

Diagnose von urogenitalen Mykoplasmen
MYCOFAST Screening Revolution
 Erkennung und Differenzierung
 50 Tests (Art. 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2
 Zählung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung
 25 Tests (Art. 00082)

UMMt Revolution
 50 Tests (Art. 00061)

CPB 0396-2-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 Kits 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 -Lactamine verleiht, sowie einer sterinreichen 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 Biovare 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 (Chorioamnionitis, postpartale Endometritis, Frühgeburt, spontane Fehlgeburt); 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 Harnstoff und Arginin. Das Wachstum von Mykoplasmen in flüssigem Medium wird durch die Veränderung der Farbe eines farbigen Indikators - Phenolrot - von gelb-orange nach fuchsiarot 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. 00082	Art. 00063
UMMt: Behälter mit 3 mL Mykoplasmenbrühe mit Antibiotika und Konservierungsmittel. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: 10-fach trennbares Rack 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: 24-Brunnen Testrack für 1 Test, verpackt im Aluminiumoxidbeutel 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. **MYCOFAST Galerie *Revolution* 2**

Die Galerie enthält in den 24 Brunnen das Wachstumsmedium in getrockneter Form (Fohlenserum, Hefeextrakt, Cystein, Arginin, Harnstoff, Phenolrot, Antibiotika, pH: 6,1 ± 0,1) und besteht aus 2 verschiedenen Teilen:

dem Teil für die Zählung und Bewertung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika für die Art U.u. (Brunnen mit schwarzer Schrift auf dem Etikett).

dem Teil zur Zählung und Bewertung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika für die Art M.h. (Brunnen mit roter Schrift auf dem Etikett).

Diagnostischer Teil der U.u.-Arten (schwarz):

Brunnen 1/2/3: Identifizierung und Zählung von Uu bei Werten von 10^3 , 10^4 und $\geq 10^5$ CCU/mL (gepufferte Lösung und Lincomycin, welches das Wachstum von Mh hemmt).

Brunnen 4/5: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Levofloxacin (LVX) bei 2 / 4 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 6/7: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Moxifloxacin (MXF) bei 2 / 4 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 8/9: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Erythromycin (ERY) bei 8 / 16 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 10/11: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Tetracyclin (TET) 1-2 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 12/13: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Doxycyclin (DOX) 1-2 $\mu\text{g/mL}$

Teil zur Diagnose der Art M.h. (in rot):

Brunnen 14: Identifizierung und Zählung von M.h. für Werte von $\geq 10^4$ CCU/mL

Brunnen 15/16: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Doxycyclin (DOX) 4-8 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 17/18: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Levofloxacin (LVX) 1-2 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 19/20: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Moxifloxacin (MXF) 0,25-0,5 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 21/22: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Clindamycin (CL) 0,25-0,5 $\mu\text{g/mL}$

Brunnen 23/24: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Clindamycin (CL) 0,25-0,5 $\mu\text{g/mL}$

		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
		DOX		LVX		MXF		CLI		TET			
		4	8	1	2	0,25	0,5	0,25	0,5	4	8		
14	Mh $\geq 10^4$ Uu $\geq 10^3$	MYCOFAST® <i>Revolution</i> 2										2	13
1												1	12
				2	4	2	4	8	16	1	2		
		Uu 10^4	Uu $\geq 10^5$	LVX		MXF		ERY		TET			
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		

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 Mycoplasme 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-vaginale Proben

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

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

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

6.2 Transport in UMMt AMIES-Medium

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

Flüssigkeitsproben: Besäen Sie einen Behälter mit UMMt-Medium mit 300 μL 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 *RevolutioN* 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

Probenahmegeräte (Tupfer, Zytobürsten, sterile Behälter zur Entnahme von flüssigen Proben)
 MYCOPLASMA Stabilizer (Art. 00064)
 Pipetten und Portiokegel
 Behälter für verunreinigtes Abfälle
 Mineralöl
 Wärmekammer kalibriert bei 37 ± 1 °C

9 - VORGEHENSWEISE

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

9.1 SCREENING - Galerie MYCOFAST Screening *RevolutioN*

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 *RevolutioN*

Besäen Sie das UMMt-Medium mit dem Tupfer 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 flüssigen 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 Uu orange oder rot: Anwesenheit von *Ureaplasma urealyticum*
 Brunnen Mh orange oder rot: Anwesenheit von *Mycoplasma hominis*
 Brunnen U.u. / M.h. gelb : Anwesenheit von Mykoplasmen
Setzen Sie bei positivem Screening die Diagnose mit der MYCOFAST Galerie *RevolutioN* 2 fort

9.2 ZÄHLUNG, IDENTIFIZIERUNG UND EMPFINDLICHKEITSPRÜFUNG

9.2.1 Besäung der Galerie MYCOFAST *RevolutioN* 2

Entfernen Sie die Klebefolie 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, 3 und 14)

