

Urogenitális mikoplazmák diagnosztizálása MYCOFAST Screening Revolution

Kimutatás és differenciálás
50 teszt (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2

Számozás, azonosítás és érzékenységi vizsgálat
25 teszt (REF 00082)

UMMt AMIES Revolution
50 teszt (REF 00083)

CPB 0396-3-HU-2018-03

In vitro diagnosztikához, csak professzionális használatra
A tesztek egyszer használatosak



I - CÉL

A MYCOFAST Screening Revolution kit (REF 00063) lehetővé teszi az *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) és a *Mycoplasma hominis* (M.h.) kimutatását és differenciálódását különböző klinikai mintákból, baráti szállítási közegben vagy univerzális hordozóközegben, vírusok, chlamydia, mycoplasma és ureaplasma. Ezt az UMMt AMIES Revolution készlet (REF 00083) adathordozójával együtt kell használni. Pozitív szűrés esetén az elemzés kiegészíthető a COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2 készlet (REF 00082) segítségével, amely lehetővé teszi az U.u. és / vagy M.h. számlálását és azonosítását, valamint az antibiotikum érzékenységi vizsgálatot a CLSI (Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet) (2).

2 – BEVEZETÉS

A mycoplasmák, amelyeknek több fajtája emberben napjainkban be van jegyezve, a molikulák osztályába tartoznak. Sokféleképpen különböznek más baktériumoktól, beleértve a fal hiányát, amely természetes β-laktám rezisztenciát biztosít, és a szterintartalmú membránt az eukarióta sejtek membránjától, amelyhez hozzájuk kapcsolódik. A mikoplazmák viszonylag törékeny szervezetek, amelyek csak számos növekedési faktor jelenlétében, és optimális 37 °C-os hőmérsékleten (4) szaporodnak acelluláris közegben. A legtöbb humán mikoplazma egyszerű daganatos. Az urogenitális traktus, az *U. urealyticum* és az *M. hominis* izolált fajtái leggyakrabban megtalálhatók. Az *U. urealyticum* faj két biovarra oszlik: *U. urealyticum* és *U. parvum* (Uu). U.u. vagy M.h. viselkedhet, mint valódi kórokozók. Ők felelősek a nemi genitális fertőzésekért (nem-gonokokus urethritis, epididymitis, prostatitis, meddőség); nőgyógyászati fertőzés (bakteriális vaginosis, endometritis, salpingitis); reproduktív rendellenességek (chorioamnionitis, postpartum endometritis, prematurity, spontán abortusz); újszülöttkori támadások (alacsony születési súly, légúti fertőzések, neurológiai fertőzések, bakterémiák, tályog); extragenitalis fertőzések (szeptikus ízületi gyulladás, reaktív ízületi gyulladás, egyébként lokális) (1). A mycoplasma fertőzések diagnosztizálása a kóros küszöb meghatározásától, és ezáltal a számtól függ. Az U.u. és M.h. rezisztenciájának megjelenése bizonyos molekulákhoz antibiotikus érzékenységi teszthez vezet (5, 6). A tesztelt antibiotikumok és az értelmezési kritériumok alkalmasak a mycoplasma fertőzések kezelésére az urogenitális traktusban vagy más extragenitalis helyeken (2).

3 - ELV

MYCOFAST szűrés A Revolution folyadékközeli módszer az U.u. képességén alapul, és az M.h. karbamid és arginin metabolizálására. A mikoplazmák folyékony közegben történő növekedését vizuálisan egy színes jelző - fenolvörös - sárga-narancssárga-vörös színűvé teszi, ami az ammónia felszabadulása miatt a közeg lúgosítását jelzi. Az így vizualizált mikoplazmák növekedése lehetővé teszi:
- az észlelést és a differenciálást; majd pozitív eredmény esetén:
- a szubsztrátok hidrolízis sebességén alapuló számlálást, amely: arányos a mintában szereplő kórokozók mennyiségével.
- a kórokozó érzékenysége alapján azonosítását három antibiotikummal szemben.
- az U.u. és M.h. antibiotikumok érzékenysége vizsgálatát.

