

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 AMIES Revolution
 50 Tests (Art. 00083)

CPB 0396-3-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

Die Technik MYCOFAST Screening *Revolution* ist eine Methode in flüssigem Medium, die auf der Fähigkeit von U.u. und von M.h. basiert, zu Harnstoff bzw. Arginin zu metabolisieren. Das Wachstum von Mykoplasmen in flüssigem Medium wird durch die Veränderung der Färbung eines Farbindikators -Phenolrot - von gelborange nach rot dargestellt, der die Alkalisierung des Mediums aufgrund der

Freisetzung von Ammoniak widerspiegelt.

Das auf diese Weise dargestellte Wachstum von Mykoplasmen ermöglicht:

- die Erkennung und Differenzierung; und dann bei Positivität:
- die Zählung auf Basis der Hydrolysegeschwindigkeit der Substrate, die proportionell zur Anzahl der in der Probe enthaltenen Keime ist.
- die Untersuchung der Empfindlichkeit von U.u. und M.h. gegenüber Antibiotika.

4 - REAGENZIEN

Beschreibung	Anzahl		
	Art. 00083	Art. 00082	Art. 00063
UMMt AMIES: Behälter mit 2,6 mL Mykoplasmenbrühe mit Antibiotike und Konservierungsmittel. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: Trennbare Galerie mit 10 Brunnen für 5 Tests, einzeln verpackt in Aluminiumbeutel mit integriertem Trockenmittel			10
Etiketten: Bogen mit 5 abtrennbaren			10
S.Mh.: Wachstumsaktivator für M.h. (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution 2: Galerie von 24 Brunnen für 1 Test, in Aluminiumbeutel verpackt, mit 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:

- der Teil für die Zählung und Antibiotika-Empfindlichkeitsbewertung für U.u. (Brunnen mit schwarzer Schrift auf dem Etikett).
- der Teil zur Zählung und Bewertung der Antibiotika-Empfindlichkeit 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 U.u. für Werte von 10^3 , 10^4 und $\geq 10^5$ CCU/mL (gepufferte Lösung und Lincomycin, welches das M.h.-Wachstum hemmt).

Brunnen 4/5: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Levofloxacin (LVX) bei 2 / 4 µg/mL

Brunnen 6/7: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Moxifloxacin (MXF) bei 2 / 4 µg/mL

Brunnen 8/9: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Erythromycin (ERY) bei 8 / 16 µg/mL

Brunnen 10/11: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Tetracyclin (TET) 1-2 µg/mL

Brunnen 12/13: Bewertung der Empfindlichkeit von U.u. gegenüber Doxycyclin (DOX) 1-2 µg/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

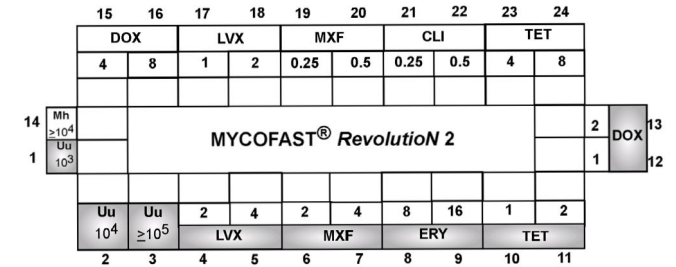
Brunnen 15/16: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Doxycyclin (DOX) 4-8 µg/mL

Brunnen 17/18: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Levofloxacin (LVX) 1-2 µg/mL

Brunnen 19/20: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Moxifloxacin (MXF) 0,25-0,5 µg/mL

Brunnen 21/22: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Clindamycin (CL) 0,25-0,5 µg/mL

Brunnen 23/24: Bewertung der Empfindlichkeit von M.h. gegenüber Clindamycin (CL) 0,25-0,5 µg/mL



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 den mit dem Transportmedium mitgelieferten Tupfer. 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 eine gute Ausbeute zu erzielen.

Harnröhrenabstriche

Verwenden Sie nur den mit dem Transportmedium mitgelieferten Tupfer. Reinigen Sie den Meatus und entnehmen Sie eine Probe mit einem Tupfer oder durch Abschaben von Zellen.

