

Diagnose des urogenitalen Mykoplasmas

MYCOFAST Screening Revolution

Erkennung und Differenzierung
50 Tests (Art. 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+

Zählung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung
25 Tests (Art. 00073)

UMMt Revolution

50 Tests (Art. 00061)

CPB 0396-4-DE-2018-03

Zur *in vitro*-Diagnose, nur für den professionellen Gebrauch bestimmt
Die Tests sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.



1 - ZIEL

Das MYCOFAST Screening *Revolution* (Art. 00063) Kit ermöglicht das Screening und die Differenzierung von *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) und *Mycoplasma hominis* (M.h.) aus verschiedenen klinischen Proben. Es muss in Kombination mit den Medien des UMMt *Revolution* (Art. 00061) verwendet werden. Bei positivem Screening kann die Analyse mit den Galerien des COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution* 2 (Art. 00073) Kits vervollständigt werden, das die Zählung und Identifizierung von U.u. und/oder M.h. sowie den Antibiotika-Empfindlichkeitstest nach den Empfehlungen des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ermöglicht (2).

2- EINFÜHRUNG

Mykoplasmen, die mehrere bisher beim Menschen nachgewiesene Arten zählen, gehören zur Klasse der Mollikute. Sie unterscheiden sich von anderen Bakterien in vielerlei Hinsicht, darunter das Fehlen einer Wand, die ihnen eine natürliche Resistenz gegen β -Lactam-Antibiotika verleiht, so wie einer steinreichen Membran aus den eukaryontischen Zellmembranen, an die sie sich anlagern. Mykoplasmen sind relativ empfindliche Organismen, die sich in azellulären Medien nur in Gegenwart zahlreicher Wachstumsfaktoren und bei einer optimalen Temperatur von 37 °C vermehren (4).

Die meisten menschlichen Mykoplasmen sind einfache kommensale Bakterien. Aus dem Urogenitaltrakt isolierte Arten, *U. urealyticum* und *M. hominis* kommen am häufigsten vor. Die Art *U. urealyticum* ist in zwei Biovarien unterteilt: *U. urealyticum* und *U. parvum* (U.u.). U.u. oder M.h. können sich wie echte Krankheitserreger verhalten. Sie sind verantwortlich für männliche Genitalinfektionen (nicht-gonokokkale Urethritis, Epididymitis, Prostatitis, Unfruchtbarkeit); gynäkologische Infektionen (bakterielle Vaginose, Endometritis, Salpingitis); Fortpflanzungsstörungen (Chorioamnionite, postpartale Endometritis, Frühgeburt, spontane Abtreibung); Neugeboreneninfektionen (niedriges Geburtsgewicht, Atemwegsinfektionen, neurologische Infektionen, Bakteriämie, Abszesse); extragenitale Infektionen (septische Arthritis, reaktive Arthritis, andere Lokalisationen) (1).

Die Diagnose von Mykoplasmen-Infektionen hängt von der Bestimmung einer pathologischen Schwelle und damit von einer Zählung ab. Das Auftreten von Resistenzen von U.u. und M.h. gegen bestimmte Moleküle führt zu einem Empfindlichkeitstest gegenüber Antibiotika (5, 6). Die getesteten Antibiotika und die Interpretationskriterien sind auf die Behandlung von Mykoplasmeninfektionen im Urogenitaltrakt oder anderen Extragenitalbereichen abgestimmt (2).

3 – GRUNDSATZ

MYCOFAST Screening *Revolution* ist eine flüssigkeitsbasierte Methode, die auf der Fähigkeit von U.u. und M.h., zu metabolisieren, beruht, zu dementsprechend Harnstoff bzw. Arginin. Das Wachstum von Mykoplasmen in flüssigem Medium wird durch die Veränderung der Farbe eines farbigen Indicators - Phenolrot - von gelb-orange nach fuchsrot visualisiert, der die Alkalisierung des Mediums durch die Freisetzung von Ammoniak widerspiegelt. Das so visualisierte Wachstum des Mykoplasmas ermöglicht:
- Screening und Differenzierung; dann bei Positivität:
- die Zählung nach der Hydrolysegeschwindigkeit der Substrate, die proportional zur Menge der in der Probe enthaltenen Keime ist.
- Identifizierung anhand der Empfindlichkeit des Keims gegenüber drei Antibiotika.
- die Untersuchung der Empfindlichkeit von U.u. und M.h. gegenüber Antibiotika.

