Diagnostika urogenitálních mykoplasmat

MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Detekce a diferenciace

50 testů (ZN. 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* 2

Číslování, identifikace a test citlivosti

25 testů (ZN. 00082)

UMMt AMIES *RevolutioN*

50 testů (ZN. 00083)

CPB 0396-3-CS-2018-03

Pouze pro diagnostiku *in vitro,* pouze pro profesionální použití
Testy jsou určeny pouze pro jedno použití.

I - ÚČEL

Souprava MYCOFAST Screening *RevolutioN* (REF 00063) umožňuje detekci a diferenciaci *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) a *Mycoplasma hominis* (M.h.) z různých klinických vzorků odebraných v přátelském transportním médiu nebo v univerzálním transportním médiu. viry, chlamydia, mykoplazma a ureaplasma. Měla by být použita ve spojení s médii soupravy UMMt AMIES *RevolutioN* (REF 00083).
V případě pozitivního screeningu lze analýzu doplnit soupravou COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* 2 (REF 00082), která umožňuje počítání a identifikaci U.u. a / nebo M.h. a test antibiotické citlivosti podle doporučení CLSI (Ústav klinických a laboratorních standardů) (2).

2- ÚVOD

Mykoplazmy, které mají několik druhů dosud zaznamenaných u lidí, patří do třídy mollicutů. Odlišují se od jiných bakterií mnoha způsoby, včetně nedostatku stěny, která jim dává přirozenou rezistenci na β-laktam, a membránu bohaté na sterol z membrán eukaryotických buněk, ke kterým se připojují. Mykoplazmy jsou relativně křehké organismy, které se množí v acelulárním médiu pouze za přítomnosti četných růstových faktorů a při optimální teplotě 37 °C (4).
Většina lidských mykoplazmat je jednoduchá komenza. Izolované druhy z urogenitálního traktu, *U. urealyticum* a *M. hominis* j mají nejčastější výskyt. Druh *U. Urealyticum* se dělí na dva biovary: *U. urealyticum* a *U. parvum* (U.u.). U.u. nebo M.h. se mohou chovat jako skutečné patogeny. Liší odpovědné za genitální infekce u mužů (uretritidy ne go- nokokové, epididymitida, prostatitida, neplodnost); gynekologické infekce (bakteriální vaginóza, endometritida, salpingitida); poruchy reprodukce (chorioamnionitida, postpartální endometritida, nedonošenost dítěte, spontánní potrat); neonatální postižení (nízká hmotnostpři narození, infekce dýchacích cest, neurologické infekce, bakterémie, abscesy);
infekce mimo genitální trakt (septická artritida, reaktivní artritida, další místa) (1).
Diagnóza mykoplasmatických infekcí závisí na určení patologického prahu, a tedy i počtu.Vznik odolnosti U.u. a M.h. vůči určitým molekulám vede k provedení testu citlivosti na antibiotika (5, 6).Testovaná antibiotika a interpretační kritéria jsou upravena pro léčbu mykoplasmatických infekcí v urogenitálním traktu nebo jiných místech mimo genitální trakt (2).

3 - PRINCIP

Technika MYCOFAST Screening *RevolutioN* je metoda v kapalném médiu založená na schopnosti metabolitů U.u. a M.h. metabolizovat
močovina a arginin.Růst mykoplasmat v kapalném médiu je vizualizován ohybem barevného indikátoru - fenolová červená - od žluto-oranžové až červené, což znamená alkalizaci média v důsledku uvolňování amoniaku.
Takto vizualizovaný růst mykoplasmat umožňuje:
- detekci a diferenciaci; pak v případě pozitivity:
- počítání založené na rychlosti hydrolýzy substrátů, které je poměrné k množství bakterií obsažených ve vzorku.
- studie citlivosti U.u. a M.h. na antibiotika.

4 – ČINIDLA

Popis	Množství		
	Ref 00061	Ref 00082	Ref 00063
UMMt AMIES: 2.6 mL lahvičky mycoplasma s antibiotiky a konzervační látkou. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING *RevolutioN*: Přetržitelná galerie s 10 jamkami pro 5 testů, zabalená jednotlivě v hliníkovém sáčku s integrovaným vysoušedlem.			10
Tagy: Rada 5 rozbitných štítků			10
S.Mh : Mh růstový aktivátor (4,5 mL)			1
MYCOFAST *RevolutioN* 2: Galerie s 24 jamkami pro 1 test, zabalené v hliníkovém sáčku s integrovaným vysoušecím prostředkem.		25	
Zavírací systém: průhledný plastový kryt pro galerii MYCOFAST *RevolutioN*		25	

Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*
Galerie složená z 5 sérií s 2 jamkami: jamka *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) obsahující linkomycin a močovinu a jamku *Mycoplasma hominis* (M.h.) obsahující erythromycin a arginin.
Galerie MYCOFAST *RevolutioN* 2
Galerie obsahuje v 24 jamkách růstové médium v dehydratované formě (sérum hříběte, kvasničný extrakt, cystein, arginin, močovina, fenolová červená, antibiotika, pH:6,1 ± 0,1) a má 2 samostatné části:
- část určená pro počítání a vyhodnocení citlivosti na antibiotika pro druh U.u. (jamky psané černě na etiketě).
- část určená pro počítání a vyhodnocení citlivosti na antibiotika pro druh M.h. (jamky zapsané červeně na štítku).

Část pro diagnostiku druhu U.u. (černě):

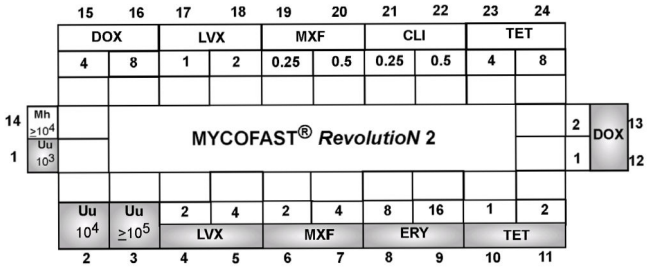
Jamky 1/2/3: Identifikace a počítání Uu pro hladiny $10^3.10^4$ a $\geq 10^5$ CCU/mL (pufrovaný roztok a lincomycin inhibující růst M.h.).
Jamky 4/5 Posouzení citlivosti Uu na levofloxacin (LVX) v koncentraci 2 / 4 µg/mL
Jamky 6/7 Posouzení citlivosti U.u. na moxifloxacin (MXF) v koncentraci 2/4 µg/mL
Jamky 8/9 Posouzení citlivosti U.u. na erythromycin (ERY) v koncentraci 8 / 16 µg/mL
Jamky 10/11: : Posouzení citlivosti U.u. na tetracyklin (TET) 1-2 µg/mL
Jamky 12/13: Posouzení citlivosti U.u. na doxycyklin (DOX) 1-2 µg/mL

Část určená pro diagnózu druhu M.h. (červená):

Jamka 14 : Identifikace a počítání M.h. pro hladiny $\geq 10^4$ CFU/mL
Jamky 15/16 : Posouzení citlivosti M.h. na doxycyklin (DOX) 4-8 µg/mL
Jamky 17/18 : Posouzení citlivosti M.h. na levofloxacin (LVX) 1-2 µg/mL
Jamky 19/20 : Hodnocení citlivosti M.h. na Moxifloxacin (MXF) 0.25-0.5 µg/mL
Jamky 21/22 : Posouzení citlivosti M.h. na clindamycin (CLI) 0,25-0,5 µg/mL
Jamky 23/24: Hodnocení citlivosti M.h. Tetracyklinů (TET) 4-8 µg/mL

5 - ZÁSADY BEZPEČNÉHO ZACHÁZENÍ

Činidla v této sadě jsou určena pouze pro diagnostiku in vitro a musí s nimi zacházet oprávněné osoby.
Vzorky a naočkovaná činidla jsou potenciálně infekční, je nutné s nimi manipulovatn při dodržení zásad bezpečného zacházení, hygienických pravidel a předpisů platných v zemi použití tohoto typu výrobku.
S činidly, obsahujícími suroviny živočišného původu musí být manipulováno při dodržení zásad bezpečného zacházení.
Nepoužívejte činidla po uplynutí data použitelnosti.
Nepoužívejte činidla, která byla poškozená nebo špatně uchovávaná před použitím.
Pozitivní výsledek s galerií MYCOFAST *RevolutioN* 2 se projevuje kolonizací urogenitálními mykoplasmaty, ale nelze jej použít samotný k provedení klinické diagnózy.
Tu musí provést lékař podle biologických výsledků a klinických příznaků.



6 - SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

6.1 Sběr vzorků

Cervikálně vaginální výtěry
Používejte pouze tampón, který je opatřen transportním médiem.
Vezměte vzorku po pečlivém odstranění exokolitických sekretů prvním tamponem. Vzhledem k tomu, že mykoplazmy mají vysokou afinitu k buňkám sliznice, ke kterým přiléhají, je nezbytné poškrábat sliznici, aby se dosáhlo dobrého výtěžku.
Uretrální tampony
Používejte pouze tampón, který je opatřen transportním médiem.
Vyčistěte meatus a sbírejte tampony nebo škrábání buněk.

6.2 Přeprava vzorků

Doprava v přátelském prostředí nebo v univerzálním prostředí pro viry, chlamydia, mykoplazma a ureaplasma

Viz návod k použití výrobce

Doprava v médiem UMMt AMIES

Vyložte 300 µL naočkovaného transportního média do ampulky médiem UMMt AMIES.

6.3 Uchování vzorků

6.3 Uchování vzorků

Uchování v Amiesově médiu nebo v univerzálním médiu pro viry, chlamydia, mykoplasmata a ureaplasma
Viz návod k použití výrobce Uchování v médiem UMMt AMIES
Po naočkování může být médium UMMt AMIES uchováváno při pokojové teplotě (18-25 °C) po dobu 20 hodin nebo při teplotě 2-8 °C po dobu 56 hodin.Pro skladování po dobu 3 dnů při -20 °C přidejte předem dvě kapky přípravku "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PŘÍPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ ČINIDEL

Činidla skladovaná při teplotě 2-8 °C v původním stavu jsou stabilní až do data použitelnosti uvedeného na štítcích.
Při použití jediné sady jamek (U.u.) (M.h.) nebo dvou, tří, čtyř sad jamek se zbytek galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* nepoužívá, je zapečetěný v původním hliníkovém obalu a lze jej skladovat po dobu 4 týdnů při teplotě 2-8 °C.
Doplněk M.h. je stabilní 3 měsíce po otevření.
Médium UMMt může být dočasně (3 měsíce) skladováno při pokojové teplotě, ale lepší stabilitu má při 2-8 °C.
Nezmrazujte činidla, jež jsou součástí sady.

8 - POTŘEBNÉ VYBAVENÍ, JEŽ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

Vybavení pro odběr vzorků (tampony spojené s odpovídajícím Amiesovým transportním médiem nebo univerzální médium pro chlamydiový virus, mykoplasmata a ureaplasma)

MYCOPLASMA Stabilizer (ZN. 00064)
Pipety a transportní kužele Nádoba pro kontaminovaný odpad Minerální olej
Pec kalibrovaná na 37 ± 1 °C

9 - POSTUP

Nechte činidla zahřívat na pokojovou teplotu po dobu 20 až 30 minut.

9.1 SCREENING - Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* -

Připravte počet sérií jamek, odpovídající počtu vzorků, které mají být testovány.
- Je-li to nutné, oddělte jednu nebo několik sérií jamek (U.u.) / (M.h.) podle značení na galerii.

9.1.1 Očkování média UMMt AMIES *RevolutioN*

Pokud byl transport proveden v médiu UMMt AMIES, naočkovaném 300 µL Amiesova média nebo univerzálního média pro viry, chlamydiae, mykoplasmata a ureaplasma; **potom přejděte přímo ke kroku 9.1.2.**

Pokud byl transport vzorku proveden v Amiesově médiu nebo v univerzálním médiu pro viruy, chlamydie, mykoplasmata a ureaplasmu, přeneste 300 µl tohoto transportního média do lahvičky s UMMt AMIES.

9.1.2 Inokulace jamek U.u. / M.h.

- Distribuujte postupně:
Jamka (U.u.): Naočkováno 100 µL média UMMt AMIES.
Jamka (M.h.): Naočkováno 100 µL média UMMt AMIES.
50 µL doplňku M.h..
- Do obou jamek přidejte 2 kapky minerálního oleje.
- Pokryjte jamky dělitelným štítkem a označte vzorek. - **Uchovávejte přebytečné množství z lahvičky s médiem UMMt AMIES** naočkované při 2-8 °C, abyste pokračovali v analýze v případě, že je screening pozitivní.

9.1.3 Inkubace jamek U.u. / M.h.

Jamky galerie inkubujte po dobu 24 hodin při teplotě 37 ± 1 °C. Inkubace galerie může být prodloužena až na 48 hodin pouze v případě negativních tekutých vzorků za 24 hodin.

9.1.4 Odečet a interpretace jamek U.u. / M.h.

- Zkontrolujte, zda jsou obě jamky (U.u.) (M.h.) čiré.Zakalená jamka označuje bakteriální kontaminaci.V tomto případě zopakujte test.
- Dodržujte barevný posun v jamkách U.u. a M.h.:
Jamka U.u. oranžová nebo červená: Přítomnost *Ureaplasma urealyticum*
Jamka M.h. je oranžová nebo červená: Přítomnost *Mycoplasma hominis*
Jamka U.u. / M.h. je žlutá:Nepřítomnost mykoplasmat

V případě, že je screening pozitivní, pokračujte v diagnostice s galerií MYCOFAST *RevolutioN* 2

9.2 ČÍSLOVÁNÍ, IDENTIFIKACE A TEST CITLIVOSTI

9.2.1 Naočkování galerie MYCOFAST *RevolutioN* 2

Odstraňte lepicí fólii tak, že zatáhnete za jazýček a rozdělíte postupně do jamek:
jamky 1-24 100 µL naočkovaného média UMMt AMIES
jamky 1-24 2 kapky minerálního oleje
Galerii zakryjte zacvaknutím krytu "closing system".
Označte vzorek.
Přebytečné množství z lahvičky UMMt AMIES uchovávejte při teplotě 2-8 °C po dobu nejméně 48 hodin, aby bylo možné případně provést ověření.

9.2.2 Inkubace galerie

Galerii inkubujte při 37 ± 1 °C po dobu 24 hodin.
Pro počítání U.u. a M.h. odečtěte výsledky za 24 hodin. Inkubace galerie může být prodloužena až na 48 hodin pouze v případě negativních tekutých vzorků za 24 hodin.

9.2.3 Čtení a interpretace

Zkontrolujte, zda jsou všechny jamky v galerii čiré. Zakalená jamka označuje bakteriální kontaminaci.V takovém případě analýzu zopakujte. Růst urogenitálních mykoplasmat v jamkách vede k alkalizaci média, které zčervená. Při absenci růstu urogenitálních mykoplasmat zůstává médium žluté. Oranžová barva by měla být považována za pozitivní test (prahová hodnota). Viz výkladový list pro interpretaci testu.

