

Ако примерокот е земен на AMIES медиум или еднострано за вирус, кламидија, микоплазма и уреоплазма; префрлетите 300µL од овој транспортен медиум во шишето со UMMt AMIES.

9.1.2 Инокулација на епрувети со U.u. / M.h.

- дистрибуирајте последователно:
Епрувети (Uu): 100 µL UMMt AMIES медиум за инокулација.
Епрувети (Mh): 100 µL UMMt AMIES медиум за инокулација.
50 µL додаток на M.h.

- Во двете епрувети додајте 2 капки минерално масло.

- Покријте ги епруветите со деловата етикета и етикетирајте го примерокот за да го идентификувате. - **Чувајте го вишокот UMMt AMIES на 2-8°C** за да продолжите со анализата во случај на позитивен скрининг.

9.1.3 Инкубација на U.u. / M.h. епрувети

Инкубирајте ги епруветите на сталакот 24 часа на 37 ± 1°C. Инкубацијата на сталакот може да се продолжи до 48 часа само во случај на негативни тестови во рок од 24 часа.

9.1.4 Читање и толкување на U.u. / M.h. епрувети

- Проверете, дали двете епрувети (U.u.) (Mh) се чисти. Заматеноста во епруветата укажува на бактериска контаминација. Во овој случај, повторете го тестот.

- Набљудувајте ја промената на бојата на U.u. и M.h. епруветите:

U.u епруветите се портокалови или црвени: присуство на *Ureaplasma urealyticum*

M.h. епруветите се портокалови или црвени: присуство на *Mycoplasma hominis* U.u. / M.h. епрувета жолта: Отсуство на микоплазма

Во случај на позитивен скрининг, продолжете го дијагностицирањето со приборот MYCOFAST Revolution 2

9.2 НУМЕРАЦИЈА, ИДЕНТИФИКАЦИЈА И ТЕСТИРАЊЕ НА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

9.2.1 Инокулација на MYCOFAST Revolution 2

Отстранете ја лепливата фолија со повлекување на јазичето и распоредете го следново во епруветите:

Епрувети 1-24 100 µL инокулиран UMMt AMIES
Епрувети 1-24 2 капки минерално масло

Покријте го инокулираниот прибор со „системот за затворање“.

Идентификувајте го примерокот.

Чувајте го вишокот UMMt AMIES на 2-8°C за најмалку 48 часа, за да се овозможи верификација.

9.2.2 Инкубација на приборот

Инкубирајте го приборот на 37 ± 1°C 24 часа.

За нумерација на U.u. и M.h., прочитајте ги резултатите во рок од 24 часа. Инокулацијата на приборот може да се продолжи до 48 часа само во случај на негативни течни примероци во рок од 24 часа.

9.2.3 Читање и толкување

Проверете дали сите епрувети во приборот се чисти. Заматеноста во епруветите укажува на бактериска контаминација. Во овој случај, повторете ја анализата. Растот на урогениталната микоплазма во епруветите предизвикува алкализација на медиумот, кој станува црвен. Во отсуство на раст на урогениталните микоплазми, медиумот останува жолт. Портокаловата боја треба да се смета како позитивен тест (маргинална стапка). Погледнете го списокот со резултати за толкување на истите.

Број (епрувети 1, 2, 3 и 14)

Означете ги епруветите кои се обиле и протолкувајте ги:

1	U.u. вредност од 10 ³ CCU/mL
1 и 2	U.u. ниво ≥ 10 ⁴ CCU/mL
1, 2 и 3	U.u. ниво. ≥ 10 ⁵ CCU / mL
14	M.h. ниво. ≥ 10 ⁴ CCU / mL

Патолошката улога на микоплазмата кај урогениталните инфекции е предмет на толкување во согласност со конкретните препораки (1,3,7). Патолошките прагови кои обично се избираат за *U. urealyticum* се: ≥10⁴ CCU/mL за уретрален примерок, ≥10³ CCU/mL за првата урина или сперма (иако новата локална препорака споменува праг ≥ 10⁴ CCU/mL за сперма (7)). Присуството на *M. hominis* со праг ≥ 10⁴ CCU/mL во цервиковагиналниот примерок е абнормално (1, 3).