4 – REAGENZIEN

Beschreibung	Anzahl		
	Art. 00061	Art. 00073	Art. 00063
UMMt: Behälter mit 3 mL Mykoplasmenbrühe mit Antibiotika und Konservierungsmittel. pH: 6.0 ± 0.1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: Trennbare Galerie mit 10 Brunnen für 5 Tests, einzeln verpackt in Aluminiumbeutel mit integriertem Trockenmittel			10
Etiketten: Bogen mit 5 abtrennbaren Etiketten			10
S.Mh: M.h. Wachstumsaktivator (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution ATB+: Galerie mit 24 Brunnen für 1 Test, verpackt in einem Aluminiumbeutel mit integriertem Trockenmittel		25	
Closing System: Deckel aus durchsichtigem Plastik für die Galerie MYCOFAST <i>Revolution</i>		25	

Galerie MYCOFAST Screening Revolution

Galerie bestehend aus 5 Reihen von 2 Brunnen: ein Brunnen *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) mit Lincomycin und Harnstoff und ein Brunnen *Mycoplasma hominis* (M.h.) mit Erythromycin und Arginin.

Galerie MYCOFAST Revolution ATB+

Die MYCOFAST-Galerie *Revolution* ATB+ enthält in den 24 Brunnen in dehydratisierter Form das Wachstumsmedium für Mykoplasmen (Fohlenserum, Hefeextrakt, Cystein, Arginin, Harnstoff, Phenolrot, Antibiotika, pH: 6,1 ± 0,1) und 11 Antibiotika in 1 bis 4 Konzentrationen:

Brunnen 1/2: Zählung von U.u. für Werte von 10^3 et $\geq 10^4$ CCU/mL (gepufferte Lösung und Lincomycin, welches das Mh-Wachstum hemmt) (in blau)

Brunnen 3: Zählung von M.h. für den Wert $\geq 10^4$ CCU/mL (in rot)

Brunnen 4/5/6: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Levofloxacin (LVX) bei 1/2/4 μ g/mL

Brunnen 7/8/9/10: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Moxifloxacin (MXF) bei 0,25 / 0,5 / 2 / 4 μ g/mL

Brunnen 11/12/13/14: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Tetracyclin (TET) bei 1/2/4/8 μ g/mL

Brunnen 15/16: Bewertung der Empfindlichkeit der Mykoplasmen gegenüber Erythromycin (ERY) bei 8/16 μ g/mL

Brunnen 17/18: Bewertung der Empfindlichkeit der Mykoplasmen gegenüber Clindamycin (CLI) 0,25 / 0,5 μ g/mL (in blau)

Brunnen 19: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Telithromycin (TEL) bei 4 μ g/mL

Brunnen 20: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Roxithromycin (ROX) bei 2 μ g/mL

Brunnen 21: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Minocyclin (MIN) bei 2 μ g/mL

Brunnen 22: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Ofloxacin (OFX) bei 1 μ g/mL

Brunnen 23: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Josamycin (JOS) bei 2 μ g/mL

Brunnen 24: Bewertung der Empfindlichkeit von Mykoplasmen gegenüber Pristinamycin (PRI) bei 2 μ g/mL

		20	19	18	17	16	15	14	13	12	11			
		ROX	TEL	CLI		ERY		TET						
		2	4	0.5	0.25	16	8	8	4	2	1			
24	PRI	2	MYCOFAST® Revolution ATB+									1	OFX	22
23	JOS	2	MYCOFAST® Revolution ATB+									2	MIN	21
		Uu	Uu	Mh										
		10^3	$\geq 10^4$	$\geq 10^4$			1	2	4	0.25	0.5	2	4	
						LVX			MXF					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN FÜR DEN GEBRAUCH

Die Reagenzien sind ausschließlich für die *in vitro*-Diagnose bestimmt und müssen von autorisierten Personen gehandhabt werden.

