

Diagnosi di micoplasmi urogenitali

MYCOFAST Screening Revolution

Rilevamento e differenziazione

50 test (RIF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+

Conteggio, identificazione e test di sensibilità

25 test (RIF 00073)

UMMt Revolution

50 test (RIF 00061)

CPB 0396-4-IT-2018-03

Per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale.
Test monouso.



1 - OBIETTIVO

Il cofanetto MYCOFAST Screening Revolution (RIF. 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 il terreno del cofanetto UMMt Revolution (RIF. 00061).

In caso di screening positivo, l'analisi può essere completata con le gallerie del cofanetto COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+ (RIF. 00073) che permette il conteggio e l'identificazione di U.u. e/o M.h. nonché il test di sensibilità agli antibiotici secondo le raccomandazioni del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - INTRODUZIONE

I micoplasmi, che contano diverse specie registrate fino a oggi negli esseri umani, appartengono alla classe dei mollicutes. Differiscono da altri batteri per molti aspetti, tra cui l'assenza di parete che conferisce loro una resistenza naturale alle beta-lattamine, nonché una membrana ricca di steroli provenienti dalle membrane cellulari eucariotiche a cui si attaccano. I micoplasmi sono organismi relativamente fragili, che si moltiplicano in mezzi acellulari solo in presenza di numerosi fattori di crescita e a una temperatura ottimale di 37 °C (4).

La maggior parte dei micoplasmi umani è costituita da semplici commensali. Le specie isolate dal tratto urogenitale, U. urealyticum e M. hominis sono quelle riscontrate più comunemente. La specie U. urealyticum è suddivisa in due biovarianti: U. urealyticum e U. parvum (U.u.).

U.u. o M.h. possono comportarsi come veri e propri patogeni. Sono responsabili di infezioni genitali maschili (uretrite non gonococcica, epididimite, prostatite, infertilità); infezioni ginecologiche (vaginosi batterica, endometrite, salpingite); disturbi riproduttivi (corioamnionite, endometrite post-partum, prematurità, aborto spontaneo); problemi neonatali (basso peso alla nascita, infezioni respiratorie, neurologiche, batteriemie, ascessi); infezioni extragenitali (artrite settica, artrite reattiva, altre localizzazioni) (1). La diagnosi delle infezioni da micoplasmi dipende dalla determinazione di una soglia patologica e quindi da un conteggio. La comparsa di una resistenza di U.u. e M.h. ad alcune molecole porta a un test di sensibilità agli antibiotici (5, 6). Gli antibiotici testati e i criteri di interpretazione sono adattati al trattamento delle infezioni da micoplasma nel tratto urogenitale o in altri siti extragenitali (2).

3 - PRINCIPIO

La tecnica MYCOFAST Screening Revolution è un metodo a base liquida 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 dal viraggio di un indicatore colorato, il rosso di fenolo, da giallo-arancio a rosso che traduce l'alcalinizzazione del mezzo a causa del rilascio di ammoniacca.

La crescita del micoplasma così visualizzata permette:
- rilevamento e differenziazione; poi in caso di positività:

- il conteggio basato sulla velocità 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 - REAGENTI

Descrizione	Quantità		
	rif. 00061	rif. 00073	rif. 00063
UMMt: fiala da 3 mL di brodo di micoplasmi con antibiotici e conservante. pH: 6,0 ± 0,1	50		
MYCOFAST SCREENING Revolution: galleria separabile da 10 pozzetti per 5 test, confezionata singolarmente in busta di alluminio con essiccante integrato.			10
Etichette: foglio da 5 etichette separabili			10
S.Mh.: attivatore di crescita di Mh (4,5 mL)			1
MYCOFAST Revolution ATB+: galleria da 24 pozzetti per 1 test, confezionata in busta di alluminio con essiccante integrato		25	
Sistema di chiusura: coperchio in plastica traslucida per galleria MYCOFAST Revolution		25	

Galleria 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.

Galleria MYCOFAST Revolution ATB+

La galleria MYCOFAST Revolution ATB+ contiene, in forma disidratata, nei 24 pozzetti il terreno di coltura del micoplasma (siero di cavallo, estratto di lievito, cisteina, arginina, urea, rosso di fenolo, antibiotici, pH: 6,1 ± 0,1) e 11 antibiotici da 1 a 4 concentrazioni:

Pozzetti 1/2: conteggio di U.u. per tassi di 10³ e ≥10⁴ CCU/mL (soluzione tamponata e lincomicina che inibisce la crescita di M.h.) (in blu)

Pozzetti 3: conteggio di Mh per il tasso ≥10⁴ CCU/mL (in rosso)

Pozzetti 4/5/6: valutazione della sensibilità del micoplasma alla levofloxacina (LVX) da 1 / 2 / 4 µg/mL

Pozzetti 7/8/9/10: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla moxifloxacina (MXF) da 0,25 / 0,5 / 2 / 4 µg/mL

Pozzetti 11/12/13/14: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla tetraciclina (TET) da 1 / 2 / 4 / 8 µg/mL

Pozzetti 15/16: valutazione della sensibilità dei micoplasmi all'eritromicina (ERY) da 8/16 µg/mL (in rosso)

Pozzetti 17/18: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla clindamicina (CLI) 0,25 / 0,5 µg/mL (in blu)

Pozzetti 19: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla telitromicina (TEL) da 4 µg/mL

Pozzetti 20: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla roxitromicina (ROX) da 2 µg/ml

Pozzetti 21: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla minociclina (MIN) da 2 µg/mL

Pozzetti 22: valutazione della sensibilità dei micoplasmi all'ofloxacina (OFX) da 1 µg/mL

Pozzetti 23: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla josamicina (JOS) da 2 µg/mL

Pozzetti 24: valutazione della sensibilità dei micoplasmi alla pristinamicina (PRI) da 2 µg/mL

		20	19	18	17	16	15	14	13	12	11		
		ROX	TEL	CLI		ERY		TET					
		2	4	0.5	0.25	16	8	8	4	2	1		
24	PRI	2										1	OFX
23	JOS	2										2	MIN
		MYCOFAST® Revolution ATB+											
		Uu	Uu	Mh	1	2	4	0.25	0.5	2	4		
		10 ³	≥10 ⁴	≥10 ⁴	LVX			MXF					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		

5 - PRECAUZIONI D'IMPIEGO

I reagenti di questo cofanetto sono destinati esclusivamente alla diagnosi in vitro e devono essere manipolati da personale autorizzato.

I campioni e i reagenti inoculati sono potenzialmente infettivi e devono pertanto essere maneggiati con le consuete precauzioni, nel rispetto delle norme igieniche vigenti nel Paese di utilizzo di questo tipo di prodotto.

I reagenti contenenti materie prime di origine animale devono essere manipolati con le precauzioni per l'uso.

Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Non utilizzare reagenti danneggiati o conservati in modo improprio prima dell'uso.

Un risultato positivo con la galleria MYCOFAST Revolution 2 indica la colonizzazione da parte di micoplasmi urogenitali, ma non può essere utilizzato da solo per la diagnosi clinica.

Quest'ultima deve essere effettuata dal medico sulla base dei risultati biologici e dei segni clinici.

6 - RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

6.1 Prelievo di campioni

Tamponi cervico-vaginali

Utilizzare esclusivamente un tampone in dacron o rayon o un citospazzolino. Prelevare il campione dopo un'attenta rimozione delle secrezioni dell'esocollo con l'ausilio di un primo tampone. I micoplasmi hanno una forte affinità per le cellule mucose a cui aderiscono, quindi è essenziale raschiare bene la mucosa per ottenere una buona resa.

Prelievi uretrali: pulire il meato e prelevare con tampone o raschiamento delle cellule.

Sperma, urina: raccogliere lo sperma o il primo flusso urinario in una 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 terreno 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 la conservazione a -20 °C per 3 giorni, aggiungere 2 gocce di "MYCOPLASMA Stabilizer" prima di procedere.

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 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

Apparecchiature di campionamento (tamponi, cito spazzolini, fiale sterili per il prelievo di campioni liquidi), pipette e coni di trasferimento MYCOPLASMA Stabilizer (RIF. 00064); forno calibrato a 37 ± 1 °C Contenitore per rifiuti

contaminati e olio minerale

9 - MODALITÀ OPERATIVA

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

9.1 SCREENING - Galleria MYCOFAST Screening Revolution

- Preparare un numero di pozzetti pari a quello dei 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 il tampone o con 300 µL di campione liquido (§ 6.2). Omogeneizzare.

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

- Distribuire successivamente:

Pozzetti (U.u.): 100 µL di mezzo di coltura UMMt inoculato.

Pozzetti (M.h.): 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 del mezzo 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 test 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..

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

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

Pozzetti U.u. / M.h. gialli: assenza di micoplasmi

In caso di screening positivo continuare la diagnosi con la galleria MYCOFAST Revolution ATB+

9.2 NUMERAZIONE, IDENTIFICAZIONE E TEST DI SENSIBILITÀ

9.2.1 Inoculazione della galleria MYCOFAST Revolution ATB+

film adesivo tirando la linguetta e distribuzione successiva nei pozzetti:

pozzetti 1-24 100 µL di mezzo 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 Uu e Mh 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 (tasso limite).

Per l'interpretazione del test, consultare la scheda dei risultati.

Conteggio (pozzetti 1, 2 e 3)

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

1 tassi U.u. di 10³ CCU/mL

1 et 2 tassi U.u. ≥ 10⁴ CCU/mL

3 tassi M.h. ≥ 10⁴ CCU/mL

Il ruolo patologico dei micoplasmi nelle infezioni urogenitali è soggetto a interpretazione secondo raccomandazioni specifiche (1,3,7). I tassi patologici solitamente considerati per *U. urealyticum* sont: ≥10⁴ CCU/mL pour un prélèvement urétral, ≥10³ CCU/mL per il primo flusso di urine o sperma (anche se una nuova raccomandazione locale indica una soglia a ≥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 (pozzetti da 4 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).

Criteri di interpretazione delle MIC in µg/mL (criteri di interpretazione definiti da CLSI)

Il ceppo è **sensibile** quando la sua crescita è inibita alla concentrazione critica o alle due concentrazioni critiche dell'antibiotico.

Il ceppo è **resistente** se:

1/ crescita del ceppo per l'antibiotico analizzato in un'unica concentrazione.

2/ crescita a bassa concentrazione o alle due concentrazioni dell'antibiotico per l'antibiotico testato a due concentrazioni.

Classe	Antibiotico	U.u.		M.h.		Commenti
		S	R	S	R	
Chinoloni	Levofloxacina *	≤2	≥4	≤1	≥2	
	Moxifloxacina *	≤2	≥4	≤0.25	≥0.5	
	Ofloxacina	≤1	>1	≤1	>1	
Lincosamidi	Clindamicina *	/	/	≤0.25	≥0.5	U.u. è naturalmente resistente alla clindamicina

Tetracicline	Tetraciclina *	≤1	≥2	≤4	≥8	I ceppi sensibili alla tetraciclina saranno anche sensibili alla doxiciclina
	Minociclina	≤2	>2	≤2	>2	
Macrolidi	Eritromicina *	≤8	≥16	/	/	I ceppi sensibili all'eritromicina saranno sensibili anche all'azitromicina. M.h. è naturalmente resistente all'eritromicina
	Roxitromicina	≤2	>2	/	/	U.u. è naturalmente resistente alla roxitromicina
	Josamicina	≤2	>2	≤2	>2	
Chetolidi	Telitromicina *	≤4	-	≤4		
Streptogramine	Pristamicina	≤2	>2	≤2	>2	

(*criteri di interpretazione definiti da CLSI)

M. hominis è naturalmente resistente a macrolidi con 14-15 atomi di carbonio, tra cui eritromicina e roxitromicina, ma è sensibile ai macrolidi con 16 atomi di carbonio come la josamicina.

U. urealyticum è naturalmente resistente ai lincosamidi (clindamicina).

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.

Ausilio per l'interpretazione

Test di sensibilità U.u.

ATB*	LVX				MXF				TET				ERY				
	1	2	4	int*	0.25	0.5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	8	16	int*
Profil	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	S	+	-	-	-	S	+	-	-	-	R	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	S	+	+	-	-	R	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

* ATB= Antibiotici, *CONC= Concentrazione, *INT= Interpretazioni

Test di sensibilità U.u.

ATB*	TEL		ROX		MIN		OFX		JOS		PRI	
	4	int*	2	int*	2	int*	1	int*	2	int*	2	int*
Profil	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S	-	S
	+	/	+	R	+	R	+	R	+	R	+	R

Test di sensibilità M.h.

ATB*	LVX				MXF					TET					CLI		
CONC* (µg/mL)	1	2	4	int*	0.25	0.5	2	4	int*	1	2	4	8	int*	0.25	0.5	int*
Profil	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	-	-	S	-	-	S
	+	-	-	R	+	-	-	-	R	+	-	-	-	S	+	-	R
	+	+	-	R	+	+	-	-	R	+	+	-	-	S	+	+	R
	+	+	+	R	+	+	+	-	R	+	+	+	-	R	/	/	/
	/	/	/	/	+	+	+	+	R	+	+	+	+	R	/	/	/

Test di sensibilità M.h.

ATB*	TEL	ROX	MIN	OFX	JOS	PRI	
CONC* (µg/mL)	4	int*	2	int*	1	int*	
Profil	-	S	resistenza naturale	-	S	-	S
	+	/		+	R	+	R

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 UMMt 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 eseguito dal *U. urealyticum* o *M. hominis* del cofanetto MYCOPLASMA CONTROL (RIF. 00900) o 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* ATB+ e proseguire il test come indicato in questa nota (§ 9.2)

Ecco i risultati attesi (ATCC).

MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

	U.u. 10 ³	U.u. ≥10 ⁴	M.h. ≥10 ⁴	LVX	MXF	TET	ERY
Ceppo U.u. ATCC 27815	+	+	-	S	S	S/R	S
Ceppo M.h. ATCC 23114	-	-	+	S/R	S	S	R

	CLI	TEL	ROX	MIN	OFX	JOS	PRI
Ceppo U.u. ATCC 27815	R	S	S/R	S	S/R	S	S
Ceppo M.h. ATCC 23114	S	S/R	R	S	S	S	S

12 - LIMITI DELLA METODOLOGIA

12.1 - Screening:

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

12.2 - Conteggio, identificazione e test di sensibilità

Alcuni batteri presenti in quantità >10⁵⁻⁷ 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 > 7) 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 ≤ 5,5) può rallentare la comparsa del viraggio di colore.

Un campione contenente sangue può causare un cambiamento di colore dei pozzetti MYCOFAST *RevolutioN* ATB+, 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 micoplasmi (<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; 2 specie U.u. e M.h.) su tamponi asciutti.

I risultati ottenuti con MYCOFAST *Screening* *RevolutioN* sono confrontati con il metodo di conteggio in microdiluizione liquida.

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* ATB+.

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. Ogni ceppo è testato a diluizioni di 10³ - 10⁴ e 10⁵ CCU/mL. I risultati dei due metodi sono interpretati come sensibili (S) o resistenti (R) secondo le raccomandazioni del CLSI.

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

Per tassi di 10³ CCU/mL, i risultati sono stati letti e interpretati dopo 48 ore di incubazione se il test è risultato negativo in 24 ore.

La concordanza globale per *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* è di: 93,8% (394/420).

La concordanza globale per *Mycoplasma hominis* per tassi di 10⁴-10⁵ CCU/mL è di: 93,4% (227/243).

13.2 - Identificazione e conteggio

Metodo diretto galleria MYCOFAST ATB+

% di concordanza globale	U.u.	M.h.	U.u./M.h.
Ceppi isolati (tasso ≤ 10 ³ CCU/mL) (cfr. § 14.1.1)	97,7	NVT	NVT
Ceppi isolati (tasso ≥ 10 ⁴ CCU/mL) (cfr. § 14.1.1)	96,5	98,9	97,8
Campioni vaginali clinici	100	95,7	97,8
Campioni clinici liquidi: urina	96,6	97,7	97,1

N/A = non applicabile

Uno studio comparativo è stato condotto su 21 ceppi isolati (ATCC e ceppi in pool) testati separatamente (U.u. o M.h.) a diverse diluizioni (totale di 85 test).

I risultati ottenuti sono confrontati con quelli di un conteggio di microdiluizione.

Per l'interpretazione con una soglia patologica impostata a 10³ CCU / mL, il corollario globale per U.u. 97,7% (abbiamo elencato 2 falsi positivi per valori a 10³ CCU / mL per micro conto di diluizione).

Per l'interpretazione con una soglia patologica impostata a 10⁴ CCU / mL, la concordanza totale di U.u. 96,5% (abbiamo 3 falsi positivi per valori a 10³ CCU / mL nel conteggio a micro diluizione). La concordanza totale per M.h. è del 98,9% (abbiamo elencato un falso positivo per un valore di 10³ CCU / mL nella procedura di conteggio della diluizione MI).

La concordanza complessiva di U.u. e M.h. è il 97,8%.

Uno studio comparativo è stato condotto su campioni clinici vaginali (n = 23) prelevati su tamponi asciutti. I risultati ottenuti con MYCOFAST *RevolutioN* ATB + sono confrontati con il metodo di microdiluizione liquida.

La concordanza complessiva per U.u. è al 100% e per M.h. la concordanza totale è del 95,7% (a un valore di 10² CCU / mL nel metodo di microdiluizione liquida abbiamo elencato un falso positivo).

Un secondo studio comparativo è stato condotto con campioni di urine cliniche (n = 88).

I risultati sono stati letti dopo 48 ore di incubazione e interpretati quando il test è risultato negativo dopo 24 ore. La presenza di micoplasma da sola senza contare viene eseguita come raccomandato in un campione di fluido.

