

Diagnóstico de Micoplasmas urogenitales MYCOFAST® Screening *Revolution*N

Detección y diferenciación
50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® *Revolution*N 2
Recuento, identificación y prueba de sensibilidad
25 tests (REF 00062)

UMMt AMIES *Revolution*N
50 tests (REF 00081)

CPB 0396-3_ES-2018-03

Para uso en diagnóstico *in vitro*, sólo para uso profesional

Los cambios desde la revisión anterior, están resaltados en gris



1 - FINALIDAD

El estuche MYCOFAST Screening *Revolution*N (REF 00063) permite la detección y la diferenciación de *Ureaplasma urealyticum/Ureaplasma parvum* (U.u.) y de *Mycoplasma hominis* (M.h.) a partir de distintas muestras clínicas. Se debe utilizar en combinación con los medios del estuche UMMt *Revolution*N (REF 00061).

En caso de resultado positivo, el análisis se podrá completar con las galerías del estuche COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution*N (REF 00062) que permite la numeración e identificación de U.u. y/o M.h., así como la prueba de sensibilidad a los antibióticos siguiendo las recomendaciones del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas, de los que hay más de 15 especies censadas en el hombre en la actualidad, pertenecen a la clase de los mollicutes. Se diferencian de otras bacterias en numerosos aspectos, entre ellos la falta de pared, que les confiere una resistencia natural a los betalactámicos, así como una membrana rica en esteroides procedente de membranas de las células eucariotas sobre las que se fijan. Los micoplasmas son organismos relativamente frágiles, que se multiplican en un medio acelular solamente en presencia de muchos factores de crecimiento y a una temperatura óptima de 37°C (4).

La mayor parte de los micoplasmas humanos son simples comensales. Las especies más comunes son las aisladas a partir del tracto urogenital, *U. urealyticum* y *M. hominis*. La especie *U. urealyticum* se divide en dos biovariedades: *U. urealyticum* y *U. parvum* (U.u.).

U.u. o M.h. pueden comportarse como verdaderos patógenos. Son responsables de infecciones genitales masculinas (uretritis no gonocócicas, epididimitis, prostatitis, infertilidad); infección ginecológica (vaginosis bacteriana, endometritis, salpingitis); trastornos de la reproducción (corioamnionitis, endometritis postparto, nacimientos prematuros, aborto espontáneo); problemas neonatales (poco peso al nacer, infecciones respiratorias, neurológicas, bacteriemias, absceso); infecciones extragenitales (artritis sépticas, artritis de reacción, otras localizaciones) (1).

El diagnóstico de las infecciones por micoplasmas depende de la determinación de un umbral patológico y, por lo tanto, de un recuento.

La aparición de resistencia de U.u. y M.h. a determinadas moléculas conduce a realizar una prueba de sensibilidad a los antibióticos (5, 6). Los antibióticos probados y los criterios de interpretación se adaptan al tratamiento de las infecciones por micoplasmas a nivel del tracto urogenital y en otros lugares extra genitales.

3 - PRINCIPIO

MYCOFAST *Revolution*N es un método en medio líquido basado en la aptitud de U.u. y de M.h. para metabolizar la urea y la arginina, respectivamente. El crecimiento de micoplasmas en medio líquido se visualiza mediante el cambio de un indicador de color – el rojo de fenol - del amarillo anaranjado al rojo, lo que indica la alcalinización del medio debido a la liberación de amoníaco.

El crecimiento de micoplasmas así visualizado permite:

- la detección y la diferenciación; además, en caso de resultado positivo ;
- el recuento basado en la velocidad de la hidrólisis de los sustratos, proporcional a la cantidad de gérmenes contenidos en la muestra;
- la identificación basada en la sensibilidad o no del germen frente a tres antibióticos;
- el estudio de la sensibilidad de U.u. y M.h. a los antibióticos.

