

Diagnoza urogenitalnih mikoplazem MYCOFAST

Screening Revolution

Odkrivanje in diferenciacija
50 testov (REF 00063)

DODATEK MYCOFAST Revolution ATB+

Oštevilčenje, identifikacija in test občutljivosti
25 testov (REF 00073)

UMMt Revolution

50 testov (REF 00061)

CPB 0396-4-SL-2018-03

Samo za diagnozo *in vitro*, in zgolj za profesionalno uporabo
Preizkusi so za enkratno uporabo



I – NAMEN

Komplet MYCOFAST Screening Revolution (REF 00063) omogoča odkrivanje in diferenciacijo *Ureaplasma urealyticum*/ *Ureaplasma parvum* (U.u.) in *Mycoplasma hominis* (M.h.) iz različnih kliničnih vzorcev. Uporabljati ga je treba skupaj z mediji kompletov UMMt Revolution (REF 00061).

V primeru pozitivnega pregleda se analiza lahko zaključi z galerijami kompleta COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+ (REF 00073), ki omogoča štetje in identifikacijo U.u. in / ali M.h. ter test občutljivosti za antibiotike v skladu s priporočili iz CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 – UVOD

Mikoplazme, ki imajo do sedaj zabeležene vrste pri ljudeh, sodijo v razred mollikulov. Ti se razlikujejo od drugih bakterij na več načinov, tudi če ni stene, ki jim daje naravno odpornost na p-laktamske antibiotike kot tudi membrano, bogato z sterolov iz membranah evkariotskih celic, na katere se vežejo. V mikoplazme so razmeroma šibke organizmi, ki pomnožijo acelularno mediju v prisotnosti številnih rastnih faktorjev in optimalni temperaturi 37 °C (4).

Večina človeških mikoplazem je preprost komezal. Najpogosteje najdemo izolirane vrste iz urogenitalnega trakta, *U. urealyticum* in *M. hominis*. Vrsta *U. urealyticum* je razdeljena na dva biovarje: *U. urealyticum* in *U. parvum* (uu). U.u. ali M.h. se lahko obnašajo kot pravi patogeni. Ti so odgovorni za moških genitalnih okužb (uretritis brez gonokokov, epididimitis, prostatitis, neplodnosti); ginekološka okužba (bakterijska vaginoza, endometritis, salpingitis); reproduktivnih motenj (horioamnionitis, endometritis) poporodno nedonošenčka, spontani splav); neonatalna motnje (nizka porodna teža, respiratorni, nevrološke okužbe, bakteriemija, absces); ekstragenitalne okužbe (septični artritis, reaktivni artritis, druge lokalizacije) (1).

Diagnoza okužb mikoplazme je odvisna od določitve patološkega praga in s tem števila. Pojav odpornosti U.u. in M.h. na določene molekule vodi do testa občutljivosti na antibiotike (5, 6). Testirani antibiotiki in merila za razlago so priloženi za zdravljenje okužb mikoplazme v urogenitalnem traktu ali drugih ekstragenitalnih mestih (2).

3 – NAČELO

Projekcija MYCOFAST Screening Revolution je tekoča metoda, ki temelji na sposobnosti U.u. in M.h. za presnovo sečnina in arginin. Rast mikoplazme v tekočem mediju se vizualizira skozi steklo s krivuljo obarvanega indikatorja – rdeča fenol - od rumeno-oranžne do rdeče, kar predstavlja alkalizacijo okolja zaradi sproščanja amoniaka.

Rast mikoplazme, ki je tako vizualizirana, omogoča:

- odkrivanje in diferenciacijo; in v primeru pozitivnosti:
- oštevilčenje, ki temelji na hitrosti hidrolize substratov, ki je sorazmerno količini bakterij v vzorcu.
- identifikacija, ki temelji na občutljivosti ali ne na bakterijah v primerjavi z tremi antibiotiki.
- študija občutljivosti U.u. in M.h. na antibiotike.

