

Dijagnostika urogenitalnih mikoplazmi

MYCOFAST Screening Revolution

Detekcija i diferencijacija
50 testova (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2

Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti
25 testova (REF 00082)

UMMt Revolution

50 testova (REF 00061)

CPB 0396-2-HR-2018-03

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



1 – CILJ

Kit MYCOFAST Screening *Revolution* (REF 00063) omogućuje detekciju i diferencijaciju *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) i *Mycoplasma hominis* (M.h.) iz različitih kliničkih uzoraka. Mora se koristiti zajedno s medijima UMMt *Revolution* kompleta (REF 00061).

U slučaju pozitivnog pregleda analiza se može dovršiti pomoću COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution 2* kit (REF 00082) koji omogućuje prebrojavanje i identifikaciju U.u. i / ili M.h. i ispitivanje osjetljivosti na antibiotike prema preporukama CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 – UVOD

Mycoplasmas, koji imaju nekoliko vrsta zabilježenih do danas u ljudi, pripadaju klasi mollicata. Oni se razlikuju od drugih bakterija na mnoge načine, uključujući nedostatak zida koji im daje prirodnu otpornost na β laktaciju i membranu bogatu sterolom iz membrana eukariotskih stanica na koje se vežu. Mikoplazmi su relativno krhki organizmi, koji se umnožavaju u acelularnom mediju samo u prisutnosti brojnih čimbenika rasta i na optimalnoj temperaturi od 37 °C (4).

Većina ljudskih mikoplazmi su jednostavni komensali. Najčešće se nalaze izolirane vrste iz urogenitalnog trakta, *U. urealyticum* i *M. hominis*. Vrsta *U. urealyticum* podijeljena je na dva biovara: *U. urealyticum* i *U. parvum* (U.u.).

U.u. ili M.h. se mogu ponašati kao pravi patogeni. Oni su odgovorni za muške genitalne infekcije (ne-gonokokni uretritis, epididimitis, prostatitis, neplodnost); ginekološka infekcija (bakterijska vaginoza, endometritis, salpingitis); reproduktivni poremećaji (chorioamnionitis, postpartum endometritis, preuranenost, spontani pobačaj); neonatalni napadi (niska težina rođenja, respiratorne infekcije, neurološke infekcije, bakteremija, apsces); ekstragenitalne infekcije (septički artritis, reaktivni artritis, druge lokalizacije) (1).

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

3 - NAČELO

Tehnika MYCOFAST Screening *Revolution* je metoda koja se koristi u tekućem mediju, a temelji se na sposobnosti U.u. i M.h. za metaboliziranje

uree i arginina. Rast mioplazmi u tekućem mediju je vizualiziran promjenom boje indikatora - fenol crvena- od žuto-narančaste do crvene boje, što upućuje na alkalizaciju medija uslijed oslobađanja amonijaka.

Rast tako vizualizirane mikoplazme omogućuje:

- detekciju i diferencijaciju; u slučaju pozitivnosti:

- broj koji se temelji na brzini hidrolize supstrata koji je proporcionalan količini klica sadržanih u uzorku.

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

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

4 – REAGENSI

Opis	Količina		
	Ref 00061	Ref 00082	Ref 00063
UMMt Bocu od 3 mL bujona mikoplazma s antibioticima i konzervansom. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: 10-jažica lomljivog zaslona za 5 ispitivanja, pojedinačno pakirana u aluminijsku vrećicu s integriranim sušilicom			10
Tags: ploča od 5 lomljivih naljepnica			10
S.Mh Mh aktivator rasta (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution 2: 24-well galerija za 1 test, pakirana u aluminijsku vrećicu s integriranim sušilicom		25	
Zatvarajući sustav: prozirni plastični pokrov za galeriju MYCOFAST <i>Revolution</i>		25	

Komplet MYCOFAST Screening Revolution

Komplet se sastoji od 5 serija sa po 2 jažice : jedna jažica sadržaja *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) koja sadrži linkomicin i ureu i jedna jažica sadržaja *Mycoplasma hominis* (M.h.) koja sadrži eri- tromicin i arginin.