4 – REAGENSEK

Leírás	Mennyiség		
	Ref 00083	Ref 00082	Ref 00063
UMMt AMIES: 2,6 mL mycoplasma húsleves üvege antibiotikumokkal és tartósítószerrel. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: 10-lyukú törésű galéria 5 teszthez, külön csomagolva fóliatásakhoz szárítószerrel			10
Címkék: 5 darab törhető címke			10
S.Mh: Mh növekedési aktivátor (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution 2: 24 üreges galéria 1 teszthez, alumínium zacskóba csomagolva, integrált szárítószerrel		25	
Záró rendszer: áttetsző műanyag burkolat a MYCOFAST Revolution galériához		25	

MYCOFAST Screening Revolution tálcá

A tálcá 5 darab 2 mélyedéssel sorozatból áll: egy *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) mélyedés linkomicint és karbamidot tartalmaz, és egy *mycoplasma hominis* (M.h.) mélyedés eritromicint és arginint tartalmaz.

MYCOFAST Revolution 2 tálcá

A tálcá a 24 mélyedésben növekedési közeget tartalmaz dehidratált formában (csikószerű, élesztőkivonat, cisztein, arginin, karbamid, fenolvörös, antibiotikumok, pH:6,1 ± 0,1) és 2 különálló részből áll:
- az antibiotikumokkal szembeni érzékenység számlálására és értékelésére szánt rész U.u. faj tekintetében (a címkén fekete mélyedések).
- az antibiotikumokkal szembeni érzékenység számlálására és értékelésére szánt rész M.h. fajra nézve (a címkén piros színű mélyedések).

Az U.u. faj diagnosztizálására szánt rész (fekete):

Hát 1/2 / 3: Az azonosító és U.u. szám 10^3 , 10^4 és $\geq 10^5$ CCU/mL (pufferelt oldat és linomicin gátló növekedése M.h.).

Hát 4/5: Az U.u. érzékenységének értékelése Levofloxacinra (LVX) 2/4 µg / mL-re

Hát 6/7: Az U.u. érzékenysége Moxifloxacinra (MXF) 2/4 µg / mL-ben

Hát 8/9: Az U.u. érzékenységének értékelése eritromicinre (ERY) 8/16 µg / mL-ben

Hát 10/11: Az U.u. érzékenységének értékelése a tetraciklinre (TET) 1-2 µg / mL

Hát 12/13: Az U.u. érzékenységének értékelése doksiciklinre (DOX) 1-2 µg / mL

A M.h. faj (piros) diagnosztizálásának része:

Hát 14: M.h. azonosítása és számlálása $\geq 10^4$ CCU/mL szintre

Hát 15/16: Az M.h. doksiciklin (DOX) érzékenységének értékelése 4-8 µg / mL

Hát 17/18: Az M.h. és Levofloxacin (LVX) érzékenysége 1-2 µg / mL

Hát 19/20: Az M.h.-nak a Moxifloxacin (MXF) érzékenységének értékelése 0,25-0,5 µg / mL

Hát 21/22: Az M.h.-nek a Clindamycin (CLI) érzékenysége 0,25-0,5 µg / mL

Hát 23/24: Az M.h. tetraciklin (TET) érzékenységének értékelése 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	MYCOFAST® Revolution 2										2	DOX
	Uu											1	12
				2	4	2	4	8	16	1	2		
		Uu	Uu	LVX		MXF		ERY		TET			
		10 ⁴	≥10 ⁵	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

5- A FOGLALKOZTATÁSRA VONATKOZÓ ÖVINTÉZKEDÉSEK

A készletben lévő reagensek csak in vitro diagnosztikai célokra szolgálnak, és azokat felhatalmazott személyek kezelhetik.

A beoltott minták és reagensek potenciálisan fertőzőek, azokat a szokásos övintézkedésekkel kell kezelni a higiéniai szabályok és a termék országában érvényes előírásoknak megfelelően.