Počet (jamky 1, 2, 3 a 14)

Identifikujte jamky, které zčervenaly a interpretujte

1	koncentrace U.u. 10^3 CCU/mL
1 a 2.	koncentrace U.u. 10^4 CCU/mL
1, 2 a 3	koncentrace U.u. ≥ 10^5 CCU/mL
14	koncentrace M.h. ≥ 10^4 CCU/mL

Patologická úloha mykoplasmat u urogenitálních infekcí je předmětem interpretace podle specifických doporučení (1,3,7). Patologické koncentrace obvykle zvolené pro *U. urealyticum* jsou: ≥10^4 CCU/mL pro uretrální výtěr, ≥10^3 CCU/mL pro ranní moč nebo sperma (i když nové místní doporučení uvádí prahovou hodnotu ≥10^4 CCU/mL pro sperma (7)). Pro *M. hominis* jeho přítomnost v koncentraci ≥10^4 CCU/mL v cervikovaginálním výtěru je abnormální (1, 3).

Test citlivosti na antibiotika (jamky 4 až 13, a dále 15 až 24)

Posun média v jamkách obsahujících antibiotika odráží schopnost kmene růst v přítomnosti testované koncentrace antibiotika. Žlutá barva média odráží neschopnost kmene růst v přítomnosti testované koncentrace antibiotika.Kmeny jsou popsány jako citlivé nebo odolné vůči antibiotikům podle následujících interpretačních kritérií definovaných CLSI (2):

Tabulka kritérií interpretace pro MIC (µg/mL):

		U.u.		M.h.		Komentáře
Třída	**Antibiotikum**	**S**	**R**	**S**	**R**	
Chinolony	Levofloxacin	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacinum	≤2	≥4	≤0.25	≥0.5	
Linkosamidy	Klindamycin			≤0.25	≥0.5	
Tetracydiny	Tetracydin	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Doxycyklin	≤1	≥2	≤4	≥8	
Makrolidy	Erythromycin	≤8	≥16			Kmeny citlivé na Erytromycin budou citlivé také na Azitromycin

Nápověda pro interpretaci:

U.u. test citlivosti

Antibiotikum	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
Koncentrace (µg/mL)	2	4	int*	2	4	int*	8	16	int*	1	2	int*	1	2	int*
Profily	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	.	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	.	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int* = interpretace

Test citlivosti M.h.

Antibiotikum	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
Koncentrace (µg/mL)	1	2	int*	0.25	0.5	int*	0.25	0.5	int*	4	8	int*	4	8	int*
Profily	-	-	S	-	-	S	-		S	-		S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+		R	+		R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int* = interpretace

Kmen je pokládán za citlivý, když je jeho růst inhibován při dvou kritických koncentracích antibiotika. Kmen je pokládán za odolný, když je jeho růst inhibován při vysoké kritické koncentraci antibiotika a není inhibován při nízké kritické koncentraci nebo když jeho růst není inhibován při dvou kritických koncentracích antibiotika.
M. hominis je přirozeně odolný vůči 14- a 15-karbohydrátovým makrolidům, včetně erythromycinu.
U některých populací může míra odolnosti vůči tetracyklinu dosáhnout 45 % u U.u. a 39,6 % u M.h. (2).Odolnost vůči chinolonům (U.u. a M.h.) (5, 6) a klindamycinu (M.h.) byla popsána, ale prevalence není známa.