4 – REAGENTI

Opis	Množství		
	Ref 00061	Ref 00082	Ref 00063
UMMt: Steklenica 3 mL bujona mikoplazme z antibiotiki in konzervansom. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: 10-dobro razstavljivi zaslon za 5 testov, posamično pakiran v aluminijaste vrečice z integriranim sušilnikom.			10
Tags: odbor 5 zlomljivih nalepk			10
S.Mh: Mh aktivator za rast (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution ATB+: Galerija 24 vodnjakov za 1 test, pakirano v aluminijasti vrečki z integriranim sušilnim sredstvom		25	
Zapiralni sistem: prosojni plastični pokrov za galerijo MYCOFAST Revolution		25	

Galerija MYCOFAST Screening Revolution

Galerija sestavljena iz 5 serij 2 vodnjakov: vodnjak *Ureaplasma urealyticum* (U.u.), ki vsebuje lincomicin in sečnino in dobra *mycoplasma hominis* (M.h.), ki vsebuje za eritromicin in arginin.

Galerija MYCOFAST Revolution ATB+

Galerija MYCOFAST Revolution ATB+ vsebuje v dehidrirani obliki v 24 vodnjakovih rastni medij mikoplazme (žlezni serum, ekstrakt kvasa, cistein, arginin, sečnina, fenol rdeča, antibiotiki, pH: 6,1 ± 0,1) in 11 antibiotiki z 1 do 4 koncentracijami:

Epruvete 1/2: Število U.u. za ravni 10^3 in $\geq 10^4$ CCU/mL (puferska raztopina in rast inhibicije lincomicina M.h.) (v modri barvi)

Epruveta 3: M.h. štetje za hitrost $\geq 10^4$ CCU/mL (rdeča)

Epruvete 4/5/6: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na levofloksacin (LVX) pri 1/2/4 µg / mL

Epruvete 7/8/9/10: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na Moksifloksacin (MXF) pri 0,25 / 0,5 / 2/4 µg / mL

Epruvete 11/12/13/14: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na tetraciklin (TET) pri 1/2/4/8 µg / mL

Epruvete 15/16: Vrednotenje občutljivosti na eritromicinsko mikoplazmo (ERY) pri 8/16 µg / mL (rdeče)

Epruvete 17/18: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na Clindamycin (CLI) 0,25 / 0,5 µg / mL (v modri barvi)

Epruveta 19: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na telitromicin (TEL) pri 4 µg / mL

Epruveta 20: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na roksitromicin (ROX) pri 2 µg / mL

Epruveta 21: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na minocikline (MIN) pri 2 µg / mL

Epruveta 22: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na Ofloxacin (OFX) pri 1 µg / mL

Epruveta 23: Vrednotenje občutljivosti mikoplazme na josamicin (JOS) pri 2 µg / mL

Epruveta 24: Vrednotenje občutljivosti receptorja na receptorje za Pristinamicin Mycoplasma (PRI) pri 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									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 - PREVIDNOSTNI UKREPI

Reagenti v tem kompletu so namenjeni samo *in vitro* diagnostični uporabi in jih morajo ravnavati pooblaščen osebe.

Vzorci in reagenti, ki so zasejani, so potencialno okuženi, jih je treba ravnavati z običajnimi previdnostnimi ukrepi v skladu s higienskimi predpisi in predpisi, ki veljajo v državi uporabe za to vrsto izdelka.

Reagente, ki vsebujejo surovine živalskega izvora, je treba ravnavati z običajnimi varnostnimi ukrepi.

Ne uporabljajte reagentov po datumu izteka roka uporabnosti.

Pred uporabo ne uporabljajte poškodovanih ali slabo shranjenih reagentov. Pozitiven rezultat z galerijo MYCOFAST Revolution odraža kolonizacijo z urogenitalno miokalgijo, vendar je ni mogoče uporabiti sami, da bi naredili klinično diagnozo.

To mora storiti zdravnik na podlagi bioloških rezultatov in kliničnih znakov.

6 - ZBIranJE IN OBDELAVA V

6.1 Zbiranje v zorcev

Vratno-vaginalni brisi:

Uporabljajte le Dacron ali žlebasti žleb ali citoktrčko. Vzorec vzemite po skrbni odstranitvi izluščenih izkoščkov s prvim brisom.