Proben und gesäte Agars sind potentiell infektiös und müssen daher mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen unter Beachtung der Hygienevorschriften und -richtlinien des Landes, in dem sie verwendet werden, behandelt werden.

Reagenzien, die Rohstoffe tierischen Ursprungs enthalten, müssen sorgfältig behandelt werden.

Verwenden Sie keine Reagenzien über das Verfallsdatum hinaus.

Verwenden Sie keine beschädigten oder unsachgemäß gelagerten Reagenzien.

Ein positives Ergebnis mit der MYCOFAST *Revolution* 2 Galerie deutet auf eine Besiedlung durch urogenitale Mykoplasmen hin, kann aber nicht allein für die klinische Diagnose verwendet werden.

Dies muss vom Arzt nach allen biologischen Ergebnissen und klinischen Anzeichen durchgeführt werden.

6 - PROBENAHME UND -VERARBEITUNG

6.1 Probensammlung

Zerviko-Vaginalabstriche:

Verwenden Sie nur einen Dacron- oder Rayonabstrich oder eine Zytobürste. Probe nach sorgfältiger Entfernung des Ektozervix-Sekrets mithilfe eines ersten Tupfers entnehmen. Mykoplasmen haben eine starke Affinität zu den Schleimhautzellen, an denen sie haften, daher ist es wichtig, die Schleimhaut gut abzuschaben, um ein gutes Ergebnis zu erzielen.

Urethralproben: Meatus reinigen und eine Probe per Tupfer oder Abschaben von Zellen entnehmen.

Sammeln Sie Spermien oder den ersten Harnstrahl in einem sterilen Behälter.

6.2 Transport in UMMt-Medium

Trockenabstrichproben: Geben Sie den Tupfer in einen Behälter mit UMMt-Medium.

Flüssigkeitsproben: Besäen Sie einen Behälter mit UMMt-Medium mit 300 μ L homogenisierter Flüssigkeit.

6.3 Aufbewahrung in UMMt-Medium

Sobald es besät ist, kann das UMMt-Medium bei Raumtemperatur (18-25 °C) 20 Stunden lang oder bei 2-8 °C 56 Stunden lang aufbewahrt werden. Um es drei Tage lang bei -20 °C aufzubewahren, geben Sie vorher 2 Tropfen "MYCOPLASMA Stabilizer" hinzu.

7 - HERSTELLUNG UND KONSERVIERUNG VON REAGENZIEN

Reagenzien, die im Originalzustand bei 2-8 °C gelagert werden, sind bis zu dem auf den Etiketten angegebenen Verfallsdatum stabil.

Falls nur eine einzige Brunnenreihe (U.u.) (M.h.) oder zwei, drei, vier Brunnenreihen verwendet werden, kann der nicht verwendete Rest der MYCOFAST Screening *Revolutio* Galerie, hermetisch abgeschlossen im Original-Aluminiumbeutel 4 Wochen lang bei 2-8 °C aufbewahrt werden.

Die M.h.-Ergänzung ist nach dem Öffnen 3 Monate lang stabil.

Das UMMt-Medium kann bei Raumtemperatur kurzfristig gelagert werden (3 Monate), hat aber eine bessere Stabilität bei 2-8 °C.

Frieren Sie die Reagenzien des Kits nicht ein.

8 - BENÖTIGTES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Bereiten Sie so viele Reihen von Brunnen wie Proben vor, die getestet werden sollen.

- Falls erforderlich, trennen Sie eine oder mehrere Reihen von Brunnen (U.u.)/(M.h.) anhand der Markierungen auf der Galerie ab.

9 - VORGEHENSWEISE

Bringen Sie die Reagenzien 20 bis 30 Minuten lang auf Raumtemperatur.

9.1 SCREENING - Galerie MYCOFAST Screening *Revolutio*

- Bereiten Sie so viele Reihen von Brunnen wie Proben vor, die getestet werden sollen.

- Falls erforderlich, trennen Sie eine oder mehrere Reihen von Brunnen (U.u.)/(M.h.) anhand der Markierungen auf der Galerie ab.

9.1.1 Besäung des UMMt-Mediums *Revolutio*

Besäen Sie das UMMt-Medium mit dem Tupper oder 300 µL flüssigem Entnahmematerial (§ 6.2). Gut homogenisieren.

