

Diagnose van urogenitale mycoplasma's

MYCOFAST Screening *Revolution*

Detectie en differentiatie
50 testen (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution* ATB+

Telling, identificatie en gevoeligheidstest
25 testen (REF. 00073)

UMMt *Revolution*

50 testen (REF. 00061)

CPB 0396-4-DU-2018-03

Uitsluitend voor diagnose *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik. De testen zijn voor eenmalig gebruik.



1 - DOEL

De kit MYCOFAST Screening *Revolution* (REF 00063) maakt de screening en differentiatie mogelijk van *Ureaplasma urealyticum/Ureaplasma parvum* (U.u.) en van *Mycoplasma hominis* (M.h.) van verschillende klinische monsters. Hij moet gebruikt worden in combinatie met de media van de kit UMMt *Revolution* (REF 00061). In geval van een positieve screening kan de analyse worden aangevuld met de galerijen van de kit COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution* ATB+ (REF 00073), waardoor de telling en de identificatie van U.u. en/of M.h. alsook de gevoeligheidstest voor antibiotica volgens de aanbevelingen van het CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2) kunnen worden uitgevoerd.

2- INLEIDING

Mycoplasma's, die verschillende soorten bevatten die tot nu toe zijn vastgesteld bij de mens, behoren tot de klasse van de Mollicutes. Ze onderscheiden zich op vele manieren van andere bacteriën, onder andere door de afwezigheid van een wand die hen natuurlijke weerstand geeft tegen β -lactamantibiotica, alsook een membraan rijk aan sterol afkomstig van de eukaryotische celmembranen waaraan ze zich hechten. Mycoplasma's zijn relatief kwetsbare organismen die zich alleen in een acellulair medium vermenigvuldigen in aanwezigheid van talrijke groeifactoren en bij een optimale temperatuur van 37 °C (4). De meeste menselijke mycoplasma's zijn eenvoudige commensalen. Van de soorten geïsoleerd uit het urogenitale kanaal zijn *U. urealyticum* en *M. hominis* de meest gevonden soorten. De soort *U. urealyticum* is verdeeld in twee biovars: *U. urealyticum* en *U. parvum* (U.u.).

U.u. of M.h. kunnen zich gedragen als echte pathogenen. Ze zijn verantwoordelijk voor mannelijke genitale infecties (niet-gonococcale urethritis, epididymitis, prostatitis, onvruchtbaarheid); gynaecologische infecties (bacteriële vaginose, endometritis, salpingitis); reproductieve stoornissen (chorioamnionitis, postpartum endometritis, prematuriteit, spontane abortus); neonatale infecties (laag geboortegewicht, infecties aan de luchtwegen, neurologische infecties, bacteriëmie, abces); extragenitale infecties (septische artritis, reactieve artritis, andere lokalisaties) (1).

De diagnose van mycoplasma-infecties hangt af van de bepaling van een pathologische drempel en dus van een telling. Het verschijnen van resistentie van U.u. en M.h. tegen bepaalde moleculen leidt tot de realisatie van een test van gevoeligheid voor antibiotica (5, 6). De geteste antibiotica en de interpretatiecriteria zijn aangepast aan de behandeling van mycoplasma-infecties op het niveau van het urogenitale kanaal of andere extragenitale zones (2).

3 – PRINCIPE

De techniek MYCOFAST Screening *Revolution* is een methode in vloeistof gebaseerd op het vermogen van U.u. en M.h. om respectievelijk ureum en arginine te metaboliseren.

De groei van mycoplasma's in vloeistof wordt gevisualiseerd door de kleurafwijking van een gekleurde indicator- fenolrood - van geeloranje naar rood, die de alkalinisatie van het medium als gevolg van het vrijkomen van ammoniak weerspiegelt.

De aldus gevisualiseerde groei van mycoplasma's maakt het volgende mogelijk:

- de detectie en de differentiatie; dan in geval van positiviteit:
- de telling op basis van de hydrolysesnelheid van de substraten die evenredig is met de hoeveelheid kiemen in het monster.
- de identificatie op basis van de gevoeligheid of niet-gevoeligheid van de kiem voor drie antibiotica.
- het onderzoek van de gevoeligheid van U.u. en M.h. voor antibiotica.