Suchen Sie die Brunnen, die rot geworden sind und interpretieren Sie sie:
 1 U.u.-Werte von 10³ CCU/mL
 1 und 2 U.u.-Werte von 10⁴ CCU/mL
 1, 2 und 3 U.u.-Werte ≥ 10⁵ CCU/mL
 14 M.h.-Wert ≥ 10⁴ CCU/mL

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

Empfindlichkeitstest gegenüber Antibiotika (Brunnen 4 bis 13, dann 15 bis 24)

Die Verschiebung der Umgebung 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, von der CLSI (2) definierten Interpretationskriterien als anfällig oder resistent gegen Antibiotika eingestuft:

Tabelle der Auslegungskriterien der MIC (µg/mL):

		U.u.		M.h.		Anmerkungen
Klasse	Antibiotikum	S	R	S	R	
Quinolone	Levofloxacin	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
Lincosamide	Clindamycin			≤0,25	≥0,5	
Tetracycline	Tetracyclin	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Doxycyclin	≤1	≥2	≤4	≥8	
Makrolide	Erythromycin	≤8	≥16			Stämme, die empfindlich auf Erythromycin reagieren, sind auch empfindlich gegenüber Azithromycin

Interpretationshilfe:

Antibiotika-Empfindlichkeitstests für U.u.

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

int * = Auslegung

Antibiotika-Empfindlichkeitstests für M.h.

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

int * = Auslegung

Der Stamm wird **empfindlich** genannt, wenn sein Wachstum bei beiden kritischen Konzentrationen des Antibiotikums gehemmt ist. Der Stamm wird **resistent** genannt, wenn sein Wachstum bei der hohen kritischen Konzentration des Antibiotikums gehemmt und bei der niedrigen kritischen Konzentration nicht gehemmt wird, oder wenn sein Wachstum bei beiden kritischen Konzentrationen des Antibiotikums nicht gehemmt wird.
M. hominis ist von Natur aus resistent gegen Makrolide mit 14 und 15 Karbonen, einschließlich Erythromycin. In einigen Populationen kann die Resistenz gegenüber Tetracyclin 45 % für U.u. 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.

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 besätem 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 dem *U. urealyticum* Stamm von MYCOPLASMA CONTROL (Art. 00900) oder aus einem lyophilisierten Sammelstamm (*U. urealyticum* ATCC 27815 oder *M. hominis* ATCC 23114) erfolgen, der zuvor auf 10⁴⁻⁵ CCU/mL kalibriert wurde.

Besäen Sie die MYCOFAST *RevolutioN* 2 Galerie und setzen Sie den Test wie in dieser Anleitung beschrieben (§9 und 10) fort

Erwartete Ergebnisse unten (ATCC):

MYCOFAST *RevolutioN* 2

	U.u. 10 ³	U.u. 10 ⁴	U.u. ≥10 ⁵	M.h. ≥10 ⁴	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
U.u.-Stamm ATCC 27815	+	+	+/-	-	S	S	S	S/R	S	NI*
M.h.-Stamm ATCC 23114	-	-	-	+	S/R	S	NI*	S	S	S

NI * (nicht interpretierbar): Von Natur aus resistent

12 - GRENZEN DER METHODE

12.1 - Screening:

Die Galerie MYCOFAST Screening *Revolution* verfügt über eine Empfindlichkeitsschwelle von $\leq 10^3$ CCU/mL und erlaubt keine Zählung. Die mit der MYCOFAST *Revolution* 2 Galerie erhaltene Zählung kann nach einem positiven Screening negativ werden.

12.2 - Zählung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung

- Einige Bakterien, die in der Anzahl $>10^{5-7}$ CFU/mL vorhanden sind und eine Urease besitzen können alle Brunnen der Galerie verfärben. Ihr Vorhandensein kann durch Nachisolieren auf Schokoladenagar aus dem bei 2-8 °C gelagerten Original UMMT-Medium nachgewiesen werden (§ 9.1).
- Ein basischer Probenahme-pH-Wert (pH > 8) 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) kann das Auftreten der Verfärbung verlangsamen.
- Eine Probe, die Blut enthält, kann zu einer Veränderung der Farbe der Brunnen der MYCOFAST Galerie *Revolution* 2 führen, die als positive Ergebnisse bewertet 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 ($<10^3$ 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 nicht unbedingt, dass keine Infektion vorhanden ist.

13 - LEISTUNGEN

13.1 Screening und Differenzierung

MYCOFAST Galerie Screening *Revolution*

Eine Vergleichsstudie wurde mit vaginalen klinischen Proben (n = 40 p; 2 U.u. und M.h.-Spezies) und trockenen Abstrichen durchgeführt. Die mit MYCOFAST Screening *Revolution* erhaltenen Ergebnisse werden mit der Zählmethode in flüssiger Mikroverdünnung verglichen.

Für die 2 Arten U.u. und M.h. beträgt die Übereinstimmung 97,5%.

Wir haben 1 falsch negative U.u. für eine Rate von 10^3 CCU / mL in der Laborroutine identifiziert, wobei wir wissen, dass dieses Niveau bei vaginalen Proben als *infra* pathologisch angesehen wird. Für U.u. und M.h. liegt die Gesamtübereinstimmung zu 100% bei überpathologischen Raten.

