

Diagnostic des mycoplasmes urogénitaux MYCOFAST® Screening Revolution

Détection et différenciation

50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution

Numération, identification et test de sensibilité

25 tests (REF 00062)

UMMt Revolution

50 tests (REF 00061)

CPB 0396_FR-2013-08

Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement



1 - BUT

Le coffret MYCOFAST Screening Revolution (REF 00063) permet le dépistage et la différenciation de *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) et de *Mycoplasma hominis* (M.h.) à partir de différents prélèvements cliniques. Il doit être utilisé en association avec les milieux du coffret UMMt Revolution (REF 00061). En cas de dépistage positif, l'analyse pourra être complétée avec les galeries du coffret COMPLEMENT MYCOFAST Revolution (REF 00062) permettant la numération et l'identification de U.u et/ou M.h ainsi que le test de sensibilité aux antibiotiques suivant les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - INTRODUCTION

Les mycoplasmes, qui comptent plusieurs espèces recensées à ce jour chez l'homme, appartiennent à la classe des mollicutes. Ils se différencient des autres bactéries sur de nombreux points, parmi lesquels l'absence de paroi qui leur confère une résistance naturelle aux β -lactamines, ainsi qu'une membrane riche en stérols provenant des membranes des cellules eucaryotes sur lesquelles ils se fixent. Les mycoplasmes sont des organismes relativement fragiles, qui ne se multiplient en milieu acellulaire qu'en présence de nombreux facteurs de croissance et à une température optimale de 37°C (4).

La plupart des mycoplasmes humains sont de simples commensaux. Des espèces isolées à partir du tractus urogénital, *U. urealyticum* et *M. hominis* sont les plus souvent retrouvées. L'espèce *U. urealyticum* est divisée en deux biotypes : *U. urealyticum* et *U. parvum* (U.u.).

U.u. ou M.h. peuvent se comporter comme de véritables pathogènes. Ils sont responsables d'infections génitales masculines (urétrites non gonococciques, épididymites, prostatites, infertilité); d'infection gynécologique (vaginose bactérienne, endométrites, salpingites); de troubles de la reproduction (chorioamnionites, endométrites post-partum, prématurité, avortement spontané); d'atteintes néonatales (faible poids de naissance, infections respiratoires, neurologiques, bactériémies, abcès); d'infections extragénitales (arthrites septiques, arthrites réactionnelles, autres localisations) (1).

Le diagnostic des infections à mycoplasmes dépend de la détermination d'un seul pathogène et donc d'une numération. L'apparition de résistance de U.u. et M.h. à certaines molécules conduit à réaliser un test de sensibilité aux antibiotiques (5, 6). Les antibiotiques testés et les critères d'interprétation sont adaptés au traitement des infections à mycoplasmes au niveau du tractus urogénital ou d'autres sites extra-génitaux (2).

3 - PRINCIPE

La technique MYCOFAST Screening Revolution est une méthode en milieu liquide basée sur l'aptitude de U.u. et de M.h. à métaboliser respectivement l'urée et l'arginine. La croissance des mycoplasmes en milieu liquide est visualisée par le virage d'un indicateur coloré - le rouge de phénol - du jaune-orangé au rouge qui traduit l'alcalinisation du milieu due à la libération d'ammoniaque.

La croissance des mycoplasmes ainsi visualisée permet :

- la détection et la différenciation ; puis en cas de positivité :

- la numération basée sur la vitesse d'hydrolyse des substrats qui est proportionnelle à la quantité de germes contenus dans le prélèvement.

- l'identification basée sur la sensibilité ou non du germe vis-à-vis de trois antibiotiques.

- l'étude de la sensibilité de U.u. et M.h. aux antibiotiques.

4 - REACTIFS

Description	Quantité		
	#00061	#00062	#00063
UMMt : Flacon de 3 ml de bouillon mycoplasmes avec antibiotiques et agent conservateur. pH: 6.0 ± 0.1	50	-	-
MYCOFAST SCREENING Revolution: Galerie sécable de 10 puits pour 5 tests, conditionnée individuellement en sachet aluminium avec dessiccant intégré	-	-	10
Étiquettes: Planche de 5 étiquettes sécables	-	-	10
S. Mh.: Activateur de croissance de M.h (4.5 mL)	-	2	1
MYCOFAST Revolution : Galerie de 20 puits pour 1 test, conditionnée en sachet aluminium avec dessiccant intégré	-	25	-
Closing system: Couvercle en plastique translucide pour galerie MYCOFAST Revolution	-	25	-

Galerie MYCOFAST Screening Revolution

Galerie composée de 5 séries de 2 puits : un puits *Ureaplasma urealyticum* (U.u) contenant de la lincomycine et de l'urée et un puits *Mycoplasma hominis* (M.h) contenant de l'érythromycine et de l'arginine.