4 – REAGENTIA

Omschrijving	Hoeveelheid		
	Ref 00061	Ref 00073	Ref 00063
UMMt flacon van 3 mL mycoplasma bouillon met antibiotica en conserveermiddel. pH: 6.0 ± 0.1	50		
MYCOFAST SCREENING <i>Revolution</i> : Scheidbare galerij van 10 putjes voor 5 testen, individueel verpakt in aluminium zak met geïntegreerd droogmiddel			10
Labels : Blad van 5 scheidbare labels			10
S.Mh : Groeiactivator van Mh (4,5mL)			1
MYCOFAST <i>Revolution</i> ATB+ : Galerij van 24 putjes voor 1 test, verpakt in aluminium zak met geïntegreerd droogmiddel		25	
Zatvarajući sustav : Doorschijnend plastic deksel voor galerij MYCOFAST <i>Revolution</i>		25	

Galerij MYCOFAST Screening *Revolution*

Galerij bestaande uit 5 series van 2 putjes: één putje *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) met lincomycine en ureum en één putje *Mycoplasma hominis* (M.h.) met erytromycine en arginine.

Galerij MYCOFAST *Revolution* ATB+

De galerij MYCOFAST *Revolution* ATB+ bevat, in gedroogde vorm, in de 24 putten het groeimedium van mycoplasma's (veulenserum, gistextract, cysteïne, arginine, ureum, fenolrood, antibiotica, pH: 6.1 ± 0.1) en 11 antibiotica van 1 tot 4 concentraties:

Putje 1/2: Telling van U.u. voor waarden van 10 ≥ 10 CCU/mL (gebufferde oplossing die de groei remt van M.h. (blauw) (rood))

Putjes 4/5/6: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan levofloxacin (LVX) op 1/2/4 µg/mL

Putje 7/8/9/10: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan Moxifloxacin (MXF) op 0,25 / 0,5 / 2 / 4 µg/mL

Putje 11/12/13/14: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan tetracycline (TET) op 1/2/4/8 µg/mL

Putje 15/16: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan Erythromycine (ERY) op 8/16 µg/mL (rood)

Putje 17/18: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan clindamycine (CLI) op 0,25/0,5 µg/ml (blauw)

Putje 19: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan telithromycine (TEL) op 4 µg/mL

Putje 20: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan roxithromycine (ROX) op 2 µg/mL

Putje 21: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan minocycline (MIN) op 2 µg/mL

Putje 22: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan ofloxacin (OFX) op 1 µg/mL

Putje 23: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan josamycine (JOS) op 2 µg/mL

Putje 24: Evaluatie van de gevoeligheid van mycoplasma's aan pristinamycine (PRI) op 2 µg/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® <i>Revolution</i> ATB+									1	OFX	22
23	JOS	2										2	MIN	21
		Uu	Uu	Mh	1	2	4	0.25	0.5	2	4			
		10 ³	≥10 ⁴	≥10 ⁴	LVX			MXF						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			

5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

De reagentia in deze kit zijn uitsluitend bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel worden gehanteerd. Monsters en geïnoculeerde reagentia kunnen besmettelijk zijn en moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen, met inachtneming van de geldende hygiënevoorschriften en wetgeving voor dit type product in het land van gebruik.

Reagentia die grondstoffen van dierlijke oorsprong bevatten, moeten voorzichtig worden gehanteerd.

Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.

Gebruik geen beschadigde of vóór het gebruik verkeerd opgeslagen reagentia.

Een positief resultaat met de MYCOFAST *Revolution* ATB+-galerij duidt op kolonisatie door urogenitale mycoplasma's, maar kan niet alleen gebruikt worden om een klinische diagnose te stellen. Die moet worden uitgevoerd door de arts op basis van biologische resultaten en klinische symptomen.

6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

6.1 Verzameling van monsters

Cervico-vaginale monsternemingen:

Gebruik alleen een Dacron-swab test of van kunstvezels of een cytorborstel. Voer het uitstrijkje uit na een zorgvuldige verwijdering van afscheidingen van de ectocervix met een eerste wattenstaafje. Aangezien mycoplasma's een sterke affiniteit hebben met de slijmvliezen waaraan ze zich hechten, is het essentieel om het slijmvlies goed te schrapen om een goede opbrengst te verkrijgen.

