

MYCOPLASMA CONTROL

Souches de contrôle de qualité
Ureaplasma urealyticum et *Mycoplasma hominis*
12 tests (REF 00900)

CPB0390_FR-2022-05

Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement



1 - BUT

Le coffret MYCOPLASMA CONTROL contient des souches *Ureaplasma urealyticum* (U.u) et *Mycoplasma hominis* (M.h) conçues pour le contrôle de qualité des méthodes liquides commercialisées (§8) destinées au diagnostic des mycoplasmