

Diagnostic des mycoplasmes urogénitaux

MYCOFAST® Screening *RevolutioN*

Détection et différenciation
50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® *RevolutioN* ATB+

Numération, identification et test de sensibilité
25 tests (REF 00073)

UMMt *RevolutioN*

50 tests (REF 00061)

CPB 0396-4_FR-2018-03

Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement



I - BUT

Le coffret MYCOFAST Screening *RevolutioN* (REF 00063) permet le dépistage et la différenciation de *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u) et de *Mycoplasma hominis* (M.h) à partir de différents prélèvements cliniques. Il doit être utilisé en association avec les milieux du coffret UMMt *RevolutioN* (REF 00061).

En cas de dépistage positif, l'analyse pourra être complétée avec les galeries du coffret COMPLEMENT MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ (REF 00073) permettant la numération et l'identification de U.u et/ou M.h ainsi que le test de sensibilité aux antibiotiques suivant les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 – INTRODUCTION

Les mycoplasmes, qui comptent plusieurs espèces recensées à ce jour chez l'homme, appartiennent à la classe des mollicutes. Ils se différencient des autres bactéries sur de nombreux points, parmi lesquels l'absence de paroi qui leur confère une résistance naturelle aux β -lactamines, ainsi qu'une membrane riche en stérols provenant des membranes des cellules eucaryotes sur lesquelles ils se fixent. Les mycoplasmes sont des organismes relativement fragiles, qui ne se multiplient en milieu acellulaire qu'en présence de nombreux facteurs de croissance et à une température optimale de 37°C (4).

La plupart des mycoplasmes humains sont de simples commensaux. Des espèces isolées à partir du tractus urogénital, *U. urealyticum* et *M. hominis* sont les plus souvent retrouvées. L'espèce *U. urealyticum* est divisée en deux biovars : *U. urealyticum* et *U. parvum* (U.u).

U.u ou M.h peuvent se comporter comme de véritables pathogènes. Ils sont responsables d'infections génitales masculines (urétrites non gonococciques, épидидymites, prostatites, infertilité); d'infection gynécologique (vaginose bactérienne, endométrites, salpingites); de troubles de la reproduction (chorioamniotites, endométrites post-partum, prématurité, avortement spontané); d'atteintes néonatales (faible poids de naissance, infections respiratoires, neurologiques, bactériémies, abcès); d'infections extragénitales (arthrites septiques, arthrites réactionnelles, autres localisations) (1).

Le diagnostic des infections à mycoplasmes dépend de la détermination d'un seuil pathologique et donc d'une numération. L'apparition de résistance de U.u et M.h à certaines molécules conduit à réaliser un test de sensibilité aux antibiotiques (5, 6). Les antibiotiques testés et les critères d'interprétation sont adaptés au traitement des infections à my-

coplasmes au niveau du tractus urogénital ou d'autres sites extragénitaux (2).

3 - PRINCIPE

Description	Quantité		
	réf 00061	réf 00073	réf 00063
UMMt : Flacon de 3 mL de bouillon mycoplasmes avec antibiotiques et agent conservateur. pH: 6.0 ± 0.1	50		
MYCOFAST SCREENING <i>RevolutioN</i> : Galerie sécable de 10 puits pour 5 tests, conditionnée individuellement en sachet aluminium avec dessiccant intégré			10
Étiquettes : Planche de 5 étiquettes sécables			10
S.Mh : Activateur de croissance de Mh (4.5mL)			1
MYCOFAST <i>RevolutioN</i> ATB+ : Galerie de 24 puits pour 1 test, conditionnée en sachet aluminium avec dessiccant intégré		25	
Closing System: Couvercle en plastique translucide pour galerie MYCOFAST <i>RevolutioN</i>		25	

La technique MYCOFAST Screening *RevolutioN* est une méthode en milieu liquide basée sur l'aptitude de U.u et de M.h à métaboliser respectivement l'urée et l'arginine. La croissance des mycoplasmes en milieu liquide est visualisée par le virage d'un indicateur coloré - le rouge de phénol - du jaune-orangé au rouge qui traduit l'alcalinisation du milieu due à la libération d'ammoniaque.

