



RIDA[®] GENE STI Mycoplasma Panel

REF PG4945



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Allemagne
Téléphone: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* et *Ureaplasma urealyticum/parvum* dans l'urine et les frottis génitaux humains.

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel est destiné à faciliter le diagnostic des infections des voies urinaires ou de la région génitale provoquées par *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* et *Ureaplasma urealyticum/parvum*.

2. Résumé et explication du test

Les espèces de *Mycoplasma* peuvent persister dans la flore normale du système respiratoire ou de la région génitale de l'être humain¹. Parmi les espèces de mycoplasme présentes principalement dans la région génitale, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* et *Ureaplasma parvum* sont, parmi d'autres, décrites comme étant pathogènes^{1,2}.

Mycoplasma hominis (*M. hominis*) colonise essentiellement les voies génitales des hommes et femmes sexuellement actifs, mais la plupart des infections par *M. hominis* décrites ont été diagnostiquées chez des femmes². L'espèce *M. hominis* est associée à la maladie inflammatoire pelvienne (MIP) et peut provoquer des infections pendant ou après la grossesse, comme l'endométrite ou la pneumonie néonatale¹. Les symptômes courants des infections par *M. hominis* sont notamment une miction fréquente, un écoulement jaune ou la dysurie^{1,3}.

Au niveau mondial, la prévalence de *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) va de 1 à 4 % chez les hommes et 1 à 6,4 % chez les femmes. Chez les hommes, *M. genitalium* peut provoquer une urétrite non spécifique et en est la deuxième cause la plus fréquente après *Chlamydia trachomatis*. Environ 30 % des urétrites persistantes sont liées à *M. genitalium*. Chez les femmes, les infections par *M. genitalium* peuvent provoquer une cervicite, une endométrite, une urétrite ou une maladie inflammatoire pelvienne (MIP)^{1,4}.

Ureaplasma urealyticum (*U. urealyticum*) et *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) sont des bactéries parasites à Gram négatif qui peuvent exister dans la flore urogénitale des hommes et des femmes. En 2002, la nomenclature antérieure existante de 14 sérotypes d'*U. urealyticum* a été actualisée de telle manière que les sérotypes 1, 3, 6 et 14 regroupés sous le biovar Parvo (Biovar 1) constituent désormais une espèce différente (*U. parvum*). Les sérotypes 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13 appartiennent au biovar T960 (Biovar 2) et ont donc été inscrits sous *U. urealyticum*⁵. Chez les femmes, *U. urealyticum* provoque essentiellement une maladie inflammatoire pelvienne (MIP) et *Ureaplasma* colonise la flore vaginale de jusqu'à 50 % des femmes enceintes. Pendant la grossesse, *Ureaplasma* peut être transmise

à l'enfant, provoquant éventuellement des pneumonies ou des maladies du système nerveux central¹.

3. Principe du test

Le test RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum/parvum* dans l'urine et les frottis génitaux humains.

Après isolation de l'ADN survient l'amplification du fragment de gène (si présent) de *Mycoplasma hominis* (ARNr-16S), *Mycoplasma genitalium* (IGS) et *Ureaplasma urealyticum/parvum* (ARNr-16S). La cible amplifiée est détectée grâce à des sondes pour hydrolyse qui sont marquées à une extrémité par un extincteur et à l'autre extrémité par un colorant fluorescent indicateur (fluorophore). En présence d'une cible, les sondes s'hybrident aux amplicons. Pendant l'étape d'extension, la **Taq-Polymerase** rompt la proximité indicateur-extincteur. L'indicateur émet un signal de fluorescence qui est détecté par l'unité optique d'un instrument de PCR en temps réel. Le signal de fluorescence augmente avec le nombre d'amplicons formés. Le test RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel contient un **Internal Control DNA** (ICD) en tant que contrôle interne de la procédure de préparation des échantillons et/ou pour déterminer une éventuelle inhibition de la PCR.

4. Contenu de la trousse

Tableau 1 : Contenu du paquet (les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 100 déterminations)

Code du kit	Réactif	Quantité		Couleur du couvercle
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	jaune
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rouge
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	blanc
P	Positive Control	1x	200 µl	bleu

5. Instructions de conservation des réactifs

- Protéger tous les réactifs de la lumière et les conserver à -20 °C. S'ils **ne sont pas ouverts**, tous les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Décongeler délicatement tous les réactifs avant de les utiliser (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C).
- Les réactifs peuvent supporter jusqu'à 20 cycles de congélation/décongélation sans que les performances du test ne soient affectées (par ex., après la première décongélation, séparer les réactifs en aliquotes et les congeler immédiatement).
- Pendant la préparation de la PCR, tous les réactifs doivent être conservés au frais de manière convenable (entre 2 °C et 8 °C).