10 - ZVLÁŠTNÍ PŘÍPADY

U velmi vysokých úrovní v U.u. nebo M.h. dochází k posunu barvy na červenou u všech jamek, jichž se zárodek týká. Doporučuje se ředit vzorek tak, aby byl dosažen přesnější výsledek.V takovém případě postupujte následovně:
Naočkujte novou lahvičku s 2,6 mL UMMt AMIES s 300 µL originálního Amiesova média, uchovalného při teplotě 2-8 °C (bod 9.1).Naočkujte novou galerii pomocí nového naočkovaného média UMMt AMIES.
Pro interpretaci počtu vezměte v potaz zředění (1:10). Je-li to nezbytné, potvrďte na A7 agaru přítomnost mykoplasmat opětovnou izolací z originálního média UMMt AMIES uchovávaného při teplotě 2-8 °C (bod 9.1). Nestabilní teplota inkubace nebo <36 °C (časté otevírání pece, heterogenita teploty v peci, ...) může zpomalit růstovou kinetiku mykoplasmat.

11 - KONTROLA KVALITY

Kontrolu kvality lze dosáhnout z kmenů *U. urealyticum* a *Mycoplasma hominis* ze sady MYCOPLASMA CONTROL (ZN. 00900) nebo z lyofilizovaného kmene ze sběru (*U. urealyticum* ATCC 27815 nebo *M. hominis* ATCC 23114), předem kalibrovaného na 10^{4-5} CCU/mL.
Detekce: Naočkujte dvě jamky galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* a pokračujte v testu, jak je uvedeno v příbalovém letáku (bod 9.1).
Očekávané výsledky pro kmen:U.u. (+) et M.h. (-);
Číslování, identifikace a test citlivosti: Naočkujte galerii MYCOFAST *RevolutioN* 2 a pokračujte v testu, jak je popsáno v tomto příbalovém letáku (bod 9.2).
Očekávané výsledky viz níže (ATCC):

MYCOFAST *RevolutioN* 2

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

NI:Nelze interpretovat

12 - OMEZENÍ METODY

12.1 - Detekce:

Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* má prahovou hodnotu citlivosti ≤ 103CCU/mL a neumožňuje počítání. Zaznamenané počítání s galerií MYCOFAST *RevolutioN 2* může být po pozitivním výsledku detekce negativní

12.2 - Počítání, identifikace a test citlivosti

Některé bakterie přítomné v množství >10^{6-7} CFU/mL a mající ureázu mohou způsobit posun barvy všech jamek v galerii.Jejich přítomnost může být ověřena reizolováním na čokoládovém agaru z původního média UMMt AMIES uchovávaného při teplotě 2-8 °C (bod 9.2). pH základního vzorku (pH≥ 8) může způsobit posun barvy média. V takovém případě zřeďte vzorek (1:10) v jiném médiu UMMt AMIES a interpretujte s přihlédnutím k ředění.
Kyselé pH vzorku (pH ≤ 5) může zpomalit vznik barevného posunu.
Vzorek obsahující krev může způsobit změnu barev jamek v galeriích

MYCOFAST *RevolutioN* 2, která je interpretovaná jako pozitivní výsledek. V takovém případě zřeďte vzorek (1:10) v jiném médiu UMMt AMIES a interpretujte jej s přihlédnutím k ředění. Vzorek s nízkými hladinami mykoplasmat (<10^3 CCU/mL) může vyvolat náhodný posun barev v různých jamkách v galerii.Pokud jde o jakýkoli způsob vyhledávání zárodků, kvalita vzorku určuje výsledek testu.Negativní test tedy nutně neznamená nepřítomnost infekce.

13 - VÝSLEDKY

13.1 Detekce a diferenciace - Identifikace a počítání

Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Byla provedena srovnávací studie s použitím klinických vaginálních výtěrů (n = 87, obou druhů - U.u. a M.h.) provedených suchými tampony spojenými s jejich transportním médiem (Transwab a VCM - Medical Wire a Eswab - Copan).
Výsledky získané s MYCOFAST Screening *RevolutioN* jsou porovnávány pomocí metody počítání v tekutém mikroředění. Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* :
- Pro detekci obou druhů - U.u. a M.h. je shoda 97,7 %.
Identifikovali jsme 2 falešně negativní hodnoty U.u. pro koncentrace 10^3 rutinní laboratorní metodou CCU/mL s vědomím, že tato koncentrace je u vaginálních vzorků považována za infrapatologickou.Pro U.u. a M.h. je celková shoda 100 % u suprapatologických koncentrací.