La croissance des mycoplasmes ainsi visualisée permet :

- la détection et la différenciation ; puis en cas de positivité :
- la numération basée sur la vitesse d'hydrolyse des substrats qui est proportionnelle à la quantité de germes contenus dans le prélèvement.
- l'identification basée sur la sensibilité ou non du germe vis-à-vis de trois antibiotiques.
- l'étude de la sensibilité de U.u et M.h aux antibiotiques.

4 – REACTIFS

Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Galerie composée de 5 séries de 2 puits : un puits *Ureaplasma urealyticum* (U.u) contenant de la lincomycine et de l'urée et un puits *Mycoplasma hominis* (M.h) contenant de l'érythromycine et de l'arginine.

Galerie MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

La galerie MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ contient, sous forme déshydratée, dans les 24 puits le milieu de croissance des mycoplasmes (sérum de poulain, extrait de levures, cystéine, arginine, urée, rouge de phénol, antibiotiques, pH : 6.1 ± 0.1) et 11 antibiotiques de 1 à 4 concentrations :

Puits 1/2 : Numération de U.u pour des taux de 10^3 et $\geq 10^4$ UCC/mL (solution tamponnée et lincomycine inhibant la croissance des M.h) (en bleu)

Puits 3 : Numération de M.h pour le taux $\geq 10^4$ UCC/mL (en rouge)

Puits 4/5/6 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Lévofoxacine (LVX) à 1/2/4 μ g/mL

Puits 7/8/9/10 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Moxifloxacine (MXF) à 0,25/0,5/2/4 μ g/mL

Puits 11/12/13/14 : Evaluation de la sensibilité de mycoplasmes à la Tétracycline (TET) à 1/2/4/8 μ g/mL

Puits 15/16 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à l'Erythromycine (ERY) à 8 /16 μ g/mL (en rouge)

Puits 17/18 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Clindamycine (CLI) 0,25 /0,5 μ g/mL (en bleu)

Puits 19 : Evaluation de la sensibilité de mycoplasmes à la Télithromycine (TEL) à 4 μ g/mL

Puits 20 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Roxithromycine (ROX) à 2 μ g/mL

Puits 21 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Minocycline (MIN) à 2 μ g/mL

Puits 22 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à l'Ofloxacine (OFX) à 1 μ g/mL

Puits 23 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Josamycine (JOS) à 2 μ g/mL

Puits 24 : Evaluation de la sensibilité des mycoplasmes à la Pristinamycine (PRI) à 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® <i>RevolutioN</i> ATB+									1	OFX	22
23	JOS	2	MYCOFAST® <i>RevolutioN</i> ATB+									2	MIN	21
		Uu	Uu	Mh	LVX		MXF							
		10^3	$\geq 10^4$	$\geq 10^4$	1	2	4	0.25	0.5	2	4			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

Les réactifs de ce coffret sont destinés uniquement au diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.

Les prélèvements et les réactifs ensemencés sont potentiellement infectieux, ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation pour ce type de produit.

Les réactifs contenant des matières premières d'origine animale doivent être manipulés avec les précautions d'usage.

Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou mal conservés avant utilisation.

Un résultat positif avec la galerie MYCOFAST *RevolutioN* ATB+ traduit une colonisation par les mycoplasmes urogénitaux, mais ne peut servir seul à effectuer un diagnostic clinique.

Celui-ci doit être réalisé par le médecin en fonction des résultats biologiques et des signes cliniques.

6 - RECUEIL ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

6.1 Recueil des échantillons

Prélèvements cervico-vaginaux:

Utiliser uniquement un écouvillon Dacron ou rayonne, ou une cytobrosse. Effectuer le prélèvement après une élimination soignée des sécrétions de l'exocol à l'aide d'un premier écouvillon. Les mycoplasmes ayant une forte affinité pour les cellules des muqueuses sur lesquelles ils adhèrent, il est essentiel de bien gratter la muqueuse afin d'obtenir un bon rendement.

