BIOMÉRIEUX

REF **422083**

050923-02 - IVD - it - 2020-03 IT

MYCOPLASMA IST 3

IVD

Diagnosi di mycoplasma urogenitale (coltura, identificazione, conta indicativa, antibiogramma)

DESTINAZIONE D'USO

MYCOPLASMA IST 3 è un test diagnostico manuale qualitativo e semi-quantitativo *in vitro* per la coltura, l'identificazione, la conta indicativa e l'antibiogramma *di Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma* spp., inclusi *Ureaplasma parvum* e *Ureaplasma urealyticum*.

È indicato come ausilio nella diagnosi e nella previsione della risposta al trattamento in adulti con sospetta infezione da mycoplasma urogenitale e utilizza tamponi uretrali, vaginali e cervicali e campioni di liquido seminale e urina maschile.

Questo test è destinato all'uso in laboratori clinici da parte di tecnici sanitari di laboratorio.

PRINCIPIO

MYCOPLASMA IST 3 combina un brodo di coltura selettivo con una galleria contenente 25 cupole per test.
Il brodo fornisce condizioni di crescita ottimali (pH, substrati, combinazione di diversi fattori di crescita) per *Mycoplasma*.
Se un brodo di coltura è positivo, allora i substrati specifici e l'indicatore rosso fenolo presenti nel brodo (urea per *Ureaplasma* spp. e arginina per *M. hominis*), cambieranno colore a causa di un aumento del pH.
La combinazione di tre antibiotici e un agente antifungino fornisce la selettività assicurando che eventuale flora contaminante presente nel campione non influisca sul test.
Dopo l'inoculo il brodo è dispensato nella galleria.

La galleria fornisce risultati simultanei per:

- rilevazione/identificazione,
- conta indicativa,
- antibiogramma con 4 antibiotici per *M. hominis* e 5 per *Ureaplasma* spp.

MYCOPLASMA IST 3 può essere utilizzato con campioni da coltura mista.

CONTENUTO DEL KIT (25 TEST)

- 25 flaconcini MYCOPLASMA R1 contenenti 3,1 ml di brodo (R1)
- 25 flaconcini MYCOPLASMA R2 contenenti 1 ml di brodo liofilizzato (R2)
- 25 gallerie MYCOPLASMA IST 3 (STR)
- 25 coperchi per incubazione (INCUB)
- 1 Scheda tecnica fornita nel kit o scaricabile da www.biomerieux.com/techlib

COMPOSIZIONE E RICOSTITUZIONE DEI REATTIVI DEL KIT

1. Flaconcino MYCOPLASMA R1

Ogni flaconcino contiene 3,1 ml di brodo, che è costituito dai nutrienti stabili richiesti per la preparazione del campione. Esso inibisce la crescita della maggior parte dei batteri Gram-positivi e Gram-negativi ed è utilizzato per ricostituire il reattivo MYCOPLASMA R2.

2. Flaconcino MYCOPLASMA R2

Ogni flaconcino contiene 1 ml di brodo Urea-Arginina liofilizzato. Dopo la ricostituzione di MYCOPLASMA R2 con 3 ml di MYCOPLASMA R1, la composizione è la seguente:

Composizione del brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2)

Formula teorica

Questo terreno è stato aggiustato e/o integrato in base ai criteri di performance richiesti:

Peptone di carne (suino o bovino)	8 g
Peptone di caseina (bovino)	8 g
Estratto di lievito	4 g
Cloruro di sodio	3,5 g
Cloridrato di arginina	5 g
Cloridrato di cisteina	0,1 g
Urea	1 g
Rosso fenolo	0,05 g
Miscela PolyViteX™	10 ml
Siero di cavallo	100 ml
Miscela di antibiotici	10 ml
Acqua purificata	1 l
pH 6,3*	

* Nel tempo il pH del brodo Urea-Arginina LYO 2 può diminuire fino a un valore pari a 6,0. Questa diminuzione non influisce in alcun modo sulle performance del prodotto.

3. Galleria MYCOPLASMA IST 3

La galleria contiene 25 cupole per test.

3.1. Rilevazione/identificazione (3 cupole)

- **0**: controllo della crescita
- **Uspp**: identificazione di *Ureaplasma* spp.
- **Mh**: identificazione di *M. hominis*

Cupole	Test	Substrati principali
0	0 (controllo della crescita)	Rosso fenolo (0,05 g/l)
Uspp	Uspp	Rosso fenolo (0,05 g/l) Lincomicina
Mh	Mh	Eritromicina

3.2. Conta indicativa (5 cupole)

Questi test determinano se la conta di mycoplasma nel campione è maggiore o equivalente a diverse soglie: 10^3, 10^4, 10^6 UFC/ml (unità formanti colonia):

- Uspp **≥ 10^3**: titolo di *Ureaplasma* spp. ≥ 10^3 UFC/ml nel campione.
- Uspp **≥ 10^4**: titolo di *Ureaplasma* spp. ≥ 10^4 UFC/ml nel campione.
- Uspp **≥ 10^6**: titolo di *Ureaplasma* spp. ≥ 10^6 UFC/ml nel campione.
- Mh **≥ 10^4**: titolo di *M. hominis* ≥ 10^4 UFC/ml nel campione.
- Mh **≥ 10^6**: titolo di *M. hominis* ≥ 10^6 UFC/ml nel campione.

