

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 AMIES Revolution
50 testen (ZN. 00083)

CPB 0396-3-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, uitgevoerd in transportmedium AMIES of in een universeel transportmedium voor virussen, chlamydia, mycoplasma en ureaplasma. Hij moet gebruikt worden in combinatie met de media van de kit UMMt AMIES Revolution (REF 00083).

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 β -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); extragenitale infecties (septische artritis, reactieve artritis, 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 alkalinitasie 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 00083	Ref 00082	Ref 00063
UMMt AMIES flacon van 2.6 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 µg/mL

Putjes 6/7: Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan moxifloxacin (MXF) op 2 / 4 µg/mL

Putjes 8/9: Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan erythromycine (ERY) op 8/16 µg/mL

Putjes 10/11: Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan tetracycline (TET) op 1-2 µg/mL

Putjes 12/13: Evaluatie van de gevoeligheid van U.u. aan doxycycline (DOX) op 1-2 µg/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 µg/mL

Putjes 17/18: Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan levofloxacin (LVX) op 1-2 µg/mL

Putjes 19/20: Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan moxifloxacin (MXF) 0,25-0,5 µg/mL

Putjes 21/22: Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan clindamycine (CLI) 0,25-0,5 µg/mL

Putjes 23/24: Evaluatie van de gevoeligheid van M.h. aan tetracycline (TET) 4-8 µg/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 >10 ⁴ Uu	MYCOFAST® Revolution 2										2	13
1	10 ³												
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
		Uu 10 ⁴	Uu ≥10 ⁵	2	4	2	4	8	16	1	2		
		LVX		MXF		ERY		TET					

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 2 -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 enkel de swab. 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: Gebruik enkel de swab meegeleverd met zijn transportmedium. Reinig de meatus en neem een uitstrijkje af of schraap de cellen.

6.2 Transport van monsters

Transport in AMIES-medium of in een universeel medium voor virussen, chlamydia, mycoplasma et ureaplasma.

Zie de gebruiksaanwijzing van de fabrikant.

Transport in UMMt Amies-medium

Los 300 µL van het geïnoculeerde transportmedium in een flacon van UMMt AMIES-medium

6.3 Opslag van monsters

Opslag in AMIES-medium of in een universeel medium voor virussen, chlamydia, mycoplasma et ureaplasma.

Zie de gebruiksaanwijzing van de fabrikant

Opslag in UMMt AMIES-medium

Eenmaal geïnoculeerd kan het UMMt AMIES-medium 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 Mh-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 de monsterneming (swabs, gekoppeld aan hun AMIES-transportmedium of een universeel medium voor virussen, chlamydia, mycoplasma en ureaplasma)
 MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
 Pipetten en transferkegeltjes
 Container voor verontreinigd afval
 Minerale olie
 Broedstof gekalibreerd op 37 ± 1 °C

9 - WERKWIJZE

Breng de reagentia 20 tot 30 minuten op kamertemperatuur.

9.1 ONDERZOEK - Galerij MYCOFAST Screening RevolutionN-

- 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 AMIES RevolutionN

Als het transport werd uitgevoerd in een UMMt AMIES-medium geïnoculeerd met 300 µL van Amies-medium of een universeel medium voor virussen, chlamydia, mycoplasma en ureaplasma; **ga dan direct naar stap 9.1.2.**

Als het transport van het monster werd uitgevoerd in zijn Amies-medium of in een universeel medium voor virussen, chlamydia, mycoplasma en ureaplasma; breng dan 300 µL van dat transportmedium over in een flacon van UMMt AMIES.

9.1.2 Inoculatie van de putjes van U.u./M.h.

- Verdeel achtereenvolgens:

Putjes (U.u.): 100 µL van geïnoculeerd UMMt AMIES-medium.
 Putjes (M.h.): 100 µL van geïnoculeerd UMMt AMIES-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 AMIES-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 ± 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 N 2

9.2 TELLING, IDENTIFICATIE EN GEVOELIGHEIDSTEST

9.2.1 Inoculatie van de galerij MYCOFAST Revolution N 2 Verwijder de folie door aan de tong te trekken en verspreid vervolgens in de putjes:

Putjes 1-24 100 µL van geïnoculeerd UMMt AMIES-medium
 Putjes 1-24 2 druppels minerale olie

Dek de galerij af door de afdekking "closing system" in te schakelen. Identificeer het monster.

Bewaar het overschot van de UMMt AMIES-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 ± 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 MIC (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	
Macrolide	Erythromycine	≤8	≥16			Stammen gevoelig voor erythromycine zullen het ook zijn voor azithromycine

Hulp bij interpretatie:

Gevoeligheidstest van U.u.