- Pro diferenciaci umožnily všechny testované vzorky správnou identifikaci U.u. nebo M.h. v jamkách galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*

13.2 Identifikace, počítání

Přímá metoda galerie MYCOFAST *RevolutioN* 2

% celkové shody		U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolované kmeny (koncentrace ≤ 10^3 CCU/mL)	odečet za 24 hodin	88,9	NA*	NA*
(viz bod 14.1.1 a poznámka 1)	odečet podle bod 9.3	86,7	NA*	NA*
Izolované kmeny (koncentrace ≥ 10^4 CCU/mL)	odečet za 24 hodin	91	96,4	93,7
(viz bod 14.1.1)	odečet podle bod 9.3	82,1	92,5	87,3
Klinické vaginální výtěry (viz bod 14.1.2)	odečet podle bod 9.3	88,2	100	94

NP *: není použitelné

13.2.1 - U izolovaných kmenů

Byla provedena srovnávací studie na 26 izolovaných kmenech (ATCC kmeny a kmeny sběru), které byly testovány odděleně (U.u. nebo M.h.) na 3 referencích transportních médií (Sigma Transwab a Sigma VCM od Medical Wire a ESWab Collection Kit od v BD) v několika koncentracích (celkem 279 testů).
Získané výsledky se porovnávají s výsledky získanými metodou počítání v tekutém mikroředění.
Pro interpretaci s patologickým prahem nastaveným na 10^3 CCU/mL a odečítáním výsledku za 24 hodin; celková shoda pro U.u. je 88,9 % (identifikovali jsme 14 falešně pozitivních hodnot: 13 u koncentrací 10^2 CCU/mL a jednu s koncentrací nižší než 10^2 CCU/mL, a 17 falešně negativních výsledků:11 u koncentrací 10^3 CCU/mL - 5 u koncentrací 10^4 CCU/mL a jednu s koncentrací 10^5 CCU/mL metodou počítání v mikroředění). Pro interpretaci s patologickým prahem nastaveným na 10^4 CCU/mL a odečet výsledku po 24 hodinách; celková shoda pro U.u. je 91 % (identifikovali jsme 18 falešně pozitivních hodnot: s koncentrací 10^2 - 10^3 CCU/mL a 7 falešně negativních hodnot: u koncentrací 10^4 - 10^5 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Celková shoda pro M.h. je 96,4 % pro odečet výsledku za 24 h (uvedli jsme falešně pozitivní hodnoty s koncentrací 10^3 CCU/mL a 9 falešně negativních hodnot u koncentrací 10^4 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Celková shoda U.u. + M.h. s odečtem výsledku za 24 hodin je 93,7 %.
Pro interpretaci s patologickým prahem 10^3 CCU/mL a odečet výsledku podle protokolu popsaného v příbalovém letáku (bod 9.2); celková shoda pro U.u. je 86,7 % (identifikovali jsme 35 falešně pozitivních hodnot: 34 u koncentrací 10^2 CCU/mL a jednu pro nižší koncentraci
- 10^2 CCU/mL a 2 falešně negativní hodnoty: pro koncentrace 10^3 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Pro interpretaci s patologickou prahovou hodnotou stanovenou na 10^4 CCU/mL a četbu výsledku podle protokolu popsaného v příbalovém letáku (bod 9.2); celková shoda pro U.u. je 82,1 % (uvedli jsme 49 falešně pozitivních hodnot: s koncentrací 10^2 - 10^3 CCU/mL a 1 falešně negativní hodnotu: s koncentrací 10^4 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Celková shoda pro M.h. je 92,5 % u četby výsledku podle protokolu popsaného v příbalovém letáku (bod 9.2) (identifikovali jsme 21 falešně pozitivních hodnot s koncentrací 10^2 - 10^3 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Celková shoda U.u. + M.h. s četbou výsledku podle protokolu popsaného v příbalovém letáku (bod 9.3) je 87,3 %.

