

Diagnostika urogenitálních mykoplazmat

MYCOFAST Screening Revolution

Detekce a diferenciace
50 testů (ZN. 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+

Číslování, identifikace a test citlivosti
25 testů (ZN. 00073)

UMMt Revolution
50 testů (ZN. 00061)

CPB 0396-4-CS-2018-03

Pouze pro diagnostiku *in vitro*, pouze pro profesionální použití
Testy jsou určeny pouze pro jedno použití.



I - ÚČEL

Souprava MYCOFAST Screening Revolution (REF 00063) umožňuje detekci a diferenciaci *Ureaplasma urealyticum/ Ureaplasma parvum* (U. u.) a *Mycoplasma hominis* (M. h.) z různých klinických vzorků. Musí být použita ve spojení s médiem sestavy UMMt Revolution (REF 00061). V případě pozitivního screeningu může být analýza dokončena s galerií soupravy COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB + (REF 00073) umožňující počítání a identifikaci U. u. a / nebo M. h., stejně jako test antibiotické citlivosti podle doporučení CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2. ÚVOD

Mykoplazmy, které mají několik druhů dosud zaznamenaných u lidí, patří do třídy mollicutů. Odlišují se od jiných bakterií mnoha způsoby, včetně nedostatku stěny, která jim dává přirozenou rezistenci na β -laktam, a membránu bohaté na sterol z membrán eukaryotických buněk, ke kterým se připojují. Mykoplazmy jsou relativně křehké organismy, které se množí v acelulárním médiu pouze za přítomnosti četných růstových faktorů a při optimální teplotě 37 °C (4).

Většina lidských mykoplazmat je jednoduchá kmenová. Izolované druhy z urogenitálního traktu, *U. urealyticum* a *M. hominis* j mají nejčastější výskyt. Druh *U. urealyticum* se dělí na dva biotypy: *U. urealyticum* a *U. parvum* (U. u.) nebo M. h. se mohou chovat jako skutečné patogeny. Liší odpovědné za genitální infekce u mužů (uretritidy ne gonokokové, epididymitida, prostatitida, neplodnost); gynekologické infekce (bakteriální vaginóza, endometritida, salpingitida); poruchy reprodukce (chorioamnionitida, postpartální endometritida, nedonošenost dítěte, spontánní potrat); neonatální postižení (nízká hmotnost při narození, infekce dýchacích cest, neurologické infekce, bakterémie, abscesy); infekce mimo genitální trakt (septická artritida, reaktivní artritida, další místa) (1).

Diagnóza mykoplazmatických infekcí závisí na určení patologického prahu, a tedy i počtu. Vznik odolnosti U. u. a M. h. vůči určitým molekulám vede k provedení testu citlivosti na antibiotika (5, 6). Testování antibiotika a interpretace kritéria jsou upravena pro léčbu mykoplazmatických infekcí v urogenitálním traktu nebo jiných místech mimo genitální trakt (2).

3 - PRINCIP

Technika MYCOFAST Screening Revolution je metodou kapalným médiem založená na schopnosti metabolitů U. u. a M. h. metabolizovat močovinu a arginin. Růst mykoplazmat v kapalném médiu je vizualizován ohybem barevného indikátoru -fenolová červená - od žluto-oranžové až červené, což znamená alkalizaci média v důsledku uvolňování amoniaku.

Takto vizualizovaný růst mykoplazmat umožňuje:

- detekci a diferenciaci; pak v případě pozitivity;
- počítání založené na rychlosti hydrolyzy substrátů, které je poměrně k množství bakterií obsažených ve vzorku.
- identifikaci založenou na citlivosti nebo nikoliv zárodku vůči třem antibiotikům.
- studie citlivosti U. u. a M. h. na antibiotika.

4 - ČINIDLA

Popis	Množství		
	Ref 00061	Ref 00082	Ref 00063
UMMt: 3 mL lahvičky mycoplasma s antibiotiky a konzervační látkou. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: Přetržitelná galerie s 10 jamkami pro 5 testů, zabalená jednotlivě v hliníkovém sáčku s integrovaným vysoušedlem.			10
Tagy: Rada 5 rozbitných štítků			10
S.Mh: Mh růstový aktivátor (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution ATB+: Galerie s 24 jamkami pro 1 test, zabalené v hliníkovém sáčku s integrovaným vysoušecím prostředkem.		25	
Zavírací systém: průhledný plastový kryt pro galerii MYCOFAST Revolution		25	

Galerie MYCOFAST Screening Revolution

Galerie složená z 5 sérií s 2 jamkami: jamka *Ureaplasma urealyticum* (U. u.) obsahující linkomycin a močovinu a jamka *Mycoplasma hominis* (M. h.) obsahující erythromycin a arginin.

Galerie MYCOFAST Revolution ATB+

MYCOFAST Revolution ATB + galerie obsahuje v dehydratované formě v 24 jamkách růstové médium mykoplazmy (sérum hovězího masa, extrakt z kvasnic, cystein, arginin, močovina, fenolová červená, antibiotika, pH: 6,1 ± 0,1) antibiotika o koncentracích 1 až 4:

Jamka 1/2: Počet U. u. pro hladiny 10^3 a $\geq 10^4$ CCU/mL (pufrovaný roztok a linkomycin inhibující růst M. h.) (modře)

Jamka 3: Počet M. h. pro rychlost $\geq 10^4$ CCU/mL (červeně)

Jamky 4/5/6: Posouzení citlivosti U. u. na levofloxacin (LVX) v koncentraci 1/2/4 μ g/mL

Jamky 6/7/8/9/10: Posouzení citlivosti U. u. na moxifloxacin (MXF) v koncentraci 0,25/0,5/2/4 μ g/mL

Jamky 11/12/13/14: Posouzení citlivosti U. u. na tetracyklin (TET) 1/2/4/8 μ g/mL

Jamka 15/16: Posouzení citlivosti mykoplazmat na erythromycin (ERY) v koncentraci 8/16 μ g/mL (červeně)

Jamky 17/18: Posouzení citlivosti mykoplazmat na klindamycin (CLI) 0,25-0,5 μ g/mL (v modře)

Jamka 19: Posouzení citlivosti mykoplazmat na telithromycin (TEL) 4 μ g/mL

Jamka 20: Posouzení citlivosti mykoplazmat roxithromycin (ROX) 2 μ g/mL

Jamka 21: Posouzení citlivosti mykoplazmat minocyclin (MIN) 2 μ g/mL

Jamka 22: Posouzení citlivosti mykoplazmat ofloxacin (OFX) 1 μ g/mL

Jamka 23: Posouzení citlivosti mykoplazmat josamycin (JOS) 2 μ g/mL

Jamka 24: Posouzení citlivosti mykoplazmat pristinamycin (PRI) 2 μ g/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 - ZÁSADY BEZPEČNÉHO ZACHÁZENÍ

Činidla v této sadě jsou určena pouze pro diagnostiku *in vitro* a musí s nimi zacházet oprávněné osoby.

Vzorky a naočkovaná činidla jsou potenciálně infekční, je nutné s nimi manipulovat při dodržení zásad bezpečného zacházení, hygienických pravidel a předpisů platných v zemi použití tohoto typu výrobku.

S činidly, obsahujícími suroviny živočišného původu musí být manipulováno při dodržení zásad bezpečného zacházení.

Nepoužívejte činidla po uplynutí data použitelnosti.

Nepoužívejte činidla, která byla poškozená nebo špatně uchovávaná před použitím.

Pozitivní výsledek s galerií MYCOFAST Revolution ATB+ se projevuje kolonizací urogenitálními mykoplazmy, ale nelze jej použít samotný k provedení klinické diagnózy.