Mikoplazme z visoko afiniteto za mukozne celice, na katerih se držijo, je bistveno, da temeljito opraskate sluznico da bi dobili dober donos.

Uteralni vzorci: Očistite meso in odvezite z brisanjem ali strganjem celic.

Sperme, urina: Zberemo spermo ali prvi tokurina v sterilno steklenico

6.2 Prevoz v okolju UMMt

Vzorčenje na brisaču: Izvedite bris v steklenico od UMMt sredstva.

Odvoz tekočin: Inokulirajte stekleničko srednjega UMMt s 300

µL homogenizirane tekočine.

6.3 Ohranjanje v okolju UMMt

Po inokulaciji se lahko UMMt medij shranjuje pri sobni temperaturi (18-25 °C) 20 ur ali pri 56 °C pri 2-8 °C.

Za shranjevanje 3 dni pri -20 °C dodajte 2 kapljici "MYCOPLASMA Stabilizer" vnaprej.

7 - PRIPRAVA IN OHRANJANJE REAGENTOV

Reagenti, shranjeni pri 2-8 °C v prvotnem stanju, so stabilni do datuma poteka, navedenega na nalepkah.

Pri uporabi ene vrste izvrtin (U.u.) (M.h.) ali dveh, štirih nizov vrtin, preostanek MYCOFAST pregledovanja Revolution neuporabljenega, in tesno zaprtega v vrečki izvimo iz aluminija, lahko hranite 4 tedne pri temperaturi 2-8 °C.

Dodatek M.h. je stabilen 3 mesece po odprtju.

Sredstvo UMMt je lahko začasno (3 mesece) shranjeno pri sobni temperaturi, vendar ima boljšo stabilnost pri 2-8 °C.

Ne zamrzujte reagentov iz ohišja.

8 - POTREBNI MATERIALI, KI NISO NAVEDENI

Oprema za vzorčenje (brisi, citobrosi, sterilne stekleničke za zbiranje tekočih osebkov), pipete in transfemi stožci MYCOPLASMA stabilizator (REF 00064); pečica kalibrirana pri 37 ± 1 °C Posoda za kontaminirane odpadke in mineralno olje

9 - OPERATIVNI POSTOPEK

Reagente segrejte na sobno temperaturo 20 do 30 minut.

9.1 PREGLED - MYCOFAST Screening Gallery Revolution

- Pripravite toliko serij epruvet kot vzorcev, ki jih je treba preskusiti.

- Po potrebi ločite eno ali več serij epruvet (U.u.) / (M.h.), tako da jih označite z oznakami v galeriji.

9.1.1 Sejanje sredstva UMMt Revolution

Inokulirajte sredstvo UMMt s tamponom ali 300 µL tekočih vzorcev (§ 6.2). Homogenizirajte.

9.1.2 Inokulacija epruvet U.u. / M.h.

- razporedite zaporedoma:

Epruvete (U.u.): 100 µL UMMt injekcijskega sredstva za posev.

Epruvete (M.h.): 100 µL injekcijskega sredstva UMMt za posev.

50 µL srednjega dodatka M.h.

- V obe epruveti dodajte 2 kapljici mineralnega olja.

- Pokrijte epruveti z razdeljivo nalepko in prepoznajte vzorec.

- Hranite presežek stekleničke sredstva UMMt osemjenega pri 2-8 °C, da nadaljujete analizo v primeru pozitivnega pregleda.

9.1.3 Inkubacija v epruvetah U.u. / M.h.

Vdolbinice inkubiramo 24 ur pri 37 ± 1 °C. Inkubacija galerije se lahko podaljša do 48 ur le v primeru negativnih testov v 24 urah.

9.1.4 Branje in interpretacija epruvet U.u. / M.h.

- Preverite, ali sta 2 epruveti (U.u.) (M.h.) čisti. Občasne težave v epruveti kažejo na kontaminacijo bakterij. V tem primeru ponovite test.

- Upoštevajte barvni premik v epruvetah U.h. in M.h.:

Epruveti U.u. oranžni ali rdeči: Prisotnost *Ureaplasma urealyticum*

Epruveta M.h. oranžna ali rdeča: Prisotnost *Mycoplasma hominis*

Rumena epruveta U.u. / M.h.: odsotnost mikoplazme

V primeru pozitivnega pregleda nadaljujte z diagnozo z galerijo MYCOFAST Revolution ATB +

9.2 ŠTEVILO, IDENTIFIKACIJA IN PREVERJANJE OBČUTLJIVOSTI

9.2.1 Seje galerije MYCOFAST Revolution ATB +

Odstranite lepilni film z vlečenjem jezička in razporeditvi zaporedoma v vodnjake:

Epruvete 1-24 100 µL injekcijskega sredstva UMMt

Epruvete 1-24 2 kapljici mineralnega olja

Galerijo pokrijte tako, da vključite pokrov "zapiralnega sistema".

Ugotovite vzorec.

Presežek stekleničke zdravila UMMt shranite pri temperaturi 2-8 °C vsaj 48 ur, da omogočite morebitno preverjanje.

9.2.2 Inkubacija galerije

Inkubirajte tunel pri 37 ± 1 °C 24 ur.

Za štetje U.u. in M.h. preberite rezultate v 24 urah. Inkubacijo tunela se lahko podaljša do 48 ur le v primeru negativnih tekočih vzorcev v 24 urah.

9.2.3 Branje in tolmačenje

Preverite, ali so vse epruvete v tunelu čiste. Občasne težave v epruveti kažejo na kontaminacijo bakterij. V tem primeru ponovite analizo. Rast mikoplazme urogenitalnih mišic v vdolbinicah povzroči alkalizacijo sredstva, ki postane rdeče. V odsotnosti rasti urogenitalnih mikoplazem ostane sredstvo rumeno.

Oranžno barvo je treba obravnavati kot pozitivni test (mejna stopnja).

Za razlago testa glejte seznam rezultatov.

Število (epruvete 1, 2 in 3)

Določite epruvete, ki so se obarvale in razlagajo:

1 stopnja U.u. od 10^3 CCU/mL
1 in 2 stopnja U.u. $\geq 10^4$ CCU/mL
3 U.u. stopnja $\geq 10^4$ CCU/mL

Patološka vloga mikoplazme pri urogenitalnih okužbah je predmet razlag v skladu s posebnimi priporočili (1,3,7). Patološke stopnje, ki so običajno izbrane za *U. urealyticum* so: $\geq 10^4$ UCC / ml za uretralni bris, $\geq 10^3$ CCU/mL za prvi urin ali spermo (čeprav novo lokalno priporočilo omenja prag $\geq 10^4$ CCU/mL za spermo

(7)). Za *M. hominis* njegova prisotnost s stopnjo $\geq 10^4$ CCU/mL v cervikovaginalnem vzorcu je nenormalen (1, 3).

Preskus občutljivosti (epruvete 4 do 24)

Premiksredstva v vdolbinicah, ki vsebujejo antibiotike, odraža sposobnost seva, da raste v prisotnosti testirane koncentracije antibiotika. Rumena barva sredstva odseva nestabilnost seva v prisotnosti testirane koncentracije antibiotika. Sevi so opisani kot občutljivi ali odporni na antibiotike v skladu z naslednjimi razlagalnimi merili, ki jih določa CLSI (2):

Merila za tolmačenje za MIC v µg / mL (merila, ki jih določa CLSI):

Očitno je sev občutljiv ko je njegova rast zavirana pri kritični koncentraciji ali v dveh kritičnih koncentracijah antibiotika.

Očitno je sev odporen če:

1 / rast seva za antibiotik, testiran pri enojni koncentraciji.

2 / rast pri nizki koncentraciji ali pri obeh koncentracijah antibiotika za antibiotik, testiran pri dveh koncentracijah.