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

int* = interpretatie

Gevoeligheidstest van 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*
Concentratie (µg/mL)	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
Profielen	+	-	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 AMIES-flacon 2,6 mL met 300 µL van het oorspronkelijke UMMt AMIES-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.1).

Inoculeer een nieuwe galerij met behulp van het nieuwe geïnoculeerde UMMt AMIES-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 AMIES-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.1).

Een niet-constante incubatietemperatuur of een temperatuur < 36 °C (frequente opening van de broedstof, temperatuurheterogeniteit in de broedstof,...) kan de groeikinetic 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 gelyofiliseerde collectorstam (*U. urealyticum* ATCC 27815 of *M. hominis* ATCC 23114) vooraf gekalibreerd op 10^{4-5} CCU/mL.

Screening: Inoculeer de twee putjes van een MYCOFAST Screening RevolutionN-galerij en zet de test voort zoals aangegeven in de instructies (§ 9.1).

Verwachte resultaten voor de stam: U.u. (+) en M.h. (-);

Telling, identificatie en gevoeligheidstest: Inoculeer de MYCOFAST Revolution N 2-galerij en zet de test voort zoals aangegeven in deze handleiding (§ 9.2)

Verwachte resultaten hieronder (ATCC):

MYCOFAST Revolution N 2

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

NI: Niet interpreteerbaar

12 - BEPERKINGEN VAN DE METHODE

12.1 - Onderzoek:

De galerij MYCOFAST Screening *RevolutioN* heeft een gevoeligheidsdrempel van $\leq 10^3$ 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 $>10^{6-7}$ 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 AMIES-medium geconserveerd bij 2-8 °C (§ 9.2). Een basische monster-pH (pH ≥ 8) kan het medium doen verkleuren. Verdun in dit geval het monster (1:10) in een ander UMMt AMIES-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 AMIES-medium en interpreteer het rekening houdend met de verdunning. Een lichtjes met mycoplasma's geladen monster ($<10^3$ 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 - Identificatie en telling

Galerij MYCOFAST Screening *RevolutioN*

Er werd een vergelijkende studie uitgevoerd vanaf klinische vaginale monsters (n=87; voor de 2 soorten U.u. en M.h.) uitgevoerd in droge monsters samen met hun transportmedium (Transwab en VCM - Medical Wire en Eswab - Copan).

De met MYCOFAST Screening *RevolutioN* verkregen resultaten worden vergeleken met de telmethode in microverdunningsvloeistof. Galerij MYCOFAST Screening *RevolutioN*:

- Voor het onderzoek van de 2 soorten U.u. en M.h. bedraagt de overeenkomst 97,7%.

We hebben 2 vals-negatieve Uu gedocumenteerd voor een gehalte van 10^3 CCU/mL in de routinemethode van laboratoria in de wetenschap dat dit gehalte wordt beschouwd als infrapathologisch voor vaginale monsters. Voor U.u. en M.h. bedraagt de globale concordantie 100% voor de suprapathologische gehalten.

- Voor de differentiatie hebben alle geteste monsters een correcte identificatie van U.u. en 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 $\leq 10^3$ CCU/mL) (zie § 14.1.1 en opmerking 1)	Aflezings na 24 uur	88,9	NA*	NA*
	aflezings volgens § 9.3	86,7	NA*	NA*
Geïsoleerde stammen (gehalten van $\geq 10^3$ CCU/mL) (zie § 14.1.1)	Aflezings na 24 uur	91	96,4	93,7
	aflezings volgens § 9.3	82,1	92,5	87,3
Vaginale klinische monsters (zie § 14.1.2)	aflezings volgens § 9.3	88,2	100	94

NA *: niet van toepassing

13.2.1 - Over geïsoleerde stammen

Er is een vergelijkende studie uitgevoerd vanaf 26 geïsoleerde stammen (ATCC-stammen en collectorstammen) die afzonderlijk (U.u. of M.h.) getest werden op 3 referenties van transportmedia (Sigma Transwab en Sigma VCM van bij Medical Wire en de Eswab Collection Kit van bij BD) bij meerdere concentraties (dus een totaal van 279 testen).

De verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

Voor een interpretatie met een pathologische drempel van 10^3 CCU/mL en

een aflezing van het resultaat na 24 uur; de globale concordantie voor Uu bedraagt 88,9% (we hebben 14 vals-positieve resultaten gedocumenteerd): 13 voor gehalten van 10^2 CCU/mL en één voor een gehalte van minder dan 10^2 CCU/mL en 17 vals-negatieve resultaten: 11 voor gehalten van 10^3 CCU/mL – 5 voor gehalten van 10^4 CCU/mL en één voor een gehalte van 10^5 CCU/mL I met de telmethode in microverdunning). Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10^3 CCU/mL en een aflezing van het resultaat na 24 uur; de globale concordantie voor U.u. bedraagt 91% (we hebben 18 vals-positieve resultaten gedocumenteerd: voor gehalten van 10^2 – 10^3 CCU/mL en 7 vals-negatieve resultaten: voor gehalten van 10^2 – 10^5 CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

De globale concordantie voor Mh bedraagt 96,4% voor een aflezing van het resultaat na 24 uur (we hebben één vals-positief resultaat gedocumenteerd voor een gehalte van 10^2 CCU/mL en 9 vals-negatieve resultaten voor gehalten van 10^3 CCU/mL met de telmethode in microverdunning). De globale concordantie U.u. + M.h. met een aflezing van het resultaat na 24 uur bedraagt 93,7%.

Voor een interpretatie met een pathologische drempel van 10^3 CCU/mL en een aflezing van het resultaat volgens het protocol beschreven in de handleiding (§ 9.2); de globale concordantie voor U.u. bedraagt 86,7% (we hebben 35 vals-positieve resultaten gedocumenteerd): 34 voor gehalten van 10^2 CCU/mL en één voor een gehalte van minder dan 10^2 CCU/mL en 2 vals-negatieve resultaten: voor gehalten van 10^3 CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

Voor een interpretatie met een pathologische drempelwaarde die is ingesteld op 10^3 CCU/mL en een aflezing van het resultaat volgens het protocol beschreven in de handleiding (§ 9.2); de globale concordantie voor U.u. bedraagt 82,1% (we hebben 49 vals-positieve resultaten gedocumenteerd: voor gehalten van 10^2 – 10^3 CCU/mL I en 1 vals-negatief resultaat: voor gehalten van 10^4 CCU/mL met de telmethode in microverdunning).

De globale concordantie voor M.h. bedraagt 92,5% voor een aflezing van het resultaat volgens het protocol beschreven in de handleiding (§ 9.2) (we hebben 21 vals-positieve resultaten gedocumenteerd voor een gehalte van 10^2 – 10^3 CCU/mL in telmethode in microverdunning).

De globale concordantie U.u. + M.h. met een aflezing van het resultaat volgens het protocol beschreven in de handleiding (§ 9.3) bedraagt 87,3%.

13.2.2 - Op klinische monsters

Er werd een vergelijkende studie uitgevoerd vanaf klinische vaginale monsters (n=59) uitgevoerd in droge monsters samen met hun transportmedium (Sigma Transwab en Sigma VCM van bij Medical Wire en de Eswab Collection Kit van bij BD).

De met MYCOFAST *RevolutioN* 2 AMIES verkregen resultaten worden vergeleken met de resultaten verkregen met de telmethode in microverdunningsvloeistof.

De globale concordantie voor U.u. bedraagt 88,2% (we hebben 3 vals-negatieve resultaten gedocumenteerd voor gehalten van 10^4 – 10^5 – 10^6 CCU/mL en 4 vals-positieve resultaten voor gehalten van $<10^2$ – 10^2 en 10^3 CCU/mL I met de telmethode in microverdunning).

Voor M.h. bedraagt de globale concordantie 100%.

De globale concordantie U.u. en M.h. bedraagt 94%

13.3 Gevoeligheidstesten

Het vergelijkende onderzoek is in een nationaal referentielaboratorium uitgevoerd tussen de methode voor het bepalen van minimale remmende concentraties (MIC) 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 10^3 – 10^4 en 10^5 CCU/mL in UMMt 3 mL.

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

Voor de gehalten van 10^3 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
	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: Grote discrepantie, DTM: Zeer grote discrepantie

a : discrepantie verkregen bij 10^3 CCU/mL (referentie-CMI bij 0,5 µg/mL), 4 discrepanties verkregen bij 10^5 CCU/mL (referentie-CMI bij 0,5 - 1 en 8 µg/mL).

b : 1 discrepantie verkregen bij 10^5 CCU/mL (referentie-MIC bij 8 µg/mL)

c : 1 discrepantie verkregen bij 10^3 CCU/mL (referentie-MIC bij 8 µg/mL);

1 discrepantie verkregen bij 10^5 CCU/mL (referentie-MIC bij 2 µg/mL)

d : 1 discrepantie verkregen bij 10^3 CCU/mL (referentie-MIC bij 4 µg/mL).

14 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type reagentia geldende hygiënevoorschriften 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 MANDEL G. 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)

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