Microrganismo	Cupole	Test	Substrati principali
Ureaplasma spp.	**≥ 10^3**	Uspp ≥ 10^3	Rosso fenolo (0,05 g/l) Lincomicina Agente inibente
	≥ 10^4	Uspp ≥ 10^4	
	≥ 10^6	Uspp ≥ 10^6	
M. hominis	**≥ 10^4**	Mh ≥ 10^4	Eritromicina Agente inibente
	≥ 10^6	Mh ≥ 10^6	

3.3. Antibiogramma (17 cupole)

Microrganismo	Cupole	Antibiotici e abbreviazioni		Concentrazioni mg/l	
Ureaplasma spp.[a]	**LVX**	Levofloxacina	LVX	2	4
	MXF	Moxifloxacina	MXF	2	4
	TET	Tetraciclina	TET	1	2
	ERY	Eritromicina	ERY	8	16
	TEL	Telitromicina	TEL	4	
M. hominis [b]	**LVX**	Levofloxacina	LVX	1	2
	MXF	Moxifloxacina	MXF	0,25	0,5
	TET	Tetraciclina	TET	4	8
	CLI	Clindamicina	CLI	0,25	0,5

[a] Tutte le cupole per l'antibiogramma contengono lincomicina.
[b] Tutte le cupole per l'antibiogramma contengono eritromicina.

REATTIVI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi

- Olio di paraffina (Ref. 70100)
- Urea Arginina LYO 2 (Ref. 42508)
- NaCl 0,85%

Materiali

- Pipetta elettronica ATB™, pipetta VIAFLO ATB™ (o equivalente): consultare bioMérieux
- Tamponi per il prelievo di campioni o ESwab®
- Pipette e micropipette
- Incubatore batteriologico

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Per diagnostica *in vitro* e per controllo microbiologico.**
- **Esclusivamente per uso professionale.** Questo test è indicato per l'uso da parte di tecnici di laboratorio qualificati.
- Questo kit contiene prodotti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda pertanto di trattarli come prodotti potenzialmente infettivi e di manipolarli applicando le normali precauzioni per la sicurezza (non ingerire, non inalare).
- Tutti i campioni, le colture microbiche e i prodotti inoculati devono essere considerati come infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata. Durante tutta la manipolazione devono essere rispettate le tecniche di asepsi e le normali precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato. Far riferimento a "CLSI® M29-A *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Current revision" (CLSI® M29-A Protezione dei lavoratori di laboratorio da infezioni acquisite professionalmente; Linee guida approvate - Revisione corrente). Per ulteriori precauzioni per la manipolazione fare riferimento a "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH – Latest edition" (Biosicurezza nei laboratori di microbiologia e nei laboratori biomedici – Ultima edizione) o alle normative vigenti nel proprio Paese.
- I terreni non devono essere utilizzati come materiali o componenti per la produzione.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso, lasciare che i reattivi raggiungano la temperatura ambiente.
- Prima dell'uso, verificare l'integrità del tappo del flaconcino.
- Non utilizzare i reattivi, se la confezione è danneggiata.
- Non utilizzare flaconcini il cui contenuto appaia torbido.
- Non utilizzare gallerie danneggiate: per es.: cupole deformate, sacchetto del disidratante aperto.
- L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto della storia clinica del paziente, dell'origine del campione, degli aspetti morfologici macro e microscopici del ceppo ed, eventualmente, dei risultati di altri esami, in particolare dell'antibiogramma.
- L'utilizzo del test può essere difficoltoso per le persone che hanno problemi nel riconoscimento dei colori.
- Per inoculare le gallerie di un kit MYCOPLASMA IST 3, utilizzare esclusivamente il brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2) fornito in quello stesso kit MYCOPLASMA IST 3.
- Gli antibiotici sono testati sul campione senza prendere in considerazione il titolo di mycoplasmi del campione. Si può osservare un effetto inoculo. Nel caso di titoli bassi, la reale sensibilità del ceppo può essere diversa dal risultato ottenuto con la galleria.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Le gallerie e i flaconcini devono essere conservati a +2°C/+8°C fino alla data di scadenza.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il kit può essere utilizzato con i seguenti campioni:

- Tampone uretrale
- Tampone cervico-vaginale
  Poiché il *Mycoplasma* presenta un'elevata affinità per le membrane delle cellule delle mucose, è importante raschiare a fondo la mucosa per prelevare più cellule possibili.
  Sono preferibili i tamponi in alginato di calcio, Dacron o poliestere con bastoncino di alluminio o plastica. I tamponi in cotone con bastoncino di legno devono essere evitati a causa dei potenziali effetti inibitori (12).
- Liquido seminale
- Urina maschile (primo mitto)

Raccogliere il campione prima di somministrare qualsiasi trattamento antibiotico.
Si noti che un trattamento contenente bile di manzo o sertaconazolo nitrato potrebbe agire come inibitore di *Mycoplasma*.
Per evitare la contaminazione da altri microrganismi, si deve utilizzare una tecnica standardizzata.
Per l'identificazione di *Mycoplasma* si devono adottare e rispettare le buone pratiche di laboratorio per il prelievo dei campioni.

ISTRUZIONI PER L'USO

Trattamento del campione e preparazione dell'inoculo

ATTENZIONE! Per inoculare le gallerie di un kit MYCOPLASMA IST 3, utilizzare esclusivamente il brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2) fornito in quello stesso kit MYCOPLASMA IST 3.

1. Lasciare che il flaconcino di MYCOPLASMA R1 raggiunga la temperatura ambiente.
2. Dopo il prelievo:
   - Se si utilizza un tampone secco, rilasciare rapidamente il campione nella soluzione MYCOPLASMA R1.
   - Se si utilizza un ESwab®, trasferire 200 µl del terreno di trasporto liquido nella soluzione MYCOPLASMA R1.
   - Se si utilizzano campioni liquidi, trasferirne 200 µl nella soluzione MYCOPLASMA R1.
   - Se il volume del campione liquido è < 200 µl ma ≥ 100 µl, ricostituire il reattivo MYCOPLASMA R2 con la soluzione MYCOPLASMA R1. Quindi aggiustare il brodo Urea-Arginina LYO 2 (soluzione MYCOPLASMA R1 + soluzione MYCOPLASMA R2) proporzionalmente al campione per ottenere la stessa percentuale tra campione liquido e brodo Urea-Arginina LYO 2. Passare direttamente al punto 5 di questa procedura.
3. Accertarsi che venga rispettato il tempo massimo di conservazione basato sulla temperatura, indicato di seguito.