Razred	Antibiotik	U.u.		M.h.		Pripombe
		S	R	S	R	
Kinoloni	levofloksacin*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	moksifloksacin*	≤2	≥4	≤0,2€	≥0,5	
	ofloksacin	≤1	>1	≤1	>1	
Linkozamidi	klindamicin*	/	/	≤0,2€	≥0,5	U.u. je naravno odporen na Klindamicin

Razred	Antibiotik	U.u.		M.h.		Pripombe
		S	R	S	R	
Tetraciclidi	Tetracidin*	≤1	≥2	≤4	≥8	Korenine, dozovne za Tetracidin bodo tudi Doksiciklin
	minociklin	≤2	>2	≤2	>2	
Makrolidi	eritromicin*	≤8	≥16	/	/	Korenine, dozovne za Eritromicin bo tudi azitromicin. M.h. je naravno odporen na Eritromicin
	roksitromicin	≤2	>2	/	/	M.h. je naravno odporen na roksitromicin
	josamicin	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolidi	telitromicin*	≤4	-	≤4		
Streptogramini	pristinamicin	≤2	>2	≤2	>2	

(* razlagalna merila, ki jih določa CLSI)

M. hominis je naravno odporen proti makrolidom 14- in 15-ogljikovih hidratov, vključno z eritromicinom in roksitromicinom, vendar občutljiv na 16-ogljikov makrolid, kot je josamicin.

U. urealyticum je naravno odporen na linkozamide (klindamicin).

V nekaterih populacijah stopnja odpornosti na tetraciklin lahko doseže 45% za U.u. in 39,6% za M.h. (2). Opisana je bila odpornost na kinolone (U.u. in M.h.) (5, 6) in klindamicin (M.h.), vendar razširjenosti ni znana.

Pomoč pri tolmačenju:

Test občutljivosti na U.u.

ATB*	LVX				MXF				TET				ERY				
	1	2	4	int*	0,25	0,5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	8	16	int*
Ime profila	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

* ATB = Antibiotiki, * CONC = Koncentracija, * INT = Interpretacije

Test občutljivosti na U.u.

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Ime profila	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

Test občutljivosti na M.h.

ATB*	LVX				MXF				TET				CLI				
	1	2	4	int*	0,25	0,5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	0,25	0,5	int*
Ime profila	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

Test občutljivosti na M.h.

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Ime profila	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

10 - POSEBNI PRIMERI

Pri zelo visokih ravneh v U.u. ali M.h. je obrat na rdečo v vseh vdolbinicah, ki jih zadeva klica. Nato je priporočljivo razredčiti vzorec, da dobimo natančnejši rezultat. V tem primeru nadaljujte na naslednji način:

Inokulirajte novo 3 mL stekleničko UMMt s 300 µL prvotnega UMMt sredstva, shranjenega pri 2-8 °C (9.1).

Izkonistite novo galerijo z uporabo novega semenskega UMMt sredstva.

Razmislite o razredčenju (1:10) za razlago štetja. Če je potrebno, na A7 agarju potrdite prisotnost mikoplazme s ponovno izolacijo iz prvotnega UMMt medija, shranjenega pri 2-8 °C (§ 9.1).

Nestalna temperatura inkubacije ali <36 °C (pogosto odpiranje pečice, heterogenost temperature v pečici...) lahko upočasnijo rastno kinetiko mikoplazme.

11 - NADZOR KAKOVOSTI

Nadzorovanje kakovosti je mogoče doseči s sevi *U. urealyticum* ali *M. hominis* v kompletu za kontrolo MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ali iz liofiliziranega seva za zbiranje (*U. urealyticum* ATCC 27815 ali *M. hominis* ATCC 23114), predhodno kalibriranega na 10^{4.5} CCU/mL.

Osemenite galerijo MYCOFAST *Revolutio*NATB+ in nadaljujte s testom, opisanim v tem navodilu (§ 9.2).

Pričakovani rezultati v nadaljevanju (ATCC):

MYCOFAST *Revolutio*NATB+

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

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

12 - OMEJITVE METODE

12.1 - Presejanje:

MYCOFAST Screening Gallery *Revolutio*N ima prag občutljivosti ≤ 10³ CCU/mL in ne dovoljuje štetja. Številka, pridobljena z galerijo MYCOFAST *Revolutio*NATB+ je po pozitivnem pregledu lahko negativen

12.2 - Preizkus numeracije, identifikacije in občutljivosti

Nekatere bakterije so prisotne v količini > 10^{6.7} CFU/mL in v ureazi lahko povzročijo obračanje vseh vrtn in galeriji. Njihovo prisotnost lahko preverimo ponovno izoliranjem na izokolnem agarju iz originalnega UMMt sredstva, shranjenega pri 2-8 °C (§ 9.1).

pH osnovnega vzorčenja (pH > 7) lahko obme sredstvo. V tem primeru razredčimo vzorec (1:10) v drugem UMMt sredstvu in ga razlagamo ob upoštevanju razredčitve.

