

Diagnoza genitourinarnih mikoplazm

MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Zaznavanje in razlikovanje
50 preskusov (člen 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* 2

Štetje, identifikacija in testiranje občutljivosti
25 preskusov (člen 00082)

UMMt *RevolutioN*

50 preskusov (člen 00061)

CPB 0396-2-SL-2018-03

Za *in vitro* diagnostiko, namenjeno samo za profesionalno uporabo
Preskusi so namenjeni samo za enkratno uporabo.



I - CILJ

Komplet za presejalni pregled MYCOFAST *RevolutioN* (Art. 00063) omogoča preseganje in diferenciacijo *ureaplasma urealyticum/ureaplasma parvum* (U.u.) in *mycoplasma hominis* (M.h.) iz različnih kliničnih vzorcev. Uporabljati ga je treba v kombinaciji z medijem kompleta UMMT *RevolutioN* (člen 00061)

V primeru pozitivnega presejanja lahko analizo zaključimo z galerijami kompleta COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* (člen 00073), ki omogoča štetje in identifikacijo U.u. in/ali M.h. ter test občutljivosti na antibiotike v skladu s priporočili CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - UVOD

Mikoplazme, ki vključujejo več vrst, ki so bile predhodno odkrite pri ljudeh, spadajo v razred molekul. Razlikujejo se od drugih bakterij na več načinov, vključno s pomanjkanjem stene, ki jim daje naravno odpornost proti β -laktaminom, kot tudi membrane, bogate s steroli, iz membran evkariontskih celic, ki jih sami pritrjujejo. Mikoplazme so relativno občutljivi organizmi, ki se razmnožujejo v celičnih medijih le ob prisotnosti številnih rastnih dejavnikov in pri optimalni temperaturi 37°C (4).

Večina človeških mikoplazm so preproste komezalne bakterije. Najpogostejše so vrste, izolirane iz genitourinarnega trakta, *U. urealyticum* in *M. hominis*. Vrsta *U. urealyticum* je razdeljena na dva biovarja *U. urealyticum* in *U. parvum* (U.u.).

UU ali M.H. se lahko obnašata kot prava patogena. Odgovorni so za moške genitalne okužbe (neonokokni uretritis, epididimitis, prostatitis, neplodnost); ginekološke okužbe (bakterijska vaginoza, endometritis, salpingitis); reproduktivne motnje (horioamnionitis, postporodajni endometritis, prezgodnji porod, spontani splav); neonatalne okužbe (majhna porodna teža, okužbe dihal, nevrološke okužbe, bakterijemija, abscesi); ekstragenitalne okužbe (septični artritis, reaktivni artritis, druga mesta) (1).

Diagnoza okužb z mikoplazmo je odvisna od določite patološke vrednosti praga in s tem od štetja. Pojav odpornosti Uu in Mh na določene molekule vodi do testa občutljivosti proti antibiotikom (5, 6). Testirani antibiotiki in merila za razlago so prilagojeni zdravljenju okužb z mikoplazmo v genitourinarnem traktu ali drugih ekstragenitalnih predelih (2).

3 - PRINCIP DELOVANJA

Metoda MYCOFAST Screening *RevolutioN* je tekočinska metoda, ki temelji na sposobnostih U.u. in M.h. za presnavljanje sečnine in arginina. Rast mikoplazme v tekočem mediju vizualiziramo s spremembo barve barvnega indikatorja - fenol rdeče - iz rumeno-oranžne v fuksijsko rdečo, ki odraža alkalizacijo medija s sproščanjem amonijaka.

Tako vizualizirana rast mikoplazme omogoča:

- Presejalni pregledi in diferenciacija; v primeru pozitivnosti:
- število glede na stopnjo hidrolize substratov, ki je sorazmerna s količino mikroorganizmov v vzorcu.
- Identifikacija na podlagi občutljivosti mikroba na tri antibiotike.
- štetje občutljivosti U.u. in M.h. na antibiotike.

4 - REAGENTI

Opis	Število		
	Izdelek 00061	Izdelek 00082	Izdelek 00063
UMMt: vsebnik s 3 ml tekočine iz mikoplazme z antibiotiki in konzervansom. pH: 6,0 ± 0,1.	50		
PRESEJALNI PREGLED MYCOFAST <i>RevolutioN</i> : 10-kratna ločljiva stojala za 5 preskusov, posamično pakirana v aluminijasti vrečki z vgrajenim sušilnim sredstvom			10
Etikete : Listi s 5 ločljivimi			10
S.Mh : M.h. aktivator rasti (4,5 ml)			1
MYCOFAST <i>RevolutioN</i> : 24 nosilcev za 1 preskus, pakiranih v vrečko iz aluminijevega oksida z vgrajenim sušilnim sredstvom		25	
Zapiralni sistem : prozorni plastični pokrov za galerijo MYCOFAST <i>RevolutioN</i>		25	

Pregled galerije MYCOFAST *RevolutioN*

Galerija, sestavljena iz 5 vrstic z 2 vodnjakoma: vodnjak *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) z linkomicinom in sečnino ter vodnjak *Mycoplasma hominis* (M.h.) z eritromicinom in argininom.

MYCOFAST Gallery *RevolutioN* 2

V 24 vdolbincah galerija vsebuje rastni medij v suhi obliki (žrebetov serum, ekstrakt kvasovk, cistein, arginin, sečnina, fenol rdeča, antibiotiki, pH: 6,1 ± 0,1) in je sestavljena iz dveh različnih delov:

— del za štetje in oceno občutljivosti na antibiotike za vrsto Uu (dobro s črnimi črkami na nalepkah).

— del za štetje in oceno občutljivosti na antibiotike za vrsto Mh (dobro z rdečo črko na etiketi).

Diagnostični del U.u. vrste (črna):

Vzorec 1/2/3: Identifikacija in štetje Uu pri vrednostih $10^3 \cdot 10^4$ in $\geq 10^5$ CCU/ml (puferirana raztopina in linkomicin zavirata rast Mh).

Vzorec 4/5: Ocena občutljivosti U.u. v Levofloksacinu (LVX) bei 2 / 4 μ g/ml

Vrtine 6/7: Ocena občutljivosti U.u. v Moxifloksacinu (MXF) v 2 / 4 μ g/ml

Vzorci 8/9: Ocena občutljivosti U.u. v Eritromicinu (ery) v 8 / 16 μ g/ml

Vzorci 10/11: Ocena občutljivosti U.u. v Tetraciklinu (TET) 1- 2 μ g/ml

Vzorci 12/13: Ocena občutljivosti U.u. v Doxiciklinu (DOX) 1- 2 μ g/ml

Del za diagnozo vrste M.h. (v rdeči barvi):

Vzorec 14: Identifikacija in štetje M.h. za vrednosti $\geq 10^4$ CCU/ml

Vzorec 15/16: Ocena M.h. občutljivosti na doksiciklin (DOX) 4-8 μ g/ml

Vodnjak 17/18: Ocena M.h. občutljivosti na levofloksacin (LVX) 1-2 μ g/ml

Vzorec 19/20: Ocena M.h. občutljivosti na moksifloksacin (MXF) 0,25-0,5 μ g/ml

Vzorec 21/22: Ocena M.h. občutljivosti na klindamicin (CLI) 0,25-0,5 μ g/ml

Vzorec 23/24: Ocena občutljivosti M.h. na klindamicin (CLI) 0,25-0,5 μ g/ml

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

5 - OPOZORILA ZA UPORABO

Reagenti so namenjeni samo za diagnozo *in vitro* in z njimi morajo ravnati pooblaščen osebe.

Vzorci in posejani agarji so potencialno nalezljivi in jih je zato treba obravnavati z običajnimi previdnostnimi ukrepi v skladu s higienskimi predpisi in smernicami države, v kateri se uporabljajo.

Reagenti, ki vsebujejo surovine živalskega izvora, morajo biti skrbno obdelani.

Reagentov ne smete uporabljati po datumu izteka roka uporabnosti.

Ne uporabljajte poškodovanih ali nepravilno shranjenih reagentov. Pozitiven rezultat v galeriji Mycofast *RevolutioN* 2 kaže na kolonizacijo z urogenitalnim mikoklamom, vendar ga ni mogoče uporabiti samo za klinično diagnozo.