Tu musí provést lékař podle biologických výsledků a klinických příznaků.

6 - SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

6.1 Sběr vzorků

Cervikálně vaginální výtěry

Používejte pouze tampón Dacron nebo cotton swab. Vezměte vzorku po pečlivém odstranění exokelických sekretů prvním tamponem. Vzhledem k tomu, že mykoplazmy mají vysokou afinitu k buňkám sliznice, ke kterým přiléhají, je nezbytné poškrábat sliznici, aby se dosáhlo dobrého výtěžku.

Uretrální výtěry: Vyčistěte meatus a sbírejte tamponováním nebo oškrábáním buněk.

Sperma, moč: Sbírejte spermie nebo první sprej moči ve sterilní láhvi.

6.2 Transport v UMMt médiu

Odběr vzorků tamponu: Vyjměte tampon do injekční lahvičky s médiem UMMt.

Vzorky kapaliny: Inokulujte lahvičku s UMMt médiem 300 μ L homogenizované kapaliny.

6.3 Uchování v UMMt médiu

Po naočkání může být médium UMMt uchováno při pokojové teplotě (18-25 °C) po dobu 20 hodin nebo při teplotě 2 až 8 °C po dobu 56 hodin. Pro skladování po dobu 3 dnů při -20 °C přidejte předem dvě kapky přípravku "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PŘÍPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ ČINIDEL

Činidla skladovaná při teplotě 2-8 °C v původním stavu jsou stabilní až do data použitelnosti uvedeného na štítcích.

Při použití jediné sady jamek (U. u.) (M. h.) nebo dvou, tří, čtyř sad jamek se zbytek galerie MYCOFAST Screening Revolution nepoužívá, je hermeticky uzavřen v původním v hliníkovém obalu a lze jej skladovat po dobu 4 týdnů při teplotě 2-8 °C.

Doplňkové Mh je stabilní 3 měsíce po otevření.

Médium UMMt může být dočasně (3 měsíce) skladováno při pokojové teplotě, ale lepší stabilitu má při 2-8 °C.

Nezmrazujte činidla, jež jsou součástí sady.

8 - POTŘEBNÉ VYBAVENÍ, JEŽ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

Vybavení pro odběr vzorků (tampóny, odběrové kartáčky, sterilní lahvičky pro sběr tekutých vzorků), pipety a transferové kužele MYCOPLASMA Stabilizer (ZN. 00064); pec kalibrována na 37 ± 1 °C Nádoba na kontaminovaný odpad a minerální olej

9 - POSTUP

Nechte činidla zahřívát na pokojovou teplotu po dobu 20 až 30 minut.

9.1 DETEKCE - Galerie MYCOFAST Screening Revolution

- Připravte počet sérií jamek odpovídající počtu vzorků, které mají být testovány.
- Je-li to nutné, oddělte jednu nebo několik sérií jamek (U.u.) / (M.h.) podle značení na galerii.

9.1.1 Očkování média UMMt Revolution

Naočkejte médium UMMt tamponem nebo 300 µL tekutých vzorků (bod 6.2). Homogenizujte.

9.1.2 Inokulace jamek U.u. / M.h.

- Distribuujte postupně:

Jamka (U.u.): 100 µL naočkovaného UMMt média.
Jamka (M.h.): 100 µL naočkovaného UMMt média.
50 µL média Supplément M.h.

- Do obou jamek přidejte 2 kapky minerálního oleje.

- Pokryjte jamky dělitelným štítkem a označte vzorek - **Uchovujte přebytečné množství z lahvičky s médiem UMMt** naočkovaným při 2-8 °C, abyste pokračovali v analýze v případě, že výsledek detekce bude pozitivní.

9.1.3 Inkubace jamek U.u. / M.h.

Jamky galerie inkubujte po dobu 24 hodin při teplotě 37 ± 1 °C. Inkubace galerie může být prodloužena až na 48 hodin pouze v případě negativních tekutých vzorků za 24 hodin.

