

MYCOPLASMA CONTROL

Stammen voor kwaliteitscontrole *Ureaplasma urealyticum* en *Mycoplasma hominis* 12 testen (REF 00900)

CPB 0390-DU-2019-11

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik.

1 - DOEL

De MYCOPLASMA CONTROL-kit bevat stammen van *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) en *Mycoplasma hominis* (M.h.) die zijn ontworpen voor kwaliteitscontrole van op de markt gebrachte vloeibare methoden (§8) voor de diagnose van urogenitale mycoplasma's.

2 - INLEIDING

De kwaliteitscontrole van kwalitatieve analysemethoden is belangrijk voor de monitoring van goede laboratoriumpraktijken bij medische analyses. De laboratoriumtests voor microbiologie vereisen het gebruik van bekende stammen. Deze micro-organismen worden meestal geleverd in gelyofiliseerde vorm waardoor een lange conservering mogelijk is.

De opsporing van urogenitale mycoplasma's in klinische monsters is een routinelaboratoriumtest. De twee belangrijkste uit het urogenitale kanaal geïsoleerde soorten zijn *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) en *Mycoplasma hominis* (M.h.). Deze bacteriën zijn in commensale staat aanwezig, maar kunnen zich als echte pathogenen gedragen.

3 - PRINCIPE

Mycoplasma's zijn fragiele, wandloze kiemen met hoge groeivereisten. De gelyofiliseerde U.u.- en M.h.-stammen worden gemaakt van een cultuur in verrijkte mycoplasma bouillon met excipiënten om micro-organismen te beschermen tijdens de verschillende stadia van de lyofilisatie.

4 - REAGENTIA

MYCOPLASMA U.u.: 6 flacons van U.u.-stam in gelyofiliseerde vorm

MYCOPLASMA M.h.: 6 flacons van M.h.-stam in gelyofiliseerde vorm

Elke flacon bevat het kweekmedium in gelyofiliseerde vorm (mycoplasma bouillon, veulenserum, mannitol en antibiotica). De U.u.- en M.h.-stammen werden geïsoleerd uit klinische monsters en gekarakteriseerd volgens referentiemethoden (§10).

5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

De flacons in deze kit zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd.

De flacons bevatten besmettelijk materiaal en moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen, met inachtneming van de geldende hygiënevoorschriften en wetgeving voor dit type product in het land van gebruik.

De MYCOPLASMA M.h.-flacons bevatten bacteriën uit groep 2 (*M. hominis*) en dienen met zorg te worden gehanteerd. **Risico op contaminatie door een biologisch agens.**

Gebruik de stammen niet langer dan de vervaldatum.

Gebruik geen slecht geconserveerde of beschadigde stammen.

Haal na de eerste opening van de kit alleen de benodigde flacons uit de koelkast. De U.u.- en M.h. stammen zijn **gevoelig voor warmte en temperatuurvariaties.**

6 - BEREIDING EN CONSERVERING VAN REAGENTIA

De stammen die bij 2-8 °C in hun oorspronkelijke staat worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum.

De flacons van U.u.- en M.h.-stammen moeten vóór gebruik worden gereconstitueerd (§8).

De geregenereerde stammen moeten onmiddellijk worden gebruikt of maximaal 24 uur bij 2-8 °C worden opgeslagen. Zij kunnen niet worden bevroren.

7 - BENODIGD, MAAR NIET

MEEGELEVERD MATERIAAL

- Steriele pipetten
- Steriel gedestilleerd water
- Containers voor verontreinigd afval

8 - WERKWIJZE

Balanceer de reagentia op kamertemperatuur (18-25 °C).

Vervang de inhoud van één flacon van U.u.- of M.h.-stam door 1 mL steriel gedestilleerd water (bacteriële suspensie).

8.1. MYCOFAST *EvolutioN 2* / MYCOFAST *US*

Regeneer een UMMIyo-medium (+ 2 mL UMMt) met een UMMt-medium (2 mL). Inoculeer dit geregenereerde medium met een hoeveelheid bacteriële suspensie (U.u. of M.h.), bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit. Ga verder met de inoculatie van de galerij MYCOFAST *EvolutioN 2* (of MYCOFAST *US*): 100 µL van UMM-medium geïnoculeerd in de 10 putjes (of 7 putjes voor MYCOFAST *US*)

- 50 µL van S.Mh in de putjes 9 en 10 (of putjes 6 en 7 voor MYCOFAST *US*).