6. Autres réactifs et matériel nécessaires

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel peut être utilisé avec les plateformes d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants :

Tableau 2 : Matériel nécessaire

Plateformes d'extraction	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Instruments de PCR en temps réel	
Roche	LightCycler® 480II, LightCycler® 480 z
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Remarque : utiliser uniquement des tubes de 0,1 ml sur le Rotor-Gene Q (QIAGEN).

Si vous souhaitez utiliser d'autres plateformes d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm à l'adresse mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) pour une utilisation avec les appareils LightCycler® 480II et LightCycler® 480 z.
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, tubes, feuilles)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex
- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes à filtre
- Gants jetables non poudrés
- Eau de PCR (sans nucléase)

7. Mesures de précaution

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Suivre le manuel d'instructions pour la réalisation du test. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec une peau meurtrie ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation de réactifs ou d'échantillons, porter des vêtements de protection appropriés (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue de la réalisation du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs sont utilisés.

- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être menées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.
- Les échantillons doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux de même que tous les réactifs et le matériel exposés aux échantillons. Ils doivent être manipulés conformément aux règlements nationaux en matière de sécurité.
- Ne pas utiliser le kit après sa date de péremption.

Après utilisation, tous les réactifs et matériaux utilisés doivent être éliminés de façon appropriée. Veuillez vous conformer aux règlements nationaux applicables concernant la mise au rebut.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

8.1 Préparation de l'ADN à partir de frottis génitaux secs

Pour isoler l'ADN des frottis génitaux secs, utiliser un kit d'isolation d'ADN (par ex., RIDA® Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ADN (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ADN conformément aux instructions du fabricant.

Pour isoler l'ADN des écouvillons secs, il est recommandé de suivre la procédure suivante : Ajouter 400 µl d'eau de PCR dans un tube de préparation. Insérer l'écouvillon dans l'eau, le presser et couper ou casser la tige de l'écouvillon. Fermer hermétiquement le tube de préparation et continuer conformément aux instructions du fabricant du kit ou du système d'extraction de l'ADN (voir aussi **Maxwell® RSC Application ER101**).

Le test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel inclut un **Internal Control DNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir tableau 4).

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 20 µl pendant la procédure d'extraction. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** au mélange de contrôle négatif et de contrôle positif de la PCR.

8.2 Préparation de l'ADN à partir de l'urine

Pour isoler l'ADN de l'urine, utiliser un kit d'isolation d'ADN (par ex., RIDA® Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ADN (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ADN conformément aux instructions du fabricant (voir aussi **Maxwell® RSC Application ER100**).

Le test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel inclut un **Internal Control DNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir tableau 4).

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 20 µl pendant la procédure d'extraction. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** au mélange de contrôle négatif et de contrôle positif de la PCR.

9. Réalisation du test

9.1 Préparation du mélange maître

Calculer le nombre total de réactions de PCR (réactions de l'échantillon et réactions de contrôle) nécessaires. Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus à chaque exécution du test.

Nous recommandons de calculer un volume supplémentaire de 10 % pour compenser l'imprécision du pipetage (voir tableaux 3, 4). Décongeler, mélanger délicatement et centrifuger brièvement le mélange réactif [Reaction Mix], la [Taq-Polymerase], le contrôle positif [Positive Control], le contrôle sans matrice [No Template Control] et l'ADN de contrôle interne [Internal Control DNA] avant utilisation. Conserver les réactifs à une température assez basse durant l'étape de travail (entre 2 °C et 8 °C).

Tableau 3 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD comme contrôle de l'extraction et de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	[Reaction Mix]	19,3 µl	212,3 µl
2	[Taq-Polymerase]	0,7 µl	7,7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

Tableau 4 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	[Reaction Mix]	19,3 µl	212,3 µl
2	[Taq-Polymerase]	0,7 µl	7,7 µl
D	[Internal Control DNA]	1,0 µl	11 µl
	Total	21,0 µl	231,0 µl

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

9.2 Préparation du mélange pour la PCR

Pipeter 20 µl du mélange maître dans chaque flacon de réaction (tube ou plaque).