9.1.2 Besäung von U.u./M.h.-Brunnen

- Nacheinander verteilen:

Brunnen (U.u.): 100 µL von besätem UMMt-Medium.

Brunnen (M.h.): 100 µL von besätem UMMt-Medium.

50 µL von Mh-Ergänzung

- Geben Sie 2 Tropfen Mineralöl in beide Brunnen.

- Die Brunnen mit dem abgetrennten Etikett abdecken und die Probe identifizieren.

- **Bewahren Sie übriggebliebene Flüssigkeit des Behälters mit besätem UMMt-Medium bei 2-8 °C, um die Analyse bei einem positiven Screening fortzusetzen.**

9.1.3 Inkubation von U.u./M.h.-Brunnen

Die Brunnen der Galerie 24 Stunden lang bei 37 ± 1 °C inkubieren. Die Inkubation der Galerie kann nur bei negativen Proben nach 24 Stunden auf bis zu 48 Stunden verlängert werden.

9.1.4 Ablesen und Interpretieren von U.u./M.h.-Brunnen

- Prüfen Sie, ob beide Brunnen (U.u.) (M.h.) durchsichtig sind. Ein trüber Brunnen weist auf eine bakterielle Verunreinigung hin. Wiederholen Sie in diesem Fall den Test.

- Beobachten Sie die Farbverschiebung in den Brunnen U.u. und M.h.:

Brunnen U.u. orange oder rot: Anwesenheit von *Ureaplasma urealyticum*

Brunnen M.h. orange oder rot: Anwesenheit von *Mycoplasma hominis*

Brunnen U.u./M.h. gelb: Abwesenheit von Mykoplasmen

Setzen Sie bei positivem Screening die Diagnose mit der MYCOFAST Galerie *Revolutio* NATB+ fort

9.2 ZÄHLUNG, IDENTIFIZIERUNG UND EMPFINDLICHKEITSPRÜFUNG

9.2.1 Besäen der MYCOFAST-Galerie *Revolutio* NATB+

Entfernen Sie den Klebefilm durch Ziehen an der Lasche und verteilen

Sie nacheinander in den Brunnen:

Brunnen 1-24 100 µL besätes UMMt-Medium

Brunnen 1-24 2 Tropfen Mineralöl

Decken Sie die Galerie ab, indem sie das "closing system" des Deckels auslösen. Identifizieren Sie die Probe.

Bewahren Sie übriggebliebenes UMMt-Medium des Behälters mindestens 48 Stunden lang bei 2-8 °C auf, um eine eventuelle Überprüfung durchführen zu können.

9.2.2 Inkubation der Galerie

Inkubieren Sie die Galerie 24 Stunden lang bei 37 ± 1 °C.

Für die Zählung von U.u. und M.h. lesen Sie die Ergebnisse nach 24 Stunden ab. Die Inkubation der Galerie kann nur bei negativen flüssigen Proben innerhalb von 24 Stunden auf bis zu 48 Stunden verlängert werden.

9.2.3 Ablesen und Interpretieren

Überprüfen Sie, ob alle Brunnen in der Galerie durchsichtig sind. Ein trüber Brunnen weist auf eine bakterielle Verunreinigung hin. Wiederholen Sie in diesem Fall die Analyse. Das Wachstum von urogenitalem Mykoplasma in Brunnen führt zu einer Alkalisierung des Mediums, das sich rot verfärbt. In Abwesenheit eines urogenitalen Mykoplasmenwachstums bleibt das Medium gelb.

Eine orange Färbung sollte als positiver Test (Grenzwert) betrachtet werden.

Siehe Ergebnisblatt für die Testauswertung.

Zählung (Brunnen 1, 2 und 3)

Suchen Sie die Brunnen, die rot geworden sind und interpretieren sie:

1 U.u. -Werte von 10³ CCU/mL
 1 en 2 U.u. -Werte von ≥ 10⁴ CCU/mL
 3 M.h. -Werte von 10⁴ CCU/mL

Die pathologische Rolle von Mykoplasmen bei urogenitalen Infektionen wird nach spezifischen Empfehlungen interpretiert (1,3,7). Die für *U. urealyticum* üblichen pathologischen Werte werden beibehalten: ≥ 10⁴ CCU/mL bei Hamröhrenentnahme, ≥ 10³ CCU/mL bei einem ersten Urinstrahl oder Sperma (auch wenn eine neue lokale Empfehlung einen Schwellenwert von ≥ 10⁴ CCU/mL für Sperma (7) erwähnt). Für *M. hominis* ist eine Anwesenheit mit einem Wert von ≥ 10⁴ CCU/mL in einem Zervikovaginalabstrich abnormal (1, 3).

Empfindlichkeitstest (Brunnen 4 bis 24)

Die Farbveränderung des Mediums in Brunnen mit einem Antibiotikum spiegelt die Fähigkeit des Stammes wider, sich in Gegenwart der geprüften Konzentration des Antibiotikums zu entwickeln. Die gelbe Farbe des Mediums spiegelt die Unfähigkeit des Stammes wider, sich in Gegenwart der getesteten Konzentration des Antibiotikums zu entwickeln. Stämme werden nach den folgenden, vom CLSI (2) definierten Interpretationskriterien als empfindlich oder resistent gegenüber Antibiotika eingestuft.

MIC-Interpretationskriterien in µg/mL (vom CLSI definierte Interpretationskriterien):

Der Stamm ist **empfindlich**, wenn sein Wachstum bei der kritischen Konzentration oder beiden kritischen Konzentrationen des Antibiotikums gehemmt wird.

Der Stamm ist **resistent** bei:

1/ Wachstum des Stammes für das getestete Antibiotikum in einer einzigen Konzentration.

2/ Wachstum in der niedrigen Konzentration oder in beiden Konzentrationen des Antibiotikums für das in zwei Konzentrationen getestete Antibiotikum.

Klasse	Antibiotikum	U.u.		M.h.		Anmerkungen
		S	R	S	R	
Chinolone	Levofloxacin*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin*	≤2	≥4	≤0,2€	≥0,5	
	Ofloxacin	≤1	>1	≤1	>1	
Lincosamide	Clindamycin*	/	/	≤0,2€	≥0,5	U.u. ist von Natur aus resistent gegen Clindamycin

Tetracycline	Tetracyclin*	≤1	≥2	≤4	≥8	Stämme, die für Tetracyclin anfällig sind, sind auch für Doxycyclin anfällig.
	Mnocylin	≤2	>2	≤2	>2	
Makrolide	Erythromycin*	≤8	≥16	/	/	Stämme, die empfindlich auf Erythromycin reagieren, sind auch empfindlich gegenüber Azithromycin. Mh ist von Natur aus resistent gegen Erythromycin.
	Roxithromycin	≤2	>2	/	/	Uu ist von Natur aus resistent gegen Roxithromycin
	Josamycin	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolide	Telithromycin*	≤4	-	≤4	≥8	
Streptogramine	Pristinamycin	≤2	>2	≤2	>2	

(* vom CLSI definierte Auslegungskriterien)

M. hominis ist von Natur aus resistent gegen 14 und 15 Kohlenstoff-Makrolide, einschließlich Erythromycin und Roxithromycin, aber empfindlich gegen 16-Kohlenstoff-Makrolide wie Josamycin.

U. urealyticum ist von Natur aus resistent gegen Lincosamide (Clindamycin).

In einigen Populationen kann die Resistenz gegenüber Tetracyclin 45 % für Uu und 39,6 % für M.h. erreichen (2). Resistenz gegen Chinolone (U.u. und M.h.) (5, 6) und Clindamycin (M.h.) wurde beschrieben, aber die Prävalenz ist nicht bekannt.