Az állati eredetű nyersanyagokat tartalmazó reageneket a szokásos övintézkedésekkel kell kezelni.

Ne használjon reageneket a lejáratú időn túl.

Használat előtt ne használjon sérült vagy rosszul tárolt reageneket.

A MYCOFAST Revolution galérián pozitív eredmény tükrözi az urogenitális mycoplasma kolonizációját, de önmagában nem használható klinikai diagnózis kialakítására.

Ezt orvosnak kell elvégeznie a biológiai eredmények és a klinikai tünetek alapján.

6 - A MINTÁK ÖSSZEJÚJTÉSE ÉS FELDOLGOZÁSA

6.1. A minták összegyűjtése

Cervico-hüvelyi tampon

Csak Dacron vagy műselyem tampon vagy csepegtetőt használjon. Vegye ki a mintát az exocolaris váladékok óvatos eltávolításával egy első tamponnal. Mycoplasma erős affinitást mutatnak a nyálkahártya sejtek általuk követett, elengedhetetlen, hogy kaparja a bélés, hogy kap egy jó vizsztatéri.

Urethrikus törőköndő: Csak a szállítóeszközzel ellátott tampon használjon. Tisztítsa meg a húsdarabot, és gyűjtse össze a sejtek rángatásával vagy kaparásával.

6.2 UMMt környezetben történő szállítás

Szállítás AMIES közegben vagy univerzális közegben vírusok, klamidia mikoplazma és ureaplazma esetében Lásd a gyártó használati utasítását

Szállítás UMMt AMIES közegben

Helyezzen 300 µL beoltott szállítóközeget egy UMMt AMIES tápközegű edénybe

6.3 A minták megőrzése

Megőrzés AMIES közegben vagy univerzális közegben vírusok, klamidia, mikoplazma és ureaplazma esetén

Lásd a gyártó használati utasítását Megőrzés

UMMt AMIES közegben

Az UMMt AMIES tápközeg beoltása után szobahőmérsékleten (18-25 °C) 20 órán át, vagy 2-8 °C-on 56 órán keresztül tárolható. 3 napos, -20 °C-on történő tároláshoz előzetesen 2 csepp "MYCOPLASMA Stabilizátort" kell a közegekhez adni.

7 - REAGENSEK ELKÉSZÍTÉSE ÉS TÁROLÁSA

A 2-8 °C között eredeti állapotukban tárolt reagensek a címkéken jelzett lejárati időig tarthatók el.

Ha egyetlen mélyedéssorozat (U.u.) (M.h.) vagy két, három, négy mélyedéssorozatát használunk, akkor a MYCOFAST Screening *Revolution*N tálcá fel nem használt része az eredeti alumínium tasakban hermetikusan lezárva 4 hétig tárolható el 2-8 °C-on.

Az M.h. kiegészítő 3 hónapig tartható el felbontás után.

Az UMMt-tápközeg ideiglenesen (3 hónapig) tárolható szobahőmérsékleten tárolható, de jobb eltarthatóságot mutat 2-8 °C-on.

Ne fagyassza le a készlet reagenseit.

8 - SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

Mintavevő eszközök (Amies szállítóközeghez vagy univerzális szállítóközeghez kapcsolt tampon klamidia vírus, mikoplazma és ureaplazma esetén)

MYCOPLASMA Stabiilizátor (REF 00064)

Pipetták és átvívó kúpok Szennyezett

hulladék tartályok Ásványi olaj

37 ± 1 °C-ra kalibrált laboratóriumi kemence

9 - MŰKÖDÉS

A reagenseket 20-30 percig szobahőmérsékletre visszük.

9.1 SZŰRÉS- MYCOFAST Screening *Revolution*N - Készítsünk

annyi mélyedéssorozatot amennyi vizsgálandó mintánk van.

- Szükség esetén szeparáljunk egy vagy több (U.u.) / (M.h.)

mélyedéssorozatot a tálcán lévő jelölésekkel.