Prélèvements urétraux: Nettoyer le méat et prélever par écouvillonnage ou grattage des cellules.

Sperme, urines: Récouter le sperme ou le premier jet d'urine dans un flacon stérile.

6.2 Transport en milieu UMMt

Prélèvements sur écouvillon: Décharger l'écouvillon dans un flacon de milieu UMMt.

Prélèvements liquides: Ensemencer un flacon de milieu UMMt avec 300 μ L de liquide homogénéisé.

6.3 Conservation en milieu UMMt

Une fois ensemencé, le milieu UMMt peut être conservé à température ambiante (18-25°C) pendant 20 heures, ou à 2-8°C pendant 56 heures. Pour une conservation pendant 3 jours à -20°C, rajouter au préalable 2 gouttes de "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PREPARATION ET CONSERVATION DES REACTIFS

Les réactifs conservés à 2-8°C sous leur état d'origine sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes.

En cas d'utilisation d'une seule série de puits (U.u) (M.h) ou de deux, trois, quatre séries de puits, le reste de la galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN* non utilisé, et fermé hermétiquement dans la pochette d'origine en aluminium, peut être conservé 4 semaines à 2-8°C.

Le supplément M.h est stable 3 mois après ouverture.

Le milieu UMMt peut être temporairement (3 mois) conservé à température ambiante mais présente une meilleure stabilité à 2-8°C.

Ne pas congeler les réactifs du coffret.

8 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS

Matériel pour prélèvement (écouvillons, cyto-brosses, flacons stériles pour le recueil des prélèvements liquides), pipettes et cônes de transfert MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064); étuve calibrée à 37 ± 1°C Réceptacle pour déchets contaminés et huile minérale

9 - MODE OPÉRATOIRE

Amener les réactifs à température ambiante pendant 20 à 30 minutes.

9.1 DEPISTAGE - Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*

- Préparer autant de séries de puits que d'échantillons à tester.

- Si besoin, séparer une ou des séries de puits (U.u)/(M.h) en se repérant aux marquages sur la galerie.

9.1.1 Ensemencement du milieu UMMt *RevolutioN*

Ensemencer le milieu UMMt avec l'écouvillon ou 300 µL de prélèvements liquides (§ 6.2).

Homogénéiser.

9.1.2 Inoculation des puits U.u/M.h

- Distribuer successivement:

Puits (U.u) : 100 µL de milieu UMMt ensemencé.

Puits (M.h) : 100 µL de milieu UMMt ensemencé.

50 µL de milieu Supplément M.h

- Rajouter 2 gouttes d'huile minérale dans les deux puits.

- Recouvrir les puits avec l'étiquette sécable et identifier le prélèvement.

- **Conservé l'excédent du flacon de milieu UMMt** ensemencé à 2-8°C pour continuer l'analyse dans le cas d'un dépistage positif.

9.1.3 Incubation des puits U.u/M.h

Incuber les puits de la galerie pendant 24 heures à 37 ± 1°C. L'incubation de la galerie peut être prolongée jusqu'à 48 heures uniquement dans le cas de tests négatifs en 24 heures.

9.1.4 Lecture et interprétation des puits U.u/M.h

- Vérifier que les 2 puits (U.u) (M.h) sont limpides. Un puits trouble indique une contamination bactérienne. Dans ce cas recommencer le test.

- Observer le virage de couleur dans les puits U.u et M.h:

Puits U.u orangé ou rouge: Présence de *Ureaplasma urealyticum*

Puits M.h orangé ou rouge: Présence de *Mycoplasma homini*

Puits U.u / M.h jaune : Absence de mycoplasmes

En cas de dépistage positif poursuivre le diagnostic avec la galerie MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

9.2 NUMERATION, IDENTIFICATION ET TEST DE SENSIBILITE

9.2.1 Ensemencement de la galerie MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

Retirer le film adhésif en tirant sur la languette et distribuer successivement dans les puits:

puits 1-24 100 µL de milieu UMMt ensemencé

puits 1-24 2 gouttes d'huile minérale

Recouvrir la galerie en enclenchant le couvercle "closing system".

