

Diagnosi di micoplasmi urogenitali MYCOFAST Screening Revolution

Rilevamento e differenziazione

50 test (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution 2

Conteggio, identificazione e test di sensibilità

25 test (REF 00082)

UMMt Revolution

50 test (REF 00061)

CPB 0396-2-IT-2018-03

Unicamente per diagnostica *in vitro*, solo per uso professionale
I test sono monouso.



1 - OBIETTIVO

Il kit MYCOFAST Screening *Revolution* (Art. 00063) consente lo screening e la differenziazione di *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) e *Mycoplasma hominis* (M.h.) da diversi campioni clinici. Deve essere usato in combinazione con i supporti del kit UMMt *Revolution* (Art.00061). Se lo screening è positivo, l'analisi può essere completata con le gallerie del kit COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution* 2 (articolo 00073), che include il conteggio e l'identificazione di U.u. e / o M.h. e il test di sensibilità agli antibiotici come raccomandato dal CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - INTRODUZIONE

I micoplasmi, che comprendono diverse specie precedentemente rilevate negli umani, appartengono alla classe del Mollicuto. Si differenziano dagli altri batteri in molti modi, compresa la mancanza di una parete che dia loro una naturale resistenza alle beta-lattamine, nonché una membrana ricca di steroli proveniente dalle membrane cellulari eucariotiche alle quali si attaccano. I micoplasmi sono organismi relativamente sensibili che si moltiplicano nei terreni acellulari solo in presenza di numerosi fattori di crescita e ad una temperatura ottimale di 37 ° C (4).

La maggior parte dei micoplasmi umani sono semplici batteri commensali. Le specie isolate dal tratto genito-urinario, *U. urealyticum* e *M. hominis*, sono le più comuni. La specie *U. urealyticum* è divisa in due biovar: *U. urealyticum* e *U. parvum* (U.u.).

U.u. o M.h. può comportarsi come veri agenti patogeni. Sei responsabile di infezioni genitali maschili (uretrite non gonococcica, epididimite, prostatite, sterilità); infezioni ginecologiche (vaginosi batterica, endometrite, salpingite); Disturbi della riproduzione (corioamniotite, endometrite post partum, parto prematuro, aborto spontaneo); Infezioni neonatali (basso peso alla nascita, infezioni respiratorie, infezioni neurologiche, batteriemia, ascessi); infezioni extragenitali (artrite settica, artrite reattiva, altre localizzazioni) (1).

La diagnosi di infezioni da micoplasma dipende dalla determinazione di una soglia patologica e quindi da un conteggio. Il verificarsi di resistenze di U.u. e M.h. contro determinate molecole porta ad un test di sensibilità agli antibiotici (5, 6). Gli antibiotici testati e i criteri di interpretazione sono progettati per trattare le infezioni da micoplasma nel tratto genitourinario o in altre aree extragenital (2).

3 - PRINCIPIO

La tecnica MYCOFAST Screening *Revolution* è un metodo in mezzo liquido basato sulla capacità di U.u. e M.h. di metabolizzare rispettivamente

urea e arginina rispettivamente. La crescita dei micoplasmi in mezzo liquido è visualizzata mediante il viraggio di un indicatore colorato, il rosso di fenolo, dal giallo-arancio al rosso che riflette l'alcalinizzazione del mezzo dovuta al rilascio di ammoniacca.

La crescita del micoplasma così visualizzata permette:

- rilevamento e differenziazione; poi in caso di positività:
- la numerazione basata sul tasso di idrolisi dei substrati che è proporzionale alla quantità di germi contenuti nel campione;
- l'identificazione basata sulla sensibilità o meno del germe a tre antibiotici;
- lo studio della sensibilità di U.u. e M.h. agli antibiotici.