9.1.1 Az UMMt AMIES *Revolution*N közeg beoltása

Ha a szállítást UMMt AMIES táptalajon végeztük, amelybe 300 µL AMIES-tápközegot oltottunk be, vagy univerzális táptalajon, vírusok, klamidia, mikoplazma és ureaplazma esetén, **akkor lépjen tovább a 9.1.2. lépésre.**

Ha a minta szállítását az AMIES tápközegben vagy univerzális tápközegben hajtották végre vírus, klamidia, mikoplazma és ureaplazma esetében, akkor a szállítóközegeből 300 µL-t át kell helyezni egy UMMt AMIES üvegbe.

9.1.2 U.u. / M.h.-mélyedések beoltása

- Fokozatosan elosztva:

(U.u.) mélyedések: 100 µL UMMt AMIES közeg beoltva.

(M.h.) mélyedések: 100 µL UMMt AMIES közeg beoltva.

50 µL Mh kiegészítő

- Juttasson 2 csepp ásványi olajat mindkét mélyedésba.

- Fedje le a mélyedéseket a törővonallal ellátott címkével és azonosítsa a mintát. - **Őrizz meg a beoltott UMMt AMIES** táptalajú üveg többletét 2-8 °C közötti hőmérsékleten az elemzés folytatásához pozitív szűrés esetén.

9.1.3 U.u. / M.h. mélyedések inkubálása

Inkubáljuk a mélyedéseket 24 órán át 37 ± 1 °C-on. A tálcá inkubációja csak abban az esetben hosszabbítható meg 48 órára, ha 24 órán belül negatív folyadékmintánk van.

9.1.4 Az U.u. / M.h. mélyedések leolvasása és értelmezése

- Ellenőrizze, hogy a két mélyedés (U.u.) (M.h.) tiszta. A zavaros mélyedés bakteriális fertőzést jelez. Ebben az esetben ismétlje meg a tesztet.

- Figyelje meg az U.u. és az M.h. mélyedések színváltozását:

Narancssárga vagy vörös U.u. mélyedések: *Ureaplasma urealyticum* jelenléte narancssárga vagy vörös M.h. mélyedések: *Mycoplasma hominis* jelenléte

Sárga U.u. / M.h. mélyedések: Mikoplazma hiánya

Pozitív szűrés esetén folytassa a diagnózist a MYCOFAST *Revolution*N 2 tálcával

9.2 SZÁMLÁLÁS, AZONOSÍTÁS ÉS ÉRZÉKENYSÉGI TESZT

9.2.1 A MYCOFAST *Revolution*N 2 tálcá beoltása

Távolítsa el a ragasztó fóliát a fül lehúzásával, és ossza szét egymás után a mélyedéseken:

1-24. mélyedések 100 µL UMMt AMIES tápközeg beoltva

1-24. mélyedések 2 csepp ásványi olaj

Fedje be a tálcát a "rendszer lezárása" fedéllel.

Azonosítsa a mintát.

Conserver l'excédent du flacon UMMt AMIES à 2-8 °C pendant au moins 48 heures afin de permettre une vérification éventuelle.

9.2.2 A tálcá inkubálása

Inkubálja a tálcát 37 ± 1 °C-on 24 órán keresztül.

Az U.u. és az M.h. számozásához olvassa le az eredményeket 24 órán belül. A tálcá inkubációja csak 24 órán belüli negatív folyadékminták esetén hosszabbítható meg 48 órával.

9.2.3 Leolvasás és értelmezés

Ellenőrizze, hogy a tálcá összes mélyedése tiszta. A zavaros mélyedés bakteriális fertőzést jelez. Ebben az esetben ismétlje meg az elemzést. Az urogenitális mikoplazmák növekedése a mélyedésekben a vörös színűre változó táptalaj lúgosodását eredményezi. Az urogenitális mikoplazmák növekedésének hiányában a táptalaj sárga marad. A narancssárga színezéket pozitív tesznek (határérték) kell tekinteni. Lásd az eredmények adatlapját a teszt értelmezéséhez.

Számozás (1., 2., 3. és 14. mélyedések)

Határozza meg azokat a mélyedéseket amelyek vörösre változtak, és értelmezze:

1	U.u. arány 10 ³ CCU/mL
1 és 2	U.u. arány 10 ⁴ CCU/mL
1, 2 és 3	U.u. arány ≥ 10 ⁵ CCU/mL
14	M.h. arány ≥ 10 ⁴ CCU/mL

A mikoplazmák patogén szerepe az urogenitális fertőzésekben specifikus ajánlások szerint értelmezendő (1,3,7). Az *U. urealyticum* általánosságban megőrzött patológiai arányai a következők: ≥10⁴ CCU/mL uretrális minta esetén, ≥10³ CCU/mL első vizeletsugárhoz vagy spermához (bár egy új helyi ajánlás szerinti küszöb ≥10⁴ CCU/mL sperma esetén (7)). *M. hominis* esetén ha a jelenléti arány ≥10⁴ CCU/mL, az a cervikovaginális mintában abnormálisnak számít (1,3).

Antibiotikum érzékenységi vizsgálat (4-13. és 15-24. mélyedések)

Az antibiotikumot tartalmazó közeg átváltozása a mélyedésekben a törzs fejlődésének a képességét mutatja az antibiotikum tesztelt koncentrációjának jelenlétében. A táptalaj sárga színe azt jelzi, hogy a törzs nem képes fejlődni az antibiotikum tesztelt koncentrációjának jelenlétében. A törzseket érzékenynek vagy antibiotikumokkal szemben rezisztensnek tekintik a CLSI (2) által definiált alábbi értelmezési feltételek szerint:

MIC értelmezési feltételek táblázata (µg/ml):

Osztály	Antibiotikum	U.u.		M.h.		Megjegyzések
		S	R	S	R	
Kinolonok	Levofloxacin	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
Linkozamidok	Klindamicin			≤0,25	≥0,5	
Tetraciklinek	Tetracidin	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Doxiciklin	≤1	≥2	≤4	≥8	
makrolidok	Eritromicin	≤8	≥16			Ha a törzsek érzékenyek az eritromicinre, érzékenyek lesznek az azitromicinre is

Értelmezési segédlet:

U.u. érzékenységi teszt

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

int* = értelmezés

M.h. érzékenységi vizsgálat

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

int* = értelmezés

A törzs érzékenynek tekintendő, ha a szaporodását az antibiotikum két kritikus koncentrációja gátolja. A törzs rezisztensnek tekintendő, ha a szaporodását az antibiotikum kritikus magas koncentrációja gátolja, és a kritikus alacsony koncentrációja nem gátolja, vagy ha a szaporodását nem gátolja az antibiotikum két kritikus koncentrációja.

Az *M. hominis* természetesen rezisztens a 14- és 15-tagú makrolidokkal szemben, köztük az eritromicinnel szemben is.

Néhány populációban a tetraciklin rezisztencia mértéke elérheti a 45% -ot U.u.-ra nézve a 39,6% -ot (M.h.-ra nézve (2)). A kinolonokkal (U.u. és M.h.) (5, 6) és a klindamicinnel (M.h.) szembeni rezisztenciák le lettek írva, de prevalencia nem ismert.

10 - KÜLÖNLEGES ESETEK

Nagyon magas U.u. vagy M.h. arányok esetén a kórokozó által érintett összes mélyedés vörösre változik. Ekkor ajánlatos a minta hígítása pontosabb eredmény elérése érdekében. Ebben az esetben a következőképpen járjon el:

Oltson be egy új 2,6 mL-es UMMt AMIES üveget 300 µL eredeti állapotában 2-8 °C-on tárolt UMMt AMIES tápközeggel (§ 9.1). Oltson be egy új tálcát egy új beoltott UMMt AMIES tápközeg segítségével.