Identifier le prélèvement.

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

9.2.2 Incubation de la galerie

Incuber la galerie à 37 ± 1°C pendant 24 heures.

Pour la numération des U.u et des M.h lire les résultats en 24 heures.

L'incubation de la galerie peut être prolongée jusqu'à 48 heures uniquement dans le cas de prélèvements liquides négatifs en 24 heures.

9.2.3 Lecture et interprétation

Vérifier que tous les puits de la galerie sont limpides. Un puits trouble indique une contamination bactérienne. Dans ce cas refaire une analyse. La croissance de mycoplasmes urogénitaux dans les puits se traduit par une alcalinisation du milieu qui vire au rouge. En l'absence de croissance des mycoplasmes urogénitaux, le milieu reste jaune.

Une coloration orangée doit être considérée comme un test positif (taux limite).

Se référer à la fiche de résultats pour l'interprétation du test.

Numération (puits 1, 2 et 3)

Repérer les puits ayant viré au rouge et interpréter:

1 taux U.u de 10³ UCC/mL

1 et 2 taux U.u ≥ 10⁴ UCC/mL

3 taux M.h ≥ 10⁴ UCC/mL

Le rôle pathologique des mycoplasmes dans les infections urogénitales est sujet à interprétation selon des recommandations spécifiques (1,3,7).

Les taux pathologiques habituellement retenus pour *U. urealyticum* sont: ≥10⁴ UCC/mL pour un prélèvement urétral, ≥10³ UCC/mL pour un 1er jet d'urines ou un sperme (même si une nouvelle recommandation locale mentionne un seuil à ≥10⁴UCC/mL pour le sperme (7)). Pour *M. hominis* sa présence à un taux ≥10⁴ UCC/mL dans un prélèvement cervico-vaginal est anormale (1, 3).

Test de sensibilité (puits 4 à 24)

Le virage du milieu dans les puits contenant un antibiotique traduit la capacité de la souche à se développer en présence de la concentration testée de l'antibiotique. La couleur jaune du milieu traduit l'incapacité de la souche à se développer en présence de la concentration testée de l'antibiotique. Les souches sont qualifiées de sensibles ou résistantes vis-à-vis des antibiotiques selon les critères d'interprétations suivants définis par le CLSI (2).

Critères d'interprétation des CMI en µg/mL (critères d'interprétations définis par le CLSI) :

La souche est dite **sensible** quand sa croissance est inhibée à la concentration critique ou aux deux concentrations critiques de l'antibiotique.

La souche est dite **résistante** si :

1/ croissance de la souche pour l'antibiotique testé à une seule concentration.

2/ croissance à la concentration basse ou aux deux concentrations de l'antibiotique pour l'antibiotique testé à deux concentrations.

Classe	Antibiotique	Uu		Mh		Commentaires
		S	R	S	R	
Quinolones	Lévofloxacine*	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacine*	≤2	≥4	≤0.25	≥0.5	
	Ofloxacine	≤1	>1	≤1	>1	
Lincosamides	Clindamycine*	/	/	≤0.25	≥0.5	U.u est naturellement résistant à la Clindamycine
Tétracyclines	Tétracycline*	≤1	≥2	≤4	≥8	Les souches sensibles à la Tétracycline le seront aussi à la Doxycycline
	Minocycline	≤2	>2	≤2	>2	
Macrolides	Erythromycine*	≤8	≥16	/	/	Les souches sensibles à l'Erythromycine le seront aussi à l'Azithromycine. M.h est naturellement résistant à l'Erythromycine
	Roxithromycine	≤2	>2	/	/	M.h est naturellement résistant à la Roxithromycine
	Josamycine	≤2	>2	≤2	>2	
Ketolides	Télithromycine*	≤4	-	≤4		
Streptogramines	Pristinamycine	≤2	>2	≤2	>2	

(*critères d'interprétations définis par le CLSI)

M. hominis est naturellement résistant aux macrolides à 14 et 15 carbones, incluant l'Erythromycine et la Roxithromycine mais sensible aux macrolides à 16 carbones comme la Josamycine.