Komplet MYCOFAST Revolution 2

Komplet sadrži medij rasta u 24 jažice, i to u dehidriranom obliku (serum ždrijebeta, ekstrakt kvasca, cistein, arginin, urea, fenol crveni, antibiotici, pH:6,1 ± 0,1) i uključuje dva odvojena dijela :
-dio namijenjen za prebrojavanje i procjenu osjetljivosti na antibiotike za vrstu U.u. (jažice napisane crnom bojom na etiketi).
-dio namijenjen za prebrojavanje i procjenu osjetljivosti na antibiotike za vrstu M.h. (jažice napisane crvenom bojom na etiketi).

Dio za dijagnostiku vrste U.u. (crno):

Jažice 1/2/3: Identifikacija i brojanje Uu za razine $10^3 \cdot 10^4$ i $\geq 10^5$ CCU / mL

Jažice 4/5: Procjena osjetljivosti U.u. na levofloksacin (LVX) pri koncentraciji 2/4 µg/mL

Jažice 6/7: Procjena osjetljivosti U.u. na moksifloksacin (MXF) pri koncentraciji 2/4 µg/mL

Jažice 8/9: Procjena osjetljivosti U.u. na eritromicin (ERY) pri koncentraciji 8/16 µg/mL

Jažice 10/11: Procjena osjetljivosti U.u. na tetraciklin (TET) 1-2 µg/mL

Jažice 12/13: Procjena osjetljivosti U.u. u doksiciklin (DOX) 1-2 µg/mL

Dio za dijagnozu vrste M.h. (obojeno crveno) :

Jažica 14 : Identifikacija i brojanje M.h. za razine $\geq 10^4$ CCU / mL

Jažice 15/16: Procjena osjetljivosti M.h. na doksiciklin (DOX) 4-8 µg/mL

Jažice 17/18: Procjena osjetljivosti M.h. na levofloksacin (LVX) 1-2 µg/mL

Jažice 19/20: Procjena osjetljivosti M.h. na moksifloksacin (MXF) 0,25-0,5 µg /mL

Jažice 21/22: Procjena osjetljivosti M.h. na klindamicin (CLI) 0,25-0,5 µg/mL

Jažice 23/24: Procjena osjetljivosti M.h. na tetraciklin (TET) 4-8 µg/mL

		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
		DOX		LVX		MXF		CLI		TET			
		4 µg/ml	8 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml	0,25 µg/ml	0,5 µg/ml	0,25 µg/ml	0,5 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml		
14	Mh $\geq 10^4$	MYCOFAST® Revolution 2										2 µg/ml	13
1	Uu $\geq 10^5$											1 µg/ml	12
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
		Uu 10^4		LVX		MXF		ERY		TET			
		Uu $\geq 10^5$	Uu $\geq 10^5$	2 µg/ml	4 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml	1 µg/ml	2 µg/ml		

5 - MJERE OPREZA PRI UPORABI

Reagensi u ovom kompletu namijenjeni su isključivo in vitro dijagnostičkoj upotrebi i moraju biti obrađeni od strane ovlaštenih osoba.

Uzorkovani uzorci i reagensi potencijalno su zarazni, moraju se postupiti uobičajenim mjerama opreza u skladu s pravilima higijene i propisima koji su na snazi u zemlji uporabe za ovu vrstu proizvoda.

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

Nemojte koristiti reagente nakon isteka roka valjanosti.

Prije upotrebe nemojte koristiti oštećene ili loše pohranjene reagente.

Pozitivan rezultat s galerijom MYCOFAST *Revolution* reflektira kolonizaciju urogenitalnom mikoplazijom, ali se ne može upotrijebiti sama za kliničku dijagnozu.

To mora učiniti liječnik na temelju bioloških rezultata i kliničkih znakova.

6 - PRIKUPLJANJE I OBRADA UZORAKA

6.1 Prikupljanje uzoraka

Cervikalno-vaginalni uzorci

Koristite samo Dacron briseve, briseve od umjetne svile ili četkicu za uzimanje citološkog uzorka. Uzmite uzorak nakon što ste prethodno pažljivo uklonili izlučevine s vanjske strane cerviksa koristeći se prvim brisom. Mikoplazme posjeduju visoki afinitet za mukozne stanice na koje pristanaju, stoga je potrebno temeljito ostrugati sluznicu kako bi postupak bio učinkovit.

Uretralni uzorci: Očistite otvor i skupljajte ih zapljuskivanjem ili struganjem stanica

Sperma, urin: Récolter le sperme ou le premier jet d'urine dans un stérilne bočicu.

