

MYCOPLASMA CONTROL

Ureaplasma urealyticum i *Mycoplasma hominis*
sojevi za kontrolu kvaliteta voor
12 testova (REF 00900)

CPB 0390-BS-2019-11

Samo za *in vitro* dijagnostiku, isključivo za profesionalnu uporabu

1 - UPOTREBA

Kit MYCOPLASMA CONTROL sadrži sojeve *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) i *Mycoplasma hominis* (M.h.) koji su dizajnirani za kontrolu kvaliteta tečne *in vitro* dijagnostičke metode za urogenitalne mycoplasme (§8).

2 - UPUTSTVO

Kontrola kvaliteta je važan metod, kao podrška dobre kliničke laboratorijske prakse. Kontrola kvaliteta u mikrobiološkim laboratorijama zahteva upotrebu poznatih sojeva. Da bi duže bili sačuvani takvi mikroorganizmi se često liofilizuju. Detekcija urogenitalnih mycoplasmy u kliničkim uzorcima je rutinski laboratorijski test. *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) i *Mycoplasma hominis* (M.h.) se često izoluju iz urogenitalnog trakta. One su deo fiziološke flore, ali mogu biti i patogene.

3 - PRINCIP

Mycoplasme su osetljivi mikrobi bez ćelijskog zida, koji zahtevaju faktore rasta. Liofilizovani sojevi U.u. i M.h. su proizvedeni u obogaćenom mikoplasma bujonu koji sadrži sredstva za zaštitu mikroorganizama tokom procesa liofilizacije.

4 - REAGENSI

MYCOPLASMA U.u.: 6 bočica sadrži liofilizovani soj *U.urealyticum*.

MYCOPLASMA M.h.: 6 bočica sadrži liofilizovani soj *M.hominis*.

Svaka bočica, sadrži liofilizovane kulture medijuma (mikoplasma bujon, konjski serum, manitol i antibiotike). U.u. i M.h. sojevi su izolovani iz kliničkih uzoraka i određeni prema standardnim metodama (§10).

5 - UPOZORENJE

Reagensi iz ovog kita su namenjeni isključivo za *in vitro* upotrebu i sa njima mora rukovati obučeno osoblje. Reagensi su potencijalno infektivni i sa njima se mora rukovati pažljivo uz uobičajene higijenske mere i važeća pravila za tu vrstu proizvoda.

MYCOPLASMA M.h. bočice sadrže bakteriju *M.hominis* i moraju se obradivati pažljivo!
Rizik od kontaminacije biološkim agensom!
Ne upotrebljavati sojeve posle isteka roka.

Ne upotrebljavati sojeve koji su oštećeni ili loše čuvani pre upotrebe.

Posle otvaranja pakovanja iz frizidera izvaditi samo reagense.U.u. i M.h.sojevi su **osetljivi na toplotu i varijacije temperature.**

6 - PRIPREMA I ČUVANJE REAGENASA

- Sojevi čuvani na 2-8 °C u originalnom pakovanju su stabilni do isteka roka naznačenog na pakovanju.

- Bočice sa U.u. i M.h. sojevima se moraju (napraviti) spremite pre upotrebe (§8).

- Spremljeni sojevi se moraju upotrebiti odmah,ili ostaviti maksimalno 24h na 2-8 °C. Ne zamrzavati.

7 - POTREBAN MATERIJAL KOJI NIJE OBEZBEDJEN

Sterilne pipete.

Sterilna destilovana voda.

Kontejner za uklanjanje kontaminiranog otpada.

8 - METOD

Pre upotrebe reagense ostaviti na sobnoj temperaturi (18-25 °C). Resuspendovati bočice U.u. ili M.h. sa 1 mL sterilne destilovane vode (bakterijska suspenzija).

8.1. MYCOFAST *Evolution* 2 / MYCOFAST US

Regenerisati UMMIyo (+ 2 mL UMMt) medijum sa UMMt (2 mL) medijumom. Ovaj regenerisani medijum inokulisati sa definisanom količinom bakterijske suspenzije (U.u. ili M.h.) koristeći razblaženje dato na nalepnici MYCOPLASMA CONTROL kita. Inokulisati MYCOFAST *Evolution* 2 test (ili MYCOFAST US) na sledeći način:

- 100µL inokulisano UMM medijuma u svako od 10 polja (ili 7 polja za MYCOFAST US)
- 50µL S.Mh u polja 9 i 10 (ili 6 i 7 za MYCOFAST US).
- 2 kapi parafinskog ulja u svako od 10 polja (ili 7 polja za MYCOFAST US).

