

## Dijagnostika urogenitalnih mikoplazmi

### MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Detekcija i diferencijacija  
50 testova (REF 00063)

### COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN 2*

Brojanje, identifikacija i testiranje osetljivosti  
25 testova (REF 00082)

### UMMt *RevolutioN*

50 testova (REF 00061)

CPB 0396-2-SR-2018-03

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



#### 1 – CILJ

Kit MYCOFAST Screening *RevolutioN* (REF 00063) omogućava detekciju i diferencijaciju *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) i *Mycoplasma hominis* (M.h.) iz različitih kliničkih uzoraka. Mora se koristiti zajedno s medijumima UMMt *RevolutioN* kompleta (REF 00061). U slučaju pozitivnog pregleda analiza se može završiti pomoću COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN 2* kit (REF 00082) koji omogućava brojanje i identifikaciju U.u. i / ili M.h. i ispitivanje osetljivosti na antibiotike prema preporukama CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

#### 2 – UVOD

Mikoplazme, kojih do danas ima nekoliko vrsta zabeleženih kod ljudi, pripadaju klasi mollicata. One 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 ćelija za koje se vežu. Mikoplazme su relativno krhki organizmi, koji se umnožavaju u acelularnom medijumu samo u prisutnosti brojnih faktora rasta i na optimalnoj temperaturi od 37 °C (4).

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

U.u. ili M.h. mogu da se ponašaju kao pravi patogeni. Oni su odgovorni za muške genitalne infekcije (negonokokni uretritis, epididimitis, prostatitis, neplodnost); ginekološke infekcije (bakterijska vaginoza, endometritis, salpingitis); reproduktivne poremećaje (chorioamnionitis, postpartum endometritis, prurancenost, spontani pobačaj); neonatalne napade (niska težina rođenja, respiratorne infekcije, neurološke infekcije, bakteremija, apsces); ekstragenitalne infekcije (septički artritis, reaktivni artritis, druge lokalizacije) (1).

Dijagnoza infekcija mikoplazmom zavisi od određivanja patološkog praga i samim tim i broja. Pojava rezistencije U.u. i M.h. na određene molekule dovodi do ispitivanja osetljivosti na antibiotike (5, 6). Testirani antibiotici i kriterijumi interpretacije prikladni su za lečenje infekcija mikoplazmom u urogenitalnom traktu ili drugim ekstragenitalnim mestima (2).

#### 3 – PRINCIP

Tehnika MYCOFAST Screening *RevolutioN* je metoda koja se koristi u tečnom medijumu, a zasniva se na sposobnosti U.u. i M.h. za metabolizaciju uree i arginina. Rast mioplazmi u tečnom medijumu je vizualizovan promeonom boje indikatora – fenol crvena – od žuto-narandžaste do crvene boje, što upućuje na alkalizaciju medijuma zbog oslobađanja amonijaka.

Rast tako vizualizovane mikoplazme omogućava:

- detekciju i diferencijaciju; u slučaju pozitivnosti:
- broj koji se zasniva na brzini hidrolize supstrata koji je proporcionalan količini klica sadržanih u uzorku.
- identifikaciju koja se zasniva na osetljivosti ili neosetljivosti klica u odnosu na tri antibiotika.
- proučavanje osetljivosti 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 <i>RevolutioN</i> : 10-jažica lomljivog ekrana za pet ispitivanja, pojedinačno pakovana u aluminijskoj kesici s integrisanim sušačem			10
Tags: ploča od pet lomljivih etiketa			10
S.Mh Mh aktivator rasta (4.5 mL)			1
MYCOFAST <i>RevolutioN 2</i> : 24-jažice galerija za 1 test, pakovan u aluminijskoj kesici s interisanim sušačem	25		
Sistem zatvaranja: providni plastični poklopac za galeriju MYCOFAST <i>RevolutioN</i>		25	

#### Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

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

#### Komplet MYCOFAST *RevolutioN 2*

Komplet sadrži medijum rasta u 24 jažice, i to u dehidriranom obliku (faringealni serum, ekstrakt kvasca, cistein, arginin, urea, fenol crveni, antibiotici, pH: 6,1 ± 0,1) i uključuje dva odvojena dela:

-deo namenjen za brojanje i procenu osetljivosti na antibiotike za vrstu U.u. (jažice napisane crnom bojom na etiketi).