4 - REATIVI

Descrizione	Quantità		
	rif.00061	rif.00082	rif.00063
UMMt: Contiene 3 mL di micoplasma in brodo con antibiotici e conservanti. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: Rack separabile a 10 vie per 5 test, confezionato singolarmente in una busta di alluminio con essiccante integrato			10
Etichette: Foglio con 5 etichette separabili			10
S.Mh : Attivatore della crescita M.h. (4,5 ml)			1
MYCOFAST Revolution 2: Rack per test da 24 pozzetti per 1 test, confezionato in busta di ossido di alluminio con essiccante integrato		25	
Sistema di chiusura: Rivestimento in plastica trasparente per la galleria <i>Revolution</i> di MYCOFAST		25	

Galerie MYCOFAST Screening Revolution

Galleria composta da 5 serie di 2 pozzetti: un pozzetto *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) contenente lincomicina e urea e un pozzetto *Mycoplasma hominis* (M.h.) contenente eritromicina e arginina.

Galerie MYCOFAST Revolution 2

La galleria contiene nei 24 pozzetti il terreno di coltura sotto forma disidratata (siero di cavallo, estratto di lievito, cisteina, arginina, urea, rosso di fenolo, antibiotici, pH: 6,1 ± 0,1) e comprende 2 parti distinte:

la parte destinata al conteggio e alla valutazione della sensibilità agli antibiotici per la specie U.u. (pozzetti marcati in nero sull'etichetta);
la parte destinata al conteggio e alla valutazione della sensibilità agli antibiotici per la specie M.h. (pozzetti marcati in rosso sull'etichetta).

Parte per diagnosticare specie U.u. (in negro):

Pozzetti 1/2/3: Identificazione e conteggio di U.u. per tassi di 10^3 , 10^4 e $\geq 10^5$ CCU/mL (soluzione tamponata e lincomicina che inibisce la crescita di M.h.).

Pozzetti 4/5 Valutazione della sensibilità di U.u. alla levofloxacina (LVX) a 2/4 µg/mL
Pozzetti 6/7 Valutazione della sensibilità di U.u. alla moxifloxacina (MXF) a 2/4 µg/mL

Pozzetti 8/9 Valutazione della sensibilità di U.u. all'eritromicina (ERY) a 8 /16 µg/mL

Pozzetti 10/11: Valutazione della sensibilità di U.u. alla tetraciclina (TET) 1-2 µg/mL

Pozzetti 12/11: Valutazione della sensibilità di U.u. alla doxiciclina (DOX) 1-2 µg/mL

Parte destinata alla diagnosi della specie M.h. (in rosso):

Pozzetto 14 : Identificazione e numerazione di M.h. per tassi $\geq 10^4$ CCU/mL

Pozzetti 15/16 : Valutazione della sensibilità di M.h. alla doxiciclina (DOX) 4-8 µg/mL

Pozzetti 17/18 : Valutazione della sensibilità di M.h. alla levofloxacina (LVX) 1-2µg/mL

Pozzetti 19/20 : Valutazione della sensibilità di M.h. alla moxifloxacina (MXF) 0,25-0,5µg/mL

Pozzetti 21/22 : Valutazione della sensibilità di M.h. alla clindamicina (CLI) 0,25-0,5 µg/mL

Pozzetti 23/24: Valutazione della sensibilità di M.h. alla tetraciclina (TET) 4-8 µg/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	MYCOFAST® Revolution 2										2	DOX
	$\geq 10^4$												
1	Uu			2	4	2	4	8	16	1	2		
		Uu	Uu	LVX		MXF		ERY		TET			
		10^4	$\geq 10^5$	2	4	2	4	8	16	1	2		
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		

5 - PRECAUZIONI D'IMPIEGO

I reagenti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere gestiti da personale autorizzato.

I campioni e gli agar di semina sono potenzialmente infettivi e devono pertanto essere maneggiati con le consuete precauzioni, in conformità con le condizioni di salute e le linee guida del paese in cui vengono utilizzati.

I reagenti contenenti materie prime di origine animale devono essere maneggiati con cura.

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Non utilizzare reagenti danneggiati o conservati in modo inadeguato. Un risultato positivo con la galleria MYCOFAST *Revolution* 2 indica che è colonizzato dal micoplasma urogenitale, ma non può essere usato da solo per la diagnosi clinica.

Questo deve essere fatto dal medico dopo tutti i risultati biologici e i segni clinici.

6 - RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

6.1 Raccolta dei campioni

Tamponi cervico-vaginali

Utilizzare esclusivamente un tampone in Dacron o rayon o un cito spazzolino.

Eeguire il prelievo dopo un'accurata eliminazione delle secrezioni dell'esocollo con un primo tampone. Poiché i micoplasmi presentano una forte affinità per le cellule mucose cui aderiscono, è essenziale raschiare bene la mucosa al fine di ottenere una buona resa.

Tamponi uretrali:

Pulire il meato e prelevare con scovolino o raschiatura di cellule.

Sperma, urina:

Raccogliere lo sperma o il primo getto di urina in un fiala sterile.

6.2 Trasporto in mezzo UMMt

Prelievo su tampone:

scaricare il tampone in una fiala di mezzo UMMt.

Campioni liquidi: inoculare una fiala di mezzo UMMt con 300 µL di liquido omogeneizzato.

6.3 Conservazione in mezzo UMMt

Una volta inoculato, il mezzo UMMt può essere conservato a temperatura ambiente (18-25 °C) per 20 ore, o a 2-8 °C per 56 ore.

Per una conservazione di 3 giorni a -20 °C, aggiungere preventivamente 2 gocce di "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti conservati a 2-8 °C nello stato originale sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle etichette.

Se si utilizza una sola serie di pozzetti (U.u.) (M.h.) o due, tre, quattro serie di pozzetti, il resto della galleria di MYCOFAST Screening *RevolutioN* non utilizzato e richiuso ermeticamente nella busta originale in alluminio, può essere conservato per 4 settimane a 2-8 °C.

Il supplemento di M.h. è stabile per 3 mesi dopo l'apertura.

Il mezzo UMMt può essere conservato temporaneamente (3 mesi) a temperatura ambiente, ma ha una migliore stabilità a 2-8 °C.

Non congelare i reagenti del cofanetto.

8 - MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Apparecchiatura di prelievo (tamponi, cito spazzolini, fiale sterili per la raccolta di campioni liquidi)

MYCOPLASMA Stabilizer (RIF. 00064)

Pipette e coni di trasferimento

Contenitore per rifiuti contaminati

Olio minerale

Forno calibrato a 37 ± 1 °C

9 - MODALITÀ OPERATIVA

Portare i reagenti a temperatura ambiente per 20-30 minuti.

9.1 SCREENING - Galleria MYCOFAST Screening *RevolutioN*

- Preparare tanti set di pozzetti quanti i campioni da analizzare.

- Se necessario, separare una o più serie di pozzetti (U.u.)/(M.h.) facendo riferimento alle marcature sulla galleria.

9.1.1 Inoculazione del mezzo UMMt *RevolutioN*

Inoculare il terreno di coltura UMMt con lo scovolino o con 300 µL di campione liquido (§ 6.2). Omogeneizzare.

9.1.2 Inoculazione dei pozzetti U.u./M.h.

- Distribuire successivamente:

Pozzetto (Uu): 100 µL di mezzo di coltura UMMt inoculato.

Pozzetto (Mh): 100 µL di mezzo di coltura UMMt inoculato.

50 µL di supplemento M.h.

- Aggiungere 2 gocce di olio minerale nei due pozzetti.

- Coprire i pozzetti con l'etichetta staccabile e identificare il campione.

- **Conservare l'eccesso della fiala di mezzo di coltura UMMt inoculato a 2-8 °C per continuare l'analisi in caso di screening positivo.**

9.1.3 Incubazione dei pozzetti U.u./M.h.

Incubare i pozzetti della galleria per 24 ore a 37 ± 1 °C. L'incubazione della galleria può essere prolungata fino a 48 ore solo nel caso di campioni liquidi negativi entro 24 ore.

9.1.4 Lettura e interpretazione dei pozzetti U.u./M.h.

- Verificare che i 2 pozzetti (U.u.) (M.h.) siano limpidi. Un pozzetto torbido indica una contaminazione batterica. In questo caso, ricominciare il test.

- Osservare il cambiamento di colore nei pozzetti U.u. e M.h.

Pozzetto U.u. arancione o rosso: presenza di *Ureaplasma urealyticum*

Pozzetto M.h. arancione o rosso: presenza di *Mycoplasma hominis*

Pozzetto U.u./M.h. giallo: assenza di micoplasmi

In caso di screening positivo continuare la diagnosi con la galleria MYCOFAST *RevolutioN* 2

9.2 NUMERAZIONE, IDENTIFICAZIONE E TEST DI SENSIBILITÀ

9.2.1 Inoculazione della galleria MYCOFAST *RevolutioN* 2

Rimuovere la pellicola adesiva tirando la linguetta e distribuire successivamente nei pozzetti.

Pozzetti 1-24 100 µL di mezzo di coltura UMMt inoculato

Pozzetti 1-24 2 gocce di olio minerale

Coprire la galleria agganciando il coperchio "sistema di chiusura".

Identificare il campione.

Conservare l'eccedenza della fiala di UMMt a 2-8 °C per almeno 48 ore per eventuali verifiche.

9.2.2 Incubazione della galleria

Incubare la galleria a 37 ± 1 °C per 24 ore.

Per i conteggi U.u. e M.h. leggere i risultati in 24 ore. L'incubazione della galleria può essere prolungata fino a 48 ore solo nel caso di campioni liquidi negativi entro 24 ore.

9.2.3 Lettura e interpretazione

Verificare che tutti i pozzetti della galleria siano limpidi. Un pozzetto torbido indica una contaminazione batterica. In questo caso, ripetere l'analisi. La crescita di micoplasmi urogenitali nei pozzetti provoca un'alcalinizzazione del mezzo di coltura, che vira verso il rosso. In assenza di crescita di micoplasmi urogenitali, il mezzo di coltura rimane di colore giallo. Una colorazione arancione deve essere considerata un test positivo (livello limite). Per l'interpretazione del test, consultare la scheda dei risultati.

Conteggio (pozzetti 1, 2, 3 e 14)

Individuare i pozzetti che hanno virato verso il rosso e interpretare:

1 tasso U.u. di 10³ CCU/mL

1 e 2 tasso U.u. di 10⁴ CCU/mL

1, 2 e 3 tasso U.u. ≥ 10⁵ CCU/mL

14 tasso M.h. ≥ 10⁴ CCU/mL

Rolul patologic al micoplasmei la infectiile urogenitale este supus Il ruolo patologico dei micoplasmi nelle infezioni urogenitali è soggetto a interpretazione secondo raccomandazioni specifiche (1,3,7). I tassi normalmente considerati patologici per *U. urealyticum* sono: ≥10⁴ CCU/mL per un prelievo uretrale, ≥10³ CCU/mL per un 1° getto di urina o per sperma (anche se una nuova raccomandazione locale menziona una soglia di ≥10⁴ CCU/mL per lo sperma (7)). Per *M. hominis* la presenza a un tasso ≥10⁴ CCU/mL in un prelievo cervico-vaginale è anomala (1, 3).

Test di sensibilità agli antibiotici (pozzetti da 4 a 13 e poi da 15 a 24)

Il viraggio del mezzo di coltura nei pozzetti contenenti un antibiotico riflette la capacità del ceppo di svilupparsi in presenza della concentrazione testata dell'antibiotico. Il colore giallo del mezzo riflette l'incapacità del ceppo di svilupparsi in presenza della concentrazione testata dell'antibiotico. I ceppi sono classificati come sensibili o resistenti agli antibiotici secondo i seguenti criteri di interpretazione definiti dalla CLSI (2):

Tabella dei criteri di interpretazione delle MIC (µg/mL):

Classe	Antibiotico	U.u.		M.h.		Commenti
		S	R	S	R	
Chinoloni	Levofloxacina	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacina	≤2	≥4	≤0,25	≥0,5	
Lincosamidi	Clindamicina			≤0,25	≥0,5	
Tetracidine	Tetraciclina	≤1	≥2	≤4	≥8	
	Doxiciclina	≤1	≥2	≤4	≥8	
Macrolidi	Eritromicina cina	≤8	≥16			I ceppi sensibili all'eritromicina lo sono anche all'azitromicina

Ausilio per l'interpretazione:

Test di sensibilità agli antibiotici per U.u.

Antibiotico	LVX			MXF			ERY			TET			DOX		
Concentrazione (µg/mL)	2	4	int*	2	4	int*	8	16	int*	1	2	int*	1	2	int*
Profili	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	.	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	.	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int*=
interpretazione

Test di sensibilità agli antibiotici per M.h.

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

int*=
interpretazione

Il ceppo è detto **sensibile** quando la sua crescita è inibita alle due concentrazioni critiche dell'antibiotico. Il ceppo è considerato **resistente** quando la sua crescita è inibita alla concentrazione critica alta dell'antibiotico e non è inibita alla concentrazione critica bassa, o quando la sua crescita non è inibita alle due concentrazioni critiche dell'antibiotico.

M. hominis è naturalmente resistente ai macrolidi con 14-15 atomi di carbonio, compresa l'eritromicina. In alcune popolazioni il tasso di resistenza alla tetraciclina può raggiungere il 45% per U.u. e il 39,6% per M.h. (2). Sono state descritte resistenze ai chinoloni (U.u. e M.h.) (5, 6) e alla clindamicina (M.h.), ma la prevalenza non è nota.

10 - CASI PARTICOLARI

Per tassi molto elevati in U.u. o M.h., si verifica un viraggio verso il rosso di tutti i pozzetti interessati dal germe. Si raccomanda quindi di diluire il campione per ottenere un risultato più accurato. In tal caso procedere come segue.

Inoculare una nuova fiala UMMt da 3 mL con 300 µL di mezzo di coltura originale conservato a 2-8 °C (§ 9.1).

Inoculare una nuova galleria con il nuovo mezzo di coltura UMMt inoculato.

Considerare la diluizione (1:10) per l'interpretazione del conteggio. Confermare se necessario su agar A7 la presenza di micoplasmi isolando nuovamente a partire dal mezzo di coltura UMMt originale conservato a 2-8 °C (§ 9.1).

Una temperatura di incubazione non costante o <36 °C (frequente apertura del forno, eterogeneità di temperatura nel forno ...) può rallentare la cinetica di crescita dei micoplasmi.

11 - CONTROLLO DI QUALITÀ

Il controllo di qualità può essere effettuato a partire dal ceppo *U. urealyticum* del cofanetto MYCOPLASMA CONTROL (RIF. 00900) o a partire da un ceppo di raccolta liofilizzato (*U. urealyticum* ATCC 27815 o *M. hominis* ATCC 23114) precedentemente calibrato a 10⁴⁻⁵ CCU/mL.

Inoculare la galleria MYCOFAST *RevolutioN* 2 e proseguire il test come indicato in questa nota (§ 9 e 10)

Ecco i risultati attesi (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
Ceppo U.u. ATCC 27815	+	+	+/-	-	S	S	S	S/R	S	NI*
Ceppo M.h. ATCC 23114.	-	-	-	+	S/R	S	NI*	S	S	S

NI* (non interpretabile): Resistenza naturale

12 - LIMITI DELLA METODOLOGIA

12.1 - Screening

La galleria MYCOFAST Screening *RevolutioN* ha una soglia di sensibilità ≤ 10³ CCU/mL e non consente la numerazione. Il conteggio ottenuto con la galleria MYCOFAST *RevolutioN* 2 può rivelarsi negativo dopo uno screening positivo.