Inokulisati test na 37 °C ±1 °C i interpretirati poredeći sa očekivanim rezultatom :

	10 ³	10 ⁴	≥10 ⁵	DOX	ROX	OFX	L	SXT	E	≥10 ⁴
U.u.- Soj	+	+/+	+	-	-	-/+	+	+	-	-
M.h.- Soj	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+

Za MYCOFAST Screening xp metod slediti instrukcije opisane u §8.1, MYCOFAST *Evolution* 2 test inokulisati nakon 24h čuvanja na temperaturi od 2-8 °C.

8.2. MYCOFAST *Evolution* 3

Regenerisati UMMIyo (+ 3 mL UMMt) medijum sa UMMt (3 mL) medijumom. Regenerisani medijum inokulisati sa definisanom količinom bakterijske suspenzije (U.u. ili M.h.) koristeći razblaženje dato na nalepnici MYCOPLASMA CONTROL kit. Inokulisati MYCOFAST *Evolution* 3 test na sledeći način:

- 100µL inokulisano UMM medijuma u svako od 20 polja
- 50µL S.Mh u polja 6 i 7
- 2 kapi parafinskog ulja u svaki od 20 otvora.

Inkubirati test na 37 °C +/- 1 °C 24h i interpretirati upoređujući sa očekivanim rezultatom:

	10 ³	10 ⁴	≥10 ⁵	L	SXT	E	≥10 ⁴
U.u.- Soj	+	+	+/+	+	+	-	-
M.h.- Soj	-	-	-	-	+	+	+

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

Za MYCOFAST Screening *Evolution* 3 metod slediti instrukcije date u § 8.2, MYCOFAST *Evolution* 3 test, inokulisati nakon 24h čuvanja na temperaturi od 2-8 °C.

8.3. MYCOFAST *Revolution*

Inokulisati UMMt (3mL) medijum sa definisanom količinom bakterijske suspenzije (U.u. ili M.h.) koristeći razblaženje dato na nalepnici MYCOPLASMA CONTROL kit. Inokulisati MYCOFAST *Revolution* test na sledeći način:

- 100µL inokulisano UMMt medijuma u svako od 20 polja
- 50µL S.Mh u polje 6 i 7
- 2 kapi mineralnog ulja u svako od 20 polja

Inkubirati test na 37 °C +/- 1 °C 24h i interpretirati upoređujući sa očekivanim rezultatom.

	10 ³	10 ⁴	≥10 ⁵	L	SXT	E	≥10 ⁴
U.u.- Soj	+	+	+/+	+	+	-	-
M.h.- Soj	-	-	-	-	+	+	+

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

8.4. MYCOFAST *Revolution* 2

Inokulirajte UMMt medijum (3 mL) s količinom bakterijske suspenzije (U.u ili M.h.) koja je određena u skladu s razrjeđivanjem navedenim na nalepnici kompleta MYCOPLASMA CONTROL.

Inokulirajte galeriju MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL medijuma UMMt zasijano je u 24 bušotine

- 2 kapi mineralnog ulja u 24 bušotine

Inkubirajte stalak na 37 °C +/- 1 °C tokom 24 sata i interpretirajte u odnosu na očekivane rezultate u nastavku:

	U.u 10 ³	U.u 10 ⁴	U.u ≥10 ⁵	M.h ≥10 ⁴	LVX	MXF	ERY	TET	DOX	CLI
U.u.- Soj	+	+	+/+	NA	S/R	S	S	S/R	S	NA
M.h.- Soj	NA	NA	NA	+	S	S	NA	S	S	S

8.5. MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES

Inokulirajte UMMt AMIES medijum (2,6 ml) s količinom bakterijske suspenzije (U.u ili M.h.) koja je određena u skladu s razrjeđivanjem navedenim na nalepnici kompleta MYCOPLASMA CONTROL.

Inokulirajte galeriju MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL medijuma UMMt zasijano je u 24 bušotine

- 2 kapi mineralnog ulja u 20 jažica Inkubirajte galeriju na 37 °C +/- 1 °C tokom 24 sata i interpretirajte u odnosu na očekivane rezultate identične onima iz (§ 8.4).

8.6. MYCOFAST *Revolution* ATB+

Inokulirajte UMMt medijum (3 mL) s količinom bakterijske suspenzije (U.u ili M.h.) koja je određena u skladu s razrjeđivanjem navedenim na nalepnici kompleta MYCOPLASMA CONTROL.