6.2 Transport u mediju UMMt

Uzimanje brisa: izvadite bris iz bočice medija UMMt.

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

6.3 Skladištenje medija UMMt

Po izvršenoj inokulaciji, medij UMMt može se čuvati na sobnoj temperaturi (18-25 °C) 20 sati ili na temperaturi 2-8 °C tijekom 56 sati.

Za skladištenje tijekom 3 dana pri temperaturi od -20 °C, prethodno dodajte 2 kapi stabilizatora "MYCOPLASMA Stabilizer".

7. PRIPREMA I SKLADIŠTENJE REAGENSA

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

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

Suplement Mh je stabilan 3 mjeseca nakon otvaranja.

Medij UMMt može biti privremeno (3 mjeseca) pohranjen na sobnoj temperaturi, ali ima bolju stabilnost na temperaturi od 2-8 °C.

Nemojte zamrzavati reagense iz kompleta.

8 - POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU ZAJEDNO S KOMPLETOM

Oprema za uzimanje uzoraka (štipači, četkice za uzimanje citoloških uzoraka, sterilne bočice za sakupljanje tekućih uzoraka), pipete i prijenosni tuljci Stabilizator MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064) Pipete i konusni spremnici za kontaminirani otpad

Mineralno ulje

Sušilo je kalibrirano na temperaturu od 37 ± 1 °C

9 - OPERATIVNI POSTUPAK

Ostaviti reagense na sobnoj temperaturi 20 do 30 minuta.

9.1 PRAČENJE - Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN* -

Pripremite onoliko setova jažica koliko je uzoraka koje želite testirati.

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

9.1.1 Inokulacija medija UMMt *RevolutioN*

Inokulaciju medija UMMt izvršite pomoću vatiranog štipača ili dodavanjem 300 µL tekućih uzoraka (§ 6.2). Dobro promiješajte.

9.1.2 Inokulacija jažica Uu/Mh

- Dozirajte prema sljedećem redoslijedu:

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

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

50 µL suplementa M.h.

- Dodajte dvije kapi mineralnog ulja u obje jažice.

- Na jažice stavite etikete i identificirajte uzorak. - **Višak sadržaja iz bočice s inokuliranim medijem UMMt** čuvajte na temperaturi od 2-8 °C kako biste u slučaju pozitivnog rezultata neutralizacijskog testiranja mogli nastaviti s analizom.

9.1.3 Inkubacija jažica U.u./M.h.

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

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

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

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

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

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

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

U slučaju pozitivnog rezultata, nastavite postupak dijagnostike pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2

9.2 PREBROJAVANJE, IDENTIFIKACIJA I ISPITIVANJE OSJETLJIVOSTI

9.2.1 Inokulacija kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2

Uklonite samoljepljivu traku povlačenjem jezičca i dozirajte u jažice prema sljedećem rasporedu:

jažice 1-24 100 µL inokuliranog medija UMMt

jažice 1-24 2 kapi mineralnog ulja

Pokrijte komplet uključivanjem poklopca "closing system".

Identificirajte uzorak.

Pohranite višak sadržaja iz bočice UMMt na temperaturi od 2-8 °C na najmanje 48 sati kako bi se omogućila eventualna provjera.

9.2.2 Inkubacija zbirke

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

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

9.2.3 Očitavanje i interpretacija

Provjerite je li sadržaj svih jažica iz kompleta bistar. Zamućeni sadržaj jažice označava bakterijsku kontaminaciju. U tom slučaju ponovite analizu. Rast urogenitalnih mikoplazmi u jažicama rezultira alkalizacijom medija koji postaje crven. U odsutnosti rasta urogenitalnih mikoplazmi, medij ostaje žut. Narančastu boju treba smatrati pozitivnim rezultatom (granična stopa). Za interpretaciju testa, pogledajte tablicu rezultata.

Numération (puits 1, 2, 3 et 14)

Identificirajte jažice koje su se obojile crveno i interpretirajte sljedeće:

- 1 koncentracija U.u. od 10³ CCU/mL
- 1 i 2 koncentracija U.u. od 10⁴ CCU/mL
- 1, 2 i 3 koncentracija U.u. ≥ 10⁵ CCU/mL
- 14 koncentracija M.h. ≥ 10⁴ CCU/mL

Patološka obilježja mikoplazmi u urogenitalnim infekcijama podložna je interpretaciji prema specifičnim preporukama (1,3,7). Patološke stope obično odabrane za *U. urealyticum* su: ≥10⁴ CCU/mL za uretralni brisak, ≥10⁵ CCU/mL za prvi hit urina ili spermu (iako nova lokalna preporuka spominje prag od ≥10⁴ CCU/mL za spermu (7)). Štose *tiče M. hominis*, njezina prisutnost u koncentraciji ≥10⁴ CCU/mL u cervikovaginalnom uzorku se smatra abnormalnom (1, 3).

Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike (jažice 4 do 13, jažice 15 do 24)

Promjena boje medija u jažicama koje sadrže antibiotike odražava sposobnost soja bakterije da raste u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Žuta boja medija ukazuje na nesposobnost razvijanja soja u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Sojevi su kvalificirani kao osjetljivi ili otporni na antibiotike prema sljedećim kriterijima interpretacije na način kako ih definira CLSI (2):

Kriteriji interpretacije za MIK izraženo u µg/ml:

Klasa	Antibiotik	U.u.		M.h.		Komentari
		S	R	S	R	
Kinoloni	Levofloksacin	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moksifloksacin	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
linkozamidi	klindamicin			≤0,25	≥0,5	
tetraciklini	tetraciklin	≤1	≥2	≤4	≥8	
	doksiciklin	≤1	≥2	≤4	≥8	
makrolide	eritromicin	≤8	≥16			Sojevi osjetljivi na eritromicin će također biti osjetljivi na azitromicin

Pomoć pri interpretaciji:

Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike za U.u.

Antibiotik	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
Koncentracija (µg/mL)	2	4	int*	2	4	int*	8	16	int*	1	2	int*	1	2	int*
Uzorci	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int*= interpretacija

Ispitivanje osjetljivosti na antibiotike za M.h.

Antibiotik	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
Koncentracija (µg/mL)	1	2	int*	0,25	0,5	int*	0,25	0,5	int*	4	8	int*	4	8	int*
Uzorci	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int*= interpretacija

Soj se smatra **osjetljivim** kada je njegov rast spriječen u dvije kritične koncentracije antibiotika. Soj se smatra **otpornim** kada je njegov rast spriječen pri visoko kritičnoj koncentraciji antibiotika, a nije spriječen pri niskoj kritičnoj koncentraciji ili kada njegov rast nije inhibiran u dvije kritične koncentracije antibiotika.

M. hominis je prirodno otporna na makrolide s 14 i 15 ugljikohidrata, uključujući eritromicin. U nekim populacijama stopa otpornosti na tetraciklin može doseći vrijednost od 45% za Uu i 39,6% za M.h. (2). Opisana je otpornost na kinolone (U.u. i M.h.) (5, 6) i klindamicin (M.h.), ali prevalencija nije poznata.

10 - POSEBNI SLUČAJEVI

Zbog vrlo visokih razina koncentracije u U.u. i M.h., sve jažice koje sadrže klicu postaju crvene. Stoga se preporučuje razrjeđivanje uzorka kako bi se dobio točniji rezultat. U tom slučaju postupite na sljedeći način:

Inokulirajte novu bočicu UMMt zapremine 3 ml s 300 µl izvornog UMMt edija pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (§ 9.1).

Inokulirajte novi komplet pomoću novog inokuliranog medija UMMt.

Vodite računa o omjeru razrjeđivanja (1:10) za interpretaciju pobrojavanja.

Ako je potrebno, na agaru A7 potvrdite prisutnost mikoplazmi ponovnim izoliranjem iz izvornog medija UMMt pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (§ 9.1).

Neravnomjerna temperatura inkubacije ili <36 °C (često otvaranje grijalice, heterogenost temperature u grijalici,...) može usporiti kinetiku rasta mikoplazmi.

11 - KONTROLA KVALITETE

Kontrola kvalitete može se izvršiti iz soja *U. urealyticum* iz kompleta MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ili iz liofilizirane zbirke (*U. urealyticum* ATCC 27815 ili *M. hominis* ATCC 23114) prethodno umjereno na 10⁴⁻⁵ CCU/mL.