Temperatura	**+18°C/+25°C**	**+2°C/+8°C**
Tempo massimo di conservazione per soluzione MYCOPLASMA R1 inoculata	20 ore	72 ore

Se queste condizioni non vengono rispettate, si possono ottenere falsi risultati.

4. Dopo aver mischiato, trasferire 3 ml della soluzione MYCOPLASMA R1 inoculata nel flaconcino di MYCOPLASMA R2.
5. Mischiare con un agitatore tipo vortex per garantire la completa dissoluzione del pellet liofilizzato.

Preparazione della galleria e incubazione

1. Lasciare che la galleria raggiunga la temperatura ambiente.
2. Estrarre la galleria dalla sua confezione.
3. Eliminare il disidratante.
4. Annotare il riferimento di prelievo del ceppo sulla linguetta laterale della galleria. (Non annotare il riferimento sul coperchio, in quanto potrebbe essere spostato durante la procedura.)
5. Trasferire immediatamente 55 µl di brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2) in ciascuna delle 25 cupole per test della galleria MYCOPLASMA IST 3 usando la pipetta elettronica ATB™ o la pipetta VIAFLO ATB™ (o equivalente).
6. Aggiungere 2 gocce di olio di paraffina a ciascuna cupola.
7. Porre il coperchio sulla galleria e mantenere la galleria orizzontale per evitare che l'olio di paraffina si asciughi.
8. Incubare la galleria e il brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2) rimasto nel flaconcino MYCOPLASMA R2 per 24 ± 4 ore e 48 ± 6 ore a +36°C ± 2°C in condizioni aerobie.

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Nota:
Per ulteriori dettagli sulla lettura e sull'interpretazione dei risultati, fare riferimento alla guida alla lettura alla fine di questa scheda tecnica.

Brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2)

1. Leggere il cambiamento del colore del brodo Urea-Arginina LYO 2 dopo 24 ore. In caso di un risultato negativo, prolungare l'incubazione a 48 ore e ripetere la lettura.

	Negativo	**Positivo** (*Ureaplasma* spp. e/o *M. hominis*)	**Non interpretabile**
Cambiamento del colore del brodo	Giallo	Da arancione a rosso*	Brodo torbido, di qualunque colore. Di qualsiasi colore diverso da giallo o da arancione a rosso.

∗ Alcuni campioni di liquido seminale possono produrre un colore giallo scuro nei flaconcini quando si ricostituisce il brodo R2 e quando si esegue l'inoculo delle cupole Uspp della galleria. In tal caso, un risultato positivo deve essere interpretato come un cambiamento del colore da questa tonalità iniziale.

Nota:
Se il brodo Urea-Arginina LYO 2 (MYCOPLASMA R1 + MYCOPLASMA R2) è non interpretabile, non leggere la galleria.

Galleria MYCOPLASMA IST 3

Lettura

1. Leggere le cupole dopo 24 ± 4 ore e 48 ± 6 ore.
2. Registrare i risultati ottenuti sulla scheda dei risultati alla fine di questa scheda tecnica.

Interpretazione

Per l'identificazione e la conta indicativa, l'interpretazione deve essere eseguita non appena si ottiene un'identificazione (dopo 24 o 48 ore). In caso di una coltura mista, ciascuna specie può essere identificata in diversi momenti.
Un risultato negativo può essere interpretato solo dopo 48 ore.

Per l'antibiogramma, l'interpretazione deve essere eseguita per le specie identificate dopo 24 ore, se la cupola ≥ 10^6 è positiva, o altrimenti dopo 48 ore.

	Identificazione		Conta			Antibiogramma per Uspp									Identificazione	Conta		Antibiogramma per *M. hominis*							
	0	Uspp	Uspp	Uspp	Uspp	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	ERY	ERY	TEL	Mh	Mh	Mh	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	CLI	CLI
			≥10^3	≥10^4	≥10^6	2	4	2	4	1	2	8	16	4		≥10^4	≥10^6	1	2	0,25	0,5	4	8	0,25	0,5
Lettura positiva	Arancione/Arancione-rosso/Rosso/Rosso scuro/Fucsia																								
Lettura negativa	Giallo/Giallo scuro																								
Interpretazione della positività	Presenza di Uspp e/o *M. hominis*	Presenza di Uspp	Uspp ≥10^3	Uspp ≥10^4	Uspp ≥10^6	Il ceppo è: - - Sensibile (S) + - Resistente (R)/Sensibile (S) a) + + Resistente (R) - + Non interpretabile									Presenza di *M. hominis*	Mh ≥10^4	Mh ≥10^6	Il ceppo è: - - Sensibile (S) + - Resistente (R)/Sensibile (S) b) + + Resistente (R) - + Non interpretabile							

a) Per *Ureaplasma* spp., il risultato AST del profilo + - deve essere interpretato come Resistente (R) per tutti gli antibiotici tranne che per la tetraciclina nella cupola TET, che deve essere interpretata come Sensibile (S).

b) Per *Mycoplasma hominis*, il risultato AST del profilo + - deve essere interpretato come Resistente (R) per tutti gli antibiotici tranne che per la clindamicina nella cupola CLI, che deve essere interpretata come Sensibile (S).

Secondo le linee guida del CLSI serie M43-A (2), i microrganismi sensibili alla tetraciclina saranno sensibili anche alla doxiciclina e i microrganismi sensibili all'eritromicina saranno sensibili anche all'azitromicina.

Nota 1:
L'identificazione/La conta e l'antibiogramma possono essere interpretati in diversi momenti per una determinata specie.