13.2.2 - Na klinických vzorcích

Byla provedena komparativní studie s použitím vaginálních výtěrů (n = 59) odebraných suchým tamponem spojených s jejich transportním médiem (Sigma Transwab a Sigma VCM od Medical Wire a ESwab Collection Kit od firmy BD).
Výsledky získané s MYCOFAST *RevolutioN* 2 AMIES jsou porovnávány metodou počítání v mikroředění.
Celková shoda pro U.u. je 88,2 % (identifikovali jsme 3 falešně negativní hodnoty u koncentrací 10^4 - 10^5 - 10^6 CCU/mL a 4 falešně pozitivní hodnoty <10^2 - 10^2 a 10^3 CCU/mL metodou počítání v mikroředění).
Pro M.h. je celková shoda 100 %.
Celková shoda U.u. + M.h. je 94 %

13.3 Testy citlivosti

Srovnávací studie byla provedena v národní referenční laboratoři mezi metodou stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) v kapalném médiu a metodou MYCOFAST *RevolutioN* 2. Testované kmeny (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* et 16 *M. hominis*) jsou referenční kmeny, divoké klinické kmeny nebo kmeny, které získaly rezistenci. Každý kmen se testuje při ředění 10^3 až 10^4 a 10^5 CCU/ mL ve 3 mL UMMt.
Pro koncentrace 10^4 et 10^5 CCU/mL byly výsledky odečteny a interpretovány po 24 hodinách inkubace.
U koncentrací 10^3 CCU/mL byly výsledky odečteny a interpretovány po 48 hodinách inkubace, pokud byl test za 24 hodin negativní.
Výsledky obou metod jsou interpretovány jako citlivé (S) nebo rezistentní (R) podle doporučení CLSI.
Celková shoda pro *U. urealyticum / U. parvum* je 95,5 % Celková shoda pro *M. hominis* je 100 %

Shoda	*Ureaplasma urealyticum / parvum* (n=40)					*Mycoplasma hominis* (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[d]	0	0	0	0	0	0

DM:Závažná neshoda, DTM:Velmi závažná neshoda

a : Neshoda u koncentrace 10^3 CCU/mL (referenční MIC 0,5 µg / mL),
4 neshody u koncentrace 10^5 CCU/mL (referenční MIC 0,5 - 1 a 8 µg/mL).
b :1 neshoda získaná při 10^5 CCU/mL (referenční MIC 8 µg/mL).
c :1 neshoda u koncentrace 10^3 CCU/mL (referenční MIC 8 µg/mL).
1 neshoda u koncentrace 10^5 CCU/mL (referenční MIC 2 µg/mL)
d :1 neshoda u koncentrace 10^5 CCU/mL (referenční MIC 4 µg/mL).

14 - LIKVIDACE ODPADU

Odpad musí být zlikvidován v souladu s hygienickými pravidly a předpisy platnými pro tento typ činidel v zemi použití.

15 - ODKAZY

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

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

3 - PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001. Les mycoplasmes ,en pathologie humaine.Revue Française des Laboratoires.Doplněk k č. 329, 34-36.

4 - TAYLOR-ROBINSON D. 1995. Ureaplasma urealyticum (T-strain Mycoplasma) and Mycoplasma hominis, str. 1713-1718.V MAN-DELLG.L. , BENNETJ.E. and DOLIN R. (ed.).Principles and Practices Infectious Diseases, 4. vydání., díl2, Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES KEN B. , BRENDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens.Clin.Microbiol.Rev. 18, č. 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, Díl52, č. 10, 3776-3778.

7 - Rémic 2015 - Référentiel en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5. vydání)

Změny z předchozí verze jsou zvýrazněny šedě.

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