Contrôle négatif : Ajouter 5 µl de contrôle sans matrice **No Template Control** au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle négatif pour la PCR.

Échantillon : Ajouter 5 µl d'éluat au mélange maître pré-pipeté.

Contrôle positif : Ajouter 5 µl de contrôle positif **Positive Control** au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle positif pour la PCR.

Recouvrir les tubes ou la plaque. Les centrifuger et les placer dans l'instrument de PCR en temps réel. La réaction de PCR devrait commencer conformément à la configuration de l'instrument de PCR (voir tableaux 5, 6, 7, 8).

9.3 Configuration de l'instrument de PCR

9.3.1 Profil de PCR en temps réel de l'ADN

Tableau 5 : Profil de PCR en temps réel pour la série LightCycler® et Rotor-Gene Q

Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	10 s, 95 °C
Hybridation/extension	15 s, 60 °C
Vitesse de transition/ Vitesse de montée de température/	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 6 : Profil de PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI 7500 et CFX96™

Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	15 s, 95 °C
Hybridation/extension	30 s, 60 °C
Vitesse de transition/ Vitesse de montée de température/	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.3.2 Profil universel de PCR en temps réel

Remarque : le profil universel de PCR en temps réel doit seulement être utilisé pour les tests d'ADN si les tests PCR en temps réel ADN RIDA®GENE et ARN RIDA®GENE sont effectués lors d'une même exécution.

Tableau 7 : Profil universel de PCR en temps réel pour la série LightCycler®

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	10 s, 95 °C
Hybridation/extension	15 s, 60 °C
Vitesse de transition/ Vitesse de montée de température/	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 8 : Profil universel de PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI7500, Rotor-Gene Q et CFX96™

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	15 s, 95 °C
Hybridation/extension	30 s, 60 °C
Vitesse de transition/ Vitesse de montée de température/	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.4 Configuration du canal de détection

Tableau 9 : Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Remarque
Roche LightCycler® 480II	<i>M. hominis</i>	465/510	Le RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	533/580	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	533/610	
	<i>M. genitalium</i>	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	<i>M. hominis</i>	465/510	Le RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	540/580	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	540/610	
	<i>M. genitalium</i>	610/670	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>M. hominis</i>	FAM	Vérifier que l'option de référence n'est pas précisée
	ICD	HEX	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
ABI 7500	<i>M. hominis</i>	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICD	VIC	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Bio-Rad CFX96™	<i>M. hominis</i>	FAM	-
	ICD	HEX	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>M. hominis</i>	Vert	Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5, conformément aux paramètres par défaut
	ICD	Jaune	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	Orange	
	<i>M. genitalium</i>	Rouge	

10. Contrôle qualité

L'analyse des échantillons est effectuée par le logiciel de l'instrument de PCR en temps réel utilisé conformément aux instructions du fabricant. Le contrôle négatif et le contrôle positif doivent obtenir des résultats corrects (voir tableau 10, figure 1) pour que l'exécution soit déclarée valide.

Le contrôle positif **Positive Control** a une concentration de 10^3 copies/ μ l. Chaque série de PCR utilise au total 5×10^3 copies de contrôle positif.

Tableau 10 : Pour que l'exécution soit valide, les conditions suivantes doivent être satisfaites :

Échantillon	Résultat du test	Ct ICD	Ct cible
Contrôle positif	Positif	S/O *1	Voir Certificat d'assurance qualité
Contrôle négatif	Négative	Ct > 20	0

*1 *Aucune valeur de Ct n'est requise pour que le résultat de l'ICD soit positif pour le contrôle positif.*

Si le contrôle positif n'est pas positif dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais le contrôle positif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si les critères requis ne sont pas satisfaits, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Fonctionnement de l'instrumentation utilisée
- Exécution correcte de la procédure de test

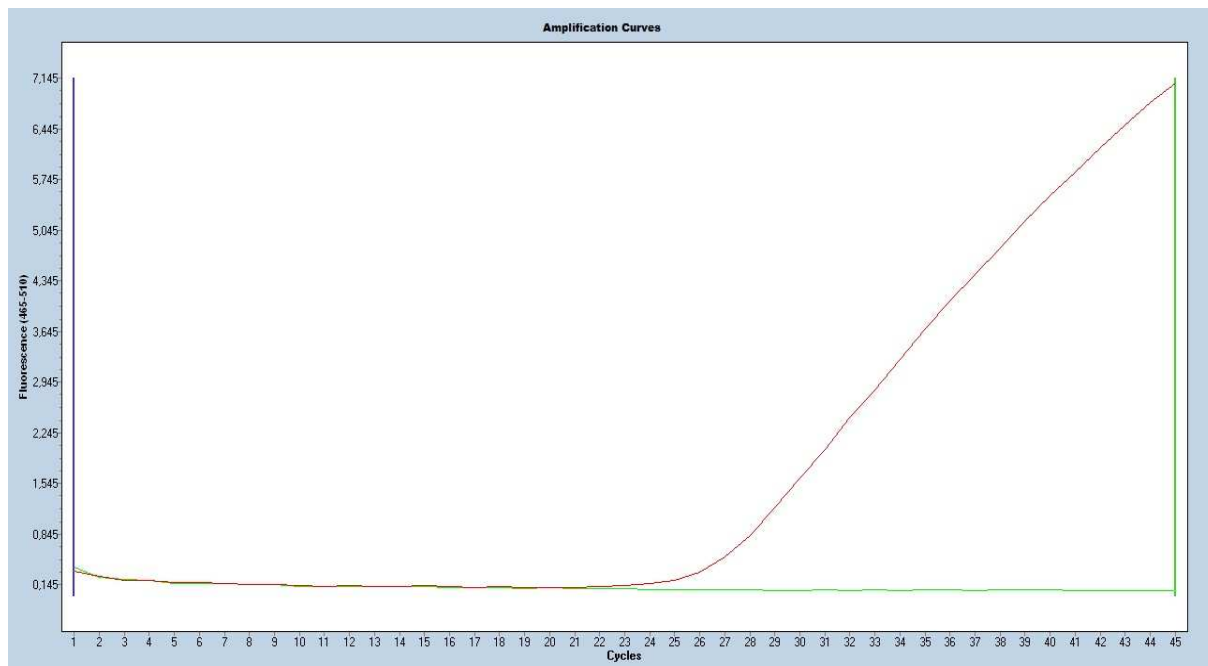


Fig. 1 : Exécution correcte des contrôles positif (rouge) et négatif (vert) (*Mycoplasma hominis*) sur le LightCycler® 480II

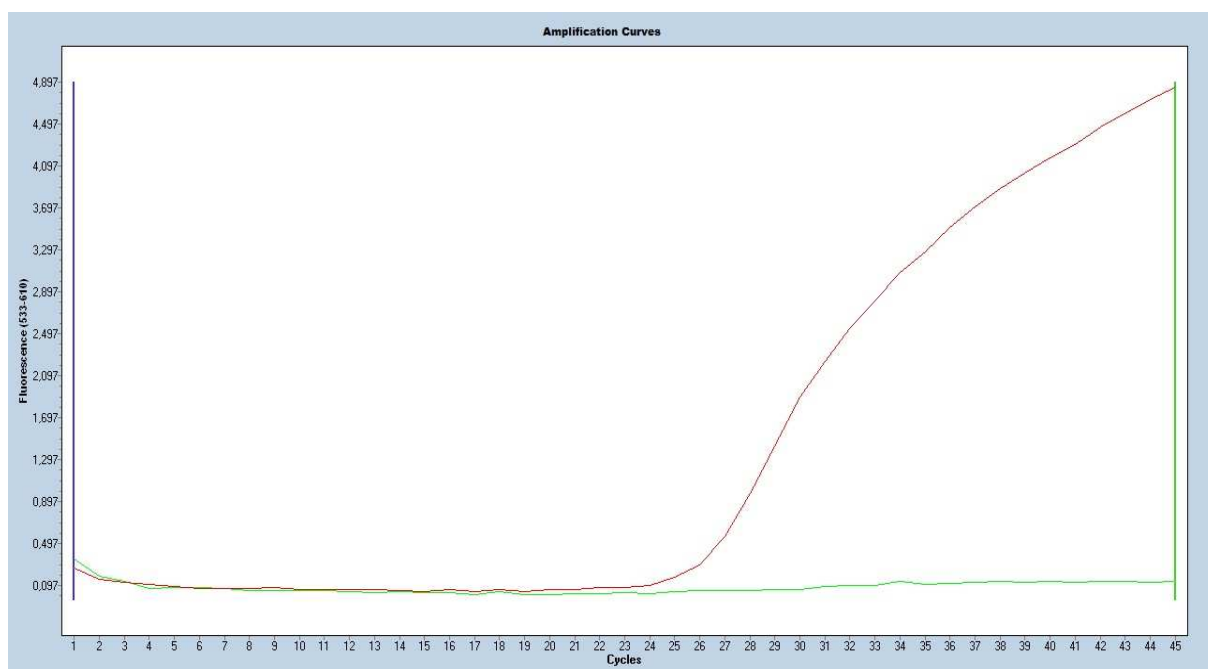


Fig. 2 : Exécution correcte des contrôles positif (rouge) et négatif (vert) (*Ureaplasma urealyticum/parvum*) sur le LightCycler® 480II

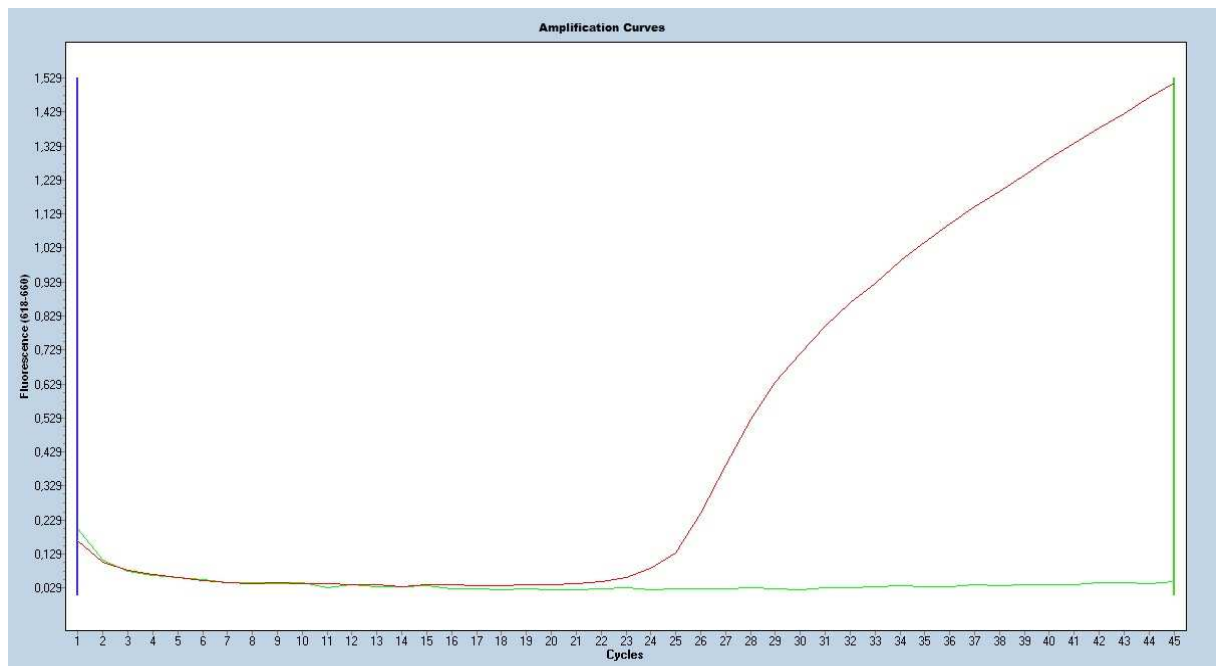


Fig. 3 : Exécution correcte des contrôles positif (rouge) et négatif (vert) (*Mycoplasma genitalium*) sur le LightCycler® 480II

11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 11.

Tableau 11 : Interprétation des échantillons

Gènes cibles			ICD	Résultat
<i>M. hominis</i>	<i>U. urealyticum/parvum</i>	<i>M. genitalium</i>		
positif	négatif	négatif	positif/négatif	<i>M. hominis</i> détecté
négatif	positif	négatif	positif/négatif	<i>U. urealyticum/parvum</i> détecté
négatif	négatif	positif	positif/négatif	<i>M. genitalium</i> détecté
positif	positif	négatif	positif/négatif	<i>M. hominis</i> et <i>U. urealyticum/parvum</i> détectés
positif	négatif	positif	positif/négatif	<i>M. hominis</i> et <i>M. genitalium</i> détectés
négatif	positif	positif	positif/négatif	<i>U. urealyticum/parvum</i> et <i>M. genitalium</i> détectés
positif	positif	positif	positif/négatif	<i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum/parvum</i> et <i>M. genitalium</i> détectés
négatif	négatif	négatif	positif	Gènes cibles non détectés
négatif	négatif	négatif	négatif	Non valide

Un échantillon est estimé positif si l'ADN de l'échantillon et l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Un échantillon est également estimé positif si l'ADN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA**. La détection du contrôle d'amplification interne n'est pas nécessaire, car les concentrations élevées de l'amplicon peuvent générer un signal faible ou absent de l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA**.