Inokulirajte galeriju MYCOFAST *Revolution* ATB +:

- 100 µL medijuma UMMt zasijano je u 24 bušotine

- 2 kapi mineralnog ulja u 24 bušotine

Inkubirajte stalak na 37 °C +/- 1 °C tokom 24 sata i interpretirajte u odnosu na očekivane rezultate u nastavku:

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

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

8.7. MYCOFAST Screening *Revolution*:

Inokulirajte UMMt medijum (3 mL) s količinom bakterijske suspenzije (U.u ili M.h.) koja je određena u skladu s razrjeđivanjem navedenim na nalepnici kompleta MYCOPLASMA CONTROL. Inokulirajte galeriju MYCOFAST Screening *Revolution*:

- 100 uL UMMt medija zasijano u jažice U.u i M.h

- 50 uL S.Mh u bunaru M.h

- 2 kapi mineralnog ulja u bunarima U.u i M.h

Inkubirajte stalak na 37 °C +/- 1 °C tokom 24 sata i interpretirajte u odnosu na očekivane rezultate u nastavku.

	U.u	M.h
U.u.- Soj	+	-
M.h.- Soj	-	+

Nastavite dijagnozu sa MYCOFAST *Revolution* COMPLEMENT (00062) ili MYCOFAST *Revolution* ATB + COMPLEMENT (00073) ili MYCOFAST *Revolution* 2 COMPLEMENT (00082) inokuliranjem MYCOFAST *Revolution* ili *Revolution* ATB + ili *Revolution* 2 kao gore (§ 8.3 - 8.4 - 8.5 - 8.6) s preostalim inokuliranim medijumom, drže se 24 sata na 2-8 °C tokom probira.

8.8. MYCOPLASMA IST2

Slediti protokol opisan u uputstvu proizvođača. Razblaženje bakterijske suspenzije (U.u. ili M.h.) u kulturi medija, uraditi koristeći razblaženje dato na nalepnici MYCOPLASMA CONTROL kit. Nakon inkubacije od 24h na 37 °C +/- 1 °C, interpretirati test poredeći sa očekivanim rezultatima.

	U.u.	M.h.	U.u. ≥10 ⁴	M.h. ≥10 ⁴	DOT	J	OFL
U.u.- Soj	+	-	+	-	S	S/I	I/R
M.h.- Soj	-	+	-	+	S	S	S

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

9 - UZROCI GREŠKE

• U slučaju ne-konstantne ili <36 °C temperature inkubacije (često otvaranje inkubator, heterogenost temperature u inkubatoru, ...) inkubacija može se nastaviti još 2 do 4 sata.

• Neadekvatno čuvanje sojeva tokom isporuke ili skladištenja.

• Ne poštovanje protokola.

Upotreba posle isteka roka testova ili medijuma

10 - KARAKTERISTIKE

10-1 Identifikacija/ *Cistoca*

U.u. i M.h. SU identifikovane na A7 agaru i U9 medijumu-U.u. i Hayflick medijumu-M.h. Ne postoji ukrštena kontaminacija između U.u. i M.h. sojeva. Štaviše ne postoji bakterijska niti gljivična kontaminacija na Columbia ili Sabouraud agaru.

10-2 Brojnost

U.u. i M.h. SU izbrojane u tečnom medijumu koriscenjem referentne metode (U9 medijum za U.u. i Shepard medijum za M.h.). Rezultati dobijeni u različitim testovima slažu se sa očekivanim rezultatima.

10-3 Test osetljivosti

Rezultati testova osetljivosti (antibiograma) uradjeni sa U.u. i M.h. u različitim testovima slažu se sa minimalnim inhibitornim koncentracijama (MIC) u tečnom medijumu.

10-4 Mogućnost ponavljanja i reprodukcije

Studije uradjene sa dve različite serije U.u. i M.h.za kontrolu MYCOFAST *Evolution* 3, pokazuju 100% ponovljivost i 100% reproducibilnost unutar i izmedju serija.

Studije uradjene sa 10 različitih serija za testiranje MYCOFAST *Evolution* 2; MYCOFAST *Evolution* 3; UMMlyo (2mL) i UMMlyo (3mL) pokazuju istovetnost sa rezultatima sa U.u. i M.h.sojeva.

11 - UKLANJANJE OTPADA

Otpad mora biti uklonjen u skladu sa higijenskim merama i važećim pravilima za tu vrstu proizvoda

12 - LITERATURA

Document Cofrac Lab GTA06. Revisie 00 - juli 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. Bébéar, 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.

Izvršene promjene Verzije u odnosu na prethodnu verziju su istaknute u sivoj boji.



ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00
Fax: 33 (0)4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>