Inokulirajte zbirku MYCOFAST *RevolutioN* 2 i nastavite testiranje na način kako je opisano u ovoj uputi (§9 i 10)

Očekivani rezultati u nastavku (ATCC):

MYCOFAST *RevolutioN* 2

	U.u. 10 ³	U.u. 10 ⁴	U.u. ≥10 ⁵	M.h. ≥10 ⁵	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
Soj U.u. ATCC 27815	+	+	+/-	-	S	S	S	S/R	S	NI*
Soj M.h. ATCC 23114.	-	-	-	+	S/R	S	NI*	S	S	S

NI* (nije moguće interpretirati) :Prirodna otpornost

12 - OGRANIČENJA METODE

12.1 - Probir:

Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN* ima prag osjetljivosti ≤ 10³ CCU/mL i ne dopušta prebrojavanje. Broj dobiven u kompletu MYCOFAST *RevolutioN* 2 može biti negativan nakon pozitivnog rezultata.

12.2 - Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti

- Neke bakterije koje su prisutne u količini >10⁶⁻⁷ CFU/mL i posjeduju enzim ureazu mogu uzrokovati promjenu boje svih jažica iz kompleta. Njihova prisutnost može se potvrditi ponovnim izoliranjem na čokoladnom agaru iz originalnog medija UMMt pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (§ 9.1).

-pH-vrijednost osnovnog uzorka (pH> 8) može promijeniti boju medija. U tom slučaju razrijedite uzorak (1:10) u drugom mediju UMMt i interpretirajte ga uzimajući u obzir razrjeđivanje.

-pH-vrijednost kiselog uzorka (pH ≤5) može usporiti promjenu boje.

- Uzorak koji sadrži krv može uzrokovati promjenu boje jažica iz kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2, što se interpretira kao pozitivni rezultati. U tom slučaju razrijedite uzorak (1:10) u drugom mediju UMMt i interpretirajte ga uzimajući u obzir razrjeđivanje. - Uzorak s niskim razinama mikoplazmi (<10³ CCU/mL) može prouzročiti slučajnu promjenu boje različitih jažica iz kompleta.

-Kao i kod svake metode istraživanja klica, kvaliteta uzorka uvjetuje rezultat testa. Negativni test ne mora nužno prevesti na odsutnost infekcije.

13 - IZVEDBE

13.1 - Praćenje i diferencijacija

Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Usporedna studija provedena je primjenom vaginalnih kliničkih uzoraka (n=40 ; 2 vrste U.u. i M.h.) i na suhim brisevima.

Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN* uspoređeni su s metodom prebrojavanja u tekućoj mikro- otopini. Kod praćenja dviju vrsta U.u. i M.h., podudaranje je 97,5%.

Našli smo 1 lažnu negativnu U.u. za koncentraciju od 10³ CCU/mL tijekom rutinske laboratorijske metode, znajući da se ta koncentracija smatra infra-patološkom za vaginalne uzorke. Za U.u. i M.h. ukupna podudarnost je 100% kod supra-patoloških koncentracija.

- Za diferencijaciju, svi testirani uzorci omogućili su ispravnu identifikaciju U.u. i M.h. u jažicama iz kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN*.

13.2 Identifikacija i prebrojavanje

Izravna metoda kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2

% ukupne podudarnosti	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolirani sojevi koncentracije ≤ 10 ³ CCU/mL (vidi § 14.1.1)	97,4	NA*	NA*
Izolirani sojevi koncentracije ≥ 10 ⁴ CCU/mL (vidi § 14.1.1)	93,4	93,4	93,4
Vaginalni klinički uzorci (vidi § 14.1.2)	100	100	100
Tekući klinički uzorci - urin (vidi § 14.1.2)	93,2	96,6	94,9

NA* (nije primjenjivo)

13.2.1 - Na izoliranim sojevima

Usporedna studija provedena je iz 21 izoliranog soja (sojevi ATCC i sojevi zbirke) koji su testirani odvojeno (U.u. ili M.h.) u nekoliko otopina (ukupno 76 ispitivanja).

Dobiveni rezultati se uspoređuju s onima dobivenim metodom prebrojavanja u mikro-otopini.

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od 10³ CCU/mL; ukupna podudarnost za U.u. iznosi 97,4% (imamo 2 lažna pozitivna rezultata za koncentraciju od 10² CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od 10⁴ CCU/mL ; ukupna podudarnost za U.u. iznosi 93,4% (imamo 5 lažnih pozitivnih rezultata za koncentraciju od 10³ CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u mikro-otopini). Ukupna podudarnost za M.h. iznosi 93,4% (imamo 5 lažnih pozitivnih rezultata, 4 za koncentraciju od 10³ CCU/mL i jedan za koncentraciju od 10² CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Ukupna podudarnost Uu i Mh iznosi 93,4%.