2 druppels minerale olie in de 10 putjes (of 7 putjes voor MYCOFAST *US*). Incubeer de galerij bij 37 °C +/- 1 °C gedurende 24 uur en interpreteer ten opzichte van de verwachte resultaten hieronder:

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

Voor de methode MYCOFAST Screening xp gaat u te werk zoals hierboven (§ 8.1) door de galerij MYCOFAST *EvolutioN 2* te inoculeren na opslag van 24 uur bij 2-8 °C van het geïnoculeerde medium.

8.2. MYCOFAST *EvolutioN 3*

Regeneer een UMMIyo-medium (+ 3 mL UMMt) met een UMMt-medium (3 mL).

Inoculeer dit geregenereerde medium met een hoeveelheid bacteriële suspensie (U.u. of M.h.), bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit. Ga verder met het inoculeren van de galerij MYCOFAST *EvolutioN3*:

- 100 µL van geïnoculeerd UMM-medium in de 20 putjes
- 50 µL van S.Mh in de putjes 6 en 7
- 2 druppels minerale olie in de 20 putjes

Incubeer de galerij bij 37 °C +/- 1 °C gedurende 24 uur en interpreteer ten opzichte van de verwachte resultaten hieronder:

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

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

Voor de methode MYCOFAST Screening *EvolutioN 3* gaat u te werk zoals hierboven (§ 8.2) door de galerij MYCOFAST *EvolutioN 3* te inoculeren na opslag van 24 uur bij 2-8 °C van het geïnoculeerde medium.

8.3. MYCOFAST *RevolutioN*

Inoculeer een UMMt-medium (3 mL) met een hoeveelheid bacteriële suspensie (U.u. of M.h.), bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit. Ga verder met het inoculeren van de galerij MYCOFAST *RevolutioN*:

- 100 µL van geïnoculeerd UMMt-medium in de 20 putjes
- 50 µL van S.Mh in de putjes 6 en 7
- 2 druppels minerale olie in de 20 putjes

Incubeer de galerij bij 37 °C +/- 1 °C gedurende 24 uur en interpreteer ten opzichte van de verwachte resultaten hieronder:

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

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

8.4. MYCOFAST *RevolutioN 2*

Inoculeer een UMMt-medium (3 ml) met een hoeveelheid bacteriesuspensie (U.u. of M.h.) bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit.

Inoculeer de MYCOFAST *RevolutioN 2* galerij:

- 100 ul UMMt-medium in de 24 putjes gezaaid
- 2 druppels minerale olie in de 24 putten

Incubeer het rek gedurende 24 uur bij 37 °C +/- 1 °C en interpreteer in relatie tot de verwachte resultaten hieronder:

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

8.5. MYCOFAST *RevolutioN 2* AMIES

UMMt AMIES millium inoculum (2,6 ml) plus kwantitatieve bacteriesuspensie (U.u. of M.h) bepalen de keuze van de verdunningsindices voor de MYCOPLASMA CONTROL-koffiekamer.

Inoculeer de MYCOFAST *RevolutioN 2* galerij:

- 100 µL millium UMMt gezaaid in de 24 putjes
- 2 druppels minerale olie in de 24 putjes Incubeer de galerij gedurende 24 uur bij 37 °C +/- 1 °C en geïnterpreteer in relatie tot de attent resultaten identiek aan die van (§ 8.4).

8.6. MYCOFAST *RevolutioN* ATB+

Inoculeer een UMMt-medium (3 ml) met een hoeveelheid bacteriesuspensie (U.u. of M.h) bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit.