Тест за чувствителност на антибиотици (епрувети од 4 до 13 и од 15 до 24)

Менувањето на бојата на медиумот во епруветите што содржат антибиотик ја одразува способноста на бактеријата да расте во присуство на тестираната концентрација на антибиотик. Жолтата боја на медиумот ја одразува отсуството на раст на бактеријата во присуство на тестираната концентрација на антибиотик. Советите се опишани како чувствителни или отпорни на антибиотици според следните критериуми дефинирани согл. ЦЛСИ (2):

Табела со критериуми за толкување за МИЦ (µg / mL):

Класа	Антибиотик	Uu.		Mh.		Коментари
		S	R	S	R	
Кинололи	Левофлоксацин	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Моксифлоксацин	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
Линкозамиди	Клиндамицин			≤0,25	≥0,5	
Тетрацидини	Тетрацидин	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Доксициклин	≤1	≥2	≤4	≥8	
Макролиди	Еритромицин	≤8	≥16			Организми чувствителни на еритромицин ќе бидат чувствителни и на азитромицин

Помош при толкување:

Тест за чувствителност на U.u.

Антибиотик	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
	2	4	int*	2	4	int*	8	16	int*	1	2	int*	1	2	int*
Концентрација (µg/mL)															
Име на профил	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int * = толкување

Тест за чувствителност на M.h.

Антибиотик	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
	1	2	int*	0,25	0,5	int*	0,25	0,5	int*	4	8	int*	4	8	int*
Концентрација (µg/mL)															
Име на профил	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int * = толкување

Сојот, очигледно е чувствителен, кога неговиот раст е инхибиран од две критични концентрации антибиотици. Сојот е очигледно отпорен кога неговиот раст е инхибиран при високи критични концентрации на антибиотици, а не е инхибиран при ниски критични концентрации или кога неговиот раст не е инхибиран при две критични концентрации антибиотици.
M. hominis е природно отпорен на макролиди од 14- и 15-јаглекхидрати, вклучувајќи го и еритромицинот.

Кај некои популации, стапката на отпорност на тетрациклин може да достигне 45% за U.u. и 39,6% за M.h. (2).Отпорноста на кинололи (U.u. и M.h.) (5, 6) и клиндамицин (M.h.) е опишана, но преваленцата е непозната.

10 - ПОСЕБНИ ПРИМЕРИ

При многу високи нивоа на U.u. или M.h., содржината на сите епрувети на сталакот се претвора во црвена. Затоа се препорачува да се разреди примерокот за да се добие попрецизен резултат. Во овој случај, постапете на следниов начин:

Инокулирајте нова вијала со UMMt AMIES 2,6 mL со 300µL со UMMt AMIES медиум, складирани на 2-8°C (§ 9.1). Искористете го новиот прибор за употреба на новиот инокулиран UMMt AMIES.

Земете предвид разредување (1:10) за да ја протолкувате нумерацијата. Доколку е потребно, потврдете го присуството на микоплазма на A7 агар, со повторно изолирање од првичниот UMMt медиум, складирани на 2-8°C (§ 9.1).

Нестабилната температура на инкубација или <36°C (често отворање на печката, хетерогеност на температурата во печката ...) може да ја забави кинетиката на раст на микоплазмата.

11 - КОНТРОЛА НА КВАЛИТЕТ

Контролата на квалитетот може да се постигне со соеви *U. urealyticum* и *Mycoplasma hominis* од сојот за контрола на МИКОПЛАЗМА (REF 00900) или од лиофилизиран референтен сој (*U. urealyticum* ATCC 27815 или *M. hominis* ATCC 23114), претходно калибриран на 10⁴⁻⁵ CCU / mL.

Скрининг: Инокулирајте две епрувети од приборот MYCOFAST Revolution и продолжете со тестот, како што е наведено во упатството (§ 9.1).

Очекувани резултати: Uu (+) и Mh (-);

Нумерација, идентификација и тест за чувствителност: Инокулирајте го приборот MYCOFAST Revolution 2 и продолжете со тестот, опишан во ова упатство (§ 9.2).

Очекувани резултати подолу (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
Sev U.u. ATCC 27815	+	+	+/-	NI	S	S	S	S/R	S	NI
Sev M.h. ATCC 23114.	NI	NI	NI	+	S/R	S	NI	S	S	S

NI :Не може да се протолкува

12 - ОГРАНИЧУВАЊА НА ПОСТАПКАТА

12.1 - Скрининг:

MYCOFAST Revolution има праг на чувствителност ≤ 10³ CCU / mL и не дозволува нумерација. Добиеното нумерирање со приборот MYCOFAST Revolution 2 3007 може да биде негативно и по позитивен скрининг.