- Zur Unterscheidung erlaubten alle getesteten Proben eine korrekte Identifizierung des U.u. oder M.h. in den Wells der MYCOFAST Screening *Revolution* Gallery.

13.2 Identifizierung und Zählung

Direktmethoden-Galerie MYCOFAST *Revolution* 2

% der Gesamtkonkordanz	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Isolierte Stämme (Wert $\leq 10^3$ CCU/mL) (glej § 14.1.1)	97.4	NA*	NA*
Isolierte Stämme (Wert $\geq 10^4$ CCU/mL) (glej § 14.1.1)	93.4	93.4	93.4
Vaginale klinische Proben (siehe § 14.1.2)	100	100	100
Flüssige klinische Proben - Urin (siehe § 14.1.2)	93.2	96.6	94.9

NA * (nicht zutreffend)

13.2.1 - Bei isolierten Stämmen

Eine vergleichende Studie wurde mit 21 isolierten Stämmen (ATCC und Sammelstämme) durchgeführt, die separat (U.u. oder M.h.) bei mehreren Konzentrationen (insgesamt 76 Tests) getestet wurden.

Die erzielten Ergebnisse werden mit denen einer Mikroverdünnungszählung verglichen. Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert, der auf 10^3 CCU/mL festgelegt wurde, beträgt die globale Konkordanz für U.u. 97,7 % (wir haben 2 falsche Positive für Werte bei 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt).

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert, der auf 10^4 CCU/mL festgelegt wurde, beträgt die Gesamtkonkordanz von Uu 96,5 % (wir haben 3 falsche Positive für Werte bei 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt). Die Gesamtkonkordanz für Mh beträgt 93,4 % (wir haben 5 falsche Positive identifiziert, 4 für Werte von 10^3 CCU/mL und eines für einen Wert von 10^2 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren).

Die Gesamtkonkordanz U.u. und M.h. beträgt 93,4 %.

13.2.2 - An klinischen Proben

Eine erste vergleichende Studie wurde an vaginalen klinischen Proben (n=23) durchgeführt, die in trockenen Tupfern entnommen wurden. Die mit MYCOFAST *Revolution* 2 erzielten Ergebnisse werden mit einem Mikroverdünnungszählverfahren verglichen. Die Gesamtkonkordanz für U.u. und M.h. beträgt 100 %.

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

Die mit MYCOFAST *Revolution* 2 erzielten Ergebnisse werden mit denen des Mikroverdünnungszählverfahrens verglichen.

Die Gesamtkonkordanz für U.u. beträgt 93,2 % (wir haben 1 falsches Negativ für einen Wert von 10^4 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren und 5 falsche Positive für Werte von 10^2 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt).

Die Gesamtkonkordanz für Mh beträgt 96,6 % (wir haben 3 falsche Positive für Werte von 10^2 - 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt).

Die Gesamtkonkordanz für U.u. und M.h. beträgt 94,9 %.

13.3 Empfindlichkeitstests

Die Vergleichsstudie wurde in einem nationalen Referenzlabor zwischen der Methode zur Bestimmung minimaler Hemmkonzentrationen (MIC) in flüssigen Medien und der MYCOFAST *Revolution* 2-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 ist getestet in Verdünnungen von 10^3 – 10^4 und 10^5 CCU/mL in UMMT 3 mL.

Werte 10^4 und 10^5 CCU/mL wurden die Ergebnisse nach 24 Stunden Inkubation abgelesen und interpretiert.

Für die Werte 10^3 CCU/mL wurden die Ergebnisse nach 48 Stunden Inkubation gelesen und interpretiert, wenn der Test innerhalb von 24 Stunden negativ war. Die Ergebnisse beider Methoden werden nach CLSI-Empfehlungen als sensitiv (S) oder resistent (R) interpretiert. Die Gesamtkonkordanz für *U. urealyticum/U. parvum* beträgt 95,5 % Die Gesamtkonkordanz für *M. hominis* beträgt 100 %

Konkordanz	<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
DM	5 _a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 _b	2 _c	0	1 _e	0	0	0	0	0	0

DM: Große Diskordanz; DTM: Sehr große Diskordanz

- a: 1 Diskordanz bei 10^3 CCU/mL (Referenz-MIC bei 0,5 µg/mL).
 4 Diskordanzen bei 10^5 CCU/mL (Referenz-MIC bei 0,5 – 1 und 8 µg/mL).
 b: 1 Diskordanz bei 10^6 CCU/mL (Referenz-MIC bei 8 µg/mL).
 c: 1 Diskordanz bei 10^3 CCU/mL (Referenz-MIC bei 8 µg/mL).
 1 Diskordanz bei 10^5 CCU/mL (Referenz-MIC bei 2 µg/mL).
 d: 1 Diskordanz bei 10^6 CCU/mL (Referenz-MIC 4 µg/mL).

14 - LITERATURVERZEICHNIS

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 MANDEL L. 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.eitechgroup.com

