

## Diagnose van urogenitale mycoplasma's

### MYCOFAST Screening Revolution

Detectie en differentiatie  
50 testen (REF 00063)

### COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2

Telling, identificatie en gevoeligheidstest  
25 testen (REF 00082)

### UMMt Revolution

50 testen (REF 00061)

CPB 0396-2-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. Het moet worden gebruikt 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 2 (REF 00082), 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  $\beta$ -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); urogenitale infecties (septische arthritis, reactieve arthritis, 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 alkalinasie 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 00082	Ref 00063
UMMt flacon van 3 mL mycoplasma bouillon met antibiotica en conserveermiddel. pH: 6.0 ± 0.1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: 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 (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution 2: Galerij van 24 putjes voor 1 test, verpakt in aluminium zak met geïntegreerd droogmiddel		25	
Zatvarajući sustav: Doorschijnend plastic deksel voor galerij MYCOFAST Revolution		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.

#### Galerie MYCOFAST Revolution 2

De galerij bevat in de 24 putjes het groeimedium in gedehydrateerde vorm (veulenserum, gistextract, cysteine, arginine, ureum, fenolrood, antibiotica, pH: 6,1 ± 0,1) en bestaat uit 2 afzonderlijke delen:

- het deel dat bestemd is voor de telling en de evaluatie van de gevoeligheid voor antibiotica voor de U.u.-soort (putjes op het etiket zwart gemarkeerd).
- het deel dat bestemd is voor de telling en de evaluatie van de gevoeligheid voor antibiotica voor de M.h.-soort (putjes op het etiket rood gemarkeerd).

#### Deel bestemd voor de diagnose van de U.u.-soort (zwart):

- Putjes 1/2/3:** Identificatie en telling van U.u. voor gehalten van  $10^3$ ,  $10^4$  en  $\geq 10^5$  CCU/mL (gebufferde oplossing en lincomycine dat de groei van M.h. remt).
- Putjes 4/5:** Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan levofloxacin (LVX) op 2/4  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 6/7:** Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan moxifloxacin (MXF) op 2 / 4  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 8/9:** Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan erythromycine (ERY) op 8/16  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 10/11:** Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan tetracycline (TET) op 1-2  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 12/13:** Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan doxycycline (DOX) op 1-2  $\mu\text{g/mL}$

#### Deel bestemd voor de diagnose van de M.h.-soort (rood):

- Putje 14:** Identificatie en telling van M.h. voor gehalten van  $\geq 10^4$  CCU/mL
- Putjes 15/16:** Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan doxycycline (DOX) op 4-8  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 17/18:** Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan levofloxacin (LVX) op 1-2  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 19/20:** Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan moxifloxacin (MXF) 0,25-0,5  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 21/22:** Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan clindamycine (CLI) 0,25-0,5  $\mu\text{g/mL}$
- Putjes 23/24:** Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan tetracycline (TET) 4-8  $\mu\text{g/mL}$

#### 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

	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	MYCOFAST® Revolution 2									2	DOX	13
1	>10 <sup>4</sup>										1		12
	10 <sup>3</sup>												
	Uu	Uu	2	4	2	4	8	16	1	2			
	10 <sup>4</sup>	>10 <sup>5</sup>	LVX		MXF		ERY		TET				
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			

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 -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 cytoborstel. 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: ontlad de swab test in een flacon van UMMt-medium.

Vloeibare monsterneming: inoculeer een flacon van UMMt-medium met 300  $\mu\text{L}$  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 Revolution-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)  
 MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)  
 Pipetten en transferkegeltjes  
 Container voor verontreinigd afval  
 Minerale olie  
 Broedstoof gekalibreerd op  $37 \pm 1$  °C

### 9 - WERKWIJZE

Breng de reagentia 20 tot 30 minuten op kamertemperatuur.

#### 9.1 ONDERZOEK - Galerij MYCOFAST Screening RevolutioN

- 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 RevolutioN

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  $37 \pm 1$  °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 RevolutioN 2**

### 9.2 TELLING, IDENTIFICATIE EN GEVOELIGHEIDSTEST

#### 9.2.1 Inoculatie van de galerij MYCOFAST RevolutioN 2

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  $37 \pm 1$  °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, 3 en 14)

Lokaliseer de putjes die rood zijn geworden en interpreteer:

1 U.u.-gehalte van  $10^3$  CCU/mL  
 1 en 2 U.u.-gehalte van  $10^4$  CCU/mL  
 1,2 en 3 U.u.-gehalte  $\geq 10^5$  CCU/mL  
 14 M.h.-gehalte van  $\geq 10^4$  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:  $\geq 10^4$  CCU/mL voor een urethraal monster,  $\geq 10^3$  CCU/mL voor een 1e stroom van urine of sperma (zelfs als een nieuwe plaatselijke aanbeveling een drempel vermeldt van  $\geq 10^4$  CCU/mL voor sperma (7)). Voor *M. hominis* is zijn aanwezigheid met een gehalte van  $\geq 10^4$  CCU/mL in een cervico-vaginale monsterneming abnormaal (1, 3).