-deo namenjen za brojanje i procenu osetljivosti na antibiotike za vrstu M.h. (jažice napisane crvenom bojom na etiketi).

#### Deo za dijagnostiku vrste U.u. (crno):

**Jažice 1/2/3:** Identifikacija i brojanje Uu za niveoe  $10^3 \cdot 10^4$  i  $\geq 10^5$  CCU / mL (puferisani rastvor i inhibicija rasta linomicina M.h.).

**Jažice 4/5:** Procena osetljivosti U.u. na levofloksacin (LVX) pri koncentraciji 2/4 µg/mL

**Jažice 6/7:** Procena osetljivosti U.u. na moksifloksacin (MXF) pri koncentraciji 2/4 µg/mL

**Jažice 8/9:** Procena osetljivosti U.u. na eritromicin (ERY) pri koncentraciji 8/16 µg/mL

**Jažice 10/11:** Procena osetljivosti U.u. na tetraciklin (TET) 1-2 µg/mL

**Jažice 12/13:** Procena osetljivosti U.u. u doksiciklin (DOX) 1-2 µg/mL

#### o za dijagnozu vrste M.h. (obojeno crveno) :

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

**Jažice 15/16:** Procena osetljivosti M.h. na doksiciklin (DOX) 4-8 µg/mL

**Jažice 17/18:** Procena osetljivosti M.h. na levofloksacin (LVX) 1-2 µg/mL

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

**Jažice 21/22:** Procena osetljivosti M.h. na klindamicin (CL) 0,25-0,5 µg/mL

**Jažice 23/24:** Procena osetljivosti M.h. na tetraciklin (TET) 4-8 µg/mL

#### 5 – MERE OPREZA TOKOM UPOTREBE

Reagensi u ovom kompletu namenjeni su isključivo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu i moraju biti obrađeni od strane ovlašćenih osoba.

Uzorkovani uzorci i reagensi potencijalno su zarazni, mora se postupati s uobičajenim merama opreza u skladu s pravilima higijene i propisima koji su na snazi u zemlji upotrebe za ovu vrstu proizvoda.

S reagensima koji sadrže sirovine životinjskog porekla treba rukovati s uobičajenim merama opreza.

Ne koristiti reagense nakon isteka roka važenja.

Pre upotrebe ne koristite oštećene ili nepravilno uskladištene reagense.

pozitivan rezultat s galerijom MYCOFAST *RevolutioN* reflektuje kolonizaciju urogenitalnom mikoplazijom, ali se ne može upotrebiti sama za kliničku dijagnozu.

To mora da uradi lekar na osnovu bioloških rezultata i kliničkih znakova.

#### 6 – PRIKUPLJANJE I OBRADA UZORAKA

##### 6.1 Prikupljanje uzoraka

###### Cervikalno-vaginalni uzorci

Koristite samo Dacron briseve, briseve od veštačke svile ili četkicu za uzimanje citološkog uzorka. Uzmite uzorak nakon što ste prethodno pažljivo uklonili izlučevine sa spoljne strane cerviksa koristeći se prvim brisom. Mikoplazme imaju visok afinitet za mukozne stanice na koje prijanjaju, zbog toga je neophodno temeljno ostrugati sluznicu kako bi postupak bio delotvoran.

###### Uretralni uzorci:

Očistite otvor i skupljajte ih zapljuskivanjem ili struganjem ćelija

###### Sperma, urin:

Sakupite spermu ili prvi mlaz urina u sterilnu bočicu.

##### 6.2 Transport u medijumu UMMt

###### Uzimanje brisa:

izvadite bris iz bočice medijuma UMMt.

###### Tečni uzorci:

Inokulirajte bočicu medijuma UMMt sa 300 µL homogenizovane tečnosti.