12.2 - Нумерација, идентификација и тест за чувствителност

- Некои бактерии кои се присутни во количества > 10⁶⁻⁷ CFU/mL и содржат уреаза може да предизвикаат менување на бојата на сите епрувети во сталакот. Нивното присуство може да се провери со повторна изолатија на чоколаден агар од оригиналниот UMMt AMIES медиум складирани на 2-8°C (§ 9.2). pH на основниот примерок (pH>8) може да го промени медиумот. Во овој случај, разредете го примерокот (1:10) во друг UMMt медиум и толкувајте ги резултатите земајќи го предвид разредувањето.

Киселата pH вредност на примерокот (pH ≤ 5) може да го забави појавувањето на промена на бојата.

- Примерокот што содржи крв може да предизвика промена на бојата во епруветите MYCOFAST Revolution 2, што се толкува како позитивен резултат. Во овој случај, разредете го примерокот (1:10) во друг UMMt AMIES медиум и толкувајте ги резултатите земајќи го предвид разредувањето. Примерок со мала содржина на микоплазма (<10³ CCU / mL) може да води кон промена на бојата по случаен избор во различните епрувети од сталакот. Како и за секој метод за откривање бактерии, квалитетот на примерокот го одредува резултатот од тестот. Негативниот тест не се толкува како нужна отсуственост на инфекција.

13 - ДОСТИГНУВАЊА

13.1 Скрининг и диференцијација - идентификација и нумерација

MYCOFAST Revolution прибор

Извршена е компаративна студија со користење вагинални брисеви (n = 87, за двата типа U.u. и M.h.) на суви стапчиња за брис, поврзани со нивниот транспортен медиум (Transwab и VCM - Medical Wire и Eswab - Copan)

Резултатите добиени со скринингот со MYCOFAST Revolution ги споредуваме со методот на нумерација во течен микрораствор. MYCOFAST Screening Revolution : За следење на двата вида на U.u. и M.h., усогласеноста е 97,5%.

Наведовме 2 лажно негативни вредности на Uu за нивоа на 10³ CCU/mL при рутински лабораториски методи, кои знаат дека ова ниво се смета за инфралпатолошко за вагинални примероци. За U.u. и M.h., вкупната усогласеност е 100% над супрапатолошкото ниво.

- За диференцијација сите тестови на примерок дозволија

правилна идентификација на U.u. или M.h. во епруветите на MYCOFAST Screening Revolution.

13.2 Идентификација, нумерирање

Директен метод на MYCOFAST *Revolution 2*

% од вкупната усогласеност		У.у.	М.х.	У.у. / М.х.
Изолирани соеви (ниво $\leq 10^3$ CCU / mL) (види § 14.1.1 и фуснота 1)	читање на 24ч	88,9	NA*	NA*
	читање според § 9.3	86,7	NA*	NA*
Изолирани соеви (ниво $\geq 10^4$ CCU / mL) (види § 14.1.1)	читање на 24ч	91	96,4	93,7
	читање според § 9.3	82,1	92,5	87,3
Вагинални клинички примероци (види § 14.1.2)	читање според § 9.3	88,2	100	94

NA *: не се употребува

13.2.1 - На изолирани соеви

Извршена е компаративна студија на 26 изолирани соеви (соеви ATCC и соеви за собирање), тестирани одделно (У.у. или М.х.) на 3 референтни транспортни медиуми (Sigma Transwab и Sigma VCM преку Medical Wire и комплет за собирање ESwab од BD) во неколку концентрации (вкупно 279 тестови).

Добиените резултати се споредуваат со оние добиени со методот на нумерација во течен микрораствор.

За толкување со патолошки праг поставен на 10^3 CCU / mL и читање на резултатот на 24 часа; вкупната усогласеност за UU е 88,9% (наведоме 14 лажно позитивни резултати: 13 за ниво на 10^2 CCU / mL и еден за ниво помал од 10^2 CCU / mL и 17 лажно негативни: 11 за ниво 10^3 CCU / mL - 5 за ниво 10^4 CCU / mL и еден за ниво 10^5 CCU / mL во постапката на микроразредување). За толкување со патолошки праг поставен на 10^4 CCU / mL и читање на резултатот на 24 часа; целокупната усогласеност за У.у. е 91% (пријавени се 18 лажни позитивни резултати: за ниво 10^2 - 10^3 CCU / mL и 7 лажни негативни: за ниво 10^4 - 10^5 CCU / mL во методот на разредување со микроразредување).