I risultati ottenuti con MYCOFAST *RevolutioN* ATB + sono confrontati con quelli della microdiluizione liquida.

La concordanza totale per U.u. è del 96,6% (abbiamo elencato 1 falso negativo per un valore di 10⁴ CCU / mL nel metodo di conteggio a micro diluizione e 2 falsi positivi per valori di 10² CCU / mL nel metodo di conteggio a micro diluizione).

La concordanza totale per M.h. è il 97,7% (abbiamo elencato 2 falsi positivi per un valore di 10² CCU / mL nel metodo di conteggio a micro diluizione).

La concordanza complessiva per U.u. e M.h. è il 97,1%.

13.3 - test di sensibilità

Lo studio comparativo è stato condotto in un laboratorio nazionale di riferimento tra il metodo per la determinazione delle concentrazioni inibitorie minime (MIC) in mezzi liquidi e il metodo MYCOFAST *RevolutioN* ATB +.

I ceppi testati (7 *U. urealyticum*, 11 *U. parvum* e 16 *M. hominis*) sono ceppi di riferimento, ceppi o ceppi clinici selvatici che hanno sviluppato resistenze. Ogni ceppo è testato a diluizioni di 10³-10⁴ e 10⁵ CCU / mL. I risultati di entrambi i metodi sono interpretati come sensibili (S) o resistenti (R) in base alle raccomandazioni CLSI.

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

Per i valori di 10³ CCU / mL, i risultati sono stati letti dopo 48 ore di incubazione e interpretati se il test era negativo entro 24 ore.

La concordanza totale per *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* è del 93,8% (394/420).

La concordanza totale per *Mycoplasma hominis* per valori inferiori a 10⁴-10⁵ CCU / mL è: 93,4% (227/243).

concordanza	<i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>parvum</i> (n=42)									
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	ERY	JOS	PRI	TEL	ROX
	39	38	37	40	34	41	42	42	42	39
DM	3	4	4	2	4	1	0	0	0	0
DTM	0	0	1 ^a	0	4 ^b	0	0	0	0	3 ^c

DM: discordanza importante, DTM: discordanza molto importante

a: discordanza ottenuta a 10⁴ CCU/mL (MIC di riferimento a 4 µg/mL)

b: discordanza ottenuta a 10³ CCU/mL (MIC di riferimento a 2 µg/mL), 1 discordanza a 10⁴ CCU/mL (MIC di riferimento a 1 µg/mL), 1 discordanza a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento a 1 µg/mL), 1 discordanza a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento a 2 µg/mL)

c: 1 discordanza ottenuta a 10³ CCU/mL (MIC di riferimento a 2 µg/mL), 1 discordanza a 10⁴ CCU/mL (MIC di riferimento a 2 µg/mL), 1 discordanza a 10⁵ CCU/mL (CMI de référence à 4 µg/mL)

concordanza	<i>Mycoplasma hominis</i> (n=27)								
	TET	MIN	MXF	LVX	OFX	JOS	PRI	TEL	CLI
	26	26	27	27	26	27	27	14	27
DM	0	0	0	0	0	0	0	13	0
DTM	1 ^a	1 ^b	0	0	1 ^c	0	0	0	0

a: discordanza ottenuta a 10⁴ CCU/mL (MIC di riferimento >32 µg/mL)

b: discordanza ottenuta a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento 4 µg/mL)

c: discordanza ottenuta a 10⁵ CCU/mL (MIC di riferimento 2 µg/mL)

14 - ELIMINAZIONE 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. Documento CLSI M43-A. Vol.31 - N. 19.

3 - **PEREYRE S., BEBEAR C.M., BEBEAR C. 2001.** I micoplasmi en pathologie humaine. Revue Française des Laboratoires. Supplémento al n. 329, 34-36.

4 - **TAYLOR-ROBINSON D. 1995.** *Ureaplasma urealyticum* (T-strain Mycoplasma) and *Mycoplasma hominis*, p. 1713-1718. In MAN-DELLG. L. , BENNETJ.E. e DOLIN R. (ed.). Principles and Practices of Infectious Diseases, 4° ed., vol. 2, Churchill Livingstone, New York.

5 - **WAITES KEN B. , BRENDKATZ 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, N. 10, 3776–3778.

7 - **Rémic 2015** - Référentiel en Microbiologie Médicale (Société Française de Microbiologie) - (5ème édition)

Distribuito da:

Biolife Italiana S.r.l.

Viale Monza 272 - 20128 MILANO - ITALIA

Phone + 39 02 25209.1

mktg@biolifeitaliana.it - www.biolifeitaliana.it

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

