

## Urogenitális mikoplazmák diagnosztizálása

### MYCOFAST Screening Revolution

Kimutatás és differenciálás

50 teszt (REF 00063)

### COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+

Számozás, azonosítás és érzékenységi vizsgálat

25 teszt (REF 00073)

### UMMt Revolution

50 teszt (REF 00061)

CPB 00396-4-HU-2018-03

In vitro diagnosztikához, csakprofesziónalishasználatra  
A tesztek egyszer használatosak



## I - CÉL

A MYCOFAST Screening Revolution kit (REF 00063) lehetővé teszi az *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) és a *Mycoplasma hominis* (M.h.) kimutatását és differenciálódását különböző klinikai mintákból. Ezt az UMMt Revolution készlet (REF 00061) adathordozójával együtt kell használni.

Pozitív szűrés esetén az elemzés elvégezhető a COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB + (REF 00073) készlet galléival, amelyek lehetővé teszik az U.u. és / vagy M.h. számlálását és azonosítását, valamint az antibiotikum fogékonysági tesztet az CLSI (Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet) (2).

## 2 - BEVEZETÉS

A mycoplasmák, amelyeknek több fajtája emberben napjainkban be van jegyezve, a molikulák osztályába tartoznak. Sokféleképpen különböznek más baktériumoktól, beleértve a fal hiányát, amely természetes  $\beta$ -laktám rezisztenciát biztosít, és a szterintartalmú membránt az eukarióta sejtek membránjától, amelyhez hozzájuk kapcsolódik. A mikoplazmák viszonylag törékény szervezetek, amelyek csak számos növekedési faktor jelenlétében, és optimális 37 °C-os hőmérsékleten (4) szaporodnak acelluláris közegben. A legtöbb humán mikoplazma egyszerűen a g an a t o s. Az urogenitális traktus, az *U. urealyticum* és az *M. hominis* izolált fajai leggyakrabban megtalálhatók. Az *U. urealyticum* faj két biovarra oszlik: *U. urealyticum* és *U. parvum* (Uu).

U.u. vagy M.h. viselkedhet, mint valódi kórokozók. Ők felelősek a nemi genitális fertőzésekért (nem-gonokokus urethritis, epididymitis, prostatitis, meddőség); nőgyógyászati fertőzés (bakteriális vaginózis, endometritis, salpingitis); reproduktív rendellenességek (chorioamnionitis, postpartum endometritis, prematurity, spontán abortusz); újszülöttkori támadások (alacsony születési súly, légúti fertőzések, neurológiai fertőzések, bakteriémia, tályog); extragenitális fertőzések (septicaemia, ízületi gyulladás, reaktív ízületi gyulladás, egyéb lokalizáció) (1).

A mycoplasma fertőzések diagnózisa a kóros kúszób meghatározásától, és ezáltal a számtól függ. Az U.u. és M.h. rezisztenciájának megjelenése bizonyos molekulákhoz antibiotikus érzékenységi tesztet vezet (5, 6). A tesztelt antibiotikumok és az értelmezési kritériumok alkalmasak a mycoplasma fertőzések kezelésére az urogenitális traktusban vagy más extragenitális helyeken (2).

## 3 - ELV

A MYCOFAST Screening Revolution egy módszer a A technika folyadékközegben, amely az U.u. és az M.h. metabolizálási képességén alapul

karbamid és arginin. A mikoplazma növekedést folyadékközegben vizuálisan egy színes indikátor jeleníti meg -fenolvörös - a narancsos sárgától a vörösig, ami a környezet lúgosítását jelenti ammónia-felszabadulási miatt.

Az így vizualizált mikoplazmák növekedése lehetővé teszi:

- az észlelést és a differenciálást; majd pozitív eredmény esetén:
- a szubsztrátok hidrolízis sebességén alapuló számlálást, amely: arányos a mintában szereplő kórokozók mennyiségével.
- a kórokozó érzékenysége alapján azonosítását három antibiotikummal szemben.
- az U.u. és M.h. antibiotikumok érzékenységének vizsgálatát.

## 4 - REAGENSEK

Leírás	Mennyiség		
	Ref 00061	Ref 00073	Ref 00063
<b>UMMt:</b> 3 mL üveg mycoplasma húsevés antibiotikumokkal és tartósítószerrel. pH: 6,0 ± 0,1	50		
<b>MYCOFAST SCREENING Revolution:</b> 10-lyukú törésű galéria 5 teszthez, külön csomagolva fóliatásakhoz szárítószerrel			10
<b>Címkék:</b> 5 darab törhető címke			10
<b>S.Mh:</b> Mh növekedési aktivátor (4,5 mL)			1
<b>MYCOFAST Revolution ATB+:</b> 24 üreges galéria 1 teszthez, alumínium zacskóba csomagolva, integrált szárítószerrel		25	
<b>Záró rendszer:</b> áttetsző műanyag burkolat a MYCOFAST Revolution galériához		25	

### MYCOFAST Screening Revolution

A tálcá 5 darab 2 mélyedéssorozatból áll: egy *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) mélyedés linkomicint és karbamidot tartalmaz, és egy *mycoplasma hominis* (M.h.) mélyedés eritromicint és arginint tartalmaz.

### MYCOFAST Galéria Revolution ATB +

A MYCOFAST Revolution ATB + galériában dehidratált formában a 24 kútban a mycoplasma növekedési táptalajt (csikószérum, élesztőkivonat, cisztein, arginin, karbamid, fenolvörös, antibiotikumok, pH = 6,1 ± 0,1) és 11 1 - 4 koncentrációjú antibiotikumok: Az U.u. faj diagnózisára szánt rész (fekete):

**Hát 1/2:** U.u.-szám:  $10^3$  és  $\geq 10^4$  CCU/mL (pufferált oldat és Mg linomicin gátló növekedése) szintje (kék)

**Hát 3:** M.h.-szám a  $\geq 10^4$  CCU/mL (vörös)

**Hát 4/5/6:** A mycoplasma levofloxacin (LVX) érzékenységének értékelése 1/2/4  $\mu$ g / mL

**Hát 9/7/10:** Moxifloxacin (MXF) szembeni mycoplasma-érzékenység értékelése 0,25 / 0,5 / 2/4  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 14/11/12:** A mycoplasma-érzékenység értékelése tetraciklinre (TET) 1/2/4/8  $\mu$ g / mL-en

**Hát 15/16:** Erythromycin Mycoplasma Sensitivity (ERY) értékelése 8/16  $\mu$ g / mL-ben (vörös)

**Hát 17/18:** A mycoplasma érzékenységének becslése a Clindamycin (CLI) esetében 0,25 / 0,5  $\mu$ g / mL (kék)

**Hát 19:** A mycoplasma érzékenysége telitromicinnel (TEL) 4  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 20:** Roxithromycin (ROX) mycoplasma érzékenységének értékelése 2  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 21:** A mycoplasma érzékenysége minociklinre (MIN) 2  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 22:** A mycoplasma ofloxacin (OFX) érzékenységének értékelése 1  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 23:** A mycoplasma-érzékenységnek a Josamycinre (JOS) való értékelése 2  $\mu$ g / mL-ben

**Hát 24:** Pristinamicin Mycoplasma Sensitivity (PRI) értékelése 2  $\mu$ g / mL-ben

		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										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 - A FOGLALKOZTATÁSRA VONATKOZÓ ÓVINTÉZKEDÉSEK

A készletben lévő reagensek csak in vitro diagnosztikai célokra szolgálnak, és azokat felhatalmazott személyek kezelhetik.

A beoltott minták reagensek potenciálisan fertőzőek, azokat a szokásos óvintézkedésekkel kell kezelni a higiéniai szabályok és a termék országában érvényes előírásoknak megfelelően.

Az állati eredetű nyersanyagokat tartalmazó reageneket a szokásos óvintézkedésekkel kell kezelni.

Ne használjon reageneket a lejáratú időn túl.

Használat előtt ne használjon sérült vagy rosszul tárolt reageneket.

A MYCOFAST Revolution ATB+ galérián pozitív eredmény tükrözi az urogenitális mycoplasma kolonizációját, de önmagában nem használható klinikai diagnosztikai kialakítására.

Ezt orvosnak kell elvégeznie a biológiai eredmények és a klinikai tünetek alapján.

## 6 - A MINTÁK ÖSSZEGYŰJTÉSE ÉS FELDOLGOZÁSA

### 6.1. A minták összegyűjtése

Cervico-hüvelyi tampon

Csak Dacron vagy műselyem tampon vagy csepegtetőt használjon. Vegye ki a mintát az exoceláris váladékok óvatos eltávolításával egy első tamponnal. Mycoplasma erős affinitást mutatnak a nyálkahártya sejtek általuk követett, elengedhetetlen, hogy kaparja a bélés, hogy kap egy jó visszatér.