Nota 2:
I risultati sono non interpretabili se:

- La cupola con la conta minore è negativa e una cupola con conta maggiore è positiva (per esempio, la cupola con conta ≥ 10^4 è negativa e una cupola con conta ≥ 10^6 è positiva).
- Il controllo della crescita (0) è negativo e alcune cupole di identificazione e conta sono positive casualmente.
- Il controllo della crescita (0) è positivo e alcune altre cupole sono positive casualmente.
- Un risultato è negativo alla minima concentrazione di un antibiotico e positivo alla concentrazione massima. In questo caso il test deve essere ripetuto.

Nota 3:
Se il titolo è basso, il cambiamento del colore può essere osservato solo nel brodo Urea-Arginina LYO 2 e non nel controllo della crescita nella galleria (il titolo del campione è troppo basso per produrre un cambiamento di colore). Il test non deve essere interpretato.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le gallerie e i terreni sono sottoposti a controlli di qualità sistematici nelle diverse fasi del ciclo produttivo. Gli utilizzatori che desiderano eseguire propri test di controllo di qualità con il kit, devono utilizzare i seguenti ceppi:

1. *Ureaplasma parvum* ATCC® 27815™
2. *Ureaplasma urealyticum* ATCC® 33175™
3. *Mycoplasma hominis* ATCC® 23114™

Protocollo

1. Preparare la coltura del ceppo nel brodo Urea-Arginina LYO 2 (Ref. 42508).
2. Trasferire 30 µl da questo flaconcino in un nuovo flaconcino di Urea-Arginina LYO 2 da 3 ml (usando un altro kit Urea Arginina LYO 2, Ref. 42508) ed eseguire 3 diluizioni successive 1:10 nei flaconcini Urea-Arginina LYO 2 (usando un altro kit Urea Arginina LYO 2, Ref. 42508).
3. Incubare questi 4 flaconcini di Urea-Arginina LYO 2 a +36°C ± 2°C fino a ottenere una crescita sufficiente (da 16 a 24 ore di incubazione, circa).
4. Per *Ureaplasma* spp., trasferire 15 µl dal flaconcino di Urea-Arginina LYO 2 più diluito e positivo in un nuovo flaconcino di brodo Urea-Arginina LYO 2 (flaconcini inclusi nel kit MYCOPLASMA IST 3, Ref. 422083 in uso).
   Per *M. hominis*, utilizzando il flaconcino di Urea-Arginina LYO 2 più diluito e positivo, eseguire una diluizione 1:10 in NaCl 0,85% e trasferire 15 µl di questa diluizione in un nuovo flaconcino di brodo Urea-Arginina LYO 2 (flaconcini inclusi nel kit MYCOPLASMA IST 3, Ref. 422083 in uso).
   Questo inoculo sarà utilizzato per inoculare la galleria MYCOPLASMA IST 3.

Risultati attesi:

		Identificazione		Conta			Antibiogramma per Uspp									Identifi-cazione	Conta		Antibiogramma per *M. hominis*							
	Tempo trascor-so alla lettura	0	Uspp	Uspp	Uspp	Uspp	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	ERY	ERY	TEL	Mh	Mh	Mh	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	CLI	CLI
				≥10^3	≥10^4	≥10^6	2	4	2	4	1	2	8	16	4		≥10^4	≥10^6	1	2	0,25	0,5	4	8	0,25	0,5
1. *U. parvum* ATCC® 27815™	24 h	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48 h	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2. *U. urealyticum* ATCC® 33175™	24 h	+	+	+	+	V	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	48 h	+	+	+	+	V	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3. *M. hominis* ATCC® 23114™	24 h	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	V	V	-	-	-	-	-	-	V	-
	48 h	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	V	-	-	-	-	-	-	V	-

V = variabile

Nota:

Se la cupola con conta ≥ 10^6 è positiva dopo 24 ore di incubazione, eseguire un'ulteriore diluizione 1:10 del campione e ripetere il test.

È responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità prendendo in considerazione la destinazione d'uso del terreno e in conformità con eventuali regole locali (per esempio, frequenza, numero di ceppi, temperatura d'incubazione).

LIMITI DEL METODO

- Un campione non può essere considerato negativo prima di 48 ore d'incubazione.
- Se il titolo del campione è basso (brodo Urea-Arginina LYO 2 positivo), le cupole della galleria potrebbero non cambiare colore oppure il cambiamento del colore potrebbe essere inconsistente.
- La conta eseguita nelle cupole per test della galleria fornisce solo un'indicazione del titolo. Il titolo esatto deve essere determinato con metodi di coltura che utilizzano agar specifici (CLSI serie M43).
- Alcuni ceppi di *Ureaplasma* spp. che sono fortemente resistenti all'eritromicina (MIC ≥ 128 µg/ml) possono anche crescere nella parte Mh della galleria, portando all'interpretazione della presenza di un ceppo di *Mycoplasma hominis* clindamicina-resistente. Poiché questa situazione è altamente improbabile, le specie presenti nel campione devono essere confermate con un metodo alternativo.
- Alcuni ceppi di *Mycoplasma hominis* che sono resistenti alla lincomicina (MIC ≥ 8 µg/ml) possono anche crescere nella parte Uspp della galleria, portando all'interpretazione della presenza di un ceppo di *Ureaplasma* spp. clindamicina-resistente. Poiché questa situazione è improbabile, le specie presenti nel campione devono essere confermate con un metodo alternativo.
- L'utilizzo di composti contenenti i principi attivi elencati di seguito può avere un effetto inibitorio sui risultati ottenuti con la galleria MYCOPLASMA IST 3: preservativi (lattice), gel lubrificante (aloe vera, vitamina E), ossido di titanio, bisacodile, dodeclonio bromuro, esculoside sesquidrato, enoxolone, benzocaina e promestriene.
- La presenza di sangue umano nei campioni clinici potrebbe interferire con i risultati, perché le cellule ematiche umane potrebbero mascherare la colorazione e la lettura della variazione del colore potrebbe essere difficoltosa.