Interpretationshilfe:

U.u.-Empfindlichkeitstest

ATB*	LVX				MXF				TET				ERY				
CONC* (µg/mL)	1	2	4	int*	0,25	0,5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	8	16	int*
Profil	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

*ATB= Antibiotika, *CONC= Konzentration, *INT= Interpretationen

Uu-Empfindlichkeitstest

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
CONC* (µg/ml)	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Profil	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

M.h.-Empfindlichkeitstest

ATB*	LVX				MXF				TET				CLI				
CONC* (µg/mL)	1	2	4	int*	0,25	0,5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	0,25	0,5	int*
Profil	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

M.h.-Empfindlichkeitstest

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
CONC* (µg/mL)	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Profil	-	S	natürlicher Widerstand		-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

10 - SONDERFÄLLE

Bei sehr hohen Raten von U.u. oder M.h. färben sich alle vom Keim betroffenen Brunnen rot. Es wird dann empfohlen, die Probe zu verdünnen, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.

In diesem Fall gehen Sie bitte folgendermaßen vor:

Besäen Sie einen neuen 3 mL UMMt-Behälter mit 300 µL des ursprünglichen UMMt-Mediums, das bei 2-8°C aufbewahrt wurde (§ 9.1).

Besäen Sie eine neue Galerie mit dem neuen besäen UMMt-Medium.

Bei der Interpretation der Nummerierung ist die Verdünnung (1:10) zu berücksichtigen. Bestätigen Sie bei Bedarf auf A7-Agar das Vorhandensein von Mykoplasmen durch erneute Isolierung aus dem bei 2-8 °C gelagerten Original UMMt-Medium (§ 9.1). Eine nicht konstante Inkubationstemperatur oder <36 °C (häufiges Öffnen der Wärmekammer, Temperaturheterogenität in der Wärmekammer,...) kann die Wachstumskinetik von Mykoplasmen verlangsamen.

11 - QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrolle kann aus den Stämmen *U. urealyticum* oder *M. hominis* des MYCOFAST CONTROL Kits (Art. 00900) oder aus einem lyophilisierten Stamm (*U. urealyticum* ATCC 27815 oder *M. hominis* ATCC 23114) durchgeführt werden, der zuvor auf 104-5 UCC/ml kalibriert wurde.

Besäen Sie die MYCOFAST *Revolutio*NATB+ Galerie und setzen Sie den Test wie in dieser Gebrauchsanleitung angegeben fort (§9.2)

Erwartete Ergebnisse unten (ATCC):

MYCOFAST *Revolutio*NATB+

	U.u. 10 ³	U.u. ≥10 ⁴	M.h. ≥10 ⁴	LVX	MXF	TET	ERY
U.u. Stamm ATCC 27815	+	+	-	S	S	S/R	S
M.h. Stamm ATCC 23114	-	-	+	S/R	S	S	R

	CLI	TEL	ROX	MIN	OFX	JOS	PRI
U.u. Stamm ATCC 27815	R	S	S/R	S	S/R	S	S
M.h. Stamm ATCC 23114	S	S/R	R	S	S	S	S

12 - GRENZEN DER METHODE

12.1 - Screening:

Die Galerie MYCOFAST *Screening Revolutio*N verfügt über eine Empfindlichkeitsschwelle von ≤10³ CCU/mL und erlaubt keine Zählung. Die mit der MYCOFAST *Revolutio*NATB+ Galerie erhaltene Zählung kann nach einem positiven Screening negativ ausfallen

12.2 - Zählung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung

Einige Bakterien, die in der Anzahl >10^{6,7} CFU/mL vorhanden sind und eine Uräse besitzen können alle Brunnen der Galerie verfärben. Ihr Vorhandensein kann durch Nachisolieren auf Schokoladengar aus dem bei 2-8 °C gelagerten Original UMMt-Medium nachgewiesen werden (§ 9.1).

Ein basischer Probenahme-pH-Wert (pH > 7) kann zur Verfärbung des Mediums führen. Verdünnen Sie in diesem Fall die Probe (1:10) in einem anderen UMMt-Medium und interpretieren Sie unter Berücksichtigung der Verdünnung erneut.

Ein saurer Proben-pH-Wert (pH ≤ 5,5) kann das Auftreten der Verfärbung verlangsamen.