13.2.2 - Na kliničkim uzorcima

Prva usporedna studija izvedena je iz vaginalnih kliničkih uzoraka (n=23) na suhim brisevima. Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN* 2 uspoređeni su s metodom prebrojavanja u tekućoj mikro- otopini. Ukupna podudarnost Uu i Mh iznosi 100%.

Druga usporedna studija provedena je na kliničkim uzorcima urina (n=88).

Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2 uspoređuju se s onima dobivenim metodom prebrojavanja u tekućoj mikro-otopini.

Ukupna podudarnost za U.u. je 93,2% (imamo 1 lažni negativni rezultat za koncentraciju od 10³ CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u tekućoj mikro-otopini) i 5 lažnih pozitivnih rezultata za koncentraciju od 10² CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u tekućoj mikro-otopini).

Ukupna podudarnost M.h. je 96,6% (imamo 3 lažna pozitivna rezultata za koncentraciju od 10² - 10³ CCU/mL kod primjene metode prebrojavanja u tekućoj mikro-otopini).

Ukupna podudarnost U.u. i M.h. iznosi 94,9%.

13.3 Testovi osjetljivosti

U nacionalnom referentnom laboratoriju provedena je usporedna studija između metode za određivanje minimalnih inhibicijskih koncentracija (MIK) u tekućem mediju i metode MYCOFAST *RevolutioN* 2.

Testirani sojevi (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* i 16 *M. hominis*) su referentni sojevi, klinički sojevi divljeg tipa ili sojevi koji su stekli otpornost. Svaki se soj testira u otopinama koncentracije 10³ - 10⁴ i 10⁵ CCU/mL u 3 mL UMMt.

Za koncentracije 10⁴ i 10⁵ CCU/mL, rezultati su očitani i interpretirani nakon 24h inkubacije.

Za koncentracije 10³ CCU/mL, rezultati su očitani i interpretirani nakon

48 sati inkubacije ako je test bio negativan nakon 24 sata.

Sukladno preporukama CLSI, rezultati dobiveni primjenom objiju metoda interpretirani su kao osjetljivi (S) ili otporni (R).

Ukupna podudarnost za *U. urealyticum/U. parvum* je 95,5% Ukupna podudarnost za *M. hominis* je 100%

Podudarnost	<i>Ureaplasma urealyticum / parvum</i> (n=40)					<i>Mycoplasma hominis</i> (n=28)				
	TET	DOX	MXF	LVX	ERY	TET	DOX	MXF	LVX	CLI
	34	38	40	39	40	28	28	28	28	28
DM	5 _a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 _b	2 _c	0	1 _e	0	0	0	0	0	0

DM:Značajna nepodudarnost; DTM:Vrlo velika nepodudarnost

^a : 1 odstupanje dobiveno u 10³ CCU/mL (referentni MIK od 0,5 ug/mL),

^b : 4 odstupanja dobivena na 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 0,5-1 i 8 ug/mL).

^c : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 8 ug/mL).

^d : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10³ CCU/mL (referentni MIK od 8 ug/mL); 1 odstupanje dobiveno za koncentraciju 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 2 ug/mL)

^e : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 4 ug/mL).

14 - ODLAGANJE OTPADA

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

15 - BIBLIOGRAFIJA

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

2 - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2011 Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing for Human Mycoplasmas; Approved Guideline. CLSI Document M43-A. Vol.31 - N°19.

3 - PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001. Les mycoplasmes en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires. Supplément au N°329, 34-36.

4 - TAYLOR-ROBINSON D. 1995. *Ureaplasma urealyticum* (T-strain *Mycoplasma*) and *Mycoplasma hominis*, p. 1713-1718. Dans MANDEL 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. Vol.18 -N°4 -757-789.

6 - WAITES KEN B., DONNAM. CRABB, and LYNN B. DUFFY. 2008. Comparative In Vitro Activities of the Investigational Fluoroquinolone DC-159a and Other Antimicrobial Agents against Human Mycoplasmas and Ureaplasmas. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Vol.52, No. 10, 3776-3778.

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

Promjene u odnosu na prethodnu verziju su označene sivom bojom.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