Galerie MYCOFAST Revolution

La galerie contient dans les 20 puits le milieu de croissance sous forme déshydratée (sérum de poulailler, extrait de levures, cystéine, arginine, urée, rouge de phénol, antibiotiques, pH : 6.1 ± 0.1) et comprend 4 parties distinctes:

puits 1-3 Numération de U.u. pour des taux de 10^3 à $>10^5$ UCC/ mL (solution tamponnée et lincomycine inhibant la croissance des M.h).

puits 4-6 Identifiant: Identification de U.u. et M.h. par leur profil de résistance ou de sensibilité à : Lincomycine (L),

puits 7 Triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT) et Erythromycine (E). Numération de Mh pour des taux $\geq 10^4$ UCC/ mL (solution tamponnée et érythromycine inhibant la croissance des U.u.).

puits 8-20 Évaluation de la sensibilité de Uu et Mh aux antibiotiques
Lévofoxacine (LVX) 1-2-4 µg/mL, Moxifloxacine (MXF) 0.25-2 µg/mL, Erythromycine (E) 8-16 µg/mL, Clindamycine (CM) 0.25-0.5 µg/mL, Tétracycline (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

● Les réactifs de ce coffret sont destinés uniquement au diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.

● Les prélèvements et les réactifsensemencés sont potentiellement infectieux, ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation pour ce type de produit.

● Les réactifs contenant des matières premières d'origine animale doivent être manipulés avec les précautions d'usage.

● Ne pas utiliser les réactifs au delà de la date de péremption.

● Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou mal conservés avant utilisation.

● Un résultat positif avec la galerie MYCOFAST Revolution traduit une colonisation par les mycoplasmes urogénitaux, mais ne peut servir seul à effectuer un diagnostic clinique. Celui-ci doit être réalisé par le médecin en fonction des résultats biologiques et des signes cliniques.

6 - RECUEIL ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

6.1 Recueil des échantillons

Prélèvements cervico-vaginaux: Utiliser uniquement un écouvillon Dacron ou rayonne, ou une cytotresse. Effectuer le prélèvement après une élimination soignée des sécrétions de l'exocol à l'aide d'un premier écouvillon. Les mycoplasmes ayant une forte affinité pour les cellules des muqueuses sur lesquelles ils adhèrent, il est essentiel de bien gratter la muqueuse afin d'obtenir un bon rendement.

Prélèvements urétraux: Nettoyer le méat et prélever par écouvillonnage ou grattage des cellules.

Sperme, urines: Récouter le sperme ou le premier jet d'urine dans un flacon stérile.

Liquides gastriques: Prélever le liquide gastrique des nouveaux-nés par aspiration à l'aide d'un cathéter, et récolter dans un flacon stérile.

6.2 Transport en milieu UMMt

Prélèvements sur écouvillon: Décharger l'écouvillon dans un flacon de milieu UMMt.

Prélèvements liquides: Ensemencer un flacon de milieu UMMt avec 300 µL de liquide homogénéisé.

6.3 Conservation en milieu UMMt

Une fois ensemencé, le milieu UMMt peut être conservé à température ambiante (18-25 °C) pendant 20 heures, ou à 2-8 °C pendant 56 heures. Pour une conservation pendant 3 jours à -20 °C, rajouter au préalable 2 gouttes de "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PREPARATION ET CONSERVATION DES REACTIFS

● Les réactifs conservés à 2-8 °C sous leur état d'origine sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes.

● En cas d'utilisation d'une seule série de puits (U.u) (M.h) ou de deux, trois, quatre séries de puits, le reste de la galerie MYCOFAST Screening Revolution non utilisé, et refermé hermétiquement dans la pochette d'origine en aluminium, peut être conservé 4 semaines à 2-8 °C.

● Le supplément Mh est stable 3 mois après ouverture.

● Le milieu UMMt peut être temporairement conservé à température ambiante mais présente une meilleure stabilité à 2-8 °C.

● Ne pas congeler les réactifs du coffret.

8 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

● Matériel pour prélèvement (écouvillons, cytotresses, flacons stériles pour le recueil des prélèvements liquides)

● MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)

● Pipettes et cônes de transfert

● Récipient pour déchets contaminés

● Huile minérale

● Etuve calibrée à 37 ± 1 °C

9 - MODE OPERATOIRE

Amener les réactifs à température ambiante pendant 20 à 30 minutes.

9.1 DEPISTAGE - Galerie MYCOFAST Screening Revolution

- Préparer autant de séries de puits que d'échantillons à tester.

- Si besoin, séparer une ou des séries de puits (U.u)/(M.h) en se référant au marquage sur la galerie.

9.1.1 Ensemencement du milieu UMMt Revolution

Ensemencer le milieu UMMt avec l'écouvillon ou 300 µL de prélèvements liquides (§ 6.2). Homogénéiser.

9.1.2 Inoculation des puits Uu/Mh

- Distribuer successivement:

Puits (U.u) : 100 µL de milieu UMMt ensemencé.

Puits (M.h) : 100 µL de milieu UMMt ensemencé.

50 µL de Supplément Mh.

- Rajouter 2 gouttes d'huile minérale dans les deux puits.

- Recouvrir les puits avec l'étiquette sécable et identifier le prélèvement.

- **Conserv**er l'excédent du flacon de milieu UMMt ensemencé à 2-8 °C pour continuer l'analyse dans le cas d'un dépistage positif.

9.1.3 Incubation des puits Uu/Mh

Incuber les puits de la galerie pendant 24 heures à 37 ± 1 °C. L'incubation de la galerie peut être prolongée jusqu'à 48 heures uniquement dans le cas de prélèvements liquides négatifs en 24 heures.