Kislinski pH vzorčenja (pH ≤ 5,5) lahko upočasnji videz barvnega premika.

Vzorci, ki vsebujejo kri, lahko povzročijo spremembo barve v vrtnah MYCOFAST Galerija *Revolutio*NATB+, interpretirani kot pozitiven rezultat. V tem primeru razredčimo vzorec (1:10) v drugem UMMt sredstvu in ga razlagamo ob upoštevanju razredčitve. Vzorec z nizko vsebnostjo mikoplazme (<10³ CCU/mL) lahko naključno zavrti v različnih epruvetah galerije. Kar zadeva katero koli metodo iskanja klic, kakovost vzorca določa rezultat preizkusa. Negativni test se ne prevaja zato ni nujna odsotnost okužbe.

13 - DOSEŽKI

13.1 - Presejanje in diferenciacija

Pregledna galerija MYCOFAST Screening *Revolutio*N

Primerjalna študija je bila opravljena z uporabo vaginalnih kliničnih vzorcev (n = 40, 2 vrsti U.u. in M.h.) na suhih tamponih.

Rezultate, dobljene z MYCOFAST Screening *Revolutio*N, primerjamo z metodo štetja v tekočem mikro raztopini. Za izsleditev dveh vrst U.u. in M.h. je skladnost 97,5%.

Našteli smo 1 lažno negativno U.u. hitrosti 10³ CCU/mL v mikro raztopini, saj vemo, da se ta raven smatra za infra patološko za vaginalne vzorce. Za U.u. in M.h. je skupni dogovor 100% za su-pa-patološke stopnje.

Za diferenciacijo so vse vzorčene teste omogočile pravilno identifikacijo U.u. ali M.h. v vodnjaku galerije MYCOFAST Screening *Revolutio*N.

13.2 - Identifikacija in oštev ilčenje

Neposredna metoda Galerija MYCOFAST ATB +

% celotne skladnosti	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolirani sevi (stopnja ≤ 10 ³ CCU/mL) (glej § 14.1.1)	97,7	NA	NA
Izolirani sevi (stopnja ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (glej § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Vaginalni klinični vzorci	100	95,7	97,8
Tekoči klinični vzorci: urin	96,6	97,7	97,1

NA: se ne uporablja

Iz 21 izoliranih sevov (sevov ATCC in sevov za zbiranje), ki sta bili testirana ločeno (U.u. ali M.h.), so opravili primerjalno študijo pri več razredčitvah (skupno 85 testov).

Dobljene rezultate primerjamo s tistimi, dobljenimi z metodo štetja v tekoči mikro raztopini.

Za tolmačenje spatološkim pragom 10³ CCU/mL; skupna usklajenost za U.u. je 97,7% (našteli smo 2 napačna pozitivna rezultata za 10³ CCU/mL v mikro raztopini).

Za tolmačenje spatološkim pragom 10⁴ CCU/mL; skupna usklajenost za U.u. je 96,5% (navedli smo 3 napačne pozitivne vrednosti za 10³ CCU/mL v mikro raztopini). Skupna usklajenost za M.h. je 98,9% (našteli smo 1 lažno pozitivno oceno za stopnjo 10³ CCU/mL v mikro raztopini).

Skupna usklajenost U.u. in M.h. je 97,8%.

Primerjalna študija je bila opravljena z uporabo vaginalnih kliničnih preskušancev (n = 23) v suhih brisih. Rezultate, dobljene z MYCOFAST *Revolutio*NATB+, primerjamo z metodo mikro razredčenja.

Skupna usklajenost za U.u. je 100%, za M.h. pa skupna usklajenost 95,7% (v metodi tekoče mikrozredčitve smo navedli lažno pozitivno s hitrostjo 10² CCU/mL).