Eine Probe, die Bluten enthält, kann zu einer Farbänderung der Brunnen der MYCOFAST *Revolutio*NATB+ -Galerie führen, die als positive Ergebnisse interpretiert werden. Verdünnen Sie in diesem Fall die Probe (1:10) in einem anderen UMMt-Medium und interpretieren Sie unter Berücksichtigung der Verdünnung erneut. Eine leicht mit Mykoplasmen geladene Probe (<10³ CCU/mL) kann eine zufällige Färbung in den verschiedenen Brunnen der Galerie ergeben. Wie bei jeder Keimtestmethode hängt die Qualität der Probe vom Ergebnis des Tests ab. Ein negativer Test bedeutet also nicht zwangsläufig, dass keine Infektion vorhanden ist.

13 - LEISTUNGEN

- Screening und Differenzierung

Galerie MYCOFAST *Screening Revolutio*N

Eine vergleichende Studie wurde mit vaginalen klinischen Proben (n=40; 2 Arten U.u. und M.h.) auf Trockenabstrichen durchgeführt.

Die mit MYCOFAST *Screening Revolutio*N erzielten Ergebnisse werden mit dem Mikroverdünnungszählverfahren verglichen.

Für das Screening der beiden Arten U.u. und M.h. beträgt die Konkordanz 97,5 %.

Wir haben 1 falsch negatives U.u. für einen Wert von 10³ CCU/mL in der flüssigen Mikroverdünnungszählmethode aufgeführt, da wir wissen, dass dieser Wert als infrapathologisch für vaginale Proben angesehen wird. Für U.u. und M.h. ist die Gesamtkonkordanz 100 % bei den superpathologischen Werten.

Zur Unterscheidung erlaubten alle getesteten Proben eine korrekte Identifizierung von U.u. oder M.h. in den Brunnen der MYCOFAST *Screening Galerie Revolutio*N.

13.2 - Identifizierung und Zählung

Direkte Methode MYCOFAST ATB+ Galerie

% der Gesamtkonkordanz	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Isolierte Stämme (Werte ≤10 ³ CCU/mL) (siehe § 14.1.1)	97,7	NVT	NVT
Isolierte Stämme (Wert ≥10 ⁴ CCU/mL) (siehe § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Vaginale klinische Proben	100	95,7	97,8
Flüssige klinische Proben: Urin	96,6	97,7	97,1

N / A = nicht zutreffend

Eine vergleichende Studie wurde mit 21 isolierten Stämmen (ATCC und Sammelstämme) durchgeführt, die separat (U.u. oder M.h.) bei mehreren Verdünnungen (insgesamt 85 Tests) getestet wurden.

Die erzielten Ergebnisse werden mit denen einer Mikroverdünnungszählung verglichen.

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert, der auf 10³ CCU/mL festgelegt wurde, beträgt die globale Konkordanz für U.u. 97,7 % (wir haben 2 falsche Positive für Werte bei 10³ CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt).

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert, der auf 10⁴ CCU/mL festgelegt wurde, beträgt die Gesamtkonkordanz von U.u. 96,5 % (wir haben 3 falsche Positive für Werte bei 10³ CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt). Die Gesamtkonkordanz für Mh beträgt 98,9 % (wir haben ein falsches Positiv für einen Wert von 10³ CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt). Die Gesamtkonkordanz von U.u. und M.h. beträgt 97,8 %.

Eine vergleichende Studie wurde an vaginalen klinischen Proben (n=23) durchgeführt, die in trockenen Tupfern entnommen wurden. Die mit MYCOFAST *Revolutio*N ATB+ erzielten Ergebnisse werden mit der flüssigen Mikroverdünnungsmethode verglichen.

Die Gesamtkonkordanz für U.u. beträgt 100 % und für M.h. beträgt die Gesamtkonkordanz 95,7 % (bei einem Wert von 10² CCU/mL in der flüssigen Mikroverdünnungsmethode haben wir ein falsches Positiv aufgeführt).

Eine zweite vergleichende Studie wurde mit klinischen Urinproben durchgeführt (n=88).

Die Ergebnisse wurden nach 48 Stunden Inkubation abgelesen und interpretiert, wenn der Test nach 24 Stunden negativ war. Das Vorhandensein von Mykoplasmen allein ohne Zählung ist erfolgt, wie es bei einer Flüssigkeitsprobe empfohlen wird.

Die mit MYCOFAST *Revolutio*NATB+ erzielten Ergebnisse werden mit denen der flüssigen Mikroverdünnung verglichen.