9.1.4 Odečet a interpretace jamek U.u. / M.h.

- Zkontrolujte, zda jsou obě jamky (U.u.) (M.h.) čiré. Zakalená jamka označuje bakteriální kontaminaci. V tomto případě zopakujte test.
- Dodržujte barevný posun v jamkách U.u. a M.h.:
Jamka U.u. oranžová nebo červená: Přítomnost *Ureaplasma urealyticum*
Jamka M.h. oranžová nebo červená: Přítomnost *Mycoplasma hominis*
Jamka U.u. / M.h. žlutá: Absence mykoplasm

V případě, že je výsledek detekce pozitivní, pokračujte v diagnostice s galerií MYCOFAST Revolution ATB+

9.2 ČÍSLOVÁNÍ, IDENTIFIKACE A TEST CITLIVOSTI

9.2.1 Očkování galerie MYCOFAST Revolution ATB+

Odstraňte teplicí fólii tak, že zatáhnete za jazyčeka rozdělíte postupně do jamek

jamky 1-24 100 µL naočkovaného UMMt média
jamky 1-24 2 kapky minerálního oleje

Galerii zakryjte zavaknutím krytu "closing system".

Označte vzorek.

Přebytečné množství z lahvičky UMMt uchovávejte při teplotě 2-8 °C po dobu nejméně 48 hodin, aby bylo možné případně provést ověření.

9.2.2 Inkubace galerie

Galerii inkubujte při 37 ± 1 °C po dobu 24 hodin.

Pro počítání U.u. a M.h. odečtete výsledky za 24 hodin. Inkubace galerie může být prodloužena až na 48 hodin pouze v případě negativních tekutých vzorků za 24 hodin.

9.2.3 Čtení a interpretace

Zkontrolujte, zda jsou všechny jamky v galerii čiré. Zakalená jamka označuje bakteriální kontaminaci. V takovém případě analýzu zopakujte. Růst urogenitálních mykoplasm v jamkách vede k alkalizaci média, které zčervená. Při absenci růstu urogenitálních mykoplasm zůstává médium žluté.

Oranžové zabarvení by mělo být považováno za pozitivní test (prahová hodnota).

Viz výkladový list pro interpretaci testu.

Počet (jamky 1, 2 a 3)

Identifikujte jamky, které zčervenaly a interpretujte
1 koncentrace U.u. 10³ CCU/mL
1 a 2 koncentrace U.u. ≥ 10⁴ CCU/mL
3 koncentrace M.h. ≥ 10⁴ CCU/mL

Patologická úloha mykoplasm v urogenitálních infekcích je předmětem interpretace podle specifických doporučení (1,3,7). Patologické koncentrace obvykle zvolené pro *U. urealyticum* jsou: ≥104 CCU/mL pro uretrální výtěr, ≥10³ CCU/mL pro ranní moč nebo sperma (i když nové místní doporučení uvádí prahovou hodnotu ≥10⁴ CCU/mL pro sperma (7)). Pro *M. hominis* jeho přítomnost v koncentraci ≥10⁴ CCU/mL v cervikovaginálním výtěru je abnormální (1, 3).

Test citlivosti (jamky 4 až 24)

Posun média v jamkách obsahujících antibiotika odráží schopnost kmene růst v přítomnosti testované koncentrace antibiotika. Žlutá barva média odráží neschopnost kmene růst v přítomnosti testované koncentrace antibiotika. Kmeny jsou popsány jako citlivé nebo odolné vůči antibiotikům podle následujících interpretačních kritérií definovaných CLSI (2).

Interpretační kritéria pro MIC v µg/mL (kritéria definovaná CLSI):

Kmen je pokládán za **citlivý**, když je jeho růst inhibován při kritické koncentraci nebo při dvou kritických koncentracích antibiotika.

Kmen je pokládán za **odolný**, když:

1/ dochází k růstu kmene pro testované antibiotikum v jediné koncentraci.