To mora storiti zdravnik v skladu z vsemi biološkimi rezultati in kliničnimi znaki

6 - VZORČENJE IN PREDELAVA

6.1 Zbiranje vzorcev

Cervikalni vaginalni vzorci

Uporabljajte samo bris iz dacrona ali rayona ali citočopič. Po skrbnem odstranjevanju ektopervičnega izločka vzemite vzorec z začetnim brisom. Mikoplazme imajo močno afiniteto do celic sluznice, na katere se oprimejo, zato je pomembno, da sluznico dobro postgrado, da dosežemo dober rezultat.

Uretralni vzorci: Očistite kanal in obrišite ali strgajte vzorec iz celic.

Zberite seme ali prvi tok urina v sterilni posodi.

6.2 Prevoz v UMMt AMIES-medij

Vzorci suhega tampona: tampon postavite v posodo s 3 ml UMMt medija

Tekoči vzorci: Zasetje posodo s 3 ml UMMt medija s 300 μ L homogenizirane tekočine.

6.3 Shranjevanje v UMMt mediju

Po sejanju lahko medij UMMt hranite pri sobni temperaturi (18-25°C) 20 ur ali pri temperaturi 2-8°C 56 ur. Da bo tri dni pri -20°C, dodajte 2 kapljici stabilizatorja MIKOPLAZME.

7 - PROIZVODNJA IN KONZERVIRANJE REAGENTOV

Reagenti, ki so shranjeni v prvotnem stanju pri 2-8°C, so stabilni do datuma izteka roka uporabnosti, ki je naveden na etiketah.

Če je samo ena vrsta vdolbinic (U.u.) (tj.) ali dve, tri ali štiri vrste vdolbinic, lahko neuporabljeni ostanek galerije MYCOFAST Screening *RevolutioN*, hermetično zaprt v originalni aluminijasti vrečki, hranimo pri 2-8°C 4 tedne.

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

Medij UMMt lahko hranimo pri sobni temperaturi kratek čas (3 mesece), vendar ima boljše stabilnost pri 2-8°C.

Ne zamrzujte reagentov kompleta.

8 - ZAHTEVANI MATERIAL, KI NI VKLJUČEN V OBSEG DOBAVE

Oprema za vzorčenje (brisi, čopiči, sterilni vsebniki za zbiranje tekočih vzorcev)

Stabilizator MIKOPLAZME (člen 00064) Pipete

in portikalni stožci Kontaminirane odpadne

posode Mineralno olje

Grelna komora, umerjena pri 37 ± 1°C

9 - POSTOPEK

Reagenti se 20 do 30 minut segrevajo na sobno temperaturo.

9.1 PRESEJALNI PREGLED - Galerija MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Pripravite toliko vrst vdolbinic kot vzorcev, ki jih želite preskusiti.

Po potrebi ločite eno ali več vrstic vdolbinic (U.u.)/(M.h.) na podlagi oznak na galeriji.

9.1.1 Sejanje UMMt medija AMIES *RevolutioN*

Medij UMMt se seje z brisom ali 300 μ L tekočega vzorca (§ 6.2). Dobro homogenizirajte.

9.1.2 Sejanje vzorcev U.u./M.h.

- Razdelite eno za drugo:

Vzorec (U.u.): 100 μ L nasičenega UMMt medija.

Vzorec (M.h.): 100 μ L nasičenega UMMt medija

50 μ L dodatka Mh

- V obe vdolbinici dodajte 2 kapljici mineralnega olja.

- Vdolbinice pokrijemo z ločeno nalepko in identificiramo vzorec.

- Preostalo tekočino hranite v vsebniku nasičenega UMMt medija pri 2-8°C, da se nadaljuje analiza v primeru pozitivnega presejanja.

13.2.2 — O kliničnih vzorcih

Prva primerjalna študija je bila opravljena na vaginalnih kliničnih vzorcih (n=23), odvzetih v suhem brisu. Rezultate, dobljene z *zdravilom* MYCOFAST *RevolutioN* 2, primerjamo z metodo štetja mikro razredčin. Skupna skladnost za UU in M.H. je 100 %.

Druga primerjalna študija je bila opravljena s kliničnimi vzorci urina (n=88). Rezultate, dobljene z *MYCOFAST RevolutioN* 2, primerjamo s tistimi, pridobljeni z metodo štetja mikro razredčin.