Inoculeer de MYCOFAST *RevolutioN* ATB + galerij:

- 100 ul UMMt-medium in de 24 putjes gezaaid
- 2 druppels minerale olie in de 24 putten
- Incubeer het rek gedurende 24 uur bij 37 °C +/- 1 °C en interpreteer in relatie tot de verwachte resultaten hieronder:

	MYCOFAST <i>RevolutioN</i> ATB+									
	U.u 10 ³	U.u 10 ⁴	U.u ≥10 ⁴	LVX	MXF	TET	ERY	CLI	TEL	
U.u.-stam	+	+	-	S/R	S	S/R	S	R	S	
M.h.-stam	-	-	+	S	S	S	R	S	S/R	

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

8.7. MYCOFAST Screening *RevolutioN*:

Inoculeer een UMMt-medium (3 ml) met een hoeveelheid bacteriesuspensie (U.u. of M.h) bepaald volgens de verdunding aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMA CONTROL-kit. Inoculeer de MYCOFAST Screening *RevolutioN*-galerij:

- 100 µL UMMt-medium geënt in de U.u.- en M.h.-putjes
- 50 µl S.Mh in de M.h.-put
- 2 druppels minerale olie in de putjes U.u en M.h

Incubeer het rek gedurende 24 uur bij 37 °C +/- 1 °C en interpreteer in relatie tot de verwachte resultaten hieronder:

	U.u	M.h
Souche U.u	+	-
Souche M.h	-	+

Ga door met de diagnose met de MYCOFAST *RevolutioN* COMPLEMENT (00062) of de MYCOFAST *RevolutioN* ATB + COMPLEMENT (00073) of de MYCOFAST *RevolutioN 2* COMPLEMENT (00082) door een MYCOFAST *RevolutioN* of *RevolutioN* ATB + gallery of *RevolutioN 2* te enten zoals hierboven (§ 8.3 - 8.4 - 8.5 - 8.6) met het overblijvende geënte medium, gedurende 24 uur op 2-8 °C gehouden tijdens screening.

8.8. MYCOPLASMA IST2:

Volg het protocol dat wordt beschreven in de gebruiksaanwijzing van de fabrikant. Verdun de bacteriesuspensie (U.u of M.h) in hun kweekmedium volgens de verdunning aangegeven op het etiket van de MYCOPLASMACONTROL-kit. Interpreteer met betrekking tot de verwachte resultaten hieronder, na een incubatie van 24 uur bij 37 ° C +/- 1 °C:

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

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

9 - BEPERKINGEN/OORZAKEN VAN FOUTEN

- Bij een niet-constante incubatietemperatuur of een incubatietemperatuur van < 36 °C (frequente opening van broedstof, temperatuurheterogeniteit in de broedstof, ...) kan de incubatie verlengd worden met 2 tot 4 uur.
- Slechte opslag tijdens transport of opslag van stammen.
- Niet-naleving van het gebruikprotocol in het algemeen.
- Gebruik van verouderde controleapparatuur.

10 - KENMERKEN - PRESTATIES

10-1 Identificatie/zuiverheid: de U.u.- en M.h.-stammen werden geïdentificeerd op agar A7 en in U9-medium voor U.u. en in Hayflick-medium voor M.h. Er is geen contaminatie tussen de U.u.- en M.h.-stammen. Anderzijds is er geen bacteriële of mycologische besmetting op Columbia-agar en Sabouraud-agar.

10-2 Telling: de U.u.- en M.h.-stammen werden genummerd in vloeibaar medium met behulp van de referentiemethode in U9-medium voor U.u. en in Shepard-medium voor M.h. De resultaten verkregen met de verschillende galerijen zijn identiek.

10-3 Gevoeligheidstest voor antibiotica: de gevoeligheidstesten voor antibiotica verkregen met de U.u.- en M.h.-stammen vertonen een overeenkomst tussen de resultaten verkregen met de verschillende galerijen en de bepaling van minimaal remmende concentraties (MIC's) in vloeibaar medium.

10-4 Herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid: studies uitgevoerd met twee verschillende batches van U.u.- en M.h.-stammen voor de controle van MYCOFAST *Evolution* 3 toonden een intra- en inter-lot-herhaalbaarheid en -reproduceerbaarheid van 100 %. Studies uitgevoerd met de U.u.- en M.h.-stammen voor de controle van tien verschillende batches van de volgende reagentia: galerijen van MYCOFAST *Evolution* 2, MYCOFAST *Evolution* 3, UMMlyo-media (2 ml) en UMMlyo-media (3 ml) toonden homogeniteit in de resultaten.

11 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type reagentia geldende hygiënevoorschriften en wetgeving.

12 - BIBLIOGRAFIE

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 tes-ting 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.