2/ dochází k růstu při nízké koncentraci nebo při obou koncentracích antibiotika pro testované antibiotikum ve dvou koncentracích.

Třída	Antibiotikum	U.u.		M.h.		Komentáře
		S	R	S	R	
Chinolony	Levofloxacin*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin*	≤2	≥4	≤0,2€	≥0,5	
	Ofloxacin	≤1	>1	≤1	>1	
Linkosamidy	Clindamycin*	/	/	≤0,2€	≥0,5	Uu je přirozeně odolná na Clindamycin

Třída	Antibiotikum	U.u.		M.h.		Komentáře
		S	R	S	R	
Tetracydiny	Tetracyclin*	≤1	≥2	≤4	≥8	Kmeny citlivé na Tetracyclin budou citlivé také na Doxycyklin
	Mnocyklin	≤2	>2	≤2	>2	
Makrolidy	Erythromycin*	≤8	≥16	/	/	Kmeny citlivé na Erythromycin budou citlivé také na Azithromycin, Mh je přirozeně odolný na Erythromycin
	Roxithromycin	≤2	>2	/	/	Mh je přirozeně odolný na Roxithromycin
	Josamycin	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolidy	Telithromycin*	≤4	-	≤4		
Streptograminy	pristinamycin	≤2	>2	≤2	>2	

(*interpretační kritéria definovaná CLSI)

M. hominis je přirozeně odolný vůči 14- a 15-uhlodíkovým makrolidům, včetně erythromycinu a roxithromycinu, avšak je citlivý na makrolidy 16-uhlíku, jako je například Josamycin.

U. urealyticum je přirozeně odolný vůči linkosamidům (Clindamycin).

U některých populací může míra odolnosti vůči tetracyklinu dosáhnout 45 % u U.u. a 39,6 % u M.h. (2). Odolnost vůči chinolonům (U.u. a M.h.) (5, 6) a klindamycinu (M.h.) byla popsána, ale prevalence není známa.

Nápověda pro interpretaci:

U.u. test citlivosti

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

*ATB = Antibiotika, *CONC = Koncentrace, *INT = Interpretace

U.u. test citlivosti

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

Test citlivosti M.h.

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

10 - ZVLÁŠTNÍ PŘÍPADY

U velmi vysokých úrovní v Uu nebo Mh dochází k posunu barvy na červenou u všech jamek, jichž se zárodek týká. Doporučuje se ředit vzorek tak, aby byl dosažen přesnější výsledek. V takovém případě postupujte následovně:

Naočkejte novou lahvičku s 3 mL UMMt 300 µL původního UMMt média uchovávaného při teplotě 2-8 °C (bod 9.1).

Naočkejte novou galerii pomocí nového naočkovaného média UMMt.

Pro interpretaci počtu vezměte v potaz zředění (1:10). Je-li to nezbytné, potvrďte na A7 agaru přítomnost mykoplasm opětnou izolací z původního UMMt média uchovávaného při 2-8 °C (bod 9.1).

Nestabilní teplota inkubace nebo < 36 °C (časté otevírání pece, heterogenita teploty v peci, ...) může zpomalit růstovou kinetiku mykoplasmat.

11 - KONTROLA KVALITY

Kontrola kvality může být provedena z kmenů *U. urealyticum* nebo *M. hominis* ze sady MYCOPLASMA CONTROL (ZN. 00900) nebo z lyofilizovaného kmene ze sběru (*U. urealyticum* ATCC 27815 nebo *M. hominis* ATCC 23114), předem kalibrovaného na 10⁴⁻⁵ CCU/mL. Naočkejte galerii MYCOFAST *Revolution* ATB+ a pokračujte v testu, jak je popsáno v tomto příbalovém letáku (bod 9.2)

Očekávané výsledky viz 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

12 - OMEZENÍ METODY

12.1 - Detekce:

Galerie MYCOFAST Screening *Revolution* má prahovou hodnotu citlivosti ≤ 10³ CCU/mL a neumožňuje počítání. Počet získaný s galerií MYCOFAST *Revolution* ATB+ může být po pozitivním výsledku detekce negativní

12.2 - Počítání, identifikace a test citlivosti

Některé bakterie přítomné v množství >10⁶⁻⁷ CFU/mL a mající ureázu mohou způsobit posun barvy všech jamek v galerii. Jejich přítomnost může být ověřena reisolováním na čokoládovém agaru z původního UMMt média, uchovávaného při 2-8 °C (bod 9.1).

pH základního vzorku (pH > 7) může způsobit posun barvy média. V tomto případě zředte vzorek (1:10) v jiném UMMt médiu a interpretujte jej s přihlédnutím k ředění.

Kyselé pH vzorku (pH ≤ 5,5) může zpomalit vznik barevného posunu.

Vzorek obsahující krev může způsobit změnu barev jamek galerie MYCOFAST *Revolution* ATB+, která je interpretovaná jako pozitivní výsledek. V tomto případě zředte vzorek (1:10) v jiném UMMt médiu a interpretujte jej s přihlédnutím k ředění. Vzorek s nízkými hladinami mykoplasmat (<10³ CCU/mL) může vyvolat náhodný posun barev v různých jamkách v galerii. Pokud jde o jakýkoli způsob vyhledávání zárodků, kvalita vzorku určuje výsledek testu. Negativní test tedy nutně neznamená nepřítomnost infekce.

13 - VÝSLEDKY

13.1 Detekce a diferenciac

Galerie MYCOFAST Screening *Revolution*

Byla provedena srovnávací studie použitím klinických vaginálních výtěrů (n = 40 ks, 2 druhy U.u. a M.h.) suchými tampony.

Výsledky získané s MYCOFAST Screening *Revolution* jsou porovnávané metodou počítání v tekutém mikroředění. Pro detekci obou druhů - U.u. a M.h. je shoda 97,5 %.

Uvedli jsme 1 falešně negativní hodnotu U.u. pro koncentraci 10³ CCU/mL metodou mikroředění s vědomím, že tato koncentrace je považována za infrapatologickou pro vaginální výtěry. Pro U.u. a M.h. je celková shoda 100 % pro suprapatologické koncentrace.

Za účelem diferenciac, všechny testované vzorky umožnily správnou identifikaci U.u. nebo M.h. v jamkách galerie MYCOFAST Screening *Revolution*.

13.2 - Identifikace a číslování

Přímá metoda Galerie MYCOFAST ATB+

% celkové shody	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolované kmeny (koncentrace ≤ 10 ³ CCU/mL) (viz bod 14.1.1)	97,7	nebylo přiděleno	nebylo přiděleno
Izolované kmeny (koncentrace ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (viz bod 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Klinické vaginální výtěry	100	95,7	97,8
Kapalné klinické vzorky - moč	96,6	97,7	97,1

NA = nevztahuje se

Byla provedena srovnávací studie použitím 21 izolovaných kmenů (ATCC kmenů a kmenů ze sběru) testovaných odděleně (U.u. nebo M.h.) v několika koncentracích (celkem 85 testů).

Získané výsledky se porovnávají s výsledky získanými metodou počítání v tekutém mikroředění.

Pro interpretaci s patologickým prahem stanoveným na 10³ CCU/mL; celková shoda pro U.u. je 97,7 % (uvedli jsme 2 falešně pozitivní hodnoty pro koncentraci 10³ CCU/mL metodou počítání v mikroředění).

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

Celková shoda U.u. a M.h. je 97,8 %.

Byla provedena srovnávací studie použitím vaginálních klinických vzorků (n = 23) provedených suchými tampony. Výsledky získané s MYCOFAST *Revolution* ATB+ jsou porovnávané metodou počítání v mikroředění.

Celková shoda pro U.u. je 100 % a pro M.h. je celková shoda 95,7 % (uvedli jsme falešně pozitivní výsledek pro koncentraci 10² CCU/mL metodou kapalně mikrodiluce).

Druhá komparativní studie byla provedena na klinických vzorcích moči (n = 88).

Výsledky byly odečteny a interpretovány po 48 hodinách inkubace, pokud byl test za 24 hodin negativní. Byla provedena přítomnost samotného mykoplasmatu bez počítání, jak je doporučeno v případě kapalných vzorků. Výsledky získané s MYCOFAST *Revolution* ATB+ jsou srovnatelné s výsledky získanými metodou počítání kapalně mikrodiluce.

Celková shoda pro U.u. je 96,6 % (identifikovali jsme 1 falešně negativní výsledek pro koncentraci 10⁴ CCU/mL metodou mikroředění a 2 falešně pozitivní výsledky pro koncentraci 10² CCU/mL metodou mikroředění).

Celková shoda pro M.h. je 97,7 % (identifikovali jsme dvě falešně pozitivní hodnoty pro koncentraci 10² CCU/mL metodou mikroředění).

Celková shoda U.u. a M.h. je 97,1 %.

13.3 - 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, které získaly odolnost. Každý kmen je testován na ředění 10³ - 10⁴ a 10⁵ CCU/mL. Výsledky obou metod jsou interpretovány jako citlivé (S) nebo rezistentní (R) podle doporučení CLSI.

Pro koncentrace 10⁴ a 10⁵ CCU/mL byly výsledky odečteny a interpretovány po 24 hodinách inkubace.

U koncentraci 10³ CCU/mL byly výsledky odečteny a interpretovány po 48 hodinách inkubace, pokud byl test za 24 hodin negativní.

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

Celková shoda pro *Mycoplasma hominis* u koncentraci 10⁴-10⁵ 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: Závažná neshoda, DTM: Velmi závažná neshoda

a: Neshoda u koncentrace 10⁴ CCU/mL (referenční MIC 4 µg/mL)

b: 1 neshoda u koncentrace 10³ CCU/mL (referenční MIC 2 µg/mL), neshoda u koncentrace 10⁴ CCU/mL (referenční MIC 1 µg/mL), 1 neshoda u koncentrace 10⁵ CCU/mL, 1 neshoda u koncentrace 10⁵ CCU/mL (referenční MIC 2 µg/mL)

c: 1 neshoda u koncentrace 10³ CCU/mL (referenční MIC 2 µg/mL), 1 neshoda u koncentrace 10⁴ CCU/mL (referenční MIC 2 µg/mL), 1 neshoda u koncentrace 10⁵ CCU/mL (referenční MIC 4 µg/mL)¹

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: Neshoda u koncentrace 10⁴ CCU/mL (referenční MIC >32 µg/mL)

b: Neshoda u koncentrace 10⁵ CCU/mL (referenční MIC při 4 µg/mL)

c: Neshoda u koncentrace 10⁵ CCU/mL (referenční MIC při 2 µg/mL)

14 - LIKVIDACE ODPADU

Odpad musí být zlikvidován v souladu s hygienickými pravidly a předpisy platnými pro tento typ činností v zemi použití.

15 - ODKAZY

1 - BEBEAR C., BEBEAR C.M., 2007. Infections humaines à mycoplasmes. Revue Francophone des Laboratoires. Č. 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 - č. 19.

3 - PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001. Mykoplasmata en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires. Doplňek k č. 329, 34-36.

4 - TAYLOR-ROBINSON D. 1995. *Ureaplasma urealyticum* (T-strain Mycoplasma) and *Mycoplasma hominis*, str. 1713-1718. V MAN-DELLG. L., BENNETT J.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4. vyd., díl 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES KEN B., BRENDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Díl 18, č. 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, Díl 52, č. 10, 3776-3778.

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

Změny z předchozí verze 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