4 - REACTIVOS

Descripción	Cantidad		
	#00081	#00082	#00063
UMMt AMIES : Frasco de 3 mL de medio de micoplasmas con antibióticos y agente conservador. pH: 6,0 ± 0,1.	50	-	-
MYCOFAST SCREENING <i>Revolution</i>N : Galería divisible de 10 pocillos para 5 pruebas, envasada en un sobre de aluminio con desecante integrado.	-	-	10
Etiquetas : Tabla de 5 etiquetas divisibles.	-	-	10
S. Mh : Frasco de 4,5 mL de activador de crecimiento de <i>M. hominis</i> .	-	-	1
MYCOFAST <i>Revolution</i>N 2 : Galería de 24 pocillos para una prueba envasada en un sobre de aluminio con desecante integrado.	-	25	-
Closing system : Tapa de protección de la galería con el cultivo, en plástico transparente	-	25	-

Galería MYCOFAST Screening *Revolution*N

Galería compuesta por 5 series de 2 pocillos: un pocillo de *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) que contiene lincomicina y urea y otro pocillo de *Mycoplasma hominis* (M.h.) que contiene eritromicina y arginina.

Galería MYCOFAST *Revolution*N 2

Esta galería contiene en los 24 pozos el medio de crecimiento bajo forma deshidratada (suero de potro, extracto de levadura, cisteína, arginina, urea, rojo fenol, antibióticos, pH: 6,1 ± 0,1) y toma 2 partes distintas:

- la parte destinada al recuento y la evaluación de la sensibilidad a antibióticos para la especie Uu (pozos registrados en negro en la etiqueta).

- la parte destinada al recuento y la evaluación de la sensibilidad a antibióticos para la especie Mh (pozos registrados en rojo en la etiqueta).

Parte para el diagnóstico de la especie Uu (en negro):

Pozos 1/2/3: Identificación y enumeración de Uu para tasas de 103, 104 y 105 UCC / mL

(solución tamponada y lincomicina que inhiben el crecimiento de Mh).

Pozos 4/5: Evaluación de la sensibilidad de Uu a Levofloxacina (LVX) a 2/4 µg/mL

Pozos 6/7: Evaluación de la sensibilidad de Uu a Moxifloxacina (MXF) a 2/4 µg/mL

Pozos 8/9: Evaluación de la sensibilidad de Uu a Eritromicina (ERY) a 8/16 µg/mL

Pozos 10/11: Evaluación de la sensibilidad de Uu a Tetraciclina (TET) 1-2 µg/mL

Pozos 12/13: Evaluación de la sensibilidad de Uu a Doxiciclina (DOX) 1-2 µg/mL

Parte para el diagnóstico de la especie Mh (en rojo):

Pozo 14: Identificación y enumeración de Mh para tasas ≥104 UCC/mL

Pozo 15/16: Evaluación de la sensibilidad de Mh a Doxiciclina (DOX) 4-8 µg/mL

Pozos 17/18: Evaluación de sensibilidad de Mh a Levofloxacina (LVX) 1-2 µg/mL

Pozos 19/20: Evaluación de la sensibilidad de Mh a Moxifloxacina (MXF) 0.25-0.5 µg/mL

Pozos 21/22: Evaluación de la sensibilidad de Mh a Clindamicina (CLI) 0,25-0,5 µg/ml

Pozos 23/24: Evaluación de la sensibilidad de Mh 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										2
											DOX
											1
1											13
											12
	Uu	Uu	2	4	2	4	8	16	1	2	
	10 ⁴	≥10 ⁵	LVX	MXF	ERY	TET					
			2	3	4	5	6	7	8	9	10
											11

5 - PRECAUCIONES DE EMPLEO

- Los reactivos de este estuche deben utilizarse únicamente para el diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados por personas autorizadas para ello.
- Las muestras y los reactivos sembrados son potencialmente infecciosos; deben manipularse con precaución, respetando las reglas de higiene y la reglamentación en vigor en el país de utilización de este tipo de producto.

- Los reactivos que contienen materias primas de origen animal deben manipularse de acuerdo con las precauciones de uso.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilice los reactivos deteriorados o mal conservados antes de usar.
- Un resultado positivo con el método MYCOFAST *Revolution*N 2 indica una colonización de los micoplasmas urogenitales, pero no puede servir por sí mismo para realizar un diagnóstico clínico.
- El diagnóstico debe ser realizado por un médico en función de los resultados biológicos y de la sintomatología clínica.