U. urealyticum est naturellement résistant aux lincosamides (Clindamycine).

Dans certaines populations le taux de résistance à la Tétracycline peut atteindre 45 % pour les U.u et 39.6% pour les M.h (2). Des résistances aux quinolones (U.u et M.h) (5, 6) et à la clindamycine (M.h) ont été décrites mais la prévalence n'est pas connue.

Aide à l'interprétation:

Test de sensibilité de Uu

ATB*	LVX				MXF				TET				ERY				
	1	2	4	int*	0.25	0.5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	8	16	int*
Profils	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

*ATB= Antibiotiques, *CONC= Concentration, *INT= Interprétations

Test de sensibilité de Uu

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

Test de sensibilité de Mh

ATB*	LVX				MXF				TET				CLI				
	1	2	4	int*	0.25	0.5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	0.25	0.5	int*
CONC* (µg/mL)																	
Profils	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

Test de sensibilité de Mh

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

10 - CAS PARTICULIERS

Pour des taux très élevés en U.u ou M.h, il y a virage au rouge de tous les puits concernés par le germe. Il est alors recommandé de procéder à une dilution de l'échantillon afin d'obtenir un résultat plus précis.

Dans ce cas, procéder comme suit :

Ensemencer un nouveau flacon UMMt 3 ml avec 300 µL du milieu UMMt d'origine conservé à 2-8°C (§ 9.1).

Ensemencer une nouvelle galerie à l'aide du nouveau milieu UMMt ensemencé.

Tenir compte de la dilution (1:10) pour l'interprétation de la numération. Confirmer si nécessaire sur gélose A7 la présence de mycoplasmes en ré-isolant à partir du milieu UMMt d'origine conservé à 2-8°C (§ 9.1). Une température d'incubation non constante ou <36°C (ouverture fréquente de l'étuve, hétérogénéité de la température dans l'étuve,...) peut ralentir la cinétique de pousse des mycoplasmes.

11 - CONTROLE DE QUALITE

Le contrôle qualité peut être réalisé à partir des souches *U. urealyticum* ou *M. hominis* du coffret MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) ou à partir d'une souche de collection lyophilisée (*U. urealyticum* ATCC 27815 ou *M. hominis* ATCC 23114) préalablement calibrée à 10⁴⁻⁵ UCC/mL. Ensemencer la galerie MYCOFAST *Revolutio*NATB+ et poursuivre le test comme indiqué dans cette notice (§9.2)

Résultats attendus ci-dessous (ATCC):

MYCOFAST *Revolutio*NATB+

	Uu 10 ³	Uu ≥10 ⁴	Mh ≥10 ⁴	LVX	MXF	TET	ERY
Souche Uu ATCC 27815	+	+	-	S	S	S/R	S
Souche Mh ATCC 23114	-	-	+	S/R	S	S	R
	CLI	TEL	ROX	MIN	OFX	JOS	PRI
Souche Uu ATCC 27815	R	S	S/R	S	S/R	S	S
Souche Mh ATCC 23114	S	S/R	R	S	S	S	S

12- LIMITES DE LA METHODE

12.1 - Dépistage:

La galerie MYCOFAST Screening *Revolutio*N possède un seuil de sensibilité ≤10³UCC/mL et ne permet pas la numération. La numération obtenue avec la galerie MYCOFAST *Revolutio*N ATB+ peut se révéler négative après un dépistage positif

12.2 - Numération, identification et test de sensibilité

Quelques bactéries présentes en quantité >10⁶⁻⁷ UFC/mL et possédant une uréase peuvent faire virer tous les puits de la galerie. Leur présence peut être vérifiée en ré-isolant sur gélose chocolat à partir du milieu UMMt d'origine conservé à 2-8°C (§ 9.1).

Un pH de prélèvement basique (pH>7) peut faire virer le milieu. Dans ce cas diluer l'échantillon (1:10) dans un autre milieu UMMt et interpréter en tenant compte de la dilution.

Un pH de prélèvement acide (pH≤5,5) peut ralentir l'apparition du virage de couleur.

