

MYCOPLASMA CONTROL

Cepas de control de calidad
Ureaplasma urealyticum et *Mycoplasma hominis*
12 tests (REF 00900)



CPB0390_ES-2019-11

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

1 – FINALIDAD

El estuche MYCOPLASMA CONTROL contiene cepas de *Ureaplasma urealyticum* (U.u) y *Mycoplasma hominis* (M.h) elaboradas para el control de calidad de los métodos líquidos comercializados (§8) destinado al diagnóstico de micoplasmas urogenitales.

2 – INTRODUCCIÓN

El control de calidad de los métodos de análisis cualitativo es importante para seguir las buenas prácticas de los laboratorios de análisis clínicos. El control en laboratorio de microbiología necesita el uso de cepas conocidas. Estos microorganismos son la mayoría de las veces proporcionados en formato liofilizados que permite una larga conservación. La detección de los micoplasmas urogenitales en muestra clínica es una prueba de rutina en laboratorio. Las principales especies aisladas del tracto urogenital son *Ureaplasma urealyticum* (Uu) y *Mycoplasma hominis* (M.h.). Estas bacterias están presentes como organismos comensales, pero pueden ser patógenos en la naturaleza.

3 – PRINCIPIO

Los micoplasmas son gérmenes frágiles desprovistos de pared y exigentes en factores de crecimiento. Las cepas U.u. y M.h. liofilizadas se producen a partir de un caldo de cultivo de micoplasmas enriquecido que contiene excipientes para proteger los micro-organismos durante las diferentes etapas de la liofilización.

4 – REACTIVOS

MYCOPLASMA U.u.: 6 frascos que contiene cepas liofilizadas *U. urealyticum*.

MYCOPLASMA M.h.: 6 frascos que contiene cepas liofilizadas *M. hominis*.

Cada frasco contiene el medio de cultivo liofilizado (caldo base para micoplasma, suero de caballo, manitol y antibióticos). Las cepas U.u. y M.h. fueron aisladas a partir de extracciones clínicas y caracterizadas según métodos de referencia (§10).

5 - PRECAUCIONES DE USO

Los frascos de este estuche son únicamente destinados a un diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados por personas habilitadas.

Los frascos contienen material infeccioso, deben ser manipulados con precauciones de uso respetando las reglas de higiene y la reglamentación vigente en el país de uso de este tipo de producto.

Los frascos MYCOPLASMA M.h. contienen bacterias del grupo 2 (*M. hominis*) y deben ser manipuladas con las precauciones de uso. **Riesgo de contaminación por un agente biológico.**

No utilizar las cepas pasada la fecha de caducidad

No utilizar las cepas mal conservadas o dañadas

Una vez abierto el estuche, sacar del refrigerador solamente los frascos necesarios.

Las cepas U.u y M.h. son **sensibles al calor y a las variaciones de temperatura.**

6 – PREPARACION Y CONSERVACION DE LOS REACTIVOS

Las cepas conservadas entre 2-8°C en su estado original permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.

Las cepas U.u. y M.h. en los frascos debe ser reconstituidas antes de ser utilizadas (§8).

Las cepas regeneradas deben ser utilizadas inmediatamente o conservadas un máximo de 24 horas entre 2-8°C. No pueden ser congeladas.

7 – MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

Pipetas estériles

Agua destilada estéril

Recipiente para residuos contaminados

8 – PROCEDIMIENTO

Equilibrar los reactivos a temperatura ambiente (18-25° C).

Reconstituir el contenido de un frasco de cepa U.u. o M.h. con 1 mL de agua destilada estéril (suspensión bacteriana)

8.1.- MYCOFAST *Evolution* 2 / MYCOFAST US

Regenerar un medio UMMIyo (+ 2 ml UMMt) con un medio UMMt (2 ml)
Inocular el medio previamente regenerado con una cantidad definida de la suspensión bacteriana (U.u o M.h) usando la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Proceder a la inoculación de la galería MYCOFAST *Evolution* 2 (o MYCOFAST US):

- 100 µL de medio UMM sembrado en los 10 pocillos (o en los 7 pocillos para MYCOFAST US)

- 50 µL de S. Mh en los pocillos 9 y 10 (o 6 y 7 para MYCOFAST US)

- 2 gotas de aceite mineral en los 10 pocillos (o en los 7 pocillos para MYCOFASTUS)

Incubar la galería a 37°C +/- 1°C durante 24 horas e interpretar con respecto a los resultados esperados:

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

Para MYCOFAST Screening xp seguir las instrucciones descritas en § 8.1, inoculando la bandeja MYCOFAST *Evolution* 2 luego de la conservación del medio inoculado durante 24 horas a 2-8 °C.

8.2. MYCOFAST *Evolution* 3

Regenerar un medio UMMIyo (+ 3 mL UMMt) con un medio UMMt (3 mL). Inocular el medio previamente regenerado con una cantidad definida de la suspensión bacteriana

(U.u o M.h) usando la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Proceder a la inoculación de la galería MYCOFAST *Evolution* 3:

- 100 µL de medio UMM sembrado en los 20 pocillos

- 50 µL de S. Mh en los pocillos 6 y 7

- 2 gotas de aceite mineral en los 20 pocillos

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

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

Para MYCOFAST Screening *Evolution* 3 seguir las instrucciones descritas en § 8.2, inoculando la bandeja MYCOFAST *Evolution* 3 luego de la conservación del medio inoculado durante 24 horas a 2-8 °C.