##### 6.3 Skladištenje medijuma UMMt

Po izvršenoj inokulaciji, medijum UMMt može se čuvati u sobnoj temperaturi (18 – 25°C) 20 sati ili na temperaturi 2 – 8 °C tokom 56 sati.

Za skladištenje tokom 3 dana pri temperaturi od -20°C, prethodno dodati dve kapi stabilizatora „MYCOPLASMA Stabilizer“.

#### 7. PRIPREMA I SKLADIŠTENJE REAGENSA

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

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

Suplement Mh je stabilan 3 meseca nakon otvaranja.

Medijum UMMt može da bude privremeno (3 meseca) skladišten na sobnoj temperaturi, ali ima bolju stabilnost na temperaturi od 2 do 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

		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		
		MYCOFAST® <i>RevolutioN 2</i>										2	DOX
14	Mh $\geq 10^4$											1	12
1	Uu $10^3$											1	12
		Uu	Uu	2	4	2	4	8	16	1	2		
		$10^4$	$\geq 10^5$	LVX	MXF	ERY	TET						
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		

uzoraka, sterilne bočice za sakupljanje tečnih uzoraka), pipete i prenosni valjci Stabilizator MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)  
 Pipete i konusne posude za kontaminirani otpad  
 Mineralno ulje  
 Sušač je kalibriran na temperaturu od 37 ± 1°C

## 9 - OPERATIVNI POSTUPAK

Ostaviti reagense na sobnoj temperaturi 20 do 30 minuta.

### 9.1 PRAĆENJE - Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

- Pripremite isti broj setova jažica koliko uzoraka želite da testirate.

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

#### 9.1.1 Inokulacija medijuma UMMt *RevolutioN*

Inokulaciju medijuma UMMt izvršite pomoću vatiranog štapića ili dodavanjem 300 µL tekućih uzoraka (§ 6.2). Dobro promešajte.

#### 9.1.2 Inokulacija jažica Uu/Mh

- Dozirajte prema sledećem redosledu:

Jažica (U.u.): 100 µL inokulisanog medijuma UMMt.

Jažica (M.h.): 100 µL inokulisanog medijuma UMMt.

50 µL suplementa M.h.

- Dodajte dve kapi mineralnog ulja u obe jažice.

- Na jažice stavite etikete i identifikujte uzorak.

- **Višak sadržaja iz bočice s inokulisanim medijumom UMMt** čuvajte na temperaturi od 2 do 8°C kako biste u slučaju pozitivnog rezultata neutralizacionog testiranja mogli da nastavite s analizom.

#### 9.1.3 Inkubacija jažica U.u./M.h.

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

#### 9.1.4 Čitanje i interpretacija jažica U.u./M.h.

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

- Posmatrajte promenu boje u jažicama U.u. i M.h.:

Jažica U.u. je narandžasta ili crvena: Prisustvo *Ureaplasme urealyticum*

Jažica M.h. je narandžasta ili crvena: Prisustvo *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 BROJANJE, IDENTIFIKACIJA I ISPITIVANJE OSETLJIVOSTI

### 9.2.1 Inokulacija kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2

Uklonite samolepljivu traku povlačenjem jezička i dozirajte u jažice prema sledećem rasporedu:

jažice 1-24 100 µL inokulisanog medijuma UMMt

jažice 1-24 2 kapi mineralnog ulja

Pokrijte komplet uključivanjem poklopcu „closing system“.

Identifikujte uzorak.

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

### 9.2.2 Inkubacija kolekcije

Inkubirajte kolekciju na temperaturi od 37 ± 1°C tokom 24 sata.

Za brojanje U.u. i M.h., očitajte rezultate nakon 24 sata.

Inkubacija kompleta može se produžiti do 48 sati samo u slučaju negativnih tečnih uzoraka u roku od 24 sata.

### 9.2.3 Očitavanje i interpretacija

Proverite da li je sadržaj svih jažica iz kompleta bistar. Zamućeni sadržaj jažice označava bakterijsku kontaminaciju. U tom slučaju ponovite analizu. Rast urogenitalnih mikoplazmi u jažicama rezultira alkalizacijom medijuma koji postaje crven. U odsutnosti rasta urogenitalnih mikoplazmi, medijum ostaje žut. Narandžastu boju treba smatrati

pozitivnim rezultatom (granična stopa). Za interpretaciju testa, v. tabelu rezultata.