Urethrale monsternemingen: Reinig de meatus en neem een uitstrijkje af of schraap de cellen.

Sperma, urine: Verzamel het sperma of de eerste urinestroom in een steriele flacon.

6.2 Transport in UMMt-medium

Monsterneming met swab test: Ontlaad de swab test in een flacon van UMMt-medium.

Vloeibare monsterneming: inoculeer een flacon van UMMt-medium met 300 µL gehomogeniseerde vloeistof.

6.3 Conservering in UMMt-medium

Eenmaal geïnoculeerd kan de UMMt-omgeving gedurende 20 uur bij kamertemperatuur (18-25 °C) of gedurende 56 uur bij 2-8 °C worden geconserveerd. Voor een conservering gedurende 3 dagen bij -20 °C dient u vooraf 2 druppels "MYCOPLASMA Stabilizer" toe te voegen.

7 - BEREIDING EN CONSERVERING VAN REAGENTIA

De reagentia die bij 2-8 °C in hun oorspronkelijke staat worden bewaard, zijn stabiel tot de op het etiket vermelde uiterste gebruiksdatum. Als er slechts gebruik wordt gemaakt van één reeks putjes (U.u.) (M.h.) of twee, drie, vier reeksen putjes, kan de rest van de niet-gebruikte MYCOFAST Screening *Revolutio*N-galerij, hermetisch afgesloten in de originele aluminium zak, 4 weken worden bewaard bij 2-8 °C. Het M.h.-supplement is stabiel 3 maanden na opening. Het UMMt-medium kan tijdelijk (3 maanden) bij kamertemperatuur worden geconserveerd, maar heeft een betere stabiliteit bij 2-8 °C. Bevries de reagentia van de kit niet.

8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

Materiaal voor monsterneming (wattenstaafjes, cytoborstels, steriele flacons voor het verzamelen van vloeibare monsters), pipetten en transferkegeltjes MYCOPLASMA- Stabilizer (REF 00064); broedstof gekalibreerd op 37 ± 1 °C Container voor verontreinigd afval en minerale olie

9 - WERKWIJZE

Breng de reagentia 20 tot 30 minuten op kamertemperatuur.

9.1 ONDERZOEK - Galerij MYCOFAST Screening *Revolutio*N

- Bereid evenveel putjes als te testen monsters voor.
- Indien nodig kunt u een of meer reeksen van putjes (U.u.)/(M.h.) scheiden door te verwijzen naar de markeringen op de galerij.

9.1.1 Inoculatie van het medium UMMt *Revolutio*N

Inoculeer het UMMt-medium met de swab of 300 µL vloeibare monsters (§ 6.2). Homogeniseer.

9.1.2 Inoculatie van de putjes van U.u./M.h.

- Verdeel achtereenvolgens:
Putjes (U.u.): 100 µL van geïnoculeerd UMMt-medium.
Putjes (M.h.): 100 µL van geïnoculeerd UMMt-medium.
50 µL van medium supplement M.h.

- Voeg 2 druppels minerale olie toe aan beide putjes.
- Dek de putjes af met het scheidbare label en identificeer het monster.
- Bewaar het overschot van de flacon van het geïnoculeerde UMMt-medium bij 2-8 °C om de analyse verder te zetten in het geval van een positief onderzoek.

9.1.3 Incubatie van de putjes U.u./M.h.

Incubeer de putjes van de galerij gedurende 24 uur bij 37 ± 1 °C. De incubatie van de galerij kan alleen tot 48 uur worden verlengd bij negatieve testen binnen 24 uur.