**Urethrikus törökendő:** Tisztítsa meg a húsdarabot, és gyűjtse össze a sejtek rángatásával vagy kaparásával.

**Sperma, vizelet:** Töltsük fel a spermát vagy az első vizes permetet egy steril palackba.

### 6.2 UMMt környezetben történő szállítása

Swab sampling: Távolítsa el a tampon egy UMMt táptalajból.

Folyékony minták: Inokuláljon egy UMMt táptalajt tartalmazó injekciós üveget 300  $\mu$ L homogenizált folyadékkal.

### 6.3 Megőrzés az UMMt környezetben

Beoltott állapotban az UMMt táptalajt szobahőmérsékleten (18-25 °C) 20 órán át, vagy 2-8 °C-on 56 órán keresztül tárolhatjuk 3 napig -20 °C-on történő tárolás előtt 2 csepp "MYCOPLASMA Stabilizátort" kell adni.

### 7 - REAGENSEK ELKÉSZÍTÉSE ÉS TÁROLÁSA

A 2-8 °C között eredeti állapotukban tárolt reagensek a címkéken jelzett lejáratú időig tarthatóak.

Ha egyetlen mélyedéssorozatot (U.u.) (M.h.) vagy két, három, négy mélyedéssorozatot használunk akkor a MYCOFAST Screening *Revolution* tálcá fel nem használt része az eredeti alumínium tasakban herm etikus an lezárva 4 hétig tárolható el 2-8 °C-on.

Az Mh kiegészítő 3 hónapig tartható el felbontás után.

Az UMMt-tápközeg ideiglenesen (3 hónapig) tárolható szobahőmérsékleten tárolható, de jobb eltarthatóságot mutat 2-8 °C-on.

Ne fagyassza le a készlet reagenseit.

### 8 - SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

Mintavevő berendezések (tamponok citológiai mintavevő kefék, steril üvegek folyadékminták gyűjtésére), pipetták és átvívó kúpok MYCOPLASMA Stabilizátor (REF 00064); 37 ± 1 °C-on kalibrált laboratóriumi kemence Szennyezett hulladék tartály és ásványi olaj számára

### 9 - MŰKÖDÉS

A reagenseket 20-30 percig szobahőmérsékletre visszük.

#### 9.1 SZŰRÉS-MYCOFAST Screening *Revolution*

- Készítsünk annyi mélyedéssorozatot amennyi vizsgálandó mintánkvan.

- Szükség esetén szeparáljunk egy vagy több (U.u.) / (M.h.)

mélyedéssorozatot a tálcán lévő jelölésekkel.

#### 9.1.1 UMMt *Revolution* közeg beoltása

Oltuk be az UMMt tápközegét a tamponnal vagy 300 µL folyadékmintával (§ 6.2). Homogenizáljuk.

#### 9.1.2 U.u. / M.h.-mélyedések beoltása

- Fokozatosan elosztva:

(U.u.) mélyedések: 100 µL beoltott UMMt közeg.

(M.h.) mélyedések: 100 µL beoltott UMMt közeg.

50 µL Mh kiegészítő közeg

- Juttasson 2 csepp ásványi olajat mindkét mélyedésbe.

- Fedje le a mélyedéseket a törővonallal ellátott címkével és azonosítsa a mintát. - **Őrizz meg a beoltott UMMt** táptalajú üveg többletét 2 - 8 °C közötti hőmérsékleten az elemzés folytatásához pozitív szűrés esetén.

#### 9.1.3. U.u. / M.h. mélyedések inkubálása

Inkubáljuk a mélyedéseket 24 órán át 37 ± 1 °C-on. A tálcá inkubációja csak abban az esetben hosszabbítható meg 48 órára, ha 24 órán belül negatív folyadékmintánkvan.

#### 9.1.4 Az U.u. / M.h. mélyedések leolvasása és értelmezése

- Ellenőrizze, hogy a két mélyedés (U.u.) (M.h.) tiszta. A zavaros mélyedés bakteriális fertőzést jelez. Ebben az esetben ismételje meg a tesztet.