### Numeracija (sata 1, 2, 3 et 14)

Identifikujte jažice koje su postale crvene i interpretirajte sledeće:

1 koncentracija U.u. od 10<sup>3</sup> CCU/mL

1 i 2 koncentracija U.u. od 10<sup>4</sup> CCU/mL

1, 2 i 3 koncentracija U.u. ≥ 10<sup>5</sup> CCU/mL

14 koncentracija M.h. ≥ 10<sup>4</sup> CCU/mL

Patološka obeležja mikoplazmi u urogenitalnim infekcijama podložno je interpretaciji prema specifičnim preporukama (1,3,7). Patološke stope obično odabrane za *U. urealyticum* su: ≥10<sup>4</sup> CCU/mL za uretralni bris, ≥10<sup>3</sup> CCU/mL za prvi mlaz urina ili spermu (iako nova lokalna preporuka spominje prag od ≥10<sup>4</sup> CCU/mL za spermu (7)). *Stoje tiče M. hominis*, njena prisutnost u koncentraciji ≥10<sup>4</sup> CCU/mL u cervikovaginalnom uzorku se smatra abnormalnom (1, 3).

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

Promena boje medijuma u jažicama koje sadrže antibiotike odražava sposobnost soja bakterije da raste u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Žuta boja medijuma ukazuje na nesposobnost razvijanja soja u prisutnosti testirane koncentracije antibiotika. Sojevi su kvalifikovani kao osetljivi ili otporni na antibiotike prema sledećim kriterijumima interpretacije na način kako ih definiše CLSI (2):

### Kriterijumi 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 osetljivi na eritromicin će takođe biti osetljivi na azitromicin

Pomoć pri interpretaciji:

### Ispitivanje osetljivosti na antibiotike za U.u.

Antibiotik	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
	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 osetljivosti na antibiotike za M.h.

Antibiotik	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
	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 **osetljivim** kada je njegov rast sprečen u dve kritične koncentracije antibiotika. Soj se smatra **otpornim** kada je njegov rast sprečen pri visoko kritičnoj koncentraciji antibiotika, a nije sprečen pri niskoj kritičnoj koncentraciji ili kada njegov rast nije inhibiran u dve kritične koncentracije antibiotika.

*M. hominis* je prirodno otporna na makrolide s 14-15 ugljenih hidrata, uključujući eritromicin. U nekim populacijama stopa otpornosti na tetraciklin može da dostigne vrednost 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 prevalenca nije poznata.

## 10 - POSEBNI SLUČAJEVI

Zbog vrlo visokih nivoa koncentracije u U.u. i M.h., sve jažice koje sadrže klicu postaju crvene. Stoga se preporučuje razređivanje uzorka radi dobijanja tačnijeg rezultata. U tom slučaju postupite na sledeći način:

Inokulišite novu bočicu UMMt zapremine 3 ml s 300 µL izvornog UMMt medijuma skladištenog na temperaturi od 2 do 8 °C (§ 9.1).

Inokulišite novi komplet pomoću novog inokulisanog medijuma UMMt.

Vodite računa o odnosu razređivanja (1:10) za interpretaciju brojanja. Ako je potrebno, na agaru A7 potvrdite prisutnost mikoplazmi ponovnom izolacijom iz izvornog medijuma UMMt skladištenog na temperaturi od 2 do 8 °C (§ 9.1).

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

## 11 - KONTROLA KVALITETA

Kontrola kvaliteta može se izvršiti iz soja *U. urealyticum* iz kompleta MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ili iz liofilizovane kolekcije (*U. urealyticum* ATCC 27815 ili *M. hominis* ATCC 23114) prethodno umereno na 10<sup>4-5</sup> CCU/mL.