6.2 Transport der Proben

Aufbewahrung in Amies-Medium oder universellem Medium für Viren, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasmen
 Siehe Bedienungsanleitung des Herstellers

Transport in UMMt AMIES-Medium

Geben Sie 300 µL des besäten Transportmediums in einen Behälter mit UMMt AMIES-Medium

6.3 Aufbewahrung von Proben

Aufbewahrung in Amies-Medium oder universellem Medium für Viren, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasmen
 Siehe die Bedienungsanleitung des Herstellers Lagerung in UMMt AMIES-Medium

Sobald es besät ist, kann das UMMt AMIES-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

Probenmaterial (Tupfer in Verbindung mit seinem Amies-Transportmedium oder universellem Medium für Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasmen)
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 AMIES Revolution

Falls der Transport in UMMt AMIES-Medium durchgeführt wurde und mit 300 µL Amies-Medium oder universellem Medium für Viren, Chlamydien, Mycoplasma und Ureaplasma besät wurde; dann gehen Sie direkt zu Schritt 9.1.2.

Falls der Transport der Probe in seiner Amies-Medium oder universellem Medium für Viren, Chlamydien, Mykoplasmen und Ureaplasmen durchgeführt wurde; dann geben Sie 300 µL dieses Transportmediums in einen Behälter mit UMMt AMIES.

9.1.2 Besäung von U.u./M.h.-Brunnen

- Nacheinander verteilen:

Brunnen (U.u.): 100 µL von besättem UMMt-Medium.
Brunnen (M.h.): 100 µL von besättem UMMt-Medium.
50 µL von M.h.-Ergänzung.

- Geben Sie 2 Tropfen Mineralöl in beide Brunnen.

- Die Brunnen mit dem abgetrennten Etikett abdecken und die Probe identifizieren.

- **Bewahren Sie das übrig gebliebene besäte UMMt-Medium des Behälters bei 2-8 °C auf, um die Analyse im Fall eines positiven Screenings fortzusetzen.**

9.1.3 Inkubation von Uu/Mh-Brunnen

Die Brunnen der Galerie 24 Stunden lang bei 37 ± 1 °C inkubieren. Die Inkubation der Galerie kann nur bei negativen 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 U.u. orange oder rot: Anwesenheit von *Ureaplasma urealyticum*
Brunnen M.h. orange oder rot: Anwesenheit von *Mycoplasma hominis*
Brunnen U.u. / M.h. gelb : Abwesenheit von Mykoplasmen

Setzen Sie bei positivem Screening die Diagnose mit der MYCOFAST Galerie Revolution 2 fort

9.2 ZÄHLUNG, IDENTIFIZIERUNG UND EMPFINDLICHKEITSPRÜFUNG

Entfernen Sie die Klebefolie durch Ziehen an der Lasche und verteilen Sie nacheinander in den Brunnen:

Brunnen 1-24 100 µL besättes 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 Medium des UMMt AMIES Behälters

mindestens 48 Stunden lang bei 2-8 °C auf, um eine eventuelle Überprüfung durchführen zu können.

9.2.1 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.

9.2.2 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 Harnröhrenentnahme, ≥ 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).

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

Die Färbung des Mediums 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):

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

Interpretationshilfe:

U.u.-Empfindlichkeitstest

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

int* = Auslegung

M.h.-Empfindlichkeitstest

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)															
Profil	-	-	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 Kohlen, 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 UMMt AMIES 2.6 ml Behälter mit 300 µl des ursprünglichen UMMt AMIES-Mediums, das bei 2-8 °C aufbewahrt wurde (§ 9.1). Besäen Sie eine neue Galerie mithilfe des neu besäten UMMt AMIES-Mediums.

Bei der Interpretation der Zählung 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 aufbewahrten ursprünglichen UMMt AMIES-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 ausgehend von Stämmen von *U. urealyticum* und *Mycoplasma hominis* des Kits MYCOPLASMA CONTROL (Art. 00900) oder ausgehend von einem gefriergetrockneten Stamm (U. urealyticum ATCC 27815 oder *M. hominis* ATCC 23114) durchgeführt werden, die zuvor auf 10³⁻⁵ CCU/mL kalibriert wurden.

Screening: Besäen Sie die beiden Brunnen einer MYCOFAST-Screening-Galerie Revolution und führen Sie den Test, wie in der Gebrauchsanweisung (§ 9.1) angegeben, fort.

Erwartete Ergebnisse für den Stamm: U.u. (+) und M.h. (-);

Zählung, Identifikation und Empfindlichkeitstest: Besäen Sie die MYCOFAST-Galerie Revolution 2 und setzen Sie den Test wie in dieser Gebrauchsanweisung angegeben fort (§ 9.2). 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

12 - GRENZEN DER METHODE

12.1 Screening:

Die Galerie MYCOFAST *Screening Revolution* verfügt über eine Empfindlichkeitsschwelle von $\leq 10^5$ CCU/mL und erlaubt keine Zählung. Die mit der MYCOFAST *Revolution* 3007 Galerie *erhaltene Zählung kann nach einem positiven Screening negativ werden*

12.2 Zählung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung

Einige Bakterien, die in der Anzahl $>10^{6-7}$ 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 aufbewahrten ursprünglichen UMMt-Medium nachgewiesen werden (§ 9.2). Ein basischer Probenahme-pH-Wert ($\text{pH} \geq 8$) kann zur Verfärbung des Mediums führen. Verdünnen Sie in diesem Fall die Probe (1:10) in einem anderen UMMt AMIES-Medium und interpretieren Sie unter Berücksichtigung der Verdünnung erneut.

Ein saurer Proben pH-Wert ($\text{pH} \leq 5$) 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 AMIES-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 also nicht zwangsläufig, dass keine Infektion vorhanden ist.

13 - LEISTUNGEN

13.1 Screening und Differenzierung - Identifizierung und Zählung

Galerie MYCOFAST Screening Revolution

Eine vergleichende Studie wurde an vaginalen klinischen Proben ($n=87$; für die 2 Arten U.u. und M.h.) durchgeführt, die in trockenen Tupfern entnommen wurden, die mit ihrem Transportmedium (Transwab und VCM - Medical Wire und Eswab - Copan) assoziiert sind.

Die mit MYCOFAST Screening *Revolution* erzielten Ergebnisse werden mit dem Mikroverdünnungszählverfahren verglichen.

Galerie MYCOFAST Screening *Revolution*:

- Für das Screening der beiden Arten U.u. und M.h. beträgt die Konkordanz 97,7 %.

Wir haben 2 falsche U.u.-Negative für Werte bei 10^3 CCU/mL in der Routinelabormethode aufgelistet, da wir wissen, dass dieser Wert als infra-pathologisch für vaginale Proben angesehen wird. Für U.u. und M.h. beträgt die Gesamtkonkordanz 100 % bei suprapathologischen Werten.

- Zur Unterscheidung erlaubten alle getesteten Proben eine korrekte Identifizierung von U.u. oder M.h. in den Brunnen der MYCOFAST Screening Galerie *Revolution*.

13.2 Identifizierung und Zählung

Direktmethoden-Galerie MYCOFAST Revolution 2

% der Gesamtkonkordanz		U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Isolierte Stämme (Werte $\leq 10^3$ CCU/mL) (siehe § 14.1.1 und Anmerkung 1)	Ablesen nach 24 Stunden	88,9	NA*	NA*
	Ablesen gemäß §9.3	86,7	NA*	NA*
Isolierte Stämme (Werte $\geq 10^4$ CCU/mL) (siehe § 14.1.1)	Ablesen nach 24 Stunden	91	96,4	93,7
	Ablesen gemäß §9.3	82,1	92,5	87,3
Vaginale klinische Proben (siehe § 14.1.2)	Ablesen gemäß §9.3	88,2	100	94

NA *: nicht anwendbar

13.2.1 - Auf isolierten Stämmen

Eine Vergleichsstudie wurde mit 26 isolierten Stämmen (ATCC-Stämme und Sammelstämme) durchgeführt, die separat (U.u. oder M.h.) an 3

Transportmediumreferenzen (Sigma Transwab und Sigma VCM von Medical Wire und das ESwab Collection Kit von BD) bei mehreren Konzentrationen (insgesamt 279 Tests) getestet wurden.

Die erzielten Ergebnisse werden mit denen einer Mikroverdünnungszählung verglichen.

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert von 10^3 CCU/mL und einer Ablesung des Ergebnisses nach 24 Stunden beträgt die Gesamtkonkordanz für U.u. 88,9% (wir haben 14 falsche Positive aufgelistet: 13 für Werte bei 10^2 CCU/mL und eines für Werte unter 10^2 CCU/mL und 17 falsche Negative: 11 für Werte bei 10^3 CCU/mL - 5 für Werte bei 10^4 CCU/mL und eines für Werte bei 10^5 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren). Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert von 10^4 CCU/mL und einem Ablesen des Ergebnisses nach 24 Stunden beträgt die Gesamtkonkordanz für U.u. 91 % (wir haben 18 falsche Positive aufgeführt: für einen Wert bei 10^2 - 10^3 CCU/mL und 7 falsche Negative: für Werte bei 10^4 - 10^5 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren).

Die Gesamtkonkordanz für M.h. beträgt 96,4 % bei Ablesen des Ergebnisses nach 24 Stunden (wir haben ein falsches Positiv für einen Wert von 10^3 CCU/mL und 9 falsche Negative für einen Wert von 10^4 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren angegeben).

Die Gesamtkonkordanz von U.u. + M.h. bei Ablesen des Ergebnisses nach 24 Stunden beträgt 93,7 %.

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert von 10^3 CCU/mL und einer Ablesung des Ergebnisses gemäß dem in der Gebrauchsanweisung (§ 9.3) beschriebenen Protokoll beträgt die Gesamtkonkordanz für U.u. 86,7 % (wir haben 35 falsche Positives aufgeführt: 34 für Werte bei 10^2 CCU/mL und eines für eine niedrigere Rate 10^2 CCU/mL und 2 falsche Negative: für Werte bei 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren).

Für eine Interpretation mit einem pathologischen Schwellenwert, der auf 10^4 CCU/mL festgelegt ist und einem Ablesen des Ergebnisses gemäß dem in der Gebrauchsanleitung beschriebenen Protokoll (§ 9.2) beträgt die Gesamtkonkordanz für U.u. 82,1 % (wir haben 49 falsche Positive aufgelistet: für einen Wert bei 10^2 - 10^3 CCU/mL und 1 falsches Negativ : für Werte bei 10^4 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren). Die Gesamtkonkordanz für M.h. beträgt 92,5 % für ein Ablesen des Ergebnisses gemäß dem in der Gebrauchsanweisung beschriebenen Protokoll (§ 9.2) (wir haben 21 falsche Positive für einen Wert von 10^2 - 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgeführt).

Die Gesamtkonkordanz U.u. + M.h. bei Ablesen des Ergebnisses gemäß dem in der Gebrauchsanleitung beschriebenen Protokoll (§ 9.3) beträgt 87,3 %.

13.2.2 - An klinischen Proben

Eine Vergleichsstudie wurde an vaginalen klinischen Proben ($n=59$) durchgeführt, die in trockenen Tupfern in Verbindung mit ihrem Transportmedium (Sigma Transwab und Sigma VCM von Medical Wire und dem ESwab Collection Kit von BD) entnommen wurden.

Die mit MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES erzielten Ergebnisse werden mit dem Mikroverdünnungszählverfahren verglichen.

Die Gesamtkonkordanz für Uu beträgt 88,2 % (wir haben 3 falsche Negative bei Werten von 10^4 - 10^5 - 10^6 UCC/ml und 4 falsche Positive bei RWerten von $<10^2$ - 10^2 et 10^3 CCU/mL im Mikroverdünnungszählverfahren aufgelistet).

Für M.h. beträgt die Gesamtkonkordanz 100 %.

Die Gesamtkonkordanz U.u. + M.h. beträgt 94 %.

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.

Für die 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 abgelesen 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 % D Gesamtkonkordanz für *M. hominis* beträgt 100 %

Konkordanz	<i>U. urealyticum / parvum</i> (n=40)					<i>M. 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 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DTM	1 ^b	2 ^c	0	1 ^d	0	0	0	0	0	0

DM: Große Diskordanz, DTM: Sehr große Diskordanz

a: Diskordanz bei 10^3 CCU/mL (Referenz- MIC bei 0,5 $\mu\text{g/mL}$), 4 Diskordanzen bei 10^2 CCU/mL (Referenz-MIC bei 0,5) - 1 und 8 $\mu\text{g/mL}$ - 1 und 8 $\mu\text{g/mL}$).

b: 1 Diskordanz erhalten bei 10^5 CCU/mL (Referenz-MIC bei 8 $\mu\text{g/mL}$).

c: 1 Diskordanz bei 10^3 UCC/mL (Referenz-MIC bei 8 $\mu\text{g/mL}$); . 1 Diskordanz bei 10^5 CCU/mL (Referenz-MIC bei 2 $\mu\text{g/mL}$)

d: 1 Diskordanz bei 10^6 CCU/mL (Referenz-MIC 4 $\mu\text{g/mL}$).

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 MAN- DELLG. 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.elitechgroup.com