Un échantillon est estimé négatif si l'ADN de l'échantillon ne présente aucun signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un pour l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA**. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection de l'ADN du contrôle interne **Internal Control DNA**.

Un échantillon est non valide si l'ADN de l'échantillon et l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. L'échantillon contient un inhibiteur de la PCR ou la procédure d'extraction est défectueuse. L'échantillon extrait doit être encore dilué avec de l'eau

de PCR (1/10) et de nouveau amplifié, ou il convient d'améliorer l'isolation et la purification de l'échantillon.

12. Limites de la méthode

1. Le résultat de l'analyse moléculaire ne doit pas mener au diagnostic, mais toujours être examiné dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
2. Ce test est seulement validé pour les frottis génitaux et les échantillons d'urine humains.
3. Les prélèvement, transport, stockage et traitement incorrects de l'échantillon ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
4. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats non valides.
5. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison à l'amorce ou à la sonde peuvent empêcher la détection de nouveaux variants et donner lieu à un résultat faux négatif avec le test RIDA®GENE Mycoplasma Panel.
6. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* de type PCR, des niveaux de la cible extrêmement bas sous la limite de détection (LDD) peuvent être détectés, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
7. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Cependant, un résultat positif indique la présence des gènes cibles (ARNr-16S, IGS).
8. Lorsque des frottis génitaux sont utilisés, la mucine peut interférer, même en petites quantités (validé dans le canal *U. urealyticum/parvum*).

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel est ≥ 10 copies d'ADN par réaction.

Les figures 4, 5 et 6 suivantes montrent les séries de dilution de *M. hominis*, *U. urealyticum/parvum* et *M. genitalium* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl chacune) avec le LightCycler® 480II.

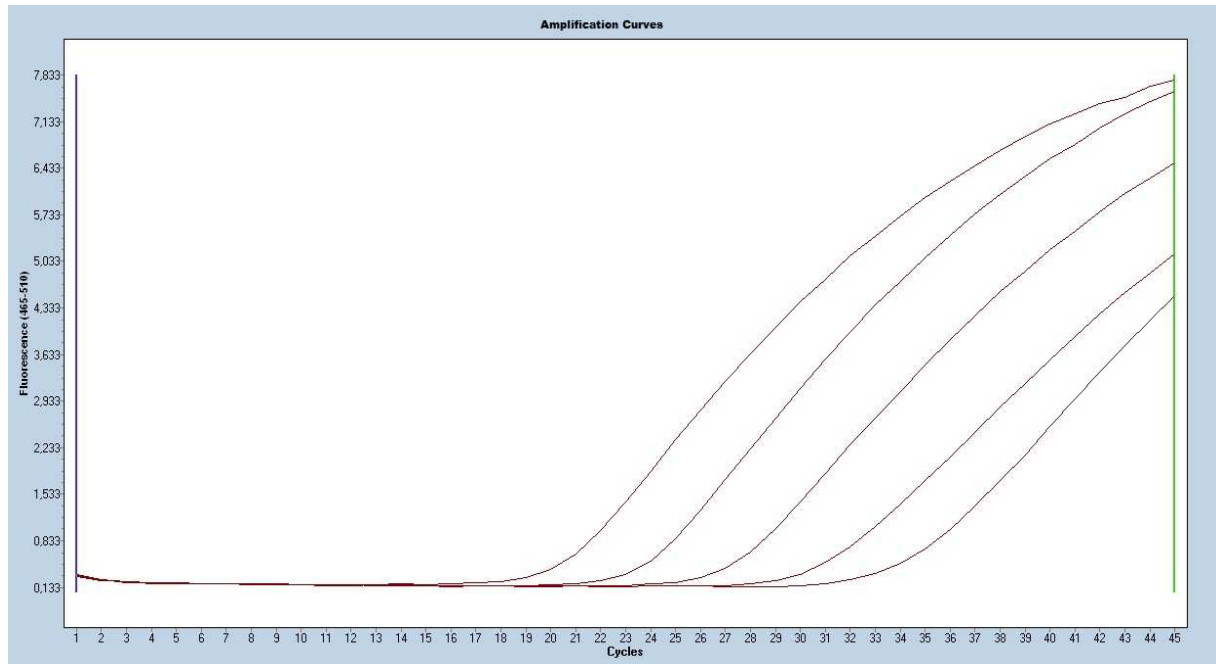


Fig. 4 : Série de dilutions pour *Mycoplasma hominis* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl) avec le LightCycler® 480II