9.1.4 Aflezing en interpretatie van putjes U.u./M.h.

- Controleer of beide putjes (U.u.) (M.h.) transparant zijn. Een troebel putje duidt op een bacteriële besmetting. Herhaal in dit geval de test.
- Let op de kleurverandering in de U.u.- en M.h.-putjes:
Oranje of rode U.u.-putjes: Aanwezigheid van *Ureaplasma urealyticum*
Oranje of rode M.h.-putjes: Aanwezigheid van *Mycoplasma hominis*
Gele U.u./M.h.-putjes: Afwezigheid van mycoplasma's

Bij positief onderzoek zet u de diagnose voort met de galerij MYCOFAST *Revolutio*N ATB+

9.2 TELLING, IDENTIFICATIE EN GEVOELIGHEIDSTEST

9.2.1 Inoculatie van de galerij MYCOFAST *Revolutio*N ATB+

Verwijder de folie door aan de tong te trekken en verspreid vervolgens in de putjes:

Putjes 1-24 100 µL van geïnoculeerd UMMt-medium
Putjes 1-24 2 druppels minerale olie

Dek de galerij af door de afdekking "closing system" in te schakelen. Identificeer het monster.

Bewaar overschot van de UMMt-flacon bij 2-8 °C gedurende ten minste 48 uur om eventuele verificatie toe te staan.

9.2.2 Incubatie van de galerij

Incubeer de galerij gedurende 24 uur bij 37 ± 1 °C. Voor de telling van U.u. en M.h. leest u de resultaten in 24 uur. De incubatie van de galerij kan alleen tot 48 uur worden verlengd bij negatieve vloeistofmonsters binnen 24 uur.

9.2.3 Aflezing en interpretatie

Controleer of alle putjes in de galerij transparant zijn. Een troebel putje duidt op een bacteriële besmetting. Herhaal in dit geval de analyse. De groei van urogenitale mycoplasma's in putjes duidt op een alkalinisatie van het medium die rood wordt. Bij afwezigheid van groei van urogenitale mycoplasma's blijft het medium geel.

Een oranje kleuring moet als een positieve test worden beschouwd (grenswaarde).

Raadpleeg het resultatenblad voor interpretatie van de test.

Telling (putjes 1, 2 en 3)

Lokaliseer de putjes die rood zijn geworden en interpreteer:
1 U.u.-gehalte van 10³ CCU/mL
1 en 2 U.u.-gehalte van ≥ 10⁴ CCU/mL
3 M.h.-gehalte van 10⁴ CCU/mL

De pathologische rol van mycoplasma's bij urogenitale infecties is onderhevig aan interpretatie volgens specifieke aanbevelingen (1,3,7). De pathologische gehalten die gewoonlijk worden behouden voor *U. urealyticum* zijn: ≥10⁴ CCU/mL voor een urethraal monster, ≥10³ CCU/mL voor een 1e stroom van urine of sperma (zelfs als een nieuwe plaatselijke aanbeveling een drempel vermeldt van ≥10⁴ CCU/mL voor sperma (7)). Voor *M. hominis* is zijn aanwezigheid met een gehalte van ≥10⁴ CCU/mL in een cervico-vaginale monsterneming abnormaal (1, 3).

Gevoeligheidstest (putjes 4 tot en met 24)

De kleurafwijking van het medium in de putjes met een antibioticum duidt op het vermogen van de stam om zich te ontwikkelen in aanwezigheid van de geteste concentratie van het antibioticum. De gele kleur van het medium duidt op het onvermogen van de stam om zich te ontwikkelen in aanwezigheid van de geteste concentratie van het antibioticum. De stammen worden ingedeeld als gevoelig of resistent ten opzichte van antibiotica volgens de volgende interpretatiecriteria gedefinieerd door het CLSI (2).

Criteria voor de interpretatie van MIC in µg/mL (door het CLSI gedefinieerde interpretatiecriteria):

De stam wordt als **gevoelig** beschouwd indien zijn groei wordt geremd in de kritieke concentratie of in beide kritieke concentraties van het antibioticum.

De stam wordt als **resistent** beschouwd in de volgende gevallen:
1/ groei van de stam voor het geteste antibioticum in één enkele concentratie.

2/ groei in de lage concentratie of in beide concentraties van het antibioticum voor het geteste antibioticum in twee concentraties.