Un échantillon contenant du sang peut entraîner un changement de couleur des puits de la galerie MYCOFAST *Revolutio*N ATB+, interprété comme des résultats positifs. Dans ce cas diluer l'échantillon (1:10) dans un autre milieu UMMt et interpréter en tenant compte de la dilution. Un prélèvement faiblement chargé en mycoplasmes (<10³ UCC/mL) peut donner un virage aléatoire dans les différents puits de la galerie. Comme pour toute méthode de recherche de germes, la qualité du prélèvement conditionne le résultat du test. Un test négatif ne traduit donc pas forcément une absence d'infection.

13 - PERFORMANCES

13.1 - Dépistage et différenciation

Galerie MYCOFAST Screening *Revolutio*N

Une étude comparative a été réalisée à partir de prélèvements cliniques vaginaux (n=40 ; 2 espèces U.u et M.h) sur écouvillons secs.

Les résultats obtenus avec MYCOFAST Screening *Revolutio*N sont comparés avec la méthode de numération en micro dilution liquide.

Pour le dépistage des 2 espèces U.u et M.h, la concordance est de 97,5%. Nous avons répertorié 1 faux négatif U.u pour un taux à 10³ UCC/ml en méthode numération en micro dilution liquide sachant que ce taux est considéré comme infra-pathologique pour des prélèvements vaginaux. Pour U.u et M.h la concordance globale est de 100% sur les taux supra-pathologiques.

Pour la différenciation, tous les prélèvements testés ont permis une identification correcte du U.u ou M.h dans les puits de la galerie MYCOFAST Screening *Revolutio*N.

13.2 - Identification et numération

Méthode directe Galerie MYCOFAST ATB+

% de concordance globale	Uu	Mh	Uu/Mh
Souches isolées (taux ≤10 ³ UCC/mL) (voir § 14.1.1)	97,7	NA	NA
Souches isolées (taux ≥10 ⁴ UCC/mL) (voir § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Prélèvements cliniques vaginaux	100	95,7	97,8
Prélèvements cliniques liquides : urines	96,6	97,7	97,1

NA : non applicable

Une étude comparative a été réalisée à partir de 21 souches isolées (souches ATCC et souches de collection) testées séparément (U.u ou M.h) à plusieurs dilutions (85 tests au total).

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus avec la méthode de

numération en micro dilution liquide.

Pour une interprétation avec un seuil pathologique fixé à 10³ UCC/ml; la concordance globale pour U.u est de 97.7% (nous avons répertorié 2 faux positifs pour des taux à 10³ UCC/ml en méthode de numération en micro dilution).

Pour une interprétation avec un seuil pathologique fixé à 10⁴ UCC/ml ; la concordance globale pour U.u est de 96.5% (nous avons répertorié 3 faux positifs pour des taux à 10³ UCC/ml en méthode de numération en micro dilution). La concordance globale pour le M.h est de 98.9% (nous avons répertorié un faux positif pour un taux 10³ UCC/ml en méthode de numération en micro dilution).

La concordance globale U.u et M.h est de 97.8%.

Une étude comparative a été réalisée à partir de prélèvements cliniques vaginaux (n=23) réalisé en écouvillons sec. Les résultats obtenus avec MYCOFAST *Revolutio*N ATB+ sont comparés avec la méthode de numération en micro dilution liquide.

La concordance globale pour U.u est de 100% et pour le M.h la concordance globale est de 95,7% (nous avons répertorié au faux positif pour un taux à 10² UCC/ml en méthode de microdilution liquide).

Une seconde étude comparative a été réalisée à partir de prélèvements cliniques urinaire (n= 88).

Les résultats ont été lus et interprétés après 48h d'incubation si le test était négatif en 24h. La présence du mycoplasme seul sans numération a été rendue, comme il est recommandé de procéder dans le cas de prélèvement liquide.

Les résultats obtenus avec MYCOFAST *Revolutio*N ATB+ sont comparés à ceux obtenus avec la méthode de numération en micro dilution liquide.