Die Gesamtkonkordanz für Uu beträgt 96,6 % (wir haben 1 falsches Negativ für einen Wert von 10⁴ CCU/mL in der Mikroverdünnungszählmethode und 2 falsche Positive für Werte von 10² CCU/mL in der Mikroverdünnungszählmethode aufgeführt).

Die Gesamtkonkordanz für M.h. beträgt 97,7 % (wir haben 2 falsche Positive für einen Wert von 10² CCU/mL in der Mikroverdünnungszählmethode aufgeführt).

Die Gesamtkonkordanz für U.u. und M.h. beträgt 97,1 %.

13.3 - Empfindlichkeitstest

Die Vergleichsstudie wurde in einem nationalen Referenzlabor zwischen der Methode zur Bestimmung minimaler Hemmkonzentrationen (MIC) in flüssigen Medien und der MYCOFAST *Revolutio*N ATB+ -Methode durchgeführt.

Die getesteten Stämme (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* und 16 *M. hominis*) sind Referenzstämme, wilde klinische Stämme oder Stämme, die Resistenzen entwickelt haben. Jeder Stamm wird bei Verdünnungen von 10³ - 10⁴ und 10⁵ CCU/mL getestet. Die Ergebnisse beider Methoden werden nach CLSI-Empfehlungen als sensitiv (S) oder resistent (R) interpretiert.

Für die Werte 10⁴ und 10⁵ CCU/mL wurden die Ergebnisse nach 24 Stunden Inkubation gelesen und interpretiert.

Für die Werte 10³ CCU/mL wurden die Ergebnisse nach 48 Stunden Inkubation abgelesen und interpretiert, wenn der Test innerhalb von 24 Stunden negativ war.

Die Gesamtkonkordanz für *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* beträgt: 93,8 % (394/420).

Die Gesamtkonkordanz für *Mycoplasma hominis* für Werte unter 10⁴-10⁵ CCU/mL beträgt: 93,4 % (227/243).

Konkordanz	Ureaplasma urealyticum / parvum (n=42)									
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	ERY	JOS	PRI	TEL	ROX
	39	38	37	40	34	41	42	42	42	39
DM	3	4	4	2	4	1	0	0	0	0
DTM	0	0	1 ^a	0	4 ^b	0	0	0	0	3 ^c

DM: Große Diskordanz, DTM: Sehr große Diskordanz

a: Diskordanz bei 10⁴ CCU/mL (Referenz-MIC 4 µg/mL)

b : 1 discrepantie v erkregen bij 10³ CCU/mL (Referenz- MIC bei 2 µg/mL),

diskordanz bei 10⁴ CCU/mL (Referenz- MIC bei 1 µg/mL),

1 diskordanz bei 10⁵ CCU/mL (Referenz- MIC bei 1 µg/mL),

1 diskordanz bei 10⁵ CCU/mL (Referenz- MIC bei 2 µg/mL)

c: 1 diskordanz bei 10³ CCU/mL (Referenz- MIC bei 2 µg/mL),

discrepantie bij 10⁴ CCU/mL (Referenz- MIC bei 2 µg/mL),

1 Diskordanz bei 10⁵ CCU/mL (Referenz- MIC bei 4 µg/mL),

Konkordanz	Mycoplasma hominis (n=27)								
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	JOS	PRI	TEL	CLI
	26	26	27	27	26	27	27	14	27
DM	0	0	0	0	0	0	0	13	0
DTM	1 _a	1 _b	0	0	1 _c	0	0	0	0

a: Diskordanz bei 10⁴ CCU/mL (Referenz-MIC >32 µg/mL)

b: Diskordanz bei 10⁵ CCU/mL (Referenz-MIC bei 4 µg/mL)

c: Diskordanz bei 10⁵ CCU/mL (Referenz-MIC bei 2 µg/mL)

14 - ABFALLENTSORGUNG

Die Entsorgung von Abfällen muss gemäß den für diese Art von Reagenzien im Verwendungsland geltenden Hygienevorschriften erfolgen.

15 - LITERATURVERZEICHNIS

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 MANDRELL G. L., BENNETT J.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4. Ausg., Bd. 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) - (5. Ausgabe)

Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.

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>

