

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 AMIES Revolution
50 testova (REF 00083)

CPB 0396-3-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 otkrivanje i diferencijaciju *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) i *Mycoplasma hominis* (M.h.) iz različitih kliničkih uzoraka uzeti u prijateljskom transportnom mediju ili univerzalnom transportnom mediju. virusa, klamidije, mikoplazme i ureaplazme. Treba se koristiti zajedno s medijima UMMt AMIES Revolution kit (REF 00083).

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, preuranentnost, 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 mikoplazmi u tekućem mediju je vizualiziran promjenom boje indikatora - fenol crvena - od žuto-narančaste do crvene, što prevodi 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.

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

4 – REAGENSI

Opis	Količina		
	Ref 00083	Ref 00082	Ref 00063
UMMt AMIES Bocu od 2.6 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, pakiran u aluminijsku vrećicu s integriranim sušilicom		25	
Zatvarajući sustav: prozirni plastični pokrov za galeriju MYCOFAST Revolution		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 ždribeba, 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 U.u. za razine 10^3 . 10^4 i $\geq 10^5$ CCU/mL

(puferirana otopina i inhibicija rasta linomicina M.h.).
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 (CL) 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	8	1	2	0.25	0.5	0.25	0.5	4	8		
14	Mh $\geq 10^4$	MYCOFAST® Revolution 2										2	DOX
	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 - 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 postupati 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 urogenitalnog 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 pristanju, stoga je potrebno temeljito ostrugati sluznicu kako bi postupak bio učinkovit.

Uretralni uzorci:

Koristite samo štapić s transporterom.

Očistite meso i sakupljajte ga zapljuskivanjem ili struganjem stanica.

6.2 Transport uzoraka

Prijevoz u prijateljskom okruženju ili u univerzalnom okruženju za viruse, klamidiju, mikoplazmu i ureaplazmu Pogledajte upute za uporabu proizvođača

Prijevoz u mediju AMIES-a Otpustite 300 µL inokuliranog transportnog medija u bočicu UMMt AMIES medija.

6.3 Čuvanje uzoraka

Čuvanje u mediju AMIES ili u univerzalnom mediju za virus, klamidiju, mikoplazmu i ureaplazmu

Pogledajte uputu za uporabu Čuvanje u mediju

UMMt AMIES

Nakon inokulacije, medij UMMt AMIES može se čuvati na sobnoj temperaturi (18-25 °C) 20 sati, ili na temperaturi od 2-8 °C tijekom 56 sati. Za čuvanje 3 dana na 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 jažica (U.u.) (M.h.) ili dva, tri ili četiri seta, neupotrijebljeni ostatak kompleta MYCOFAST Screening *RevolutioN*, hermetički zatvoreni u aluminijskoj vrećici može se čuvati 4 tjedna na temperaturi od 2-8 °C.

Suplement M.h. 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 uzorkovanje (štapići s njegovim medijem za transport ili univerzalni medij za virus klamidije, mikoplazme i ureaplazme)

Stabilizator MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)

Pipete i konusni spremnici za

kontaminirani otpad Mineralnog 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 AMIES *RevolutioN*

Ako je transport izvršen u mediju UMMt AMIES inokuliranom s 300µL medija Amies ili univerzalnim medijem za virus, klamidiju, mikoplazmu i ureaplazmu; **zatim odmah prijedite na fazu 9.1.2.**

Ako je prijevoz uzorka izvršen u njegovom mediju AMIES ili u univerzalnom mediju za virus, klamidiju, mikoplazmu i ureaplazmu; zatim stavite 300 µL ovog transportnog medija u bočicu UMMt AMIES.

9.1.2 Inokulacija jažica U.u./M.h.

- Dozirajte prema sljedećem redoslijedu:

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

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

50 µL suplementa M.h.

- Dodajte dvije kapi mineralnog ulja u obje jažice.

- Na jažice stavite etikete i identificirajte uzorak. - **Višak sadržaja iz bočice inokuliranog medija UMMt AMIES** čuvajte na temperaturi od 2-8 °C kako biste u slučaju pozitivnog rezultata 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 kompleta može se produžiti do 48 sati samo u slučaju negativnih testova 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. Zamučeni 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 *Ureaplasma urealyticum*

Jažica M.h. je narančasta ili crvena: Prisutnost *Mycoplasma 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 AMIES

jažice 1-24 2 kapi mineralnog ulja

Pokrijte komplet uključivanjem poklopca "closing system".

Identificirajte uzorak.

Pohranite višak sadržaja iz bočice UMMt AMIES 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. Zamučeni 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 uzorak, ≥10³ CCU/mL za prvi mlaz urina ili spermu (iako nova lokalna preporuka spominje prag od ≥10⁴ CCU/mL za spermu (7)). Za *M. hominis*, prisutnost u koncentraciji od ≥10⁴ CCU/mL u cervikovaginalnom uzorku je abnormalna (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 MİK 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 i eritromicin će također biti osjetljivi na azitromicin

Pomoć pri interpretaciji:

Test osjetljivosti U.u.

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

int*= interpretacija

Test osjetljivosti 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*
Koncentracija (µg/mL)															
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 u visoko kritičnoj koncentraciji antibiotika i nije spriječen u niskoj kritičnoj koncentraciji, ili kada njegov rast nije spriječen 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 U.u. 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:

Inkubirajte novu bočicu UMMt AMIES zapremine 2,6 mL s 300µL izvornog medija UMMt AMIES pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (§ 9.1). Inkubirajte novu zbirku novog inokuliranog medija UMMt AMIES.

Vodite računa o omjeru razrjeđivanja (1:10) za interpretaciju pobrojanja. Ako je potrebno, na agaru A7 potvrdite prisutnost mikoplazmi ponovnim izoliranjem iz izvornog medija UMMt AMIES 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

Le contrôle qualité peut être réalisé à partir des souches d'*U. urealyticum* et de *Mycoplasma hominis* du coffret MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ou à partir d'une souche de collection lyophilisée (*U. urealyticum* ATCC 27815 ou *M. hominis* ATCC 23114) préalablement cali-brée à 10⁴⁻⁵ CCU/mL.

Praćenje: Inkubirajte dvije jažice iz jedne zbirke MYCOFAST Screening *RevolutioN* i nastavite s testom na način kako je opisano u ovoj uputi (§ 9.1).

Očekivani rezultati za soj: U.u. (+) i M.h. (-);

Prebrojavanje, identifikacija i ispitivanje osjetljivosti: Inkubirajte zbirku MYCOFAST *RevolutioN* 2 i nastavite testiranje na način kako je opisano u ovoj uputi (§ 9.2).

Očekivani rezultati u nastavku (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
Soj U.u. ATCC 27815	+	+	+/-	NI	S	S	S	S/R	S	NI
Soj M.h. ATCC 23114	NI	NI	NI	+	S/R	S	NI	S	S	S

NI :Nije moguće interpretirati

12 - OGRANIČENJA METODE

12.1 - Probir:

Komplete 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 AMIES pohranjenog na temperaturi od 2-8 °C (§ 9.2). pH-vrijednost osnovnog uzorka (pH > 8) može promijeniti boju medija. U tom slučaju razrijedite uzorak (1:10) u drugom mediju UMMt AMIES 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 AMIES 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. Stoga negativni rezultat ne ukazuje nužno na odsutnost infekcije.

13 - IZVEDBE

13.1 Probir i diferencijacija- Identifikacija i prebrojavanje

Komplet MYCOFAST Screening *Revolution*

Komparativna studija provedena je iz kliničkih vaginalnih uzoraka (n=87 za 2 vrste U.u. i M.h.) na suhim brisevima u njihovom transportnom mediju (Transwab i VCM - Medical Wire i Eswab - Copan).

Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST Screening *Revolution* uspoređeni su s metodom prebrojavanja u tekućoj mikro- otopini. Komplet MYCOFAST Screening *Revolution* :

- Kod probira dviju vrsta U.u. i M.h., podudarnost je 97,7%.

Naveli smo 2 lažna negativna rezultata 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 za supra-patološke koncentracije iznosi 100%.

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

13.2 Identifikacija, prebrojavanje

Izravna metoda kompleta MYCOFAST *Revolution* 2

% ukupne podudarnosti		U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolirani sojevi (koncentracija ≤ 10 ³ CCU/mL) (vidi § 14.1.1 i napomenu 1)	očitavanje za 24 sata	88,9	NA*	NA*
	očitavanje prema § 9.3	86,7	NA*	NA*
Izolirani sojevi (koncentracija ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (vidi § 14.1.1)	očitavanje za 24 sata	91	96,4	93,7
	očitavanje prema § 9.3	82,1	92,5	87,3
Vaginalni klinički uzorci (vidi § 14.1.2)	očitavanje prema § 9.3	88,2	100	94

NA *: nije primjenjivo

13.2.1 - Na izoliranim sojevima

Komparativna studija provedena je na 26 izoliranih sojeva (sojevi ATCC i sojevi iz zbirke) koji su testirani odvojeno (U.u. ili M.h.) na 3 reference za transportni medij (Sigma Transwab i Sigma VCM iz Medical Wire i ESwab Collection Kit iz BD) u nekoliko koncentracija (ukupno 279 testova).