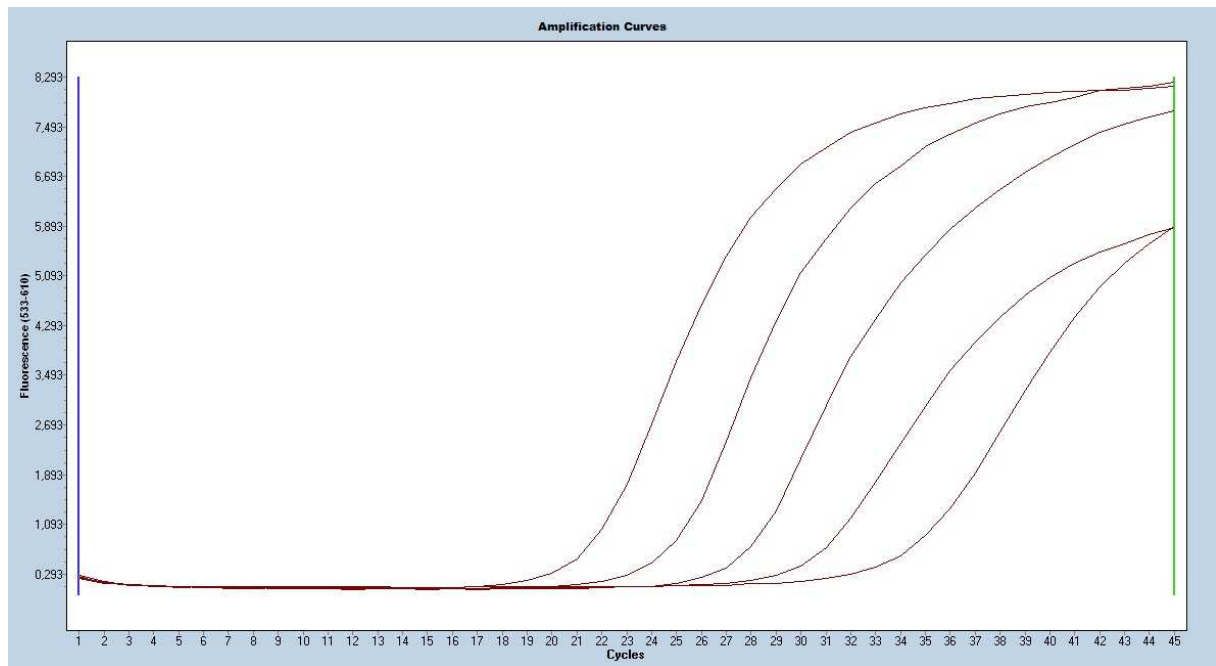


Fig. 5 : Série de dilutions pour *Ureaplasma urealyticum/parvum* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl) avec le LightCycler® 480II