6 - RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

6.1 Recogida de las muestras

Muestras cervico-vaginales: Utilizar únicamente un hisopo de Dacron o de rayón, o un citocapillo. Realizar la toma de la muestra tras eliminar bien las secreciones del exocérnix mediante un primer hisopo. Los micoplasmas tienen una gran afinidad por las células de las mucosas a las que se adhieren, por lo tanto, es esencial raspar bien la mucosa para obtener un buen resultado.

Muestras uretrales: Limpiar el meato y recoger las muestras con el hisopo o por raspado de las células.

6-2 Transporte de muestras

Transporte en un medio conocido o en un medio universal para virus, clamidia, micoplasma y ureaplasma.

Consulte las instrucciones de uso del fabricante.

Transporte en un entorno UMMt AMIES

Descargue 300 µL del medio de transporte inoculado en un vial de medio AMIES UMMt.

6-3 Almacenamiento de muestras

Almacenamiento en un medio conocido o en un medio universal para virus, clamidia, micoplasma y ureaplasma.

Consulte las instrucciones de uso del fabricante.

Conservación en un entorno UMMt AMIES

Una vez inoculado, el medio UMMt AMIES puede almacenarse a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 20 horas, o a 2-8 °C durante 56 horas. Para almacenar durante 3 días a -20 °C, agregue 2 gotas de "estabilizador de MYCOPLASMA" antes

7 - PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Los reactivos conservados a 2-8°C en su estado original se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.
- En caso de uso de una sola serie de pocillos (U.u.) (M.h.) o de dos, tres o cuatro series de pocillos, el resto de la galería MYCOFAST Screening *Revolution*N, no utilizada y cerrada herméticamente en la bolsa original de aluminio, se puede conservar durante 4 semanas a 2-8 °C.
- El suplemento S.Mh se mantiene estable durante 3 meses después de abrirlo.
- El medio UMMt AMIES puede conservarse temporalmente a temperatura ambiente, pero presenta mejor estabilidad a 2-8 °C.
- Los reactivos del estuche no deben congelarse.

8 - MATERIAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

- Material de muestreo (hisopos asociados con su medio de transporte Amies o medio universal para virus de clamidia, micoplasma y ureaplasma)
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
- Pipetas y conos, recipiente para residuos contaminados.
- Vaselina líquida estéril, estufa calibrada a 37 °C ± 1°C.
- Estufa calibrada a 37 °C ± 1°C

9 - PROCEDIMIENTO

Poner los reactivos a temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos.

9.1 DETECCIÓN - Galería MYCOFAST Screening *Revolution*N

- Prepare tanto la serie de pocillos como las muestras que se van a testar.
- En caso de que sea necesario, separe una de las series de pocillos (U.u.)/(M.h.) consultando la marca de la galería.

9-1-1 Inoculación del medio UMMt AMIES *Revolution*N

Si el transporte se ha realizado en medio UMMt AMIES inoculado con 300 µl de medio Amies o medio universal para virus, clamidia, micoplasma y ureaplasma; **luego vaya directamente al paso 9.1.2.**

Si la muestra ha sido transportada en su medio Amies o universal para virus, clamidia, micoplasma y ureaplasma; luego transfiera 300 µl de este medio de transporte a un vial de AMIES UMMt.

9.1.2 Inoculación de los pocillos U.u./M.h.

- Distribuya sucesivamente:

Pocillo (U.u.): 100 µL de medio UMMt AMIES sementado.

Pocillo (M.h.): 100 µL de medio UMMt AMIES sementado.

50 µL de suplemento M.h.

- Añada 2 gotas de aceite mineral en los dos pocillos.
- Recubra los pocillos con la etiqueta divisible e identifique la extracción.
- **Conserve el excedente del frasco de medio UMMt AMIES** sementado a 2-8°C para continuar el análisis en caso de resultado positivo.

9.1.3 Incubación de los pocillos Uu/Mh

Incuba los pocillos de la galería durante 24 horas a 37 ± 1°C. La incubación en la galería puede alargarse hasta 48 horas sólo en el caso de muestras líquidas que resultan negativas después de 24 horas.

9.1.4 Lectura e interpretación de los pocillos Uu/Mh

- Compruebe que ambos pocillos (U.u.) (M.h.) estén nítidos. Un pocillo turbio indica contaminación bacteriana. En este caso, vuelva a comenzar la prueba.

- Observe el cambio de color de los pocillos U.u. y M.h.:

Pocillo U.u. anaranjado o rojo: Presencia de *Ureaplasma urealyticum*

Pocillo M.h. anaranjado o rojo: Presencia de *Mycoplasma hominis*

Pocillo U.u./M.h. amarillo: Ausencia de micoplasmas

En caso de resultado positivo, prosiga el diagnóstico con la galería MYCOFAST *Revolution*N

9.2 NUMERACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y PRUEBA DE SENSIBILIDAD

9.2.1 Siembra de la galería MYCOFAST *Revolution*N 2

- Retirar la película adhesiva tirando de las 2 lengüetas y distribuir sucesivamente en los pocillos:

pocillos 1-24 100 µL de medio UMMt AMIES regenerado

pocillos 1-24 2 gotas de la vaselina esteril

- Tapar la galería mediante el "sistema de cierre" de la tapa.

- Identificar la muestra.

Conservar el excedente del frasco UMMt AMIES a 2-8°C durante 48 horas como mínimo para permitir una eventual verificación.

9.2.2 Incubación de la galería

Incubar la galería a 37°C ± 1°C durante 24 horas. Para el recuento de los U.u. y M.h. leer los resultados en 24 horas. La incubación en la galería puede alargarse hasta 48 horas sólo en el caso de muestras líquidas que resultan negativas después de 24 horas.

9.2.3 Lectura e Interpretación

Verificar que todos los pocillos están limpios. Un pocillo turbio indica contaminación bacteriana. En este caso empezar otra vez la prueba.

El crecimiento de los micoplasmas urogenitales en los pocillos, se traduce por una alcalinización del medio que vira al rojo. En ausencia de crecimiento de micoplasmas urogenitales, el medio permanece amarillo. Una coloración anaranjada debe ser considerada como un test positivo (tasa límite). Para la interpretación de los resultados vea la hoja de resultados.

Recuento (pocillos 1, 2, 3 y 14)

Marcar los pocillos que hayan cambiado a rojo e interpretar:

1 tasa U.u. de 10³ UCC/mL

1 y 2 tasa U.u. de 10⁴ UCC/mL

1, 2 y 3 tasa U.u. ≥ 10⁵ UCC/mL

14 tasa M.h. ≥ 10⁴ UCC/mL

El papel patológico de micoplasmas en infecciones urogenitales está sujeto a la interpretación de acuerdo a las recomendaciones específicas (1,3,14).

Las proporciones patológicas, generalmente indicadas para *U. urealyticum*, son: ≥10⁴UCC/mL para el muestreo uretral o el muestreo endotraqueal, ≥10³UCC/mL para el primer chorro de orina o esperma (aunque una nueva recomendación menciona un umbral ≥10⁴UCC/mL para al esperma (14)). Para *M. hominis* su presencia en una proporción ≥10⁴UCC/mL en una muestra cervicovaginales anómala (1, 3).

Test de sensibilidad a los antibióticos (pocillos 4 a 13 y 15 a 24)

La reacción del medio en los pocillos que contienen antibiótico indica la capacidad de la cepa para desarrollarse en presencia de la concentración probada del antibiótico. El color amarillo del medio demuestra la incapacidad de la cepa de desarrollarse en presencia de la concentración testada del antibiótico. Las cepas se consideran sensibles o resistentes frente a los antibióticos según los criterios de interpretación siguientes, definidos por el CLSI (2):

Criterios de interpretación de los CMI en µg/ml

Clase	Antibiótico	Uu		Mh		Observaciones
		S	R	S	R	
Quinolonas	Lévofloxacina	≤ 2	≥ 4	≤ 1	≥ 2	
	Moxifloxacina	≤ 2	≥ 4	≤ 0.25	≥ 0.5	
Lincosamidas	Clindamicina			≤ 0.25	≥ 0.5	
Tetraciclinas	Tetraciclina	≤ 1	≥ 2	≤ 4	≥ 8	
	Doxyciclina	≤ 1	≥ 2	≤ 4	≥ 8	
Macrolidos	Eritromicina	≤ 8	≥ 16			Las cepas sensibles a la Eritromicina son sensibles a la Azitromicina

Ayuda a la interpretación :

Pruebas de sensibilidad a los antibióticos para U.u

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

int*= interpretación

Pruebas de sensibilidad a los antibióticos para M.h

Antibiótico	LVX			MXF			CLI			TET			DOX		
	1	2	int*	0.25	0.5	int*	0.25	0.5	int*	4	8	int*	4	8	int*
Concentración (µg/mL)															
Perfiles	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S	-	-	S
	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R	+	-	R
	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R	+	+	R

int*= interpretación

- La cepa se considera **sensible** cuando su crecimiento es inhibido con dos concentraciones críticas del antibiótico. La cepa se considera **resistente** cuando su crecimiento se inhibe en la concentración crítica alta del antibiótico y no se inhibe en la concentración crítica baja, o cuando su crecimiento no se inhibe en las dos concentraciones críticas del antibiótico.

- *M. hominis* es inherentemente resistente a los macrólidos de 14 y 15 carbonos, incluida la eritromicina. En algunas poblaciones, la tasa de resistencia a la tetraciclina puede alcanzar el 45% para Uu y el 39.6% para Mh (2). Se han descrito resistencias a quinolonas (Uu y Mh) (5, 6) y a clindamicina (Mh), pero se desconoce la prevalencia.

10 - CASOS PARTICULARES

Para niveles muy elevados en U.u. o M.h., hay una reacción al rojo en todos los pocillos de la galería. En ese caso, se recomienda realizar una dilución de la muestra para obtener un resultado más preciso. En este caso, proceder de la siguiente manera:

- Inocule un nuevo vial de UMMt AMIES con 300µL de medio UMMt AMIES original almacenado a 2-8°C (ver § 9.1). Inocule una nueva placa con el nuevo medio UMMt AMIES inoculado.
- Sembrar una nueva galería con el medio obtenido.
- Hay que tener en cuenta la dilución (1:10) para interpretar el recuento.

- Confirmar si es necesario en agar A7 la presencia de micoplasmas volviendo a aislar, a partir del medio UMMt AMIES de origen conservado a 2-8 °C (apartado 9.2.1).
- Una temperatura no constante o incubazione <36 ° C (frecuente apertura del forno, eterogeneità della temperatura all'interno del forno, ...) può rallentare la cinetica di crescita di micoplasmi.

11 - CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad puede realizarse a partir de la cepa *U. urealyticum* del estuche MYCOPLASMA CONTROL (REF 00900) o a partir de una cepa de ecología liofilizada (*U. urealyticum* ATCC 27815 o *M. hominis* ATCC 23114) calibrada previamente a 10⁴⁻⁵ UCC/mL.

Detección: Semente los dos pocillos de una galería MYCOFAST Screening *Revolution*N y continúe según se indica en las instrucciones (§ 9.1).

Resultados esperados: U.u. (+) y M.h. (-).

Numeración, identificación y prueba de sensibilidad: Sembrar la galería MYCOFAST *Revolution*N y continuar la prueba como se indica en este prospecto (apartados 9.2). Resultados esperados a continuación:

MYCOFAST *Revolution*N 2

	Uu 10 ³	Uu 10 ⁴	Uu ≥10 ⁵	Mh ≥10 ⁴	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
Souche Uu ATCC 27815	+	+	+/-	NI	S	S	S	S/R	S	NI
Souche Mh ATCC 23114.	NI	NI	NI	+	S/R	S	NI	S	S	S

NI (No Interpretable)

12 - LÍMITES DEL MÉTODO

12.1 - Detección

La placa MYCOFAST Screening *Revolution*N no permite la numeración, sino la detección en un umbral de ≤10³ UCC/mL. La numeración obtenida con la galería MYCOFAST *Revolution*N 2 puede resultar negativa tras una detección positiva.

12.2 - Recuento, identificación y test de sensibilidad

- Algunas bacterias, presentes en cantidad >10⁶⁻⁷ UFC/mL y que poseen una ureasa, pueden hacer virar todos los pocillos de la galería. Su presencia puede comprobarse volviendo a aislar en agar chocolate a partir del medio UMMt AMIES de origen conservado a 2-8 °C (apartado 9.2).

- Un pH de muestra básica (pH > 8) puede hacer reaccionar el medio. En ese caso, diluir la muestra (1:10) en otro medio UMMt AMIES y realizar la interpretación teniendo en cuenta la disolución.

- Un pH ácido de la muestra (pH ≤ 5) puede ralentizar la aparición del cambio de color.

- Una muestra que contenga sangre puede causar que los pozos de la galería de MYCOFAST *Revolution*N 2 cambien de color, interpretados como resultados positivos. En este caso, diluya la muestra (1:10) en otro medio UMMt AMIES e interprete teniendo en cuenta la disolución. Una muestra con una carga débil de micoplasmas (<10³ UCC/mL) puede provocar una reacción aleatoria en distintos pocillos de la galería. Al igual que con cualquier otro método de búsqueda de gérmenes, la calidad de la muestra condiciona el resultado de la prueba. Por lo tanto, una prueba negativa no indica forzosamente una ausencia de infección.

13 - RESULTADOS

13.1 Detección y diferenciación - Identificación y recuento

Galería MYCOFAST Screening *Revolution*N

Se realizó un estudio comparativo a partir de muestras clínicas vaginales (n = 87 p; 2 especies Uu y Mh) en hisopos secos. (Transwab y VCM - Medical Wire y Eswab - Copan)

Resultados obtenidos con MYCOFAST Screening *Revolution*N se comparan con el método de recuento en microdilución líquida.

- Para la detección de las 2 especies Uu y Mh, la concordancia es del 97,7 %.

Hemos enumerado 2 falsos negativos Uu para tasas de 10³ UCC/mL en el método de laboratorio de rutina, sabiendo que esta tasa se considera subpatológica para muestras vaginales. Para Uu y Mh, la concordancia global es del 100 % sobre las tasas supracatológicas.

- Para la diferenciación, todas las muestras analizadas permitieron la identificación correcta de Uu o Mh en los pozos de la galería de detección MYCOFAST Screening *Revolution*N.

13-2 Identificación, numeración

Método directo Galería MYCOFAST *Revolution* 2

Porcentaje de la concordancia global	Uu	Mh	Uu/Mh
Cepas aisladas tasa $\leq 10^3$ UCC/mL) (voir § 14.1.1)	88,9	NA*	NA*
Cepas aisladas tasa $\geq 10^4$ UCC/mL) (voir § 14.1.1)	86,7	96,4	93,7
Muestras vaginales clínicas (voir § 14.1.2)	91	92,5	87,3
Muestras clínicas líquidos – orina (voir § 14.1.2)	82,1	100	94

13-2-1 Sobre cepas aisladas

Se realizó un estudio comparativo utilizando 26 cepas aisladas (cepas ATCC y cepas de recolección) probadas por separado (Uu o Mh) en 3 referencias de medio de transporte (Sigma Transwab y Sigma VCM de Medical Wire y el ESwab Collection Kit de en BD) en múltiples concentraciones (un total de 279 pruebas).

Los resultados obtenidos se comparan con los obtenidos mediante un método de recuento por microdilución líquida.

Para una interpretación con un umbral patológico fijado en 10^3 CCU/mL y una lectura del resultado a las 24 h; el acuerdo general para Uu es 88,9% (hemos enumerado 14 falsos positivos: 13 para tasas de 10^2 UCC/mL y uno para una tasa menor de 10^2 UCC/mL y 17 falsos negativos: 11 para tasas de 10^3 UCC/mL - 5 para tasas de 10^4 UCC/mL y uno para una tasa de 10^5 UCC/mL en método de recuento de microdilución). Para una interpretación con un umbral patológico fijado en 10^4 UCC/mL y una lectura del resultado a las 24 horas; el acuerdo general para Uu es 91% (hemos enumerado 18 falsos positivos: para una tasa de 10^2 - 10^3 UCC/mL y 7 falsos negativos: para tasas de 10^4 - 10^5 CCU/mL en método de recuento de microdilución).

La concordancia general para Mh es del 96,4% para una lectura del resultado a las 24 h (hemos enumerado un falso positivo para una tasa de 10^3 UCC/mL y 9 falsos negativos para niveles de 10^4 UCC/mL en el método de recuento de microdilución). La concordancia global Uu +Mh con una lectura del resultado a las 24h es del 93,7 %.

Para una interpretación con un umbral patológico establecido en 10^3 CCU/mL y una lectura del resultado según el protocolo descrito en el manual (§ 9.2); el acuerdo general para Uu es 86,7 % (hemos enumerado 35 falsos positivos: 34 para niveles de 10^2 UCC/mL y uno para una tasa más baja a 10^2 CCU/mL y 2 falsos negativos: para tasas de 10^3 CCU/mL utilizando el método de recuento de microdilución).

Para una interpretación con un umbral patológico fijado en 10^4 CCU/mL y una lectura del resultado según el protocolo descrito en el prospecto (§ 9.2); la concordancia general para Uu es 82,1% (hemos enumerado 49 falsos positivos: para una tasa de 10^2 - 10^3 UCC / mL y 1 falso negativo: para tasas de 10^4 UCC/mL en el método de recuento de microdilución). La concordancia general para Mh es del 92,5 % para una lectura del resultado de acuerdo con el protocolo descrito en las instrucciones (§ 9.2) (hemos enumerado 21 falsos positivos para una tasa de 10^2 - 10^3 CCU/mL en el método de recuento de microdilución).

La concordancia global Uu + Mh con una lectura del resultado según el protocolo descrito en el manual (§ 9.3) es del 87,3%.

13-2-2 En muestras clínicas

Se realizó un estudio comparativo utilizando muestras vaginales clínicas (n = 59) tomadas en hisposos secos asociados a su medio de transporte (Sigma Transwab y Sigma VCM de Medical Wire y el ESwab Collection Kit de BD).

Los resultados obtenidos con MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES se comparan con el método de recuento de microdilución líquida.

El acuerdo general para Uu es 88,2% (hemos enumerado 3 falsos negativos de tasas de 10^4 - 10^5 - 10^6 UCC/mL y 4 falsos positivos para niveles $<10^2$ - 10^3 y 10^3 UCC/mL en el método de recuento de microdilución).

Para Mh, la concordancia global es del 100%. La concordancia general Uu + Mh es del 94 %

13.3 Pruebas de sensibilidad a los antibióticos

El estudio comparativo se ha realizado en un laboratorio nacional de referencia entre el método de determinación de concentraciones mínimas inhibitoras (CMI) en medio líquido y el método MYCOFAST *Revolution* 2.

Las cepas analizadas (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* y 16 *M. hominis*) son cepas

de referencia, cepas clínicas salvajes o cepas que han adquirido resistencia. Cada cepa se prueba con diluciones de 10^3 , 10^4 y 10^5 UCC/mL en el medio UMMt AMIES 3mL.

Para las tasas 10^4 y 10^5 UCC/mL, los resultados se leyeron e interpretaron después de 24 horas de incubación.

Para 10^3 UCC/mL, los resultados se leyeron e interpretaron después de 48 horas de incubación si la prueba era negativa en 24 horas.

La concordancia global para *U. urealyticum* / *U. parvum* es del 95.5%.

La concordancia global para *M. hominis* es del 100%

Concordancia	<i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>par-vum</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: discrepancia mayor, DTM: discordancia muy importante

^a : Discrepancia obtenida a 10^3 UCC/mL (CMI de referencia a 0,5 µg / mL), 4 discrepancias obtenidas a 10^2 UCC/mL (MIC de referencia a 0,5 - 1 y 8 µg/mL).

^b : 1 discrepancia obtenida a 10^5 CCU / mL (CMI de referencia a 8 µg / mL).

^c : 1 discrepancia obtenida a 10^3 CCU / mL (CMI de referencia a 8 µg / mL); - 1 desajuste obtenido en 10^5 UCC / mL (CMI de referencia a 2 µg / mL)

^d : 1 discrepancia obtenida a 10^5 CCU / mL (CMI de referencia a 4 µg / mL).

14 - ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los residuos deben eliminarse de conformidad con las normas de higiene y la reglamentación en materia de este tipo de reactivos en el país de uso.

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 Mandell 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. BRENDA KATZ and ROBERT L. SCHELONKA. 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin. Microbiol. Rev. Vol.18 -N°4 -757-789.

6 - WAITES KEN B, DONNA M. 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)

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du plateau
19, allée d'Athènes
83870 SIGNES
(FRANCE)

Tel : 33 (0)4 94 88 55 00

Fax : 33 (0)4 94 32 82 61

<http://www.elitechgroup.com>

MYCOFAST® es una marca registrada de
ELITech MICROBIO

