямо несъответствие

^a: Несъответствие, получено при 10^4 UCC/mL (референтна CMI при 4 µg/mL)

^b: 1 Несъответствие, получено при 10^3 UCC/mL (референтна CMI при 2 µg/mL), 1 несъответствие при 10^4 UCC/mL (референтна CMI при 1 µg/mL), 1 несъответствие при 10^5 UCC/mL (референтна CMI при 1 µg/mL), 1 несъответствие при 10^5 UCC/mL (референтна CMI при 2 µg/mL)

^c: 1 Несъответствие, получено при 10^3 UCC/mL (референтна CMI при 2 µg/mL), 1 несъответствие при 10^4 UCC/mL (референтна CMI при 2 µg/mL), 1 несъответствие при 10^5 UCC/mL (референтна CMI при 4 µg/mL)

| Съответствие | <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: Несъответствие, получено при 10^4 UCC/mL (референтна CMI >32 µg/mL)

^b: Несъответствие, получено при 10^5 UCC/mL (референтна CMI при 4 µg/mL)

^c: Несъответствие, получено при 10^5 UCC/mL (референтна CMI при 2 µg/mL)

14 - ИЗХВЪРЛЯНЕ НА ОТПАДЪЦИ

Отпадъците трябва да се изхвърлят в съответствие с правилата за хигиена и действащите разпоредби в държавата, в която се използва този тип продукт.

15 - БИБЛИОГРАФИЯ

1 - **BEVEAR C., BEVEAR 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., BEVEAR C.M., BEVEAR 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 MAN-DELLG. L., BENNETJ.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed., vol. 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - **WAITES KEN B., BREDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005.** Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Vol.18 -№4 -757-789.

6 - **WAITES KEN B, DONNAM. CRABB и 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) - (5ème édition)

MYCOFAST® е регистрирана търговска марка на ELITech MICROBIO

Промените спрямо предходната версия са маркирани в сиво



ELITech MICROBIO
 Parc d'activités du Plateau
 19, allée d'Athènes
 83870 SIGNES – Франция
 Тел.: 33 (0) 4 94 88 55 00
 Факс: 33 (0) 4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>