Klasse	Antibiotica	U.u.		M.h.		Komentaire
		S	R	S	R	
Quinolonen	Levofloxacin*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin*	≤2	≥4	≤0.25	≥0.5	
	Ofloxacin	≤1	>1	≤1	>1	
Lincosamiden	Clindamicin*	/	/	≤0.25	≥0.5	U.u. is van nature resistent tegen Clindamicin

Tetracyclines	Tetracycline*	≤1	≥2	≤4	≥8	Stammen gevoelig voor Tetracycline zullen ook gevoelig zijn voor Doxycycline
	Minocycline	≤2	>2	≤2	>2	
Macroliden	Erythromycin*	≤8	≥16	/	/	Stammen gevoelig voor Erythromycin zullen ook gevoelig zijn voor Azithromycin. Mh is van nature resistent tegen Erythromycin
	Roxithromycin	≤2	>2	/	/	Mh is van nature resistent tegen roxithromycin
	Josamycin	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolides	Telithromycin*	≤4	-	≤4	≥8	
Streptogramines	Pristinamycin	≤2	>2	≤2	>2	

(*door het CLSI gedefinieerde interpretatiecriteria)

M. hominis is van nature resistent tegen 14- en 15-carbonmacroliden, met inbegrip van erythromycin en roxithromycin, maar gevoelig voor 16-carbonmacroliden zoals Josamycin.

U. urealyticum is van nature resistent tegen lincosamides (Clindamicin).

In sommige populaties kan de resistentie tegen tetracycline oplopen tot 45% voor U.u. en 39,6% voor M.h. (2). De resistentie tegen quinolonen (U.u. en M.h.) (5, 6) en tegen clindamicin (M.h.) is beschreven, maar de prevalentie is niet bekend.

Hulp bij interpretatie:

Gevoeligheidstest van Uu

ATB*	LVX				MXF				TE T				ERY				
	1	2	4	int*	0.25	0.5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	8	16	int*
Profielen	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

*ATB= Antibiotica, *CONC= Concentratie, *INT= Interpretaties

Gevoeligheidstest van Mh

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Profielen	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

Gevoeligheidstest van M.h.

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*
Profielen	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

Gevoeligheidstest van M.h.

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
CONC* (µg/mL)	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Profielen	-	S	odolnost pfitrozená		-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/			+	R	+	R	+	R	+	R

10 - BIJZONDERE GEVALLEN

Voor zeer hoge gehalten van U.u. of M.h. is er een rode kleurafwijking van alle putjes betrokken bij de kiem. Dan wordt het aanbevolen het monster te verdunnen om een nauwkeuriger resultaat te verkrijgen. Ga in dit geval als volgt te werk:

Inoculeer een nieuwe UMMt-flacon van 3 mL met 300 µL van het oorspronkelijke UMMt-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.1).
Inoculeer een nieuwe galerij met behulp van het nieuwe geïnoculeerde UMMt-medium.

Houd voor het interpreteren van de telling rekening met de verdunning (1:10). Controleer indien nodig op A7-agar de aanwezigheid van mycoplasma's door het opnieuw te isoleren vanaf het oorspronkelijke UMMt-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.1).

Een niet-constante incubatietemperatuur of een temperatuur < 36 °C (frequente opening van de broedstof, temperatuurheterogeniteit in de broedstof,...) kan de groeikinetiek van mycoplasma's vertragen.

11 - KWALITEITSCONTROLE

De kwaliteit kan worden gecontroleerd met behulp van de stammen *U. urealyticum* of *M. hominis* van de kit MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) of met behulp van een gelyofiliseerde collectorstam (*U. urealyticum* ATCC 27815 of *M. hominis* ATCC 23114) vooraf gekalibreerd op 10⁴⁻⁵ CCU/mL.

Inoculeer de galerij MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ en zet de test voort zoals aangegeven in deze handleiding (§9.2).

Verwachte resultaten hieronder (ATCC):

MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

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

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

12 - BEPERKINGEN VAN DE METHODE

12.1 - Onderzoek:

De galerij MYCOFAST Screening *RevolutioN* heeft een gevoeligheidsdrempel van ≤ 10³ CCU/mL en laat geen telling toe. De telling verkregen met de galerij MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ kan negatief blijken na een positief onderzoek.