- Figyelje meg az U.u. és az M.h. mélyedések színváltozását:

Narancs vagy vörös U.u. mélyedés: *Ureaplasma urealyticum* jelenlét

Narancs vagy vörös M.h. mélyedés: *Mycoplasma hominis* jelenlét

Sárga U.u. / M.h. mélyedés: nincs mikoplazma

**Pozitív szűrés esetén folytassa a diagnózist a MYCOFAST *Revolution* ATB+ tálcával**

### 9.2 SZÁMLÁLÁS, AZONOSÍTÁS ÉS ÉRZÉKENYSÉGI TESZT

#### 9.2.1 A MYCOFAST *Revolution* ATB +

**tálcá beoltása** Távoltítsa el a ragasztófilát a fül lehúzásával és ossza szét fokozatosan a mélyedésekben:

1-24. mélyedések 100 µL beoltott UMMt közeg

1-24. mélyedések 2 csepp ásványi olaj

Fedje be a tálcát a "rendszer lezárása" fedéllel.

Azonosítsa a mintát.

Az UMMt üveg feleslegét őrizze meg 2-8 °C közötti hőmérsékleten legalább 48 órán keresztül, hogy lehetővé tegye az esetleges ellenőrzést.

#### 9.2.2 A tálcá inkubálása

Inkubálja a tálcát 37 ± 1 °C-on 24 órán keresztül.

Az U.u. és az M.h. számozásához olvassa le az eredményeket 24 órán belül. A tálcá inkubációja csak 24 órán belüli negatív folyadékminták esetén hosszabbítható meg 48 órával.

#### 9.2.3 Leolvásás és értelmezés

Ellenőrizze, hogy a tálcá összes mélyedése tiszta. A zavaros mélyedés bakteriális fertőzést jelez. Ebben az esetben ismételje meg az elemzést. Az urogenitális mikoplazmák növekedése a mélyedésekben a vörös színűre változó táptalaj lúgosodását eredményezi. Az urogenitális mikoplazmák növekedésének hiányában a táptalaj sárga marad.

A narancssárga színt pozitív tesztnek (határérték) kell tekinteni.

Lásd az eredmények adatlapját a teszt értelmezéséhez.

### Számlálás (1, 2 és 3.

#### mélyedések)

Határozza meg azokat a mélyedéseket amelyek vörösre változtak, és értelmezze:

1 U.u. arány  $10^3$  CCU/mL

1 és 2 U.u. arány  $\geq 10^4$  CCU/mL

3 M.h. arány  $\geq 10^4$  CCU/mL

A mikoplazmápatogén szerepe az urogenitális fertőzésekben specifikus ajánlások szerint értelmezendő (1,3,7). A következőkre vonatkozó általános patológiás arányok: *U. urealyticum* következők:  $\geq 10^4$  CCU/mL uretrális tamponhoz,  $\geq 10^3$  CCU/mL egy első vizelet lövés vagy sperma esetén (bár egy új helyi ajánlás említi a  $\geq 10$  küszöböt<sup>4</sup> CCU/mL a spermiumhoz (7)). *M. hominis* esetén ha a jelenléti arány  $\geq 10^4$  CCU/mL, az a cervikovaginális mintában rendellenesnek számít (1,3).

#### Érzékenységi vizsgálat (4-től 24-ig terjedő mélyedések)

Az antibiotikumot tartalmazó közeg átváltozása a mélyedésekben a törzs fejlődésének a képességét mutatja az antibiotikum tesztelt koncentrációjának jelenlétében. A táptalaj sárga színe azt jelzi, hogy a törzs nem képes fejlődni az antibiotikum tesztelt koncentrációjának jelenlétében.

A törzseket érzékenyek vagy antibiotikumokkal szemben rezisztensnek tekintik CLSI (2) által definiált alábbi értelmezési feltételek szerint:

A MIC-ek értelmezési kritériumai µg / mL-ben (CLSI által meghatározott kritériumok):

A törzs érzékenyek **tekintendő**, ha a szaporodását az antibiotikum két kritikus koncentrációja gátolja.

A törzs **rezisztensnek** tekintendő, ha:

1 / a törzs szaporodik egyetlen koncentrációban vizsgált antibiotikumra nézve.

2 / ha a vizsgált antibiotikum alacsony koncentrációjában vagy két kritikus koncentrációjában szaporodik.