Skupna konkordanca za Uu je 93,2 % (pri metodi štetja mikrorredčil smo navedli 1 lažno negativen za vrednost 10^4 UCC/ml in 5 lažno pozitivnih za vrednosti 10^2 UCC/ml pri metodi štetja mikrorredčil). Skupna konkordanca za Mh je 96,6 % (v metodi štetja mikrorredčil smo navedli 3 lažno pozitivne rezultate za vrednosti 10^2 - 10^3 UCC/ml). Skupna skladnost za UU in M.H. je 94,9 %.

13.3 Testi občutljivosti

Primerjalna študija je bila izvedena v nacionalnem referenčnem laboratoriju med metodo za določanje najmanjših inhibitornih koncentracij (MIC) v tekočih medijih in metodo MYCOFAST *RevolutioN* 2. Preskušeni sevi (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* in 16 *M. hominis*) so referenčni sevi, divji klinični sevi ali sevi, ki so razvili odpornost. Vsak sev je bil testiran z razredčinami 10^3 - 10^4 in 10^5 UCC/ml v 3 ml UMMt. Za vrednosti 10^4 in 10^5 UCC/ml, rezultati so bili odčitani in interpretirani po inkubaciji za 24 ur. Za vrednosti 10^3 CCU/ml, rezultati so bili pridobljeni po 48 urah. Inkubacija se prebere in interpretira, če je bil test negativen v 24 urah. Rezultati obeh metod se razlagajo v skladu s priporočili CLSI kot občutljivi (S) ali odporni (R). Skupna konkordanca za *U. urealyticum/U. parvum* je 95,5 %. Celotna konkordanca za *M. hominis* je 100 %.

	<i>Ureaplasma urealyticum</i>					<i>Mycoplasma hominis</i> (n=28)				
	TET	DOX	MXF	LVX	ERY	TET	DOX	MXF	LVX	CLI
Usklajenost	33	38	40	39	40	28	28	28	28	28
DM	5a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1b	2c	0	1 d	0	0	0	0	0	0

DM: Velika neskladnost, DTM: Zelo velika neskladnost

- a: 1 neskladnost 10^3 CCU/ml (referenčna MIK pri 0,5 µg/ml).
4 neskladnosti pri 10^5 CCU/ml (referenčni mik pri 0,5-1 in 8 µg/ml).
b: 1 neskladje pri 10 µg CCU/ml (referenčni 8 µg/ml).
c: 1 neskladje pri 10 µg CCU/ml (referenčni MIC pri 8 µg/ml). 1 odstopanje pri 10^5 UCC/ml (referenčni mik pri 2 µg/ml)
d: 1 neskladje pri 10.sup.5 UCC/ml (referenčni mik 4 µg/ml).

14 - ODSTRANJEVANJE ODPADKOV

Odstranjevanje odpadkov mora biti izvedeno v skladu s higienskimi pravili, ki veljajo za to vrsto reagenta v državi uporabe.

15 -BIBLIOGRAFIJA

1-BEBEAR C., BEBEAR C.M., 2007. Infections humaines à my- coplasmes. Francophone Journal of Laboratories. št. 391, 63-69.

2-Inštitut za klinične in laboratorijske standarde (CLSI). Antimicrobial Susceptibility Testing for Human Mycoplasmas; Approved Guideline. Dokument CLSI M43-A. Vol.31 - št.19.

3-PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001. Mycoplasma and human pathology. Francophone Journal of Laboratories. Dodatek št.329, 34-36.

4-TAYLOR-ROBINSON D. 1995. *Ureaplasma urealyticum* (T-strain Mycoplasma) in *Mycoplasma hominis*, str. 1713-1718. Dance MAN- DELLG. L., BENNETJ.E. in DOLIN R. (ur.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4. Ed., Vol. 2, Churchill Livingstone, New York.

5-WAITES KEN B., BREDAKATZ IN ROBERT L. SCHELONKA. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Mi- crobiol. Rev. Vol.18 -N°4 -757-789.

6-WAITES KEN B, DONNAM. CRABB in 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, 3776–3778.5

7-Rémic 2015 - Référéntiel en Microbiologie Médicale (Société Fran- çaise de Microbiologie) - (5ème édition) Edition

MYCOFAST® je registrirana blagovna znamka družbe ELITECH MICROBIO

Spremembe od zadnje revizije so označene s sivo barvo.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
alée d'Atènes
83870 SIGNES



FRANCIJA
☎: 33 (0)4 94 88 55 00
Telefaks: 33 (0)4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>