8.3. MYCOFAST *Revolution*

Inocular un medio UMMt (3 mL) con una cantidad definida de suspensión bacteriana (U.u o M.h) usando la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Proceder a la inoculación de la galería MYCOFAST *Revolution*:

- 100 µL de medio UMMt sembrado en los 20 pocillos

- 50 µL de S. Mh en los pocillos 6 y 7

- 2 gotas de aceite mineral en los 20 pocillos

Incubar la galería a 37°C +/- 1°C durante 24 horas e interpretar con respecto a los resultados esperando aquí abajo:

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

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

8.4. MYCOFAST *Revolution* 2

Inocular a medio UMMt (3 ml) con una cantidad de suspensión bacteriana (U. u o M.h) determinada por la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMA CONTROL.

Inocular la galería MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL de medio UMMt sembrado en los 24 pozos

- 2 gotas de aceite mineral en los 24 pozos

Incubar la rejilla a 37 ° C +/- 1 ° C durante 24 horas e interpretar en relación con los resultados esperados a continuación:

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

8.5. MYCOFAST *Revolution* 2 AMIES

Inocular un medio UMMt AMIES (2.6 mL) con una cantidad de suspensión bacteriana (U.u o M.h) determinada de acuerdo con la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMA CONTROL.

Inocular la galería MYCOFAST *Revolution* 2:

- 100 µL de medio UMMt sembrado en los 24 pozos

- 2 gotas de aceite mineral en los 20 pozos Incubar la galería a 37 ° C +/- 1 ° C durante 24 horas e interpretar en relación con los resultados esperados idénticos a los de (§ 8.4).

8.6. MYCOFAST *Revolution* ATB+

Inocular un medio UMMt (3 ml) con una cantidad de suspensión bacteriana (U.u o M.h) determinada de acuerdo con la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMA CONTROL.

Inocular la galería MYCOFAST *Revolution* ATB +:

- 100 µL de medio UMMt sembrado en los 24 pozos

- 2 gotas de aceite mineral en los 24 pozos

Incubar la rejilla a 37 ° C +/- 1 ° C durante 24 horas e interpretar en relación con los resultados esperados a continuación:

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

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

8.7. MYCOFAST Screening *Revolution* :

Inocular un medio UMMt (3 mL) con una cantidad definida de suspensión bacteriana (U.u o M.h) usando la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMACONTROL.

Proceder a la inoculación de la galería MYCOFAST Screening *Revolution*:

- 100 µL de medio UMMt sembrado en los pocillos U.u. y M.h.

- 50 µL de S. Mh en el pocillo M.h

- 2 gotas de aceite mineral en los pocillos U.u. y M.h.

Incubar la galería a 37°C +/- 1°C durante 24 horas e interpretar con respecto a los resultados esperados:

	U.u	M.h
Cepa U.u	+	-
Cepa M.h	-	+

Continúe el diagnóstico con el COMPLEMENTO MYCOFAST *Revolution* (00062) o el COMPLEMENTO MYCOFAST *Revolution* ATB + (00073) o el COMPLEMENTO MYCOFAST *Revolution* 2 (00082) inoculando una galería MYCOFAST *Revolution* o *Revolution* ATB + o *Revolution* 2 como se indicó anteriormente (§ 8.3 - 8.4 - 8.5 - 8.6) con el medio inoculado restante, mantenido durante 24 horas a 2-8 ° C durante el examen.

8.8. MYCOPLASMA IST2 :

Seguir el protocolo descrito en el folleto de utilización del fabricante. Diluir la suspensión bacteriana (U.u or M.h) en el medio de cultivo usando la dilución indicada en la etiqueta del kit MYCOPLASMA CONTROL Interpretar con respecto a los resultados esperados , después de una incubación de 24 horas a 37°C +/- 1°C:

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

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

9 - LIMITES / CAUSAS DE ERRORES

- En caso que la temperatura de incubación sea < 36 °C o no sea constante, (apertura frecuente del incubador, heterogeneidad en la temperatura del incubador...) la incubación puede continuarse durante otras 2 a 4 horas.
- Mala conservación durante el transporte o el almacenamiento de las cepas.
- Incumplimiento con el protocolo de uso general.
- Utilización de dispositivos a controlar caducados.

10 - CARACTERISTICAS – PERFORMANCES

10.1. Identificación / Pureza

Las cepas U.u y M.h han sido identificadas en agar A7 así como en medio U9 para U.u y en medio Hayflick para M.h. Hay ausencia de contaminación entre las cepas U.u y M.h. Además hay ausencia de contaminación bacteriana o micológica en agar Columbia y en agar Sabouraud.

10.2. Numeración

Las cepas U.u y M.h han sido numeradas en medio líquido usando el método de referencia en medio U9 para U.u y en medio Shepard para M.h. Los resultados obtenidos con las diferentes galerías son concordantes

10.3. Prueba de sensibilidad a los antibióticos

Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos obtenidas con las cepas U.u y M.h. muestra una concordancia entre los resultados obtenidos con las diferentes galerías y la determinación de las concentraciones mínimas inhibitoras (CMI) en medio líquido.

10.4. Repetibilidad y Reproducibilidad

Estudios realizados con 2 diferentes lotes de cepas U.u. y M.h. por el control del MYCOFAST *EvolutioN* 3 han mostrado una repetitibilidad y una reproducibilidad intra e inter-lotes de 100%.

Estudios realizados con diez lotes diferentes de galerías MYCOFAST *EvolutioN* 2, galerías MYCOFAST *EvolutioN* 3, medios UMMyo (2mL) y medios UMMyo (3ml) han mostrado homogeneidad en los resultados utilizando las cepas U.u y M.h.

11 - ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Los desechos deben ser eliminados respetando las reglas de higiene y la reglamentación vigente para este tipo de reactivos en el país de uso.

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. 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.

Los cambios desde la revisión anterior, están resaltados en gris