12.2 - Telling, identificatie en gevoeligheidstest

Enkele bacteriën vertonen in hoeveelheid >10⁶⁻⁷ CFU/mL en doordat ze een urease bevatten kunnen ze alle putjes van de galerij doen verkleuren. De aanwezigheid ervan kan worden gecontroleerd door opnieuw te isoleren op chocoladeagar vanaf het oorspronkelijke UMMt-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.1).

Een basische monster-pH (pH ≥ 7) kan het medium doen verkleuren. Verdun in dit geval het monster (1:10) in een ander UMMt-medium en interpreteer het rekening houdend met de verdunning.

Een zuur monster-pH (pH ≤ 5,5) kan de verschijning van de kleurafwijking vertragen.

Een monster dat bloed bevat kan een kleurverandering van de putjes van de galerij MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ veroorzaken, wat geïnterpreteerd wordt als positieve resultaten. Verdun in dit geval het monster (1:10) in een ander UMMt-medium en interpreteer het rekening houdend met de verdunning. Een lichtjes met mycoplasma's geladen monster (<10³ CCU/mL) kan een willekeurige verkleuring geven in de verschillende putjes van de galerij. Zoals bij elke kiemonderzoeksmethode hangt de kwaliteit van het monster af van het resultaat van de test. Een negatieve test wijst dus niet noodzakelijk op een afwezigheid van infectie.

13 - PRESTATIES

13.1 - Onderzoek en differentiatie

Galerij MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Er is een vergelijkende studie uitgevoerd met vaginale klinische monsters (n=40; 2 soorten U.u. en M.h.) op droge swabs.

De met MYCOFAST Screening *RevolutioN* verkregen resultaten worden vergeleken met de telmethode in microverdunningsvloeistof. Voor het onderzoek van de 2 soorten U.u. en M.h. bedraagt de overeenkomst 97,5%.

We hebben 1 vals-negatieve U.u. gedocumenteerd voor een gehalte van 10³ CCU/mL in de telmethode in micro verdunningsvloeistof in de wetenschap dat dit gehalte wordt beschouwd als infrapathologisch voor vaginale monsters. Voor U.u. en M.h. is de globale overeenkomst 100% voor de suprapathologische gehalten.

Voor de differentiatie hebben alle geteste monsters een correcte identificatie van U.u. of M.h. in de putjes van de MYCOFAST Screening *RevolutioN*-galerij mogelijk gemaakt.

13.2 - Identificatie en telling

Directe methode galerij MYCOFAST ATB+

% celkové shody	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Geïsoleerde stammen (gehalten van ≤ 10 ³ CCU/mL) (zie § 14.1.1)	97,7	NVT	NVT
Geïsoleerde stammen (gehalten van ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (zie § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Vaginale klinische monsters	100	95,7	97,8
Vloeibare klinische monsters: urine	96,6	97,7	97,1

NVT = niet van toepassing

Er is een vergelijkende studie uitgevoerd van 21 geïsoleerde stammen (ATCC-stammen en collectorstammen) die afzonderlijk getest zijn (U.u. of M.h.) in verschillende verdunningen (85 testen in totaal).

De verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10³ CCU/mL; de globale concordantie voor U.u. bedraagt 97,7% (we hebben 2 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10³ CCU/mL in telmethode in microverdunning).

Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10⁴ CCU/mL; de globale concordantie voor U.u. bedraagt 96,5% (we hebben 3 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10³ CCU/mL in telmethode in microverdunning). De globale concordantie voor M.h. bedraagt 98,9% (we hebben 1 vals-positief resultaat gedocumenteerd voor een gehalte van 10³ CCU/mL in telmethode in microverdunning).

De algemene overeenkomst U.u. en M.h. bedraagt 97,8%.

Er is een vergelijkende studie uitgevoerd met vaginale klinische monsters (n=23) uitgevoerd op droge swabs. De met MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ verkregen resultaten worden vergeleken met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

De globale concordantie voor U.u. bedraagt 100% en voor M.h. bedraagt de globale concordantie 95,7% (we hebben vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10² CCU/mL in de methode van vloeibare microverdunning).

Een tweede vergelijkende studie werd uitgevoerd met klinische urinemonsters (n=88).