#### Test van gevoeligheid voor antibiotica (putjes 4 tot 13 en 15 tot 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):

Tabel van interpretatiecriteria van CMI (µg/ml):

Klasse	Antibiotica	U.u.		M.h.		Opmerkingen
		S	R	S	R	
Quinolonen	Levofloxacin	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacin	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
Lincosamiden	Clindamycine			≤0,25	≥0,5	
Tetracyclines	Tetracycline	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Doxycycline	≤1	≥2	≤4	≥8	
Macroliden	Erythromycine	≤8	≥16			Stammen gevoelig voor erythromycine zullen het Stammen gevoelig voor

Hulp bij interpretatie:

#### Test van gevoeligheid voor antibiotica voor U.u.

Antibiotica	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
	2	4	int*	2	4	int*	8	16	int*	1	2	int*	1	2	int*
Profielen	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	.	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	.	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int\* = interpretatie

#### Test van gevoeligheid voor antibiotica voor M.h.

Antibiotica	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
	1	2	int*	0,25	0,5	int*	0,25	0,5	int*	4	8	int*	4	8	int*
Profielen	-	-	S	-	-	S	-	.	S	-	.	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	.	R	+	.	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int\* = interpretatie

De stam wordt als **gevoelig** beschouwd indien zijn groei wordt geremd in beide kritische concentraties van het antibioticum. De stam wordt als **resistent** beschouwd indien zijn groei wordt geremd in de hoge kritische concentratie van het antibioticum en niet wordt geremd in de lage kritische concentratie, of indien zijn groei niet wordt geremd in beide kritische concentraties van het antibioticum.

*M. hominis* is van nature resistent tegen macroliden met 14 en 15 koolstoffen, inclusief erythromycine. 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 clindamycine (M.h.) is beschreven, maar de prevalentie is niet bekend.

### 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 broedstoof, temperatuurheterogeniteit in de broedstoof,...) kan de groeikinetiek van mycoplasma's vertragen.

### 11 - KWALITEITSCONTROLE

De kwaliteit kan worden gecontroleerd met behulp van de stam *U. urealyticum* van de kit MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) of met behulp van een geyofiliseerde collectorstam (*U. urealyticum* ATCC 27815 of *M. hominis* ATCC 23114) vooraf gekalibreerd op  $10^{4-5}$  CCU/mL.

Inoculeer de MYCOFAST RevolutioN 2-galerij en zet de test voort zoals aangegeven in deze handleiding (§9 en 10)

Verwachte resultaten hieronder (ATCC):

## MYCOFAST *Revolution* 2

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

NI\*(Niet interpreteerbaar): Natuurlijke resistentie

## 12 - BEPERKINGEN VAN DE METHODE

### 12.1 - Onderzoek:

De galerij MYCOFAST Screening *Revolution* heeft een gevoeligheidsdrempel van ≤ 10<sup>3</sup> CCU/mL en laat geen telling toe. De telling verkregen met de galerij MYCOFAST *Revolution* 2 kan negatief blijken na een positief onderzoek.

### 12.2 - Telling, identificatie en gevoeligheidstest

Enkele bacteriën vertonen in hoeveelheid >10<sup>6-7</sup> 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 > 8) 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 pH-monster (pH ≤ 5) kan de verschijning van de kleurafwijking vertragen.

- Een monster dat bloed bevat kan een kleurverandering van de putjes van de galerij MYCOFAST *Revolution* 2 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 (<10<sup>3</sup> 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 Uu gedocumenteerd voor een gehalte van 10<sup>3</sup> 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 *Revolution* 2

% globale overeenkomst	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Geïsoleerde stammen (gehalten van ≤ 10 <sup>3</sup> CCU/mL) (zie § 14.1.1)	97,4	NA*	NA*
Geïsoleerde stammen (gehalten van ≥ 10 <sup>4</sup> CCU/mL) (zie § 14.1.1)	93,4	93,4	93,4
Vaginale klinische monsters (zie § 14.1.1)	100	100	100
Vloeiende klinische monsters: urine (zie § 14.1.1)	93,2	96,6	94,9

NVT: niet van toepassing

### 13.2.1 - Over geïsoleerde stammen

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 concentraties (76 testen in totaal).

De verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met een telmethode in microverdunning.

Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10<sup>3</sup> CCU/mL; de globale concordantie voor U.u. bedraagt 97,4% (we hebben 2 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10<sup>2</sup> CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10<sup>4</sup> CCU/mL; de globale concordantie voor U.u. bedraagt 93,4% (we hebben 5 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10<sup>3</sup> CCU/mL met de telmethode in microverdunning). De globale concordantie voor M.h. bedraagt 93,4% (we hebben 5 vals-positieve resultaten gedocumenteerd, 4 voor een gehalte van 10<sup>3</sup> CCU/mL en één voor een gehalte van 10<sup>2</sup> CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

De algemene overeenkomst U.u. en M.h. bedraagt 93,4%.

### 13.2.2 - Op klinische monsters

Er is een eerste vergelijkende studie uitgevoerd met vaginale klinische monsters (n=23) uitgevoerd op droge swabs. De met MYCOFAST *Revolution* 2 verkregen resultaten worden vergeleken met een telmethode in microverdunning.

De algemene concordantie voor U.u. en M.h. bedraagt 100%.

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

De met MYCOFAST Screening *Revolution* 2 verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

De globale concordantie voor U.u. bedraagt 93,2% (we hebben 1 vals-positief resultaat gedocumenteerd voor een gehalte van 10<sup>4</sup> CCU/mL in de telmethode in microverdunning en 5 vals-positieve resultaten voor gehalten van 10<sup>2</sup> CCU/mL in de telmethode in microverdunning).

De globale concordantie voor M.h. bedraagt 96,6% (we hebben 3 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10<sup>2</sup> - 10<sup>3</sup> CCU/mL met de telmethode in vloeiende microverdunning).

De algemene concordantie voor U.u. en M.h. bedraagt 94,9%.

### 13.3 Gevoeligheidstesten

Het vergelijkende onderzoek is in een nationaal referentielaboratorium uitgevoerd tussen de methode voor het bepalen van minimale remmende concentraties (CMI) in vloeibaar medium en de MYCOFAST *Revolution* 2-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 10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup> en 10<sup>5</sup> CCU/mL in UMMt 3 mL.

Voor de gehalten van 10<sup>4</sup> en 10<sup>5</sup> CCU/mL werden de resultaten na 24 uur incubatie afgelezen en geïnterpreteerd.

Voor de gehalten van 10<sup>3</sup> CCU/mL werden de resultaten na 48 uur incubatie afgelezen en geïnterpreteerd, als de test in 24 uur negatief was.

De resultaten van beide methoden worden geïnterpreteerd als gevoelig (S) of resistent (R) volgens de CLSI-aanbevelingen.

De globale concordantie voor *U. urealyticum/U. parvum* bedraagt 95,5%

De globale concordantie voor *M. hominis* bedraagt 100%.

Concordantie	<i>Ureaplasma urealyticum / parvum</i> (n=40)					<i>Mycoplasma hominis</i> (n=28)				
	TET	DOX	MXF	LVX	ERY	TET	DOX	MXF	LVX	CLI
DM	34	38	40	39	40	28	28	28	28	28
DTM	5 <sub>a</sub>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 <sub>b</sub>	2 <sub>c</sub>	0	1 <sub>d</sub>	0	0	0	0	0	0

DM: Grote discrepantie, DTM: Zeer grote discrepantie

<sup>a</sup> : 1 discrepantie verkregen bij 10<sup>3</sup> CCU/mL (referentie-CMI 0,5 µg/mL),

<sup>b</sup> : 1 discrepantie verkregen bij 10<sup>5</sup> CCU/mL (referentie-CMI 0,5-1 en 8 µg/mL)

<sup>c</sup> : 1 discrepantie verkregen bij 10<sup>3</sup> CCU/mL (referentie-CMI 8 µg/mL);

<sup>d</sup> : 1 discrepantie verkregen bij 10<sup>5</sup> CCU/mL (referentie-CMI 2 µg/mL)

<sup>e</sup> : 1 discrepantie verkregen bij 10<sup>5</sup> CCU/mL (referentie-CMI 4 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. N°391, 63-69.

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

3 - PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001. Les mycoplasmes en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires. Supplément au N°329, 34-36.

4 - TAYLOR-ROBINSON D. 1995. *Ureaplasma urealyticum* (T-strain Mycoplasma) and *Mycoplasma hominis*, p. 1713-1718. Dans MAN-DELL G.L., BENNET J.E. and DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed., vol.2, Churchill Livingstone, New York.

5 - WAITES KEN B., BRENDAKATZ AND ROBERT L. SCHELONKA. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Mi-crobiol. 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)

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

