

## MYCOPLASMA CONTROL

ceppi per il controllo di qualità  
*Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis*  
12 tests (REF 00900)

### CPB0390\_IT-2019-11

Esclusivamente per diagnostica *in vitro*, solo per uso professionale



#### 1 – USO PREVISTO

Il kit MYCOPLASMA CONTROL contiene ceppi di *Ureaplasma urealyticum* (U.u) e *Mycoplasma hominis* (M.h.) ed è designato per il controllo di qualità dei terreni per la diagnosi *in vitro* del Mycoplasma urogenitale (§8).

#### 2 - INTRODUZIONE

Il controllo di qualità dei metodi analitici è importante per il mantenimento della GCP (Good Clinical Practices). Il controllo di qualità in un laboratorio di microbiologia richiede l'uso di ceppi conosciuti. Questi microorganismi sono normalmente liofilizzati per prolungare la durata.

La determinazione dei mycoplasmi urogenitali in campioni clinici è un test di routine in laboratorio. Le principali specie isolate dal tratto urogenitale sono l'*Ureaplasma urealyticum* (Uu) ed il *Mycoplasma hominis* (Mh). Questi batteri sono presenti come organismo commensali, ma in natura possono anche essere patogenici.

#### 3 - PRINCIPIO

I Mycoplasmi sono germi fragili privi di parete cellulare e richiedono fattori di crescita. I ceppi di U.u e M.h. liofilizzati sono prodotti da un brodo arricchito di Mycoplasma che contiene eccipienti per proteggere il microorganismo durante il processo di liofilizzazione.

#### 4 - REAGENTI

**MYCOPLASMAU.u:** 6 flaconi contenenti il ceppo di *U. urealyticum* liofilizzato.

**MYCOPLASMAM.h:** 6 flaconi contenenti ceppo di *M. hominis* liofilizzato.

Ciascun flacone contiene coltura liofilizzata (brodo mycoplasmi, siero fetale, mannitolo e antibiotici). I ceppi di U.u e di M.h. sono stati isolati da campioni clinici e caratterizzati in accordo ai metodi standard (§10).

#### 5 - PRECAUZIONI

I reagenti in questo kit sono da intendersi solamente per uso *in vitro* e devono essere maneggiati solo da personale autorizzato.

I reagenti sono potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati con attenzione e osservando le regole igieniche e la regolamentazione per questo tipo di prodotti nel paese di utilizzo.

Il flacone MYCOPLASMA M.h contiene 2 gruppi di batteri (*M. hominis*) e deve essere maneggiato con attenzione. **RISCHIO di contaminazione da agente biologico.**

Non usare i ceppi dopo la data di scadenza.

Non usare ceppi che sono stati danneggiati o che non sono stati conservati in modo appropriato prima dell'uso.

Dopo l'apertura del kit, rimuovere dal frigorifero solo i reagenti richiesti. I ceppi U.u e M.h sono **sensibili al calore e alle variazioni di temperature.**

#### 6 - PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

I ceppi stoccati a 2-8°C nella loro confezione originale, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sul kit.

I ceppi di U.u e M.h nel flacone devono essere ricostituiti prima dell'uso (§8).

I ceppi rigenerati devono essere usati immediatamente o stoccati per un massimo di 24 ore a 2-8°C. Non congelare.

#### 7 - MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Pipette sterili
- Acqua distillata sterile
- Contenitore per rifiuti contaminati

#### 8 - METODO

Portare i reagenti a temperatura ambiente (18 - 25 °C) prima dell'uso.

Ricostituire il contenuto dell'U.u. o M.h. con 1 mL di acqua distillata sterile (sospensione batterica).

##### 8.1. MYCOFAST *Evolution* 2 / MYCOFAST US

Ricostituire il terreno UMMIyo (+ 2 mL UMMt) con il terreno UMMt (2 mL).

Inoculare il terreno rigenerato con una quantità definita di sospensione batterica (U.u o M.h) secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMACONTROL. Inoculare la galleria del MYCOFAST *Evolution* 2 (o MYCOFAST US) come segue:

- 100 µL del terreno UMM inoculato in ciascuno dei 10 pozzetti (o 7 pozzetti per MYCOFAST US)

- 50 µL di S.Mh nei pozzetti 9 e 10 (o 6 e 7 per MYCOFAST US).

- 2 gocce di olio paraffinato in ciascuno dei 10 pozzetti (o 7 pozzetti per MYCOFASTUS).

Incubare la galleria a 37°C +/- 1°C per 24 ore e interpretare confrontando con i risultati attesi:

	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>5</sup>	DOX	ROX	OFX	L	SXT	E	>10 <sup>4</sup>
Ceppo U.u	+	+	+/+	-	-	+/+	+	+	-	-
Ceppo M.h	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+

Per il metodo MYCOFAST Screening xp si consiglia di seguire le istruzioni descritte al paragrafo § 8.1, inoculando la galleria MYCOFAST *Evolution* 2 tray dopo aver conservato il brodo inoculato per 24 ore a 2-8 °C.

##### 8.2. MYCOFAST *Evolution* 3

Ricostituire il terreno UMMIyo (+ 3 mL UMMt) con il terreno UMMt (3 mL).

Inoculare il terreno rigenerato con una quantità definita di sospensione batterica (U.u o M.h) secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Inoculare la galleria del MYCOFAST *Evolution* 3 come segue:

- 100 µL di terreno inoculato UMM in ciascuno dei 20 pozzetti.

- 50 µL di S.Mh nei pozzetti 6 e 7

- 2 gocce di olio paraffinato in ciascuno dei 20 pozzetti.

Incubare la galleria a 37°C +/-1°C per 24 ore e interpretare confrontando con i risultati attesi:

	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	>10 <sup>5</sup>	L	SXT	E	>10 <sup>4</sup>
Ceppo U.u	+	+	+/+	+	+	-	-
Ceppo M.h	-	-	-	-	+	+	+

	DOX	PT	ROX	AZM	JM	CIP	OFX
Ceppo U.u	S	S	S	S	S/I	R	I/R
Ceppo M.h	S	S	R	R	S	S	S

Per il metodo MYCOFAST Screening *Evolution* 3 si consiglia di seguire le istruzioni descritte al paragrafo § 8.2, inoculando la galleria MYCOFAST *Evolution* 3 tray dopo aver conservato il brodo inoculato per 24 ore a 2-8 °C.

##### 8.3. MYCOFAST *Revolution*

Inoculare il terreno UMMt (3 mL) con una quantità definita di sospensione batterica (U.u o M.h) secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Inoculare la galleria del MYCOFAST *Revolution* come segue:

- 100 µL di terreno inoculato UMMt in ciascuno dei 20 pozzetti.

- 50 µL di S.Mh nei pozzetti 6 e 7

- 2 gocce di olio paraffinato in ciascuno dei 20 pozzetti.

Incubare la galleria a 37°C +/-1°C per 24 ore e interpretare confrontando con i risultati attesi:

	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	>10 <sup>5</sup>	L	SXT	E	>10 <sup>4</sup>
Ceppo U.u	+	+	+/+	+	+	-	-
Ceppo M.h	-	-	-	-	+	+	+

	LVX	MXF	E	CM	TE
Ceppo U.u	S/R	S	S	+	S/R
Ceppo M.h	S	S	+	S	S

##### 8.4. MYCOFAST *Revolution* 2

Inoculare un terreno UMMt (3 mL) con una quantità di sospensione batterica (U.u o M.h) determinata secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMA CONTROL. Inoculare la galleria MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL di terreno UMMt seminato nei 24 pozzetti

- 2 gocce di olio minerale nei 24 pozzetti

Incubare il rack a 37 ° C +/- 1 ° C per 24 ore e interpretare in relazione ai risultati previsti di seguito:

##### MYCOFAST *Revolution* 2

	U.u 10 <sup>3</sup>	U.u 10 <sup>4</sup>	U.u ≥10 <sup>5</sup>	M.h ≥10 <sup>2</sup>	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
Ceppo U.u	+	+	+/-	NA	S/R	S	S	S/R	S	NA
Ceppo M.h	NA	NA	NA	+	S	S	NA	S	S	S

##### 8.5. MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES

Inoculare un terreno UMMt AMIES (2,6 mL) con una quantità di sospensione batterica (U.u o M.h) determinata secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMA CONTROL.

Inoculare la galleria MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL di terreno UMMt seminato nei 24 pozzetti

- 2 gocce di olio minerale nei 20 pozzetti Incubare la galleria a 37 ° C +/- 1 ° C per 24 ore e interpretare in relazione ai risultati attesi identici a quelli di (§ 8.4).

##### 8.6. MYCOFAST *Revolution* ATB+

Inoculare un terreno UMMt (3 mL) con una quantità di sospensione batterica (U.u o M.h) determinata secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMA CONTROL.

Inoculare la galleria ATB + di MYCOFAST *Revolution*:

- 100 µL di terreno UMMt seminato nei 24 pozzetti

- 2 gocce di olio minerale nei 24 pozzetti

Incubare il rack a 37 ° C +/- 1 ° C per 24 ore e interpretare in relazione ai risultati previsti di seguito:

##### MYCOFAST *Revolution* ATB+

	U.u 10 <sup>3</sup>	U.u 10 <sup>4</sup>	U.u ≥10 <sup>4</sup>	LVX	MXF	TET	ERY	CLI	TEL
Ceppo U.u	+	+	-	S/R	S	S/R	S	R	S
Ceppo M.h	-	-	+	S	S	S	R	S	S/R

	ROX	PRI	JOS	OFX	MIN
Ceppo U.u	S	S	S	R	S
Ceppo M.h	R	S	S	S	S

##### 8.7. MYCOFAST Screening *Revolution* :

Inoculare un terreno UMMt (3 mL) con una quantità di sospensione batterica (U.u o M.h) determinata secondo la diluizione indicata sull'etichetta del kit MYCOPLASMA CONTROL. Inoculare la galleria *Revolution* Screening MYCOFAST:

- 100 µL di terreno UMMt seminato nei pozzetti U.u e M.h

- 50 µL di S.Mh nel pozzo M.h

- 2 gocce di olio minerale nei pozzetti U.u e M.h

Incubare il rack a 37 ° C +/- 1 ° C per 24 ore e interpretare in relazione ai risultati previsti di seguito:

	U.u	M.h
Ceppo U.u	+	-
Ceppo M.h	-	+

Continuare la diagnosi con MYCOFAST *Revolution* COMPLEMENT (00062) o MYCOFAST *Revolution* ATB + COMPLEMENT (00073) o MYCOFAST *Revolution* 2 COMPLEMENT (00082) inoculando MYCOFAST *Revolution* - *Revolution* ATB + come sopra (§ 8.3 - 8.4 - 8.5 - 8.6) con il mezzo inoculato rimanente, tenuto 24 ore a 2-8 ° C durante lo screening.

##### 8.8. MYCOPLASMA IST2 :

Seguire il protocollo descritto nelle istruzioni del produttore. Diluire la sospensione batterica (U.u o M.h) nel terreno di coltura secondo la diluizione indicata in etichetta del kit MYCOPLASMACONTROL. Dopo 24 ore di incubazione a 37°C +/- 1°C interpretare il test confrontandolo con i risultati attesi, vedi sotto:

	U.u	M.h	U.u>10 <sup>4</sup>	M.h>10 <sup>4</sup>	DOT	J	OFL
Ceppo U.u	+	-	+	-	S	S/I	I/R
Ceppo M.h	-	+	-	+	S	S	S

	E	TET	CIP	AZM	CLA	PRI
Ceppo U.u	S/I	S	R	S/I	S	S
Ceppo M.h	R	S	S	R	R	S

## 9 – LIMITI / CAUSE DI ERRORI

In caso di inappropriata incubazione dovuta a temperatura inferiore a 36°C o non costante (frequenti aperture dell'incubatore, disomogeneità di temperatura all'interno dell'incubatore, etc), l'incubazione può essere prolungata per ulteriori 2 – 4 ore.

Inappropriata conservazione dei ceppi durante la spedizione o lo stoccaggio,

Non rispetto del protocollo

Uso delle gallerie o dei terreni dopo la data di scadenza.

## 10 – CARATTERISTICHE - PERFORMANCE

### 10-1 Identificazione / Purezza

Il U.u e M.h sono stati identificati su piastre di agar A7 e nel terreno U9 per U.u e nel terreno Hayflick oer M.h. Non c'è cross-contaminazione tra i ceppi U.u. e M.h. Inoltre non c'è contaminazione batterica o micologica su piastre di agar Columbia o Sabouraud.

### 10-2 Numerazione

L'U.u. e M.h. sono state enumerate in un terreno liquido usando un metodo di riferimento (terreno U9 per U.u e Shepard per M.h). I risultati ottenuti in differenti gallerie concordano con i risultati attesi.

### 10-3 Test di suscettibilità antibatterica.

I risultati di suscettibilità antibatterica ottenuti con l'U.u e M.h. nelle diverse gallerie concordano con la concentrazione inibitoria minima (MIC) nel terreno liquido.

### 10-4 Ripetibilità e Riproducibilità

Sudi eseguiti con due diversi lotti di U.u. e M.h., per il controllo del MYCOFAST *Evolution* 3 hanno dimostrato una ripetibilità del 100% e una riproducibilità del 100% intra e inter lotti.

Studi eseguiti testando 10 differenti lotti di gallerie di MYCOFAST *Evolution* 2, MYCOFAST *Evolution* 3, UMMIyo (2 mL) e UMMIyo (3 mL), hanno dimostrato che c'è un'omogeneità nei risultati con i ceppi U.u e M.h

## 11 – ELIMINAZIONE DEI RIFIUTI

I rifiuti devono essere eliminati in accordo alle norme igieniche e le normative per questo tipo di prodotti nel paese di utilizzo.

## 12 - BIBLIOGRAFIA

**Document Cofrac Lab GTA06. Révision 00 - Juillet 2005.** Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. § 10.3.1. Contrôle de Qualité en Bactériologie.

**Ridgway, G. L., Bébéar, C., Bébéar, C. M. et al. 2001.** Antimicrobial susceptibility testing of intracellular and cell-associated pathogens. EUCAST Discussion Document E.

Dis 6.1. / **Waites, K.B., C.M. Bébear, J.A. Robertson, D.F. Talkington, and G.E.**

**Kenny. 2001.** Cumitech 34, Laboratory Diagnosis of mycoplasmal infections.

Coordinating ed., F.S. Nolte. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziate in grigio.



ELITech MICROBIO  
Parc d'activités du Plateau  
Allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
Tél. : 33 (0)4 94 88 55 00  
Fax : 33 (0)4 94 32 82 61