De resultaten werden na 48 uur incubatie afgelezen en geïnterpreteerd als de test in 24 uur negatief was. De aanwezigheid van enkel mycoplasma zonder telling werd aangetoond, aangezien het wordt aanbevolen om verder te gaan in het geval van vloeibare monsters.

De met MYCOFAST Screening *RevolutioN* ATB+ verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

De globale concordantie voor U.u. bedraagt 96,6% (we hebben 1 vals-positief resultaat gedocumenteerd voor een gehalte van 10⁴ CCU/mL in de telmethode in microverdunning en 2 vals-positieve resultaten voor gehalten van 10² CCU/mL in de telmethode in microverdunning).

De globale concordantie voor M.h. bedraagt 97,7% (we hebben 2 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor een gehalte van 10² CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

De algemene concordantie voor U.u. en M.h. bedraagt 97,1%.

13.3 - Gevoeligheidstest

Het vergelijkende onderzoek is in een nationaal referentielaboratorium uitgevoerd tussen de methode voor het bepalen van minimale remmende concentraties (MIC) in vloeibaar medium en de MYCOFAST *RevolutioN* ATB+-methode.

De geteste stammen (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* en 16 *M. hominis*) zijn referentiestammen, wilde klinische stammen of stammen die resistentie hebben ontwikkeld. Elke stam wordt getest in verdunningen van 10³ – 10⁴ en 10⁵ CCU/mL. De resultaten van beide methoden worden geïnterpreteerd als gevoelig (S) of resistent (R) volgens de CLSI-aanbevelingen.

Voor de gehalten van 10⁴ en 10⁵ CCU/mL werden de resultaten na 24 uur incubatie afgelezen en geïnterpreteerd.

Voor de gehalten van 10³ CCU/mL werden de resultaten na 48 uur incubatie afgelezen en geïnterpreteerd als de test in 24 uur negatief was.

De globale concordantie voor *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* bedraagt: 93,8% (394/420).

De globale concordantie voor *Mycoplasma hominis* voor gehalten van 10⁴ – 10⁵ CCU/mL bedraagt: 93,4% (227/243).

Concordantie	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: Grote discrepantie, DTM: Zeer grote discrepantie

a: Discrepantie verkregen bij 10⁴ CCU/mL (referentie-MIC bij 4 µg/mL)

b : 1 discrepantie verkregen bij 10³ CCU/mL (referentie- MIC bij 2 µg/mL),
discrepantie bij 10⁴ CCU/mL (referentie- MIC bij 1 µg/mL),
1 discrepantie bij 10⁵ CCU/mL (referentie- MIC bij 1 µg/mL),
1 discrepantie bij 10⁵ CCU/mL (referentie- MIC bij 2 µg/mL)

c: 1 discrepantie verkregen bij 10³ CCU/mL (referentie- MIC bij 2 µg/mL),
discrepantie bij 10⁴ CCU/mL (referentie- MIC bij 2 µg/mL),
1 discrepantie bij 10⁵ CCU/mL (referentie- MIC bij 4 µg/mL),

Concordantie	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: Discrepantie verkregen bij 10⁴ CCU/mL (referentie- MIC >32 µg/mL)

b : Discrepantie verkregen bij 10⁵ CCU/mL (referentie- MIC bij 4 µg/mL)

c: Discrepantie verkregen bij 10⁵ CCU/mL (referentie- MIC MI bij 2 µg/mL)

14 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type reagentia geldende en wetgeving.

15 - BIBLIOGRAFIE

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

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

3 - **PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001.** Mykoplasmata en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires. Doplňk k č. 329, 34-36.

4 - **TAYLOR-ROBINSON D. 1995.** Ureaplasma urealyticum (T-strain Mycoplasma) and Mycoplasma hominis, str. 1713-1718. V MAN-DELLG. L. , BENNETJ.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4. vyd., díl 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - **WAITES KEN B. , BREDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005.** Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Díl18, č. 4, 757-789.

6 - **WAITES KEN B, DONNAM. CRABB, and LYNN B. DUFFY. 2008.** Comparative In Vitro Activities of the Investigational Fluoroquinolone DC-159a and Other Antimicrobial Agents against Human Mycoplasmas and Ureaplasmas. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Díl 52, č. 10, 3776–3778.

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

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.

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>