Vegyük figyelembe a hígítást (1:10) a számozás értelmezésekor. Szükség esetén erősítse meg az A7 agaron a mikoplazmák jelenlétét az eredeti, 2-8 °C-on tárolt UMMt AMIES tápközegből történő újraolvasással (§ 9.1).

Nem állandó vagy 36 °C alatti inkubációs hőmérséklet (a sütő gyakori nyitogatása, a kemencében a hőmérséklet heterogenitása ...) lelassíthatja a mikoplazmák növekedési kinetikáját.

11 - MINŐSÉGELLENŐRZÉS

A minőségellenőrzés végezhető *U. urealyticum* és *Mycoplasma hominis* alapján a MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) készletből vagy egy liofilizált gyűjtés (*U. urealyticum* ATCC 27815 vagy *M. hominis* ATCC 23114) előzetesen kalibrált 10⁴⁻⁵ CCU/mL törzse alapján.

Szűrés : Oltsa be a MYCOFAST Screening *Revolution*N tálcá két mélyedését, és folytassa a vizsgálatot a tájékoztató (§ 9.1.) szerint.

A törzs várható eredményei: U.u. (+) et M.h. (-);

Számozás, azonosítás és érzékenységi vizsgálat: Be kell oltani a MYCOFAST *Revolution*N 2 tálcát és a tájékoztatóban szereplő módon el kell végezni a tesztet (§ 9.2)

Alább láthatóak a várható eredmények (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. törzs ATCC 27815	+	+	+/-	NI	S	S	S	S/R	S	NI
M.h. törzs ATCC 23114.	NI	NI	NI	+	S/R	S	NI	S	S	S

NI :Nem értelmezhető

12 - A MÓDSZER KORLÁTAI

12.1 - Szűrés:

A MYCOFAST Screening *RevolutioN* érzékenységi küszöbértéke ≤ 10³ CCU/mL és nem teszi lehetővé a számlálást. A MYCOFAST *RevolutioN* 2 tálcával kapott számlálás pozitív szűrés után lehet negatív.

12.2 Számlálás, azonosítás és érzékenységi vizsgálat

- Egyes baktériumok, melyek jelenlétének mennyisége > 10⁶⁻⁷ CFU/mL és melyek ureázzal rendelkeznek, a tálcában lévő összes mélyedés elváltozását okozhatják. A jelenlétük ellenőrizhető a 2-8 °C-on tárolt eredeti UMMT AMIES táptalaj újraizolálásával csokoládé agaron (§ 9.2). Bázikus minta pH-ja (pH > 8) megváltoztathatja a táptalajt. Ebben az esetben hígítsa a mintát (1:10) egy másik UMMT AMIES közegben, és értelmezze azt a hígítás figyelembevételével.

Savas minta pH-ja (pH ≤ 5) lelassíthatja a színeltolódás megjelenését.

- Vért tartalmazó minta a MYCOFAST *RevolutioN* 2 tálcá mélyedéseinek a színelváltozását okozhatja, ez pozitív eredményként értelmezhető. Ebben az esetben hígítsa a mintát (1:10) egy másik UMMT AMIES közegben, és értelmezze azt a hígítás figyelembevételével. - Kevés mikoplazmát tartalmazó minta (<10³ CCU/mL) véletlenszerű elváltozást okozhat a tálcá különböző mélyedéseiben. A kórokozók keresésének bármely módszerénél a minta minősége határozza meg a vizsgálat eredményét. Negatív teszt tehát nem minden esetben jelenti azt, hogy nincs fertőzés.

13 - EREDMÉNYEK

13.1 Szűrés és differenciálás - azonosítás és számozás

MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá

Összehasonlító vizsgálatot végeztünk klinikai vaginális mintákkal (n = 87, mind U.u., mind M.h. faj esetében) száraz tamponokon, amelyek a közlekedési táptalajhoz kapcsolódtak (Transwab és VCM - Medical Wire és Eswab - Copan).