La concordance globale pour U.u est de 96.6% (nous avons répertorié 1 faux négatif pour un taux à 10⁴ UCC/ml en méthode de numération en micro dilution et 2 faux positifs pour des taux de 10² UCC/ml en méthode de numération en micro dilution).

La concordance globale pour M.h est de 97.7% (nous avons répertorié 2 faux positifs pour un taux à 10² UCC/ml en méthode de numération en micro dilution).

La concordance globale pour U.u et M.h est de 97.1%.

13.3 - Test de sensibilité

L'étude comparative a été réalisée dans un laboratoire national de référence entre la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide et la méthode MYCOFAST *Revolutio*N ATB+.

Les souches testées (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* et 16 *M. hominis*) sont des souches de référence, des souches cliniques sauvage ou des souches ayant acquis des résistances. Chaque souche est testée aux dilutions de 10³ - 10⁴ et 10⁵ UCC/ml. Les résultats des deux méthodes sont interprétés en sensible (S) ou résistant (R) selon les recommandations du CLSI.

Pour les taux 10⁴ et 10⁵ UCC/ml, les résultats ont été lus et interprétés après 24h d'incubation.

Pour les taux 10³ UCC/ml, les résultats ont été lus et interprétés après 48h d'incubation si le test était négatif en 24h.

La concordance globale pour *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* est de : 93,8% (394/420).

La concordance globale pour *Mycoplasma hominis* pour des taux à 10⁴-10⁵ UCC/ml est de : 93,4% (227/243).

Concordance	<i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>parvum</i> (n=42)									
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	ERY	JOS	PRI	TEL	ROX
		39	38	37	40	34	41	42	42	42
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: Discordance Majeure, DTM : Discordance Très Majeure

^a : Discordance obtenue à 10⁴ UCC/ml (CMI de référence à 4 µg/ml)

^b : 1 Discordance obtenue à 10³ UCC/ml (CMI de référence à 2 µg/ml), 1 discordance à 10⁴ UCC/ml (CMI de référence à 1 µg/ml), 1 discordance à 10⁵ UCC/ml (CMI de référence à 1 µg/ml), 1 discordance à 10⁵ UCC/ ml (CMI de référence à 2 µg/ml)

^c : 1 Discordance obtenue à 10³ UCC/ml (CMI de référence à 2 µg/ml), 1 discordance à 10⁴ UCC/ml (CMI de référence à 2 µg/ml), 1 discordance à 10⁵ UCC/ml (CMI de référence à 4 µg/ml)

concordance	<i>Mycoplasma hominis</i> (n=27)								
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	JOS	PRI	TEL	CLI
		26	26	27	27	26	27	27	14
DM	0	0	0	0	0	0	0	13	0
DTM	1 ^a	1 ^b	0	0	1 ^c	0	0	0	0

^a : Discordance obtenue à 10⁴ UCC/ml (CMI de référence >32 µg/ml)

^b : Discordance obtenue à 10⁵ UCC/ml (CMI de référence à 4 µg/ml)

^c : Discordance obtenue à 10⁵ UCC/ml (CMI de référence à 2 µg/ml)

14 - ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de réactifs dans le pays d'utilisation.

15 - BIBLIOGRAPHIE

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 MANDELG. L. , BENNETJ.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed., vol. 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - **WAITES KEN B. , BRENDKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005.** Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Vol.18 -N°4 -757-789.

6 - **WAITES KEN B, DONNAM. CRABB, and LYNN B. DUFFY. 2008.** Comparative In Vitro Activities of the Investigational Fluoroquinolone DC-159a and Other Antimicrobial Agents against Human Mycoplasmas and Ureaplasmas. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Vol. 52, No. 10, 3776–3778.

7 - **Rémic 2015** - Référentiel en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5ème édition)

MYCOFAST® est une marque déposée d'ELITech MICROBIO

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris



ELITech MICROBIO
 Parc d'activités du Plateau
 19, allée d'Athènes
 83870 SIGNES – France
 Tél. : 33 (0)4 94 88 55 00
 Fax. : 33 (0)4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>