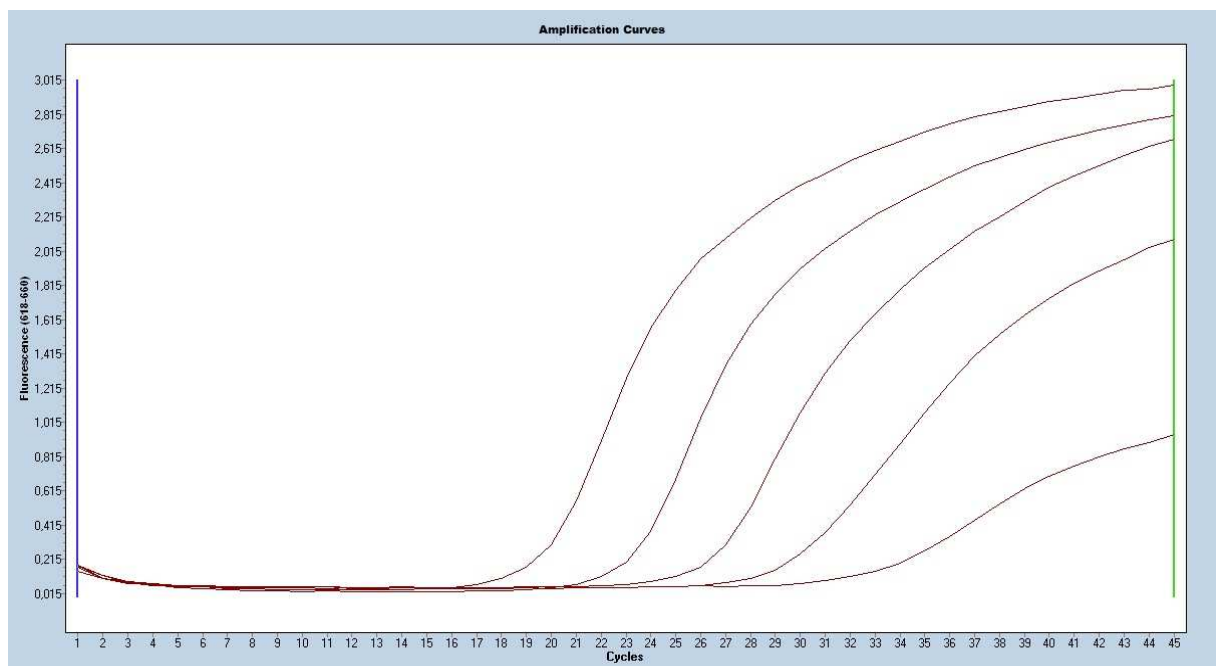


Fig. 5 : Série de dilutions pour *Mycoplasma genitalium* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl) avec le LightCycler® 480II

La limite de détection de l'ensemble de la procédure dépend de la matrice de l'échantillon, de l'extraction de l'ADN et de la concentration de l'ADN.

13.2 Spécificité analytique

La spécificité analytique du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel est spécifique pour *M. hominis*, *U. urealyticum/parvum* et *M. genitalium*. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 12) :

Tableau 12 : Test de la réactivité croisée

<i>Candida albicans</i>	-	VHS 1	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Candida glabrata</i>	-	VHS 2	-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	VPH 6b	-	<i>Proteus mirabilis</i>	-	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	VPH 16	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-
<i>E. coli</i>	-	VPH 18	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Treponema pallidum	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Mycoplasma fermentans</i>	-	<i>Serratia marcescens</i>	-		

13.3 Réactivité analytique

La réactivité du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel a été évaluée par rapport à plusieurs sous-types de *Mycoplasma* et *Ureaplasma* (voir tableau 13). Les sous-types indiqués ci-dessous ont été détectés par le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel.

Tableau 13 : Test de la réactivité analytique










<i>Mycoplasma</i>			
<i>Mycoplasma hominis</i>			
Sérotype 3	+	Sérotype 5	+
<i>Mycoplasma genitalium</i>			
<i>Mycoplasma genitalium</i>	+		
<i>Ureaplasma</i>			
<i>Ureaplasma urealyticum</i> (sérotype 8)	+	<i>Ureaplasma parvum</i> (sérotype 1)	+

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2019-07-23	Révision générale 4. Contenu de la trousse 5. Instructions de conservation des réactifs 6. Autres réactifs et matériel nécessaires 7. Mesures de précaution 8. Prélèvement et conservation 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 12. Limites de la méthode 13. Performances 14. Historique des versions 15. Signification des symboles

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Diagnostic <i>in vitro</i> .
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Utiliser avant le
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

Sans objet

16. Bibliographie

1. Waites *et al.* Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005. 18(4): 757–789.
2. Ljubin-Sternak *et al.* Chlamydia trachomatis and Genital Mycoplasmas: Pathogens with an Impact on Human Reproductive Health. Journal of Pathogens, 2014. 2014:183167.
3. Advameg, Inc. Human Diseases and Conditions. 2019. <http://www.humanillnesses.com/Infectious-Diseases-He-My/Mycoplasma-Infections.html> (accessed 31.07.2019)
4. McGowin *et al.* Mycoplasma genitalium: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. PLoS Pathog. 2011. 7(5).
5. Robertson *et al.* Proposal of Ureaplasma parvum sp. nov. and emended description of Ureaplasma urealyticum (Shepard et al. 1974) Robertson et al. 2001. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2002, 52, 587–597.