9.1.4 Lecture et interprétation des puits Uu/Mh

- Vérifier que les 2 puits (U.u) (M.h) sont limpides. Un puits trouble indique une contamination bactérienne. Dans ce cas recommencer le test.

- Observer le virage de couleur dans les puits U.u et M.h:

Puits U.u orangé ou rouge : Présence de *Ureaplasma urealyticum*

Puits M.h orangé ou rouge : Présence de *Mycoplasma hominis*

Puits U.u / M.h jaune : Absence de mycoplasmes

En cas de dépistage positif poursuivre le diagnostic avec la galerie MYCOFAST Revolution

9.2 NUMERATION, IDENTIFICATION ET TEST DE SENSIBILITE

9.2.1 Ensemencement de la galerie MYCOFAST Revolution

● Retirer le film adhésif en tirant sur les 2 languettes et distribuer successivement dans les puits:

puits 1-20 100 µL de milieu UMMt ensemencé

puits 6-7 50 µL de supplément S.Mh

puits 1-20 2 gouttes d'huile minérale

● Recouvrir la galerie en enclenchant le couvercle "closing system".

● Identifier le prélèvement.

Conserv

9.2.2 Incubation de la galerie

Incuber la galerie à 37 ± 1 °C pendant 24 heures.

Pour la numération des U.u et des M.h lire les résultats en 24 heures. L'incubation de la galerie peut être prolongée jusqu'à 48 heures uniquement dans le cas de prélèvements liquides négatifs en 24 heures.

9.2.3 Lecture et interprétation

Vérifier que tous les puits de la galerie sont limpides. Un puits trouble indique une contamination bactérienne. Dans ce cas refaire une analyse.

La croissance de mycoplasmes urogénitaux dans les puits se traduit par une alcalinisation du milieu qui vire au rouge. En l'absence de croissance des mycoplasmes urogénitaux, le milieu reste jaune. Une coloration orangée doit être considérée comme un test positif (taux limite).

Se référer à la fiche de résultats pour l'interprétation du test.

Urogenital mycoplasma diagnosis
MYCOFAST® Screening Revolution
Screening and differentiation

50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution
Enumeration, identification and susceptibility testing

25 tests (REF 00062)

UMMt Revolution

50 tests (REF 00061)

CPB 0396_EN-2013-08

For *in vitro* diagnostic use only, for professional use only



1 - INTENDED USE

MYCOFAST Screening *Revolution* (REF 00063) has been designed for the screening and differentiation of *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) and *Mycoplasma hominis* (M.h.) in various clinical specimens. This kit should be used in association with the media contained in the UMMt *Revolution* kit (REF 00061).

In the case of positive screening, analysis can be completed with trays contained in the COMPLEMENT MYCOFAST *Revolution* kit (REF 00062) allowing the enumeration and identification of U.u and/or M.h as well as the antimicrobial susceptibility testing according to the recommendations of the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 - INTRODUCTION

Mycoplasmas that include several species that have been identified in humans, all belong to the mollicutes class. They differ from other bacteria in their lack of a cell wall and hence a natural resistance to β -lactams, as well as by the presence of a membrane rich in sterol obtained through their adhesion to eukaryotic cells. Since mycoplasmas are relatively fragile, they will only grow in acellular culture in the presence of various growth factors and at an optimal temperature of 37°C (4).

Most human mycoplasmas are commensal. *U. urealyticum* and *M. hominis* are the most commonly encountered species that have been isolated from the urogenital tract. *U. urealyticum* species are divided into two biovars: *U. urealyticum* and *U. parvum* (U.u.).

U.u. and M.h. can be pathogenic. They are responsible for male genital infections (non-gonococcal urethritis, epididymitis, prostatitis, infertility); female genital infections (bacterial vaginosis, endometritis, salpingitis); fertility problems (chorioamnionitis, post-partum endometritis, preterm birth, spontaneous abortion); neonatal problems (low birth weight, respiratory and neurological infections, bacteremias, abscesses); extragenital infections (septic arthritis, reactive arthritis, other infection loci) (1).

The diagnosis of mycoplasma infections depends upon the determination of the pathological threshold, followed by enumeration. The resistance of U.u./M.h. to certain drugs necessitates antimicrobial susceptibility testing (5, 6). The drugs tested and the interpretation criteria are adapted for the treatment of infections caused by mycoplasmas encountered in the urogenital tract or in extragenital sites (2).

3 - PRINCIPLE

MYCOFAST Screening *Revolution* is a liquid method based on the ability of U.u. and M.h. to metabolize urea and arginine respectively. The mycoplasma growth results in a colour change of the medium, containing phenol red indicator, from yellow-orange to red. This colour change is due to liberation of ammonia resulting in an alkaline pH of the medium. Mycoplasma growth thus viewed enables:

- detection and differentiation; then, if a positive result is obtained:
- the enumeration of mycoplasma based on the rate of urea or arginine hydrolysis, which is proportional to the number of germs contained in the sample.
- the identification based on the sensitivity or otherwise of the germ to three antimicrobial agents.
- the U.u and M.h susceptibility testing to antimicrobial agents.