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

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od 10³ CCU/mL i očitavanje rezultata nakon 24 sata; ukupna podudarnost za U.u. je 88,9% (imamo 14 lažnih pozitivnih rezultata: 13 za koncentraciju od 10² CCU/mL i za koncentraciju nižu od 10² CCU/mL i 17 lažnih negativnih rezultata :11 za koncentraciju od 10³ CCU/mL – 5 za koncentraciju od 10⁴ CCU/mL i jedan za koncentraciju od 10⁵ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini). Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom koncentracije 10⁴ CCU/mL i očitavanjem rezultata nakon 24 sata; ukupna podudarnost za U.u. je 91% (imamo 18 lažnih pozitivnih rezultata: za koncentraciju od 10² – 10³ CCU/mL i 7 lažnih negativnih rezultata : za koncentraciju od 10⁴ - 10⁵ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Ukupna podudarnost za M.h. je 96,4% za očitavanje rezultata nakon 24 sata (imamo jedan lažni pozitivni rezultat za koncentraciju 10³ CCU/mL i 9 lažnih negativnih rezultata za koncentraciju 10⁴ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini). Ukupna podudarnost U.u. + M.h. s očitavanjem rezultata nakon 24 sata je 93,7%.

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom 10³ CCU/mL i očitavanjem rezultata prema protokolu opisanom u uputi (§ 9.2); ukupna podudarnost za U.u. je 86,7% (imamo 35 lažnih pozitivnih rezultata: 34 za koncentraciju 10² CCU/mL i jedan za koncentraciju nižu od 10² CCU/mL i 2 lažna negativna rezultata : za koncentraciju 10³ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Za interpretaciju s fiksnim patološkim pragom od 10⁴ CCU/mL i očitavanjem rezultata prema protokolu opisanom u uputi (§ 9.2); ukupna podudarnost za U.u. je 82,1% (imamo 49 lažnih pozitivnih rezultata: za koncentraciju 10² - 10³ CCU/mL i 1 lažni negativni rezultat : za koncentraciju 10⁴ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini. en méthode de numération en micro dilution).

Ukupna podudarnost za M.h. je 92,5% za očitavanje rezultata prema protokolu opisanom u uputi (§ 9.2) (imamo 21 lažni pozitivni rezultat za koncentraciju 10² – 10³ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Ukupna podudarnost U.u. + M.h. s očitavanjem rezultata prema protokolu u uputi (§ 9.3) je 87,3%.

13.2.2 - Na kliničkim uzorcima

Komparativna studija provedena je iz kliničkih vaginalnih uzoraka (n=59) na suhim brisevima u njihovom transportnom mediju (Sigma Transwab et Sigma VCM iz Medical Wire i ESwab Collection Kit iz BD).

Rezultati dobiveni pomoću kompleta MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES uspoređeni su s metodom prebrojavanja u tekućoj mikro-otopini.

Ukupna podudarnost za U.u. iznosi 88,2% (imamo 3 lažna negativna rezultata za koncentracije 10⁴ – 10⁵ – 10⁶ CCU/mL i 4 lažna pozitivna rezultata za koncentracije <10² – 10² i 10³ CCU/mL kod metode prebrojavanja u mikro-otopini).

Ukupna podudarnost za M.h. iznosi 100%.

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

13.3 Testovi osjetljivosti

U nacionalnom referentnom laboratoriju provedena je usporedna studija 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 et 10⁵ CCU/mL u 3 mL UMMt.

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

Kod koncentracija od 10³ UCC/ml, rezultati su pročitani i interpretirani nakon 48 sati inkubacije, ako je test bio negativan nakon 24 sata.

Sukladno preporukama CLSI, rezultati dobiveni primjenom obiju 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 _d	0	0	0	0	0	0

DM:Značajna nepodudarnost, DTM :Vrlo velika nepodudarnost

a : Odstupanje dobiveno pri koncentraciji 10³ CCU/mL (referentni MIK od 0,5 µg/ mL), 4 odstupanja dobivena pri koncentraciji 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 0,5-1 i 8 µg/mL).

b : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 8 µg/mL).

c : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10³ CCU/mL (referentni MIK od 8 µg/mL).

d : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 2 µg/mL)

1 : 1 odstupanje dobiveno pri koncentraciji od 10⁵ CCU/mL (referentni MIK od 4 µg/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 MANDLGG.L., BENNETJ.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed., vol.2, Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES KEN B., BRENDKATZ 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