Inokulišite kolekciju MYCOFAST *RevolutioN* 2 i nastavite testiranje na način kako je opisano u ovom uputstvu (§9 i 10)

Očekivani rezultati u nastavku (ATCC):

### MYCOFAST *RevolutioN* 2

	U.u.	U.u.	U.u.	M.h.	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
	10:	10:	≥10:	≥10:						
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 - Skrinig:

Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN* ima prag osetljivosti ≤10<sup>3</sup> CCU/mL i ne dozvoljava brojanje. Broj dobijen u kompletu MYCOFAST *RevolutioN* 2 može biti negativan nakon pozitivnog rezultata.

### 12.2 - Brojanje, identifikacija i ispitivanje osetljivosti

- Neke bakterije koje su prisutne u količini >10<sup>6-7</sup> CFU/mL i poseduju enzime ureazu mogu da uzrokuju promenu boje svih jažica iz kompleta. Njihova prisutnost može se potvrditi ponovnim izolovanjem na čokoladnom agaru iz originalnog medijuma UMMt skladištenog na temperaturi od 2 do 8°C (§ 9.1).

- pH vrednost osnovnog uzorka (pH>8) može da promeni boju medijuma. U tom slučaju razredite uzorak (1:10) u drugom medijumu UMMt i interpretirajte ga uzimajući u obzir razređivanje.

- pH vrednost kiselog uzorka (pH≤5) može da uspori promenu boje.

- Uzorak koji sadrži krv može da prouzrokuje promenu boje jažica iz kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2, što se interpretira kao pozitivni rezultati. U tom slučaju razredite uzorak (1:10) u drugom medijumu UMMt i interpretirajte ga uzimajući u obzir razređivanje.

- Uzorak s niskim nivoom mikoplazmi (<10<sup>3</sup> CCU/mL) može izazvati slučajnu promenu boje različitih jažica u kompletu.

- Kao i kod svake metode istraživanja klica, kvalitet uzorka uslovljava rezultat testa. Negativan test ne mora nužno da se interpretira kao odsutnost infekcije.

### 13 – PERFORMANSE

#### 13.1 – Praćenje i diferencijacija

##### Komplet MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Usporedna studija sprovedena je primenom vaginalnih kliničkih uzoraka (n=40 ; 2 vrste U.u. i M.h.) i na suvim brisevima. Rezultati dobijeni pomoću kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN* upoređivani su s metodom brojanja u tečnom mikro-rastvoru. Kod praćenja dve vrste U.u. i M.h. podudaranje je 97,5%.

Pronašli smo 1 lažni negativni U.u. za koncentraciju od  $10^3$  CCU/mL tokom rutinske laboratorijske metode, znajući da se ta koncentracija smatra infra-patološkom za vaginalne uzorke. Za U.u. i M.h. ukupno poklapanje 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 brojanje

##### Direktni metod kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2

% ukupnog poklapanja	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolovani sojevi koncentracije $\leq 10^3$ CCU/mL (v. § 14.1.1)	97,4	NA*	NA*
Izolovani sojevi koncentracije $\geq 10^4$ CCU/mL ) (v. § 14.1.1)	93,4	93,4	93,4
Vaginalni klinički uzorci (v. § 14.1.2)	100	100	100
Tečni klinički uzorci - urin (v. § 14.1.2)	93,2	96,6	94,9

NA\* (nije primenjivo)

#### 13.2.1 - Na izolovanim sojevima

Usporedna studija sprovedena je iz 21 izolovanog soja (sojevi ATCC i sojevi kolekcije) koji su testirani odvojeno (U.u. ili M.h.) u nekoliko rastvora (ukupno 76 ispitivanja).

Dobijeni rezultati se poređuju se s onima dobijenim metodom brojanja u mikro-rastvoru.

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od  $10^3$  CCU/mL; ukupno poklapanje za U.u. iznosi 97,4% (imamo 2 lažna pozitivna rezultata za koncentraciju od  $10^2$  CCU/mL kod primene metode brojanja u mikro-rastvoru).

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od  $10^4$  CCU/mL; ukupno poklapanje za U.u. iznosi 93,4% (imamo 5 lažnih pozitivnih rezultata za koncentraciju od  $10^3$  CCU/mL kod primene metode brojanja u mikro-rastvoru). Ukupno poklapanje za M.h. iznosi 93,4% (imamo 5 lažnih pozitivnih rezultata, 4 za koncentraciju od  $10^3$  CCU/mL i jedan za koncentraciju od  $10^2$  CCU/mL kod primene metode brojanja u mikro-rastvoru).

Ukupno poklapanje Uu i Mh iznosi 93,4%.

#### 13.2.2 - Na kliničkim uzorcima

Prva usporedna studija sprovedena je iz vaginalnih kliničkih uzoraka (n=23) na suvim brisevima. Rezultati dobijeni pomoću kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN* 2 upoređeni su s metodom brojanja u tečnom mikro-rastvoru.

Ukupno poklapanje Uu i Mh iznosi 100%.

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

Rezultati dobijeni pomoću kompleta MYCOFAST *RevolutioN* 2 upoređuju se s onim dobijenim metodom brojanja u tečnom mikro-rastvoru.

Ukupno poklapanje za U.u. je 93,2% (imamo jedan lažni negativni rezultat za koncentraciju od  $10^4$  CCU/mL kod primene metode brojanja u tečnom mikro-rastvoru) i pet lažnih pozitivnih rezultata za koncentraciju od  $10^2$  CCU/mL kod primene metode brojanja u tečnom mikro-rastvoru).

Ukupno poklapanje M.h. je 96,6% (imamo 3 lažna pozitivna rezultata za koncentraciju od  $10^2 - 10^3$  CCU/mL kod primene metode brojanja u tečnom mikro-rastvoru).

Ukupno poklapanje U.u. i M.h. iznosi 94,9%.

#### 13.3 Testovi osetljivosti

U nacionalnoj referentnoj laboratoriji sprovedena je usporedna studija između metode za određivanje minimalnih inhibicijskih koncentracija (MIK) u tečnom medijumu 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 rastvorima koncentracije  $10^3 - 10^4$  i  $10^5$  CCU/mL u 3 mL UMMt.

Za koncentracije  $10^4$  i  $10^5$  CCU/mL, rezultati su očitani i interpretirani nakon 24h inkubacije.

Za koncentracije  $10^3$  CCU/mL, rezultati su očitani i interpretirani nakon 48 sati inkubacije ako je test bio negativan nakon 24 sata.

U skladu s preporukama CLSI, rezultati dobijeni primenom obe metode interpretirani su kao osetljivi (S) ili otporni (R).

Ukupno poklapanje za *U. urealyticum/U. parvum* je 95,5% Ukupno poklapanje za *M. hominis* je 100%

Poklapanje	<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.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 <sub>a</sub>	2 <sub>c</sub>	0	1 <sub>a</sub>	0	0	0	0	0	0

DM: Značajno nepoklapanje; DTM: Veoma veliko nepoklapanje

<sup>a</sup> : jedno odstupanje dobijeno u  $10^3$  CCU/mL (referentni MIK od 0,5 ug/mL), Četiri odstupanja dobijena na  $10^5$  CCU/mL (referentni MIK od 0,5 – 1 i 8 ug/mL).

<sup>b</sup> : Jedno odstupanje dobijeno pri koncentraciji od  $10^5$  CCU/mL (referentni MIK od 8 ug/mL).

<sup>c</sup> : Jedno odstupanje dobijeno pri koncentraciji od  $10^3$  CCU/mL (referentni MIK od 8 ug/mL); .Jedno odstupanje dobijeno za koncentraciju  $10^5$  CCU/mL (referentni MIK od 2 ug/mL)

<sup>d</sup> : Jedno odstupanje dobijeno pri koncentraciji od  $10^5$  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 upotrebe.

#### 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 MAN-DELLG.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., BREDAKATZ 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 - Référéntiel en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5ème édition)

Promene u odnosu na prethodnu verziju su označene sivom bojom.



**ELITech MICROBIO**  
Parc d'activités du Plateau  
allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCUSKA  
☎ : 33 (0)4 94 88 55 00  
Fax: 33 (0)4 94 32 82 61  
<http://www.elitechgroup.com>