4 - REAGENTS

Description	Amount		
	#00061	#00062	#00063
UMMt : Vial of 3 mL mycoplasma broth with antimicrobial agents and preservative solution. pH : 6.0 ± 0.1	50	-	-
MYCOFAST SCREENING <i>Revolution</i> : Divisible tray of 10 wells for 5 tests, individually packed in an aluminium sachet with an integrated desiccant	-	-	10
Labels: Sheet of 5 divisible labels	-	-	10
S. Mh.: <i>Mycoplasma hominis</i> growth activator (4.5 mL)	-	2	1
MYCOFAST <i>Revolution</i> : Tray of 20 wells for 1 test, packed in an aluminium sachet with an integrated desiccant	-	25	-
Closing system: Protective translucent plastic lid for MYCOFAST <i>Revolution</i> tray	-	25	-

MYCOFAST Screening Revolution tray

Tray consisting of 5 rows of 2 wells: a *Ureaplasma urealyticum* (U.u) well containing lincomycin and urea and a *Mycoplasma hominis* (M.h) well containing erythromycin and arginine.

MYCOFAST Revolution tray

The MYCOFAST *Revolution* tray contains in each of the 20 wells the dehydrated culture medium (foal serum, yeast extract, cysteine, arginine, urea, phenol red, antibiotics, pH: 6.1 ± 0.1) and comprises 4 parts:

- Wells 1-3 **Enumeration for U.u.** between 10^3 and $\geq 10^5$ CCU/mL (buffered solution and lincomycin included to inhibit the growth of M.h).
- Wells 4-6 **U.u. and M.h. Identification** via resistance profiles to Lincomycin (L), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT) and Erythromycin (E).
- Well 7 **Enumeration of M.h.**: $\geq 10^4$ CCU/mL (buffered solution and erythromycin included to inhibit the growth of U.u).
- Wells 8-20 **Antimicrobial susceptibility testing for U.u. and M.h.** against: Levofloxacin (LVX) 1-2-4 µg/mL, Moxifloxacin (MXF) 0.25-2 µg/mL, Erythromycin (E) 8-16 µg/mL, Clindamycin (CM) 0.25-0.5 µg/mL, Tetracycline (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

5 - PRECAUTIONS

- The reagents are intended solely for *in vitro* use and must be handled by authorized personnel.
- The patient samples and inoculated reagents are potentially infectious; they must be handled with caution, in observance of hygiene rules and the current regulations for this type of product in the country of use.
- Reagents containing raw materials of animal origin must be handled with caution.
- Do not use reagents after the expiry date.
- Do not use reagents that have been damaged or that have been poorly conserved before use.
- A positive result with the MYCOFAST method indicates colonization by urogenital mycoplasmas, but cannot alone be used to make a clinical diagnosis. This must be made by a doctor and is a function of the biological results and clinical signs.

6 - SAMPLE COLLECTION AND HANDLING

6.1 Sample collection

Cervicovaginal sample collection : Use only a Dacron or rayon swab or a cytobrush to collect samples. The cervix should be carefully cleaned with a swab, to remove secretions, before collecting the sample with a new swab. As mycoplasmas adhere strongly to mucous cells, the mucous lining should be vigorously scrubbed to obtain a rich specimen.

Urethral sample collection : Clean the meatus and swab or scrape the area to obtain cells.

Sperm, Urine : Collect sperm or first micturition in a sterile tube or bottle.

Gastric secretions : Collect gastric secretions from the neonate by aspiration with a catheter and transferral to a sterile bottle.

6.2 Transport in UMMt medium

Swab samples: Place the swab in a vial of UMMt medium.

Liquid samples: Inoculate a vial of UMMt medium with 300 µL of homogenized liquid.

6.3 Conservation in UMMt medium

The inoculated UMMt medium may be kept for 20 hours at room temperature (18-25°C) or 56 hours at 2-8°C.

For storage during 3 days at -20°C, first add 2 drops of "MYCOPLASMA Stabilizer".

7 - PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- All the reagents are ready-to-use. The vials may be stored at 2-8 °C, in their original packaging until the expiry date shown on the kit.

- Should only one or two, three, or four rows of (U.u) (M.h) wells be used, the remaining MYCOFAST Screening *Revolution* tray may be stored for 4 weeks at 2-8 °C in its original packaging and hermetically resealed.

- The UMMt medium may be stored temporarily at room temperature but is more stable at 2 - 8°C.

- The S.Mh supplement is stable for 3 months after opening

- Do not freeze the reagents contained in the kit.

8 - MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Sample collection (Swabs, cytobrushes, sterile containers for liquid samples)
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
- Pipettes and tips, ● Waste container for contaminated waste
- Mineral oil
- Incubator at 37°C ± 1°C

9 - METHOD

Allow the reagents to reach room temperature (20-30 minutes).

9.1 SCREENING - MYCOFAST Screening Revolution tray

- Prepare as many rows of wells as samples to be tested.

- If required separate one or several rows of (U.u)/(M.h) wells with the aid of the marks found on the tray.

9.1.1 Inoculation of UMMt Revolution medium

- Seed the UMMt medium with a swab or 300 µL of liquid sample (§6.2). Mix well.