12.2 - Conteggio, identificazione e test di sensibilità

- Alcuni batteri presenti in quantità >10⁷ CFU/mL e in possesso di un'ureasi possono far virare tutti i pozzetti della galleria. La loro presenza può essere verificata reisolando su agar cioccolato il mezzo di coltura originale UMMt conservato a 2-8 °C (§ 9.1).
- Un pH di prelievo basico (pH > 8) può causare il viraggio del mezzo di coltura. In questo caso diluire il campione (1:10) in un altro mezzo di coltura UMMt e interpretare tenendo conto della diluizione.
- Un pH di prelievo acido (pH ≤ 5) può rallentare la comparsa del viraggio di colore.
- Un campione contenente sangue può causare un cambiamento di colore dei pozzetti della galleria MYCOFAST *RevolutioN*2, interpretato come risultato positivo. In questo caso diluire il campione (1:10) in un altro mezzo di coltura UMMt e interpretare tenendo conto della diluizione.
- Un campione leggermente caricato di micoplasmici (<10³ CCU/mL) può causare un viraggio casuale nei diversi pozzetti della galleria.
- Come per qualsiasi metodo di ricerca dei germi, il risultato del test dipende dalla qualità del campione. Un test negativo non indica quindi necessariamente l'assenza di infezione.

13 - PRESTAZIONI

13.1 Screening e differenziazione

Galleria MYCOFAST Screening *RevolutioN*

È stato condotto uno studio comparativo utilizzando campioni vaginali clinici (n=40 p; 2 specie U.u. e M.h.) e tamponi asciutti. I risultati ottenuti con MYCOFAST Screening *RevolutioN* vengono confrontati con il metodo di conteggio della microdiluzione liquida. Per lo screening delle 2 specie U.u. e M.h. la concordanza è del 97,5%.

Abbiamo elencato 1 Uu falso negativo per un tasso a 10³ CCU/mL nel metodo di routine di laboratorio sapendo che questo tasso è considerato infra patologico per i campioni vaginali. Per U.u. e M.h., la concordanza globale è del 100% sui tassi superiori alla soglia del patologico.

- Per la differenziazione, tutti i campioni analizzati hanno permesso una corretta identificazione di U.u. o M.h. nei pozzetti della galleria MYCOFAST Screening *RevolutioN*.

13.2 Identificazione e conteggio

Metodo diretto galleria MYCOFAST *RevolutioN* 2

% di concordanza globale	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Ceppi isolati tasso ≤ 10 ³ CCU/mL (vedere § 14.1.1)	97,4	NA*	NA*
Ceppi isolati tasso ≥ 10 ⁴ CCU/mL (vedere § 14.1.1)	93,4	93,4	93,4
Campioni vaginali clinici (vedere § 14.1.2)	100	100	100
Campioni clinici liquidi - urina (vedere § 14.1.2)	93,2	96,6	94,9

NA* (non applicabile)

13.2.1 - Su ceppi isolati

È stato condotto uno studio comparativo utilizzando 21 ceppi isolati (ceppi ATCC e ceppi di raccolta) testati separatamente (U.u. o M.h.) a diverse concentrazioni (76 test in totale).

I risultati ottenuti sono confrontati con quelli ottenuti con il metodo del conteggio in microdiluzione.

Per un'interpretazione con soglia patologica impostata a 10³ CCU/mL; la concordanza globale per U.u. è del 97,4% (abbiamo elencato 2 falsi positivi per tassi a 10² CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione).