Druga primerjalna študija je bila izvedena pri urinarnih kliničnih vzorcih (n = 88).

Rezultate smo prebrali in razlagali po 48 urah inkubacije, če je bil test v 24 urah negativen. Prisotnost mikoplazme same brez štetja je bila izvedena, kot priporočamo pri tekočih osebkih.

Rezultati, dobljeni z MYCOFAST *Revolutio*NATB+, so kompatibilni s tistimi, ki so bili pridobljeni z metodo štetja v tekoči mikro raztopini.

Celoten dogovor za U.u. je 96,6% (za lažno negativno smo ugotovili, da je v mikro raztopini 10⁴ CCU/mL in 2 lažnima pozitivnima za 10² CCU/mL v mikro raztopini).

Skupna usklajenost za M.h. je 97,7% (pri metodah mikro redčenja smo ugotovili 2 napačna pozitivna stanja s hitrostjo 10² CCU/mL).

Skupna usklajenost U.u. in M.h. je 97,1%.

13.3 - Preizkus občutljivosti

Primerjalna študija je bila izvedena v nacionalnem referenčnem laboratoriju med metodo za določanje najmanjših inhibitornih koncentracij (MIC) v tekočem mediju in metodo MYCOFAST *Revolutio*NATB+.

Preizkušeni sevi (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* in 16 *M. hominis*) so referenčni sevi, sevi divjih vrst ali sevi, ki so pridobili odpornost. Vsak sev se testira pri 10³ - 10⁴ in 10⁵ CCU/mL. Rezultati obeh metod se razlagajo kot občutljivi (S) ali odporni (R) v skladu s priporočili CLSI.

Za koncentracije 10⁴ et 10⁵ CCU/mL, so bili rezultati po 24 urah inkubacije prebrani in razloženi.

Za 10³ CCU/mL so bili rezultati po 48 urah inkubacije prebrani in interpretirani, če je bil test v 24 urah negativen.

Skupna usklajenost za *Ureaplasma urealyticum*/*Ureaplasma parvum* je: 93,8% (394/420).

Skupna usklajenost za *Mycoplasma hominis* za hitrosti 10⁴-10⁵ CCU/mL je: 93,4% (227/243).

egyezés	<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: večja nesorazmernost, DTM: zelo velika neskladnost

a: Neuskajenost, dobljena pri 10⁴ CCU/mL (referenčni MIC pri 4 µg / mL)

b: 1 Razlika pri 10³ CCU/mL (referenčni CMI pri 2 µg / mL), neskladje pri 10⁴ CCU/mL (referenčni MIC pri 1 µg / mL), 1 odstopanje pri 10⁵ CCU/mL (referenčni MIC pri 1 µg / mL), 1 odstopanje pri 10⁵ CCU/mL (referenčni MIC pri 2 µg / mL)

c: 1 Razlika, dobljena pri 10³ CCU/mL (referenčni CMI pri 2 µg / mL), 1 odstopanje pri 10⁴ CCU/mL (referenčni MIC pri 2 µg / mL), 1 odstopanje pri 10⁵ CCU/mL (referenčni MIC pri 4 µg / mL)¹

Usklajenost	<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: Razlika, dosežena pri 10⁴ CCU/mL (referenčni MIC > 32 µg / mL)

b: Razlika, dosežena pri 10⁵ CCU/mL (referenčni MIC pri 4 µg / mL)

c: Razlika, dosežena pri 10⁵ CCU/mL (referenčni CMI pri 2 µg / mL)

14 - ODSTRANJEVANJE ODPADKOV

Odpadke je treba odstraniti na higienski način in predpisi, ki veljajo za to vrsto reagentov v državi za uporabo.

15 - BIBLIOGRAFIJA

1 - BEBEAR C., BEBEAR C.M., 2007. Infections humaines à mycoplasmes. Revue Francophone des Laboratoires. Št. 391, 63-69.

2 / Institut za klinične in laboratorijske standarde (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*, str. 1713-1718. Dans MAN-DELL G. L., BENNET 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. 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. izdaja)

Spremembe iz prejšnje različice so označene sivo.

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