A MYCOFAST Screening *RevolutioN* segítségével kapott eredményeket összehasonlítottuk a folyékony mikrohígítás számlálási módszerrel. MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá :

- A 2 U.u. és M.h. faj szűrése esetében az egyezés 97,7%.

2 hamis negatív U.u. eredményt azonosítottunk, melyek aránya 10³ CCU/mL laboratóriumi rutinvizsgálattal, annak ismeretében, hogy ez az arány vaginális minták esetén a patológiai érték alatt van. U.u. és M.h. esetében a supra-patológias arányok teljes egyezése 100%.

- A differenciálás érdekében a vizsgált összes mintavétel lehetővé tette az Uu vagy Mh helyes azonosítását a MYCOFAST Screening *RevolutioN* tálcá mélyedéseiben.

13.2 Azonosítás és számozás

Direkt módszer MYCOFAST *RevolutioN* 2

% teljes egyezés		U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Izolált törzsek (arány ≤ 10 ³ CCU/mL) (lásd a 14.1.1. pontot és az 1. megjegyzést)	leolvasás 24 óra után	88,9	NA*	NA*
	leolvasás a § 9.3 szerint	86,7	NA*	NA*
Izolált törzsek (arány ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (lásd § 14.1.1)	leolvasás 24 óra után	91	96,4	93,7
	leolvasás a § 9.3 szerint	82,1	92,5	87,3
Klinikai vaginális minták (lásd § 14.1.2)	leolvasás a § 9.3 szerint	88,2	100	94

NA *: nem alkalmazható

13.2.1 - Izolált törzseken

Összehasonlító vizsgálatot végeztünk 26 izolált törzsrre (ATCC törzsek és gyűjtési törzsek) külön vizsgálva (U.u. vagy M.h.) 3 transzportközeg referencián (Sigma Transwab és Sigma VCM Medical Wire és ESwab Collection Kit a BD-ben) több koncentrációban (összesen 279 teszt).

A kapott eredményeket összehasonlítottuk mikrohígításos számlálási módszerrel.

10³ CCU/mL-re beállított kóros küszöbértékkel és az eredmény 24 óra utáni leolvasásával az Uu teljes egyezése 88,9% (14 hamis pozitívum eredményt azonosítottunk: 13-at, melyek aránya 10² CCU/mL és egyet, melynek az aránya nem éri el a 10² CCU/mL-t, továbbá 17 hamis negatív mintát azonosítottunk :11-et, melyek aránya 10³ CCU/m – 5-öt, melyek aránya 10⁴ CCU/mL egyet, melynek az aránya 10⁵ CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel). 10⁴ CCU/mL-re beállított kóros küszöbértékkel és az eredmény 24 óra utáni leolvasásával az Uu teljes egyezése 90% (18 hamis pozitív eredményt azonosítottunk 10² – 10³ CCU/mL aránnyal és 7 hamis negatív eredményt azonosítottunk 10⁴-10⁵ CCU/mL aránnyal mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az Mh teljes egyezése 96,4% az eredmény 24 óra utáni leolvasása esetén (egy hamis pozitív eredményt azonosítottunk, melynek aránya 10³ CCU/mL, és 9 hamis negatív, melyek aránya 10⁴ CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az U.u. + M.h. teljes egyezés az eredmény 24 óra utáni leolvasásával 93,7%.

10³ CCU/mL kóros küszöbértékre beállított értelmezés és a tájékoztatóban (§ 9.2) leírt protokoll szerinti eredmény leolvasás esetén az U.u. teljes egyezése 86,7% (35 hamis pozitív eredményt azonosítottunk: 34 aránya 10² CCU/mL, egynek az aránya pedig nem éri el a - 10² CCU/mL értéket, és 2 hamis negatív eredményt azonosítottunk: arányuk 10³ CCU/mL, mikrohígításos számlálási módszerrel).