Per un'interpretazione con soglia patologica fissata a 10⁴ CCU/mL; la concordanza globale per U.u. è del 93,4% (abbiamo elencato 5 falsi positivi per tassi a 10³ CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione). La concordanza globale per M.h. è del 93,4% (abbiamo elencato 5 falsi positivi, 4 per tassi di 10³ CCU/mL e uno per un tasso di 10² CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione).

La concordanza globale U.u. e M.h. è del 93,4%.

13.2.2 - Su campioni clinici

Un primo studio comparativo è stato condotto su campioni vaginali clinici (n=23) prelevati in tamponi asciutti. I risultati ottenuti con MYCOFAST *RevolutioN* 2 sono confrontati con un metodo di conteggio in microdiluzione.

La concordanza globale per U.u. e M.h. è del 100%.

Un secondo studio comparativo è stato condotto utilizzando campioni clinici di urina (n=88).

I risultati ottenuti con MYCOFAST *RevolutioN* 2 sono confrontati con quelli ottenuti con il metodo di conteggio in microdiluzione liquida.

La concordanza globale per U.u. è del 93,2% (abbiamo elencato 1 falso negativo per un tasso di 10⁴ CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione liquida) e 5 falsi positivi per tassi di 10² CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione liquida).

La concordanza globale per M.h. è del 96,6% (abbiamo elencato 3 falsi positivi per tassi di 10² - 10³ CCU/mL con il metodo del conteggio in microdiluzione liquida).

La concordanza globale per U.u. e M.h. è del 94,9%.

13.3 Test di sensibilità

Lo studio comparativo è stato condotto in un laboratorio nazionale di riferimento tra il metodo per determinare le concentrazioni inibitorie minime (MIC) in mezzi liquidi e il metodo MYCOFAST *RevolutioN* 2.

I ceppi testati (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* e 16 *M. hominis*) sono ceppi di riferimento, ceppi clinici selvatici o ceppi che hanno sviluppato resistenze. Ciascun ceppo viene testato alle diluizioni di 10³ - 10⁴ e 10⁵ CCU/mL in UMMt 3 mL.

Per i tassi 10⁴ e 10⁵ CCU/mL, i risultati sono stati letti e interpretati dopo 24 ore di incubazione.

Per i tassi 10³ CCU/mL, i risultati sono stati letti e interpretati dopo

48 ore di incubazione se il test è risultato negativo dopo 24 ore.

I risultati dei due metodi sono interpretati come sensibili (S) o resistenti (R) secondo le raccomandazioni del CLSI.

La concordanza globale per *U. urealyticum/U. parvum* è del 95,5%. La concordanza globale per *M. hominis* è del 100%.

Concordanza	<i>Ureaplasma urealyticum / parvum</i> (n=40)					<i>Mycoplasma hominis</i> (n=28)				
	TET	DOX	MXF	LVX	ERY	TET	DOX	MXF	LVX	CLI
	34	38	40	39	40	28	28	28	28	28
DM	5 _s	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 _b	2 _c	0	1 _d	0	0	0	0	0	0

DM: Discordanza importante; DTM: Discordanza molto importante

- a : 1 discordanza ottenuta a 10³ CCU/mL (riferimento MIC 0,5 µg/mL), 4 discordanze ottenute a 10⁵ CCU/mL (riferimento MIC 0,5 - 1 e 8 µg/mL).
- b : 1 discordanza ottenuta a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento 8 µg/mL).
- c : 1 discordanza ottenuta a 10³ CCU/mL (riferimento MIC 8 µg/mL); 1 discordanza ottenuta a 10² CCU/mL (riferimento MIC 2 µg/mL)
- d : 1 discordanza ottenuta a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento 4 µg/mL).

14 - SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I rifiuti devono essere smaltiti in conformità con le norme e i regolamenti igienici in vigore per questo tipo di reagenti nel Paese di utilizzo.

15 - BIBLIOGRAFIA

- 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. 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)

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziate in grigio.

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