Osztály	Antibiotikum	U.u.		M.h.		Megjegyzések
		S	R	S	R	
Kinolonok	Lévofloxacin*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin*	≤2	≥4	≤0,2€	≥0,5	
	Ofloxacin	≤1	>1	≤1	>1	
Linkozamidok	Clindamycin*	/	/	≤0,2€	≥0,5	Az U.u. természetes rezisztenciával rendelkezik Klindamicinnel szemben

Tetraciklinek	Tétracycline*	≤1	≥2	≤4	≥8	Ha a törzsek érzékenyek tetraciklinek, érzékenyek lesznek Doxiciklinre is
	Mnocyline	≤2	>2	≤2	>2	
makrolidok	Erythromycine*	≤8	≥16	/	/	Ha a törzsek érzékenyek eritromicinre, azok lesznek Azithromycine is. Az Mh. természetes rezisztenciával rendelkezik Erythromycinnel szemben
	Roxithromycine	≤2	>2	/	/	Az Mh. természetes rezisztenciával rendelkezik Roxithromycinnel szemben
	Josamycine	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolidok	Télithromycine*	≤4	-	≤4	/	
Streptogramines	Pristinamycine	≤2	>2	≤2	>2	

(\* CLSI által definiált értelmezési kritériumok)

Az *M. hominis* természetesen rezisztens a 14- és 15-tagú makrolidokkal szemben, köztük az eritromicinnel és a roxitromicinnel szemben is, de érzékeny a 16-tagú makrolidokra, pl. a josamycinre.

Az *U. urealyticum* természetes rezisztenciával rendelkezik linkozamidokkal szemben (Clindamycin).

Egyes populációkban a tetraciklin szembeni rezisztencia szintje elérheti a 45%-ot U.u.-ra nézve és a 39,6%-ot M.h.-ra nézve (2). A kinolonokkal (U.u. és M.h.) (5, 6) és a klindamicinnel (M.h.) szembeni rezisztenciák lettek írva, de prevalencia nem ismert.

Értelmezési segédlet:

#### U.u. érzékenységi teszt

ATB*	LVX				MXF				TET				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*
Proflok	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
/	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

\*ATB= antibiotikumok, \*CONC= koncentráció, \*INT= értelmezések

#### U.u. érzékenységi teszt

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

### M.h. érzékenységi vizsgálat

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)																	
Profilok	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

### M.h. érzékenységi vizsgálat

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

### 10 - KÜLÖNLEGES ESETEK

Nagyon magas U.u. vagy M.h. arányok esetén a kórokozó által érintett összes mélyedés vörösré változik. Ekkor ajánlatos a minta hígítása pontosabb eredmény elérése érdekében. Ebben az esetben a következőképpen járjon el:

Oltson be egy új 3 mL-es UMMt üveget 300 µL eredeti állapotában 2-8 °C-on tárolt UMMt tápközeggel (§ 9.1).

Oltson be egy új tálcát az új beoltott UMMt tápközeg segítségével.

Vegyűkfolyadékba a hígítást (1:10) a számozás értelmezésekor. Szükség esetén erősítse meg az A7 agaron a mikoplazmák jelenlétét az eredeti, 2-8 °C-on tárolt UMMt tápközegből történő újraizolálással (§ 9.1).

Nem állandó vagy 36 °C alatti inkubációs hőmérséklet (a sütő gyakori nyitogatása, a kemencében a hőmérséklet heterogenitása ...) lelassíthatja a mikoplazmák növekedési kinetikáját.

### 11 - MINŐSÉGELLENŐRZÉS

A minőségellenőrzés végezhető az *U. urealyticum* törzsből vagy az *M. hominis* törzsből a MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) készletből vagy egy liofilizált gyűjtésből származó (*U. urealyticum* ATCC 27815 törzsből vagy *M. hominis* ATCC 23114) törzsből, amely előzetesen kalibrálva lett: 10<sup>4,5</sup> CCU/mL.

Be kell oltani a MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ tálcát és a tájékoztatóban szereplő módon el kell végezni a tesztet (§ 9.2).

Alább láthatóak a várható eredmények (ATCC):

#### MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

	U.u. 10 <sup>3</sup>	U.u. ≥10 <sup>4</sup>	M.h. ≥10 <sup>4</sup>	LVX	MXF	TET	ERY
U.u. törzs ATCC 27815	+	+	-	S	S	S/R	S
M.h. törzs ATCC 23114	-	-	+	S/R	S	S	R

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

### 12 - A MÓDSZER KORLÁTAI

#### 12.1 - Szűrés:

A MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá érzékenységi küszöbértéke ≤10<sup>3</sup> CCU/mL és nem teszi lehetővé a számlálást. A MYCOFAST *RevolutioN* tálcával kapott számlálás negatív eredményt mutathat pozitív szűrés után.

#### 12.2 Számlálás, azonosítás és érzékenységi vizsgálat

Egyes baktériumok, melyek jelenlétének mennyisége > 10<sup>6-7</sup> CFU/mL és melyek ureázzal rendelkeznek, a tálcában lévő összes mélyedés elváltozását okozhatják. A jelenlétük ellenőrizhető a 2-8 °C-on tárolt eredeti UMMt táptalaj újraizolálásával csokoládé agaron (§ 9.1).

Bázikus minta pH-ja (pH>7) megváltoztathatja a táptalajt. Ebben az esetben hígítsa a mintát (1:10) egy másik UMMt közegben, és értelmezze az azt a hígítás figyelembevételével.

Savas minta pH-ja (pH≤5,5) lelassíthatja a színeltolódás megjelenését.

Vért tartalmazó minta a MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ tálcá mélyedéseinek a színeltolódását okozhatja, ez pozitív eredményként értelmezhető. Ebben az esetben hígítsa a mintát (1:10) egy másik UMMt közegben, és értelmezze az azt a hígítás figyelembevételével. Kevés mikoplazmát tartalmazó minta (<10<sup>3</sup> CCU/mL) véletlenszerű elváltozást okozhat a tálcá különböző mélyedéseiben. A kórokozók keresésének bármely módszerénél a minta minősége határozza meg a vizsgálat eredményét. A negatív teszt nem minden esetben jelenti azt, hogy nincs fertőzés.

### 13 - EREDMÉNYEK

#### 13.1 Szűrés és differenciálás

##### MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá

Összehasonlító vizsgálatot végeztek vaginális klinikai mintákkal (n = 40; 2 U.u. és M.h. faj) és száraz tamponnal.

A MYCOFAST Screening *RevolutioN* segítségével kapott eredményeket összehasonlítjuk a folyadékös mikrohígítás számlálási módszerrel. A 2 U.u. és M.h. faj szűrése esetében az egyezés 97,5%.

1 hamis negatív U.u. eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>3</sup> CCU/mL, annak ismeretében, hogy ez az arány vaginális minták esetén a patológiai érték alatt van. U.u. és M.h. esetében a szupra-patológias arányok teljes egyezése 100%.

Differenciálásra nézve az összes vizsgált minta lehetővé tette az U.u. vagy M.h. helyes azonosítást a MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá mélyedéseiben.

#### 13.2 - Azonosítás és számlálás Direct

##### módszer MYCOFAST ATB + tálcá

% teljes egyezés	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolált törzsek (arány ≤ 10 <sup>3</sup> CCU/mL) (lásd § 14.1.1)	97,7	NA	NA
Izolált törzsek (arány ≥ 10 <sup>4</sup> CCU/mL) (lásd § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Klinikai vaginális minták	100	95,7	97,8
Klinikai folyadékminták - vizelet	96,6	97,7	97,1

NA: nem alkalmazható

Összehasonlító vizsgálatot végeztünk 21 izolált törzs (ATCC törzsek és gyűjtési törzsek) alkalmazásával, amelyeket külön-külön vizsgáltuk (Uu vagy M.h.) többféle koncentrációban (összesen 85 teszt).

A kapott eredményeket összehasonlítjuk mikrohígításos számlálási módszerrel.

Ha a fix patológiai küszöbérték 10<sup>3</sup> CCU/mL; az U.u.-ra nézett teljes egyezés 97,7% (2 hamis pozitív eredményt azonosítottunk 10<sup>3</sup> CCU/mL aránnyal mikrohígításos számlálási módszerrel).

Ha a fix patológiai küszöbérték 10<sup>4</sup> CCU/mL; az Uu-ra nézett teljes egyezés 96,5% (3 hamis pozitív eredményt azonosítottunk 10<sup>3</sup> CCU/mL arányal mikrohígításos számlálási módszerrel). Az M.h. teljes egyezése 98,9% (1 hamis pozitív eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>3</sup> CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az U.u. és M.h. teljes egyezése 97,8%.

Összehasonlító vizsgálatot végeztek vaginális klinikai mintákon (n = 23) száraz tamponokon. A MYCOFAST *RevolutioN* ATB + segítségével kapott eredményeket összehasonlítjuk a folyadékös mikrohígításos számlálási módszerrel.

Az Uu általános összevontsága 100%, az M.h. pedig 95,7% (1 hamis pozitívum eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>2</sup> CCU/mL folyadékös mikrohígításos módszerrel).

Egy második összehasonlító vizsgálatra is sor került klinikai vizeletmintákon (n = 88).

Az eredményeket 48 óránál inkubálás után olvasták és értelmezték, ha a teszt negatív volt 24 óra alatt. A mycoplasma jelenléte önmagában számlálás nélkül, a folyékony minták esetében javasolt módon lett megadva.

A MYCOFAST *RevolutioN* ATB + -segítségével kapott eredményeit összehasonlítjuk azokkal, amelyeket a folyadékös mikrohígításos számlálási módszerrel kaptunk.

Az U.u. teljes egyezése 96,6% (1 hamis negatív eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>4</sup> CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel) és 2 hamis pozitív eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>2</sup> CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az M.h. teljes egyezése 97,7% (2 hamis pozitív eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10<sup>2</sup> CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az U.u. és M.h. teljes egyezése 97,1%.

### 13.3 - Érzékenységi vizsgálat

Az összehasonlító vizsgálatot egy nemzeti referencialaboratóriumban végezték el, a minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározási módszerét hasonlították össze folyadékös közegben a MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ módszerrel.

A vizsgált törzsek (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* és 16 *M. hominis*) referencia törzsek, klinikai vad törzsek vagy szerzett rezisztenciával rendelkező törzsek. Minden törzset 10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup> és 10<sup>5</sup> CCU/mL értéken vizsgáltunk. Mindkét módszer eredményeit a CLSI ajánlásoknak megfelelően érzékenyként (S) vagy rezisztensként (R) értelmezik 10<sup>4</sup> és 10<sup>5</sup> CCU/mL arány esetén az eredményeket 24 órás inkubálás után olvasták le és értelmezték.

10<sup>3</sup> CCU/mL-nél az eredményeket 48 órás inkubálás után olvasták és értelmezték, ha a vizsgálat negatív volt 24 órán belül.

*Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* teljes egyezése : 93,8% (394/420).

*Mycoplasma hominis* teljes egyezése 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> CCU/mL arányokra nézve : 93,4% (227/243).

egyezés	<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 <sup>a</sup>	0	4 <sup>b</sup>	0	0	0	0	3 <sup>c</sup>

DM: Major Diszkordancia, DTM: Nagyon nagy diszkordancia

- a: A különbség  $10^4$  CCU/mL-nél történt (MIC 4 µg / mL referenciaérték)  
b: 1 Megegyezés, amely  $10^3$  CCU/mL-ben (referencia MIC 2 µg / mL), 1 eltérés  $10^4$  CCU/mL-nél (MIC referencia 1 µg / mL-ben), 1 ellentmondás  $10^5$  CCU/mL-ben (referencia MIC 1 µg / mL), 1 diszkordancia  $10^5$  CCU/mL (referencia MIC 2 µg / mL)  
c: 1  $10^3$  CCU/mL (MIC referencia 2 µg / mL) értéken kapott disszociáció, 1 eltérés  $10^4$  CCU/mL-nél (referencia MIC 2 µg / mL-ben), 1 ellentmondás  $10^5$  CCU/mL-nél (referencia MIC 4 µg / mL)

egyezés	<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 <sub>s</sub>	1 <sub>s</sub>	0	0	1 <sub>c</sub>	0	0	0	0

- a: A  $10^4$  CCU/mL-nél (referencia MIC > 32 µg / mL)  
b: A  $10^5$  CCU/mL-nél (referencia MIC > 4 µg / mL)  
c: A  $10^5$  CCU/mL-nél (referencia MIC > 2 µg / mL)

#### 14 - HULLADÉKÁRTALMATLANÍTÁS

A hulladékot a higiéniai előírások betartásával és az országban az ilyen típusú reagensekre vonatkozó hatályos szabályok betartásával kell ártalmatlanítani

#### 15 - BIBLIOGRÁFIA

- 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 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., BRENDKATZ 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 - Référence en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5ème édition)

A korábbi verziók módosításai szürke színnel vannak jelölve.

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