Целокупната усогласеност за М.х. е 96,4% за читање на резултатот за 24 часа (пријавени се лажно позитивни резултати за ниво 10^3 CCU / mL и 9 лажни негативни за 10 пати 4 CCU / mL во микрораствор).

Целокупната усогласеност на У.у. + М.х. со читање на резултатот на 24 часа е 93,7%. За толкување со патолошки праг 10^3 CCU / mL и читање на резултатот според протоколот опишан во упатствата (§ 9.2); вкупната усогласеност за У.у. е 86,7% (наведоме 35 лажно позитивни резултати: 34 за ниво 10^2 CCU / mL и еден за пониското ниво - 10^2 CCU / mL и 2 лажно негативни: за 10^3 CCU / mL во процесот на разредување со микроразредување).

За толкување со патолошки праг поставен на 10^4 CCU / mL и читање на резултатот според протоколот опишан во упатството (§ 9.2); вкупната усогласеност за У.у. е 82,1% (пријавени се 49 лажно позитивни резултати: за ниво 10^2 - 10^3 CCU / mL и 1 лажно негативен: за ниво 10^4 CCU / mL во микрораствор).

Целокупната усогласеност за М.х. е 92,5% за читање на резултатот според протоколот опишан во упатството за употреба (§ 9.2) (пријавени беа 21 лажно позитивни резултати за ниво 10^2 - 10^3 CCU / mL во методот на разредување со микроброр).

Вкупната усогласеност на У.у. + М.х. со читање на резултатот според протоколот, опишан во упатството (§ 9.3), е 87,3%.

13.2.2 - За клинички примероци

Извршена е компаративна студија со примена на вагинални брисеви (n = 59) земени со суви стапчиња за брис, поврзани со нивниот транспортен медиум (Sigma Transwab и Sigma VCM од Medical Wire и ESwab Collection Kit од BD).

Резултатите добиени со MYCOFAST *Revolution 2* AMIES се споредуваат со методот на нумерација во микрораствори.

Целокупната усогласеност за У.у. е 88,2% (наведоме 3 лажно негативни резултати за 10^4 - 10^5 - 10^6 CCU/mL и 4 лажни позитивни за $<10^2$ - 10^2 in 10^3 CCU / mL во микрораствор).

Целокупната усогласеност за М.х. е 100%.

Целокупната усогласеност за У.у. + М.х. е 94%

13.3 Тестови за чувствителност

Извршена е компаративна студија во националната референтна лабораторија помеѓу методот за одредување минимални инхибиторни концентрации (МИЦ) во течен медиум и методот MYCOFAST *Revolution 2*. Тестираните соеви (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* и 16 *M. hominis*) се референтни соеви, клинички соеви од див тип или соеви кои стекнале отпорност. Секој сој се тестира при 10^3 - 10^4 и 10^5 CCU / mL.

За концентрации од 10 и 10 RS CCU / mL, резултатите беа прочитани и протолкувани по 24 часа инкубација.

За 10^3 CCU / mL, резултатите беа прочитани и протолкувани по 48 часа инкубацијата, доколку тестот бил негативен во рок од 24 часа.

Резултатите од двата метода се толкуваат како чувствителни (S) или отпорни (R) според препораките на ЦПСИ.

Целосната усогласеност за *U. urealyticum* / *U. parvum* е 95,5% Целосната

усогласеност за *M. hominis* е 100%

Усогласеност	<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
	33	38	40	39	40	28	28	28	28	28
DM	5a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1b	2c	0	1d	0	0	0	0	0	0

DM: Големо несогласување, DTM: Многу големо несогласување

a: Разлика, постигната при 10^3 CCU/mL (референтна МИЦ при 0,5 μ g/mL), 4 отстапувања, постигнати при 10^5 CCU / mL (референтна МИЦ при 0,5-1 и 8 μ g/mL).

b: 1 отстапување, добиено при 10^3 CCU/mL (референтна МИЦ 8 μ g/mL).

c: 1 отстапување, добиено при 10^5 CCU/mL (референтна МИЦ 8 μ g/mL).

d: 1 отстапување, постигнато при 10^5 CCU/mL (референтна МИЦ при 2 μ g/mL)

d: 1 отстапување, добиено при 10^5 CCU/mL (референтна МИЦ 8 μ g/mL).

14 - ОДЛОЖУВАЊЕ ОТПАД

Отпадот мора да се отстранува во согласност со хигиенските прописи и законите што важат за овој тип на реагенси во земјата на употреба.

15 - БИБЛИОГРАФИЈА

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)

Промените од претходната верзија се означени со сива боја.

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