10⁴ CCU/mL-re rögzített kóros küszöbértékkel és az eredmény betegtájékoztatóban (§ 9.2) leírt protokoll szerinti leolvasása esetén az U.u. teljes egyezése 82,1% (49 hamis pozitív eredményt azonosítottunk 10² - 10³ CCU/mL aránnyal és 1 hamis negatív eredményt 10⁴ CCU/mL aránnyal mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az M.h. teljes egyezése 92,5% az eredmény betegtájékoztatóban (§ 9.2) leírt protokoll szerinti leolvasása esetén (21 hamis pozitív eredményt azonosítottunk 10² – 10³ CCU/mL aránnyal mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az U.u. + M.h. teljes egyezése az eredmény betegtájékoztatóban (§ 9.3)

leírt protokoll szerinti leolvasása esetén 87,3%.

13.2.2 - Klinikai mintákon

Összehasonlító vizsgálatot végeztünk klinikai vaginális mintákkal (n = 59), amelyek a hordozóközegükhöz kapcsolódtak (Sigma Transwab és Sigma VCM a Medical Wire-ből és az ESwab Collection Kit a BD-től).

A MYCOFAST *RevolutioN* 2 AMIES eredményeit összehasonlítottuk mikrohígításos számlálási módszerrel.

Az U.u. teljes egyezése 88,2% (3 hamis negatív eredményt azonosítottunk 10⁴ – 10⁵ CCU/mL aránnyal és 4 hamis pozitív eredményt, melyek aránya <10² – 10² és 10³ CCU/mL mikrohígításos számlálási módszerrel).

Az M.h. teljes egyezése 100%.

Az U.u. + M.h. teljes egyezése 94%

13.3 Érzékenységi tesztek

Az összehasonlító vizsgálatot egy nemzeti referencialaboratóriumban végezték el, a minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározási módszerét hasonlították össze folyadékközegben a MYCOFAST *RevolutioN* 2 módszerrel. A vizsgált törzsek (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* és 16 *M. hominis*) referencia törzsek, klinikai vad törzsek vagy szerzett rezisztenciával rendelkező törzsek. Minden törzs vizsgálati hígítási aránya 10³ – 10⁴ és 10⁵ CCU/mL 3 mL-es UMMT-ben.

10⁴ és 10⁵ CCU/mL arány esetén az eredményeket 24 órás inkubálás után olvasták le és értelmezték.

10³ CCU/mL-nél az eredményeket 48 órás inkubálás után olvasták és értelmezték, ha a vizsgálat negatív volt 24 órán belül. Mindkét módszer eredményeit a CLSI ajánlásoknak megfelelően érzékenyként (S) vagy rezisztensként (R) értelmezik.

A teljes egyezés az *U. urealyticum* / *U. parvum*-ra nézve 95,5%. *M. hominis*-ra nézve a teljes egyezés 100%

	<i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>parvum</i> (n=40)					<i>Mycoplasma hominis</i> (n=28)				
	TET	DOX	MXF	LVX	ERY	TET	DOX	MXF	LVX	CLI
egyezés	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 :teljes éntérés; DTM :nagyot nagy éntérés

a : Eltérés 10³ CCU/mL (referencia MIC 0,5 µg / mL) arányánál, 4 eltérést kaptunk 10⁵ CCU/mL (referencia MIC 0,5-1 és 8 µg / mL) arányánál.

b :1 eltérés 10⁵ CCU/mL arányánál (referencia MIC 8 µg/mL).

c :1 eltérés 10³ CCU/mL arányánál (referencia MIC 8 µg/mL); .

1 eltérés 10⁵ CCU/mL (referencia MIC 2 µg / mL) arányánál

d :1 eltérés 10⁵ CCU/mL arányánál (referencia MIC 4 µg / mL).

14 - HULLADÉKÁRTALMATLANÍTÁS

A hulladékot a felhasználási országban az ilyen típusú reagensekre vonatkozó hatályos higiéniai jogszabályoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

15 - BIBLIOGRÁFIA

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., BENNETJ.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)

A korábbi verziók módosításai szürke színnel vannak jelölve.

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