PERFORMANCE

La performance di MYCOPLASMA IST 3 è stata valutata in tre laboratori in Francia, nel Regno Unito e in Serbia. In questa sperimentazione sono stati inclusi prospetticamente 516 campioni clinici [tamponi vaginali/cervicali (n=230, 44,6%), tamponi uretrali (n=56, 10,9%), liquido seminale (n=88, 17,1%) e urine maschili (n=142, 27,5%)]. È stato definito uno stato composito del campione in base ai risultati con agar A7 (bioMérieux, Ref. 43003) e la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR). L'utilizzo dell'agar A7 consente anche di stimare la densità del campione. La sensibilità antimicrobica degli isolati è stata testata anche con diluizioni del brodo conformi alle linee guida del CLSI serie M43A. Di questa popolazione, 312 campioni avevano uno stato negativo e 204 [inclusi 78 (38,2%) campioni artificiali] avevano uno stato positivo, inclusi 22 campioni misti.

Rilevamento e identificazione

I risultati dell'identificazione di MYCOPLASMA IST 3 sono stati confrontati con gli stati compositi del campione. Le concordanze positiva e negativa [intervallo di confidenza al 95%] sono state le seguenti:

	Concordanza positiva	Concordanza negativa
Al livello del campione[a]	97,5 [94,4-99,2]% (199/204)	99,7 [98,2-100,0]% (311/312)
Al livello della specie *Ureaplasma* spp.	98,5 [94,6-99,8]% (129/131)	99,7 [98,6-100,0]% (384/385)
Al livello della specie *Mycoplasma hominis*	92,6 [85,6-96,4]% (88/95)	99,0 [97,5-99,7]% (410/414[b])

[a] Il livello del campione tiene conto esclusivamente dello stato del campione (cioè, un campione positivo può essere contaminato da *Ureaplasma* spp. e/o *Mycoplasma hominis*).

[b] Lo stato di *Mycoplasma hominis* non è stato determinato per 7 campioni.

Nota:

- Durante le sperimentazioni cliniche, nelle cupole di identificazione e conta di *Mycoplasma hominis* e nelle cupole con clindamicina sono cresciuti anche 4 campioni contaminati artificialmente con *Ureaplasma* spp. eritromicina-resistente.
- Durante le sperimentazioni cliniche si sono osservati 22 campioni contaminati sia con *Ureaplasma* spp. sia con *Mycoplasma hominis*. MYCOPLASMA IST 3 ha consentito il recupero completo di entrambe le specie per 18 campioni e il recupero parziale solo di *Ureaplasma* spp. per i 4 campioni rimanenti.

Conta indicativa:

I risultati della conta indicativa di MYCOPLASMA IST 3 sono stati confrontati con i risultati ottenuti usando agar A7 per campioni con specie concordanti positive con agar A7 (cut-off a 10^4 UFC/ml per entrambi i metodi). Sono stati analizzati 117 campioni contaminati con *Ureaplasma* spp. e 86 campioni contaminati con *Mycoplasma hominis,* inclusi 17 campioni misti La performance è stata espressa come concordanza esatta con i risultati della conta indicativa con agar A7 e come concordanza entro ± 10^1 UFC/ml con i risultati con agar A7, poiché sia MYCOPLASMA IST 3 sia agar A7 forniscono un'indicazione della densità del campione e non un titolo esatto. I risultati sono stati i seguenti:

	Concordanza esatta	Concordanza entro ± 10^1 UFC/ml
Specie combinate*	86,0 [80,3-90,3]% (160/186)	97,8 [94,6-99,4]% (182/186)
Al livello della specie *Ureaplasma* spp.	86,3 [78,9-91,4]% (101/117)	100,0 [96,9-100,0]% (117/117)
Al livello della specie *Mycoplasma hominis*	83,7 [74,5-90,0]% (72/86)	94,2 [87,1-97,5]% (81/86)

✱ Per i campioni misti, un campione concordante può essere concordante per *Ureaplasma* spp. e/o per *Mycoplasma hominis*.

Nota:

La cupola Uspp ≥ 10^3 UFC/ml è importante per le urine maschili. Tutte le 19 urine con uno stato positivo per *Ureaplasma* spp., testate durante la sperimentazione, avevano una densità ≥ 10^3 UFC/ml usando agar A7.

Anche utilizzando MYCOPLASMA IST 3, 17 campioni avevano una densità ≥ 10^3 UFC/ml. I due campioni rimanenti avevano una densità di 10^3 UFC/ml usando agar A7 e < 10^3 UFC/ml usando MYCOPLASMA IST 3. Notare che questi due campioni rappresentano il caso peggiore, perché l'interpretazione con agar A7 non fornisce un risultato <10^3 UFC/ml, mentre la crescita può essere variabile per i campioni con una densità ≤ 10^2 UFC/ml.

Antibiogramma (AST):

Le categorie interpretative ottenute con MYCOPLASMA IST 3 sono state confrontate con le MIC ottenute utilizzando il metodo di riferimento delle microdiluizioni del brodo secondo le linee guida del CLSI serie M43-A e i breakpoint interpretativi relativi per i campioni con specie concordante positiva che hanno stati compositi del campione. La performance di AST è riepilogata nella tabella seguente (CA: Concordanza di categoria, ME: errore grave, VME: errore molto grave, R: Resistente, S: Sensibile)

	Stato dell'isolato (BMD)			Indice di performance		
***Ureaplasma* spp.**	Totale	N. S	N. R	CA (%)	ME (%)	VME (n.)
Levofloxacina	124	120	4	96,0% (119/124)	4,2% (5/120)	0
Moxifloxacina	124	123	1	98,4% (122/124)	1,6% (2/123)	0
Tetraciclina	124	120	4	97,6% (121/124)	1,7% (2/120)	1
Eritromicina	124	120	4	99,2% (123/124)	0,8% (1/120)	0
Telitromicina	125	122	3*	99.2% (124/125)	0,8% (1/122)	0
Tutti i farmaci combinati	621	605	16	98,1% (609/621)	1,8% (11/605)	1
Mycoplasma hominis	Totale	N. S	N. R	CA (%)	ME (%)	VME (n.)
Levofloxacina	84	82	2	98,8% (83/84)	1,2% (1/82)	0
Moxifloxacina	84	81	3	97,6% (82/84)	1,2% (1/81)	1
Tetraciclina	84	65	19	97,6% (82/84)	1,5% (1/65)	1
Clindamicina	84	84	0	100,0% (84/84)	0,0% (0/84)	N/A
Tutti i farmaci combinati	336	312	24	98,5% (331/336)	1,0% (3/312)	2
Tutti i farmaci e le specie combinati	957	917	40	98,2% (940/957)	1,5% (14/917)	3

* Non sono stati pubblicati breakpoint di resistenza per la telitromicina; questi 3 isolati sono risultati non sensibili alla telitromicina.

Nota:

- Per *Ureaplasma* spp.: tra i 12 errori categorici osservati durante la sperimentazione, 8 degli 11 ME e il solo VME derivavano da isolati con valori della MIC all'interno di ± 1 doppia diluizione della MIC che definisce i breakpoint interpretativi del CLSI, mentre per quegli agenti antimicrobici non ci sono categorie intermedie. I rimanenti ME osservati per:
  - Eritromicina, era originato da un isolato con una MIC pari a 0,5 µg/ml.
  - Moxifloxacina, era originato da un isolato con una MIC pari a 0,5 µg/ml.
  - Telitromicina, era originato da un isolato con una MIC pari a 0,125 µg/ml.
- Per *Mycoplasma hominis*: tra i 5 errori categorici osservati durante la sperimentazione, 1 dei 3 ME e i 2 VME derivavano da isolati con valori della MIC all'interno di ± 1 doppia diluizione della MIC che definisce i breakpoint interpretativi del CLSI, mentre per questi agenti antimicrobici non ci sono categorie intermedie. I rimanenti 2 ME osservati per:
  - Levofloxacina, era originato da un isolato con una MIC pari a 0,25 µg/ml.
  - Tetraciclina, era originato da un isolato con una MIC pari a 0,5 µg/ml.

Sostanze interferenti

È stata studiata l'interferenza di numerose sostanze con il test MYCOPLASMA IST 3. Le sostanze derivano da fonti endogene ed esogene: composti introdotti durante il trattamento del paziente, contaminanti introdotti accidentalmente durante il prelievo del campione e metaboliti prodotti in condizioni patologiche.
Non sono state osservate interferenze con ketoprofene, idrocortisone, aciclovir, urea, glucosio, ossido di zinco, vaselina, glicerina, talco e composti di salviettine per l'igiene intima e assorbenti interni.
Per un elenco delle sostanze interferenti vedere PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI e LIMITI DEL METODO.

OSSERVAZIONI IMPORTANTI:

Come con tutti gli antibiogrammi, i risultati di MYCOPLASMA IST 3 sono solo valori *in vitro* e possono fornire un'indicazione della potenziale sensibilità *in vivo* del microrganismo. Spetta unicamente al medico curante utilizzare i risultati per scegliere la terapia in base alla storia clinica e alla conoscenza del paziente, alla farmacocinetica/farmacodinamica dell'antibiotico e all'esperienza clinica nel trattamento di infezioni causate da un particolare agente patogeno. Inoltre devono essere presi in considerazione anche l'antibiotico, la dose e la posologia.

Per dettagli sugli specifici limiti interpretativi e/o sui limiti dell'uso clinico di un antibiotico in varie situazioni terapeutiche, fare riferimento alle tabelle e alle note a piè di pagina degli standard interpretativi delle MIC nei più recenti documenti CLSI® AST per le procedure di diluizione (M43) (2).

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I reattivi non utilizzati possono essere smaltiti come rifiuti non pericolosi.
Smaltire i reattivi utilizzati ed eventuali i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.
È responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità e assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. WAITES K.B., DUFFY L.B. et al.
   Standardized methods and quality control limits for agar and broth microdilution susceptibility testing of *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* - JCM, nov 2012, 50, 3542-3547.
2. Methods for antimicrobial susceptibility testing for human mycoplasmas; approved guideline - M43-A Vol 31,9.
3. BAURIAUD R., SEROR C., LARENG M.B. et al.
   Sensibilité *in vitro* aux antibiotiques des mycoplasmes génitaux isolés à Toulouse. Etude de nouvelles molécules (macrolides et quinolones) - Path. Biol., 1992, **40**, 479-482.
4. BEBEAR C., BEBEAR C.M.
   Infections humaines à mycoplasmes - Rev. Fr. Lab., 2007, **391**, 63-69.
5. BEBEAR C.M., DE BARBEYRAC B., PEREYRE S., BEBEAR C.
   Mycoplasmes et chlamydiae : sensibilité et résistance aux antibiotiques – Rev. Fr. Lab., 2007, **391**, 77-85.
6. BEBEAR C., DE BARBEYRAC B., BERNET C. et al.
   Méthodes d'exploration des infections à mycoplasmes - Ann. Biol. Clin.,1989, **47**, 415-420.
7. BEBEAR C., DE BARBEYRAC B., DEWILDE A. et al.
   Etude multicentrique de la sensibilité *in vitro* des mycoplasmes génitaux aux antibiotiques - Path. Biol., 1993, **41**, 4, 289-293.
8. KENNY G.E., CARTWRIGHT F.D. - Effect of pH, Inoculum Size, and Incubation Time on the Susceptibility of *Ureaplasma urealyticum* to Erythromycin *In Vitro* - Clin. Infect. Dis., 1993, **17**, Suppl. 1, 215-218.
9. TAYLOR-ROBINSON D., BEBEAR C.
   Antibiotic susceptibilities of mycoplasmas and treatment of mycoplasmal infections – J. Antimicrob. Chemother., 1997, **40**, 622-630.
10. WAITES K.B., BEBEAR C.M., ROBERTSON J.A., TALKINGTON D.F., KENNY G.E.
    CUMITECH 34: Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections – Ed American Society for Microbiology, 2001, 1-30.

TABELLA DEI SIMBOLI

Simbolo	Significato
REF	Numero catalogo
IVD	Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*
	Fabbricante
	Limiti di temperatura
	Utilizzare entro la data
LOT	Codice del lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contenuto sufficiente per <n> prove
	Non riutilizzare
	Data di fabbricazione

LIMITI DELLA GARANZIA

bioMérieux garantisce le performance del prodotto per l'uso previsto dichiarato a condizione che tutte le procedure per l'utilizzazione, lo stoccaggio e la manipolazione, la conservazione (se applicabile) e le precauzioni siano rigorosamente seguite come descritto nelle istruzioni per l'uso (IFU).
Ad eccezione di quanto espressamente stabilito sopra, bioMérieux declina tutte le garanzie, comprese eventuali garanzie implicite di commerciabilità e di idoneità per un particolare scopo o uso, e declina ogni responsabilità, diretta, indiretta o consequenziale, per qualsiasi utilizzazione del reagente, del software, dello strumento e dei materiali di consumo (il "Sistema") diversa da quanto riportato nelle IFU.

STORICO DELLE REVISIONI

Legenda dei tipi di modifica:

N/A	Non applicabile (Prima pubblicazione)
Correzione	Correzione di anomalie documentali
Modifica tecnica	Aggiunta, modifica e/o rimozione di informazioni relative al prodotto
Amministrativa	Implementazione di modifiche non tecniche rilevanti per l'utilizzatore

Nota: *Le modifiche minori di tipografia, di grammatica e di impaginazione non sono riportate nello storico delle revisioni*

Data di emissione	Codice del documento	Tipo di modifica	Riepilogo delle modifiche
2020/03	050923-02	Modifica tecnica	Sostanze interferenti Interpretazione del test TEL Controllo di qualità
2019/10	050923-01	N/A	Prima pubblicazione

BIOMERIEUX, il logo BIOMERIEUX, PolyVytex e ATB sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux o di una delle sue filiali o di una delle sue società.
CLSI è un marchio di proprietà di Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.
Il marchio ATCC, la denominazione commerciale ATCC e tutti i numeri di catalogo ATCC sono marchi di proprietà di American Type Culture Collection.
Gli altri marchi e nomi di prodotti menzionati appartengono ai loro rispettivi detentori.

bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

CE

SCHEDA DEI RISULTATI

MYCOPLASMA IST 3

Campione:

	Identificazione		Conta			Antibiogramma per *Ureaplasma* spp.									Identifi-cazione	Conta		Antibiogramma per *M. hominis*							
Tempo trascorso alla lettura	0	Uspp	Uspp	Uspp	Uspp	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	ERY	ERY	TEL	Mh	Mh	Mh	LVX	LVX	MXF	MXF	TET	TET	CLI	CLI
			$\geq 10^3$	$\geq 10^4$	$\geq 10^6$	2	4	2	4	1	2	8	16	4		$\geq 10^4$	$\geq 10^6$	1	2	0,25	0,5	4	8	0,25	0,5
24h																									
48h																									

bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

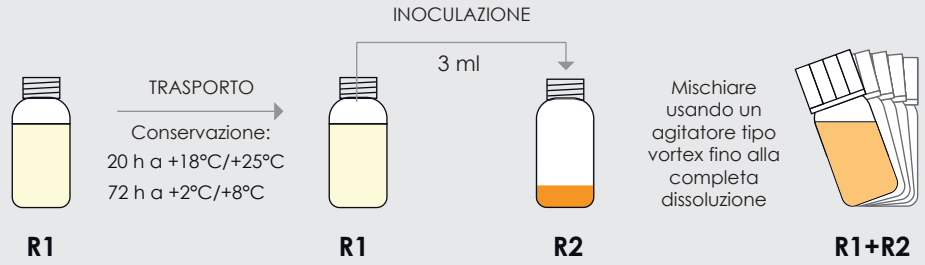
CE

GUIDA ALLA LETTURA

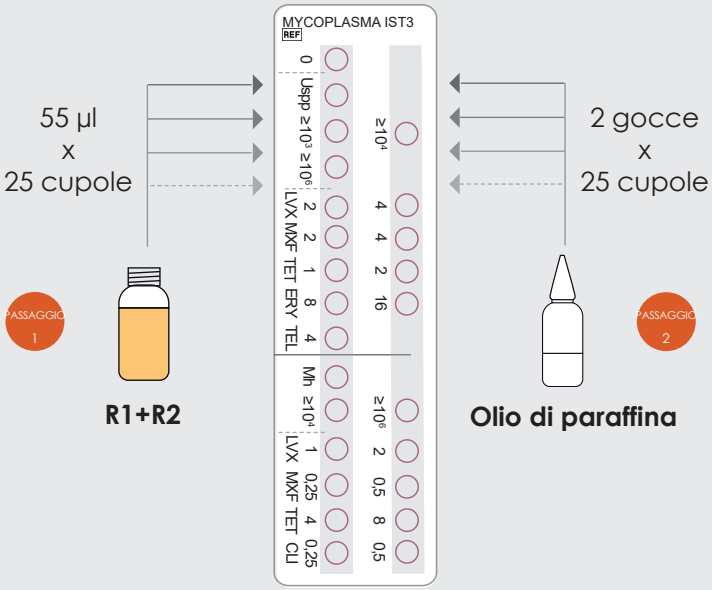
PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Tamponi secchi (uretrale o cervicale/vaginale):
rilascio diretto del campione in R1

Campioni liquidi (liquido seminale, urina o terreno di trasporto di tamponi ESwab® uretrali o cervicali/vaginali):
200 µl in R1



DISTRIBUZIONE



INCUBAZIONE DELLA GALLERIA E DEL BRODO (R1 + R2): 24 ± 4 ore e 48 ± 6 ore a +36 ± 2°C in condizioni aerobie.

RILEVAZIONE CON R1 + R2

Dopo 24 ± 4 ore e 48 ± 6 ore.

Negativo (giallo)
Assenza di *Ureaplasma* spp. e *M. hominis*

Positivo (da arancione a rosso)
Presenza di *Ureaplasma* spp. e/o *M. hominis*

Non interpretabile
Brodo torbido, di qualunque colore. Qualsiasi colore diverso da giallo o da arancione a rosso.

INTERPRETAZIONE DEI COLORI DELLA CUPOLA DELLA GALLERIA

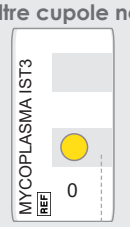
Colore	Interpretazione
Giallo	Negativo
*Giallo scuro**	
Arancione	Positivo
Arancione-rosso	
Rosso	
Rosso scuro	
Fucsia	

** Alcuni campioni di liquido seminale possono produrre un colore giallo scuro quasi arancione, quando si esegue l'inoculo delle cupole Uspp.*
In tal caso, un risultato positivo deve essere interpretato come un cambiamento del colore da questa tonalità iniziale.

LETTURA E INTERPRETAZIONE

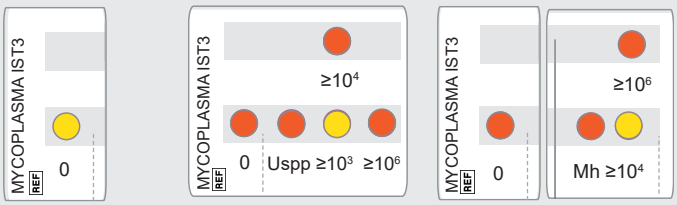
Dopo 24 ± 4 ore e 48 ± 6 ore

CONTROLLO DELLA CRESCITA NEGATIVO e tutte le altre cupole negative



Assenza di *Ureaplasma* spp. e *M. hominis*

NON INTERPRETABILE

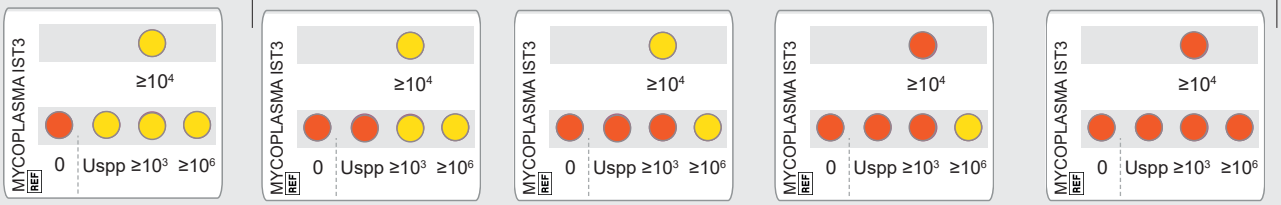


Se il controllo della crescita è negativo e almeno un'altra cupola è positiva

Identificazione e conta di *Ureaplasma* spp.

ASSENZA DI *UREAPLASMA* SPP.

PRESENZA DI *UREAPLASMA* SPP.



<10³ UFC/ml

≥10³ UFC/ml
<10⁴ UFC/ml

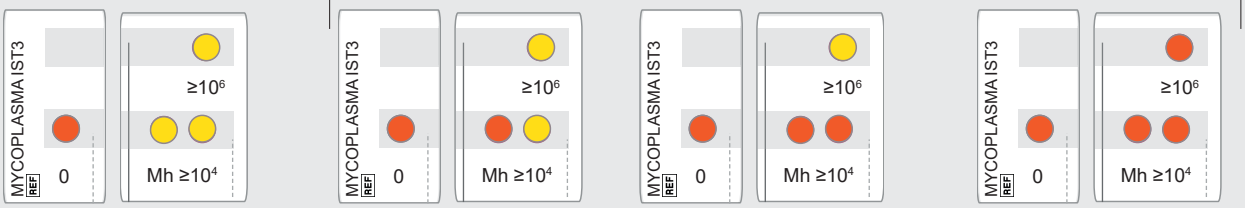
≥10⁴ UFC/ml
<10⁶ UFC/ml

≥10⁶ UFC/ml

Identificazione e conta di *Mycoplasma hominis*

ASSENZA DI *M. HOMINIS*

PRESENZA DI *M. HOMINIS*



<10⁴ UFC/ml

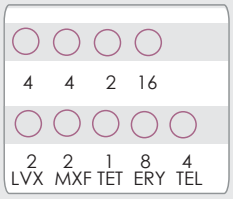
≥10⁴ UFC/ml
<10⁶ UFC/ml

≥10⁶ UFC/ml

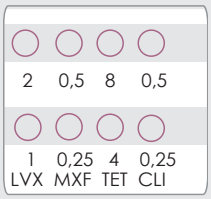
Lettura del test di sensibilità

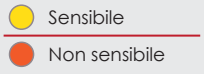
Per le specie identificate, l'interpretazione deve essere eseguita dopo 24 ore se la cupola ≥ 10⁶ è positiva o altrimenti dopo 48 ore.

TEST PER *UREAPLASMA* SPP.



TEST PER *M. HOMINIS*



Tutti i test di sensibilità tranne TEL

TEL