9.1.2 Inoculation of Uu/Mh wells

- Distribute successively:

- (U.u) well: 100 µL of seeded UMMt medium.
- (M.h) well: 100 µL of seeded UMMt medium.
50 µL of Mh supplement.

- Add 2 drops of mineral oil to the two wells.

- Cover the wells with the divisible labels and label the sample in order to identify it.

- **Store excess seeded UMMt medium at 2-8°C** in order to continue the analysis in case of positive screening.

9.1.3 Incubation of Uu/Mh wells

Incubate the wells of the tray for 24 hours at 37°C ± 1°C.

Tray incubation can be extended for up to 48 hours only in the case of liquid samples that are negative after 24 hours.

9.1.4 Reading and interpretation of Uu/Mh wells

- Check that the 2 (U.u) (M.h) wells are limpid. A cloudy appearance in a well indicates bacterial contamination. In this case repeat the analysis. Observe the colour change of the medium in the U.u and M.h wells:

- U.u wells are orangey or red: Presence of *Ureaplasma urealyticum*
- M.h wells are orangey or red: Presence of *Mycoplasma hominis*
- U.u / M.h wells are yellow: Absence of mycoplasma

In the case of positive screening continue diagnosis with the MYCOFAST Revolution tray.

9.2 ENUMERATION, IDENTIFICATION AND SUSCEPTIBILITY TESTING

9.2.1 Inoculation of the MYCOFAST Revolution tray

● Remove the adhesive film by pulling on the tab and add the following to the wells of each row:

- Wells 1-20 100 µL of inoculated UMMt
- Wells 6-7 50 µL of S.Mh supplement
- Wells 1-20 2 drops of mineral oil

- Cover the seeded tray with the "closing system".

- Label the sample.

Store excess UMMt medium at 2-8°C for at least 48 hours for possible verification.

9.2.2 Incubation of the tray

Incubate the tray at 37°C ± 1°C for 24 hours.

For U.u. and M.h enumeration, read the results in 24 hours. Tray incubation can be extended for up to 48 hours only in the case of liquid samples that are negative after 24 hours.

9.2.3 - Reading and interpretation

Check that all the wells in the row are limpid. A cloudy appearance in a well indicates bacterial contamination. In this case repeat the analysis. The results are read by the colour obtained in the different wells. Urogenital Mycoplasma growth is indicated when the medium turns red (alkaline). The medium remains yellow when no growth of urogenital mycoplasma occurs. An orangey coloration should be considered as a positive test (rate limit).

For the interpretation of the results refer to the results sheet.

Diagnóstico de Micoplasmas urogenitales MYCOFAST® Screening RevolutionN

Detección y diferenciación
50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® RevolutionN
Recuento, identificación y prueba de sensibilidad
25 tests (REF 00062)

UMMt RevolutionN
50 tests (REF 00061)

CPB 0396_ES-2013-08

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



1 - FINALIDAD

El estuche MYCOFAST Screening RevolutionN (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 RevolutionN (REF 00061). En caso de resultado positivo, el análisis se podrá completar con las galerías del estuche COMPLEMENT MYCOFAST RevolutionN (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 RevolutionN 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 amoniaco.

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		
	#00061	#00062	#00063
UMMt : Frasco de 3 mL de medio de micoplasmas con antibióticos y agente conservador. pH: 6,0 ± 0,1.	50	-	-
MYCOFAST SCREENING RevolutionN : 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> .	-	2	1
MYCOFAST RevolutionN: Galería de 20 pocillos 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 RevolutionN

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 RevolutionN

La galería MYCOFAST RevolutionN contiene en los 20 pocillos el medio de crecimiento de los micoplasmas en forma deshidratada (suero de caballo, extracto de levaduras, cisteína, arginina, urea, rojo de fenol, antibióticos, pH: 6,1 ± 0,1) e incluye 4 partes diferenciadas:

pocillos 1-3 Recuento de U.u. para proporciones de 10^3 a $\geq 10^5$ UCC/mL

(solución tamponada y lincomicina inhibidora del crecimiento de M.h.)

pocillos 4-6 Identificación de U.u. y M.h. por su perfil de resistencia o de sensibilidad a: lincomicina (L), trimetopim-sulfametoxazol (SXT) y eritromicina (E).

pocillos 7 Recuento de Mh para proporciones $>10^4$ UCC/mL (solución tamponada y eritromicina inhibidora del crecimiento de U.u.)

pocillos 8-20 Evaluación de la sensibilidad de Uu y Mh a los antibióticos: levofloxacino (LVX) 1-2-4 µg/mL, moxifloxacina (MXF) 0,25-2 µg/mL, eritromicina (E) 8-16 µg/mL, clindamicina (CM) 0,25-0,5 µg/mL, tetraciclina (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

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 la fecha de caducidad.
- No utilice los reactivos deteriorados o mal conservados antes de usar.
- Un resultado positivo con el método MYCOFAST 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 citocéptico. 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.

Espuma, orinas: Recoger el esperma o el primer chorro de orina en un frasco estéril.
Líquidos gástricos: Recoger el líquido gástrico de los recién nacidos por aspiración, con un catéter, y depositarlo en un frasco estéril.

6.2 Transporte en medio UMMt

Muestras en hisopo: Descargar el hisopo en un frasco con medio UMMt.

Muestras líquidas: Sembrar un frasco con medio UMMt con 300 µL de líquido homogeneizado.

6.3 Conservación en medio UMMt

Una vez sembrado, el medio UMMt puede conservarse a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 20 horas, o a 2-8 °C durante 56 horas. Para una conservación durante 3 días a -20 °C, añadir previamente 2 gotas de "MYCOPLASMA Stabilizer".

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 RevolutionN, no utilizada y cerrada herméticamente en la bolsita 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 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 para muestras (hisopos, citocépticos, frascos estériles para recoger muestras líquidas)
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
- Pipetas y conos, recipiente para residuos contaminados.
- Vaselina líquida estéril, 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 RevolutionN

- 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 Sementación del medio UMMt RevolutionN

Sementación del medio UMMt con el hisopo o 300 µL de extracciones líquidas (§ 6.2). Homogenice.

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

- Distribuya sucesivamente:
Pocillo (U.u.): 100 µL de medio UMMt sementado.
Pocillo (M.h.): 100 µL de medio UMMt 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 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 RevolutionN

9.2 NUMERACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y PRUEBA DE SENSIBILIDAD

9.2.1 Siembra de la galería MYCOFAST RevolutionN

- Retirar la película adhesiva tirando de las 2 lengüetas y distribuir sucesivamente en los pocillos:
pocillos 1-20 100 µL de medio UMMt regenerado
pocillos 6-7 50 µL de suplemento S.Mh
pocillos 1-20 2 gotas de la vaselina estéril
- Tapar la galería mediante el "sistema de cierre" de la tapa.
- Identificar la muestra.

Conservar el excedente del frasco UMMt 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. La lectura de los resultados consiste en identificar las coloraciones obtenidas en los diferentes pocillos de las galerías. 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.

Diagnostica Dei Micoplasmi Urogenitali MYCOFAST® Screening Revolution

Ricerca differenziazione
50 tests (REF 00063)

COMPLEMENT MYCOFAST® Revolution

Conta, identificazione e test di Sensibilità
25 tests (REF 00062)

UMMt Revolution
50 tests (REF 00061)

CPB 0396_IT-2013-08

Per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale



1 – USO PREVISTO

MYCOFAST Screening Revolution (REF 00063) è indicato per la ricerca e differenziazione di *Ureaplasma urealyticum*/*Ureaplasma parvum* (Uu) e *Mycoplasma hominis* (Mh) in vari campioni clinici. Questo kit è da utilizzare in associazione con il brodo contenuto fornito con l'UMMt Revolution kit (REF 00061).

In caso di screening positivo, l'analisi può essere completata con le gallerie fornite con il COMPLEMENT MYCOFAST Revolution kit (REF 00062) che consente la conta e l'identificazione di U.u. e/o M.h. così come la determinazione del saggio di sensibilità agli antibiotici in accordo con le raccomandazioni CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2).

2 – SOMAMRIO

I Micoplasmi, che comprendono varie specie isolate dagli esseri umani, appartengono alla classe dei *Mollicutes*. Si differenziano dagli altri batteri per numerosi aspetti, tra i quali l'assenza di una parete cellulare che conferisce loro una naturale resistenza ai β -lattamici, e una membrana ricca in steroli ottenuti dalle cellule eucariote sulle quali essi aderiscono. Poiché i micoplasmi sono microrganismi piuttosto delicati, sono in grado di crescere solo in colture acellulari in presenza di fattori di crescita e a una temperatura ottimale di 37°C (4).

La maggior parte dei micoplasmi umani è commensale. *U. urealyticum* e *M. hominis* sono le specie isolate con più frequenza dal tratto urogenitale. La specie *U. urealyticum* è suddivisa in due biovar: *U. urealyticum* e *U. parvum* (Uu). U.u. e M.h. possono essere patogeni. Sono responsabili di infezioni genitali maschili (uretrite non gonococcica, epididimite, prostatite, infertilità), infezioni genitali femminili (vaginosi batterica, endometrite, salpingite), problemi di fertilità (corioamnioniti, endometrite *post-partum*, parto pretermine, aborto spontaneo), problemi neonatali (basso peso alla nascita, infezioni respiratorie e neurologiche, batteriemie, ascessi), infezioni extragenitali (artrite settica, artrite reattiva, e infezioni in altri siti) (1).

La diagnosi di infezione da *Mycoplasma* dipende dalla determinazione della soglia patologica eseguita mediante la conta dei microrganismi. La resistenza di U.u. / M.h. a determinati antibiotici deve essere eseguita tramite il saggio di sensibilità agli antibiotici (5, 6). Gli antibiotici testati e i criteri di interpretazione sono indicati per il trattamento di infezioni causate da micoplasmi isolati dal tratto urogenitale o in siti extragenitali (2).

3 – PRINCIPIO DEL TEST

MYCOFAST Revolution è un metodo liquido basato sull'attitudine di U.u. e di M.h. a metabolizzare rispettivamente l'urea e l'arginina. Grazie all'indicatore rosso fenolo contenuto nel terreno liquido, la crescita dei micoplasmi è messa in evidenza mediante il viraggio di colore del terreno da giallo-arancio a rosso. Il viraggio di colore è dovuto alla liberazione di ammoniaca che produce un innalzamento del pH del terreno, rendendolo pertanto alcalino.

La crescita dei micoplasmi così evidenziata permette di valutare:

- la ricerca e differenziazione; poi, in caso di positività:
- la conta dei micoplasmi basata sulla velocità d'idrolisi dell'urea e arginina: la velocità è proporzionale alla carica dei microrganismi presente nel campione
- l'identificazione basata sulla sensibilità o la resistenza del microrganismo nei confronti di tre antibiotici di profilo
- la determinazione del saggio di sensibilità agli antibiotici di U.u. e M.h.

4 - REAGENTI

Descrizione	Quantità		
	#00061	#00062	#00063
UMMt: Flaconcini da 3 mL contenenti brodo per micoplasmi con agenti antibiotici e soluzione conservante. pH: 6.0 ± 0.1	50	-	-
MYCOFAST SCREENING Revolution: Micropiastra divisibile da 10 pozzetti per 5 test, confezionata individualmente in busta d'alluminio con essiccante integrato	-	-	10
Etichette: foglio con 5 etichette separabili	-	-	10
S. Mh.: Flaconcino da 4,5 mL contenente l'attivatore di crescita per <i>Mycoplasma hominis</i> .	-	2	1
MYCOFAST Revolution: Gallerie da 20 pozzetti confezionate in un sacchetto d'alluminio con essiccante integrato.	-	25	-
Closing system: Coperchio d'incubazione protettivo in plastica traslucida	-	25	-

Galleria MYCOFAST Screening Revolution

La galleria consiste in 5 file di 2 pozzetti: un pozzetto per *Ureaplasma urealyticum* (U.u) contenente lincomicina e urea e un pozzetto per *Mycoplasma hominis* (M.h) contenente eritromicina e arginina.

Galleria MYCOFAST Revolution

La galleria MYCOFAST Revolution contiene in ciascuno dei 20 pozzetti il terreno di coltura disidratato (siero di puledro, estratto di lievito, cisteina, arginina, urea, rosso fenolo, antibiotici, pH: 6.1 ± 0.1) e comprende 4 settori:

Pozzetti da 1 a 3

Conta di U.u. tra 10⁵ e >10⁵ CCU/mL (include soluzione tampone e lincomicina per inibire la crescita di M.h).
Identificazione di U.u. e M.h. tramite il profilo di resistenza nei confronti di Lincomicina (L), Trimetoprim/Sulfametossazolo (SXT) e Eritromicina (E).

Pozzetti da 4 a 6

Conta di M.h.: > 10⁴ CCU/mL (include soluzione tampone ed eritromicina per inibire la crescita di U.u).
Saggio di sensibilità agli antibiotici per U.u. e M.h. nei confronti di: Levofloxacina (LVX) 1-2-4 µg/mL, Moxifloxacina (MXF) 0,25-2 µg/mL, Eritromicina (E) 8-16 µg/mL, Clindamicina (CM) 0,25-0,5 µg/mL, Tetraciclina (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

5 - PRECAUZIONI

- I reagenti presenti in questo kit sono destinati esclusivamente ad un uso *in vitro* e devono essere maneggiati solo da personale autorizzato.
- I prelievi e i reagenti inoculati sono potenzialmente infettivi e devono pertanto essere maneggiati conformemente alle precauzioni d'uso, nel rispetto delle norme igieniche e delle normative in vigore nel paese di utilizzo di questo tipo di prodotto.
- I reagenti contenenti materie prime di origine animale devono essere maneggiati nel rispetto delle precauzioni d'uso.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
- Non utilizzare i reagenti danneggiati o conservati in modo inadeguato prima dell'uso.
- L'esito positivo ottenuto con il metodo MYCOFAST indica la presenza di una colonizzazione da micoplasmi urogenitali, ma da solo non è sufficiente per effettuare una diagnosi clinica. Quest'ultima deve essere realizzata dal medico in funzione dei risultati biologici e dei sintomi clinici.

6 – PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

6.1 Prelievo campioni

Tamponi cervicali e vaginali: Per il prelievo dei campioni utilizzare solo un tampone in Dacron® o rayon o una citospazzola. Prima di procedere con il prelievo, effettuare un'accurata pulizia della cervice utilizzando un primo tampone per rimuovere le secrezioni, quindi effettuare il prelievo per il test con un secondo tampone. Poiché i micoplasmi hanno una forte affinità per le cellule delle mucose, è essenziale raschiare bene la mucosa per ottenere un campione ricco.

Prelievi uretrali: Pulire il meato e prelevare, tamponando o raschiando, delle cellule.

Liquido seminale, Urine: Prelevare il liquido seminale o il primo mitto di urine in una provetta o flacone sterili.

Liquidi gastrici: Prelevare il liquido gastrico dei neonati mediante aspirazione con un catetere e raccogliere in un flacone sterile.

6.2 Trasporto in brodo UMMt

Prelievi con tampone: Stemperare il tampone in un flaconcino di brodo di trasporto UMMt.

Prelievi liquidi: Inoculare un flaconcino di brodo di trasporto UMMt con 300 µL di liquido omogeneizzato.

6.3 Conservazione nel terreno di trasporto UMMt

Una volta inoculato, il brodo di trasporto UMMt può essere conservato per 20 ore a temperatura ambiente (18-25°C), o per 56 ore a 2-8°C. Per una conservazione di 3 giorni a -20 °C, prima di congelare il terreno dispensare 2 gocce di "MYCOPLASMA Stabilizer" nel flaconcino UMMt.

7 – PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

- Tutti i reagenti sono pronti per l'uso. I reagenti conservati a 2-8°C nel loro stato originale sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.
- Nel caso in cui la galleria MYCOFAST Screening Revolution non venga utilizzata in un'unica seduta, dopo l'apertura si mantiene stabile per 4 settimane se conservata a 2-8 °C nell'imballo originale accuratamente sigillato.
- Il brodo di trasporto UMMt può essere temporaneamente conservato a temperatura ambiente, ma presenta una migliore stabilità a 2-8°C.
- Dopo l'apertura, il supplemento S.Mh è stabile per 3 mesi.
- Non congelare i reagenti contenuti in questo kit.

8 - MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Materiale per prelievi (tamponi, citospazzole, flacone sterile per la raccolta dei prelievi liquidi)
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064), pipette e puntali di trasferimento, contenitore per rifiuti contaminati, olio minerale, termostato a 37°C ± 1°C

9 - PROCEDIMENTO

Equilibrare i reattivi a temperatura ambiente (per 20-30 minuti).

9.1 SCREENING – Galleria MYCOFAST Screening Revolution

- Allestire tante righe di pozzetti quante il numero di campioni da saggiare.- Se necessario separare una o più righe di pozzetti per (U.u)/(M.h) con l'ausilio dei marks trovati nella galleria

9.1.1 Inoculo del brodo di trasporto UMMt Revolution

Inoculare il brodo di trasporto UMMt con un tampone o 300 µL di campione (§6.2). Agitare bene.

9.1.2 Inoculo dei pozzetti per Uu/Mh

- Distribuire successivamente: pozzetto (U.u): 100 µL di UMMt inoculato. pozzetto (M.h): 100 µL di UMMt inoculato + 50 µL del supplemento Mh.
- Aggiungere 2 gocce di olio minerale in entrambi i pozzetti.
- Coprire i pozzetti con le etichette e specificare il campione per agevolare l'identificazione.

- Conservare l'eccedenza di terreno UMMt a 2-8°C per procedere con l'analisi in caso di esito positivo.

9.1.3 Incubazione dei pozzetti Uu/Mh

Incubare i pozzetti della galleria a 37°C ± 1°C per 24 ore. L'incubazione della piastra può essere estesa sino a 48 ore solo nel caso in cui i campioni liquidi siano negativi dopo 24 ore.

9.1.4 Lettura e interpretazione dei pozzetti Uu/Mh

- Verificare che i 2 pozzetti (U.u) (M.h) siano limpidi. Una torbidità presente in un pozzetto è indice di una contaminazione batterica. Qualora dovesse verificarsi tale ipotesi, ripetere il test.
- I risultati sono letti osservando il viraggio di colore ottenuto nei differenti pozzetti: i pozzetti U.u con viraggio ad arancione o rosso: presenza di *Ureaplasma urealyticum* i pozzetti M.h con viraggio ad arancione o rosso: presenza di *Mycoplasma hominis* I pozzetti U.u / M.h con viraggio al giallo: assenza di micoplasma In caso di screening positivo proseguire la diagnosi utilizzando il MYCOFAST Revolution tray

9.2 CONTA, IDENTIFICAZIONE E TEST DI SENSIBILITÀ

9.2.1 Inoculo della galleria MYCOFAST Revolution

- Rimuovere la pellicola adesiva tirando la linguetta e dispensare quanto segue in ciascun pozzetto delle due file della galleria: Pozzetti da 1 a 20 100 µL di UMMt inoculato Pozzetti 6 e 7 50 µL di supplemento S.Mh Pozzetti da 1 a 20 2 gocce di olio minerale
 - Mettere il coperchio sulla galleria ("Sistema di copertura").
 - Identificare la galleria (ID paziente).
- Conservare l'eccedenza di terreno UMMt a 2-8°C per almeno 48 ore per eventuali verifiche.

9.2.2 Incubazione della galleria

Incubare la galleria a 37°C ± 1°C per 24 ore. Per la conta di U.u. e M.h, leggere i risultati a 24 ore. L'incubazione della piastra può essere estesa sino a 48 ore solo nel caso in cui i campioni liquidi siano negativi dopo 24 ore.

9.2.3 Lettura e interpretazione

Verificare che tutti i pozzetti della fila siano limpidi. Una torbidità presente in un pozzetto è indice di una contaminazione batterica. Qualora dovesse verificarsi tale ipotesi, ripetere il test. I risultati sono letti osservando il viraggio di colore ottenuto nei differenti pozzetti. La crescita dei micoplasmi urogenitali è messa in evidenza quando è visibile un viraggio al rosso del terreno (alcalinizzazione). In assenza di crescita di micoplasmi urogenitali, il terreno rimarrà giallo. Una reazione di colore arancio deve essere considerata come test positivo (soglia minima). Per l'interpretazione dei risultati consultare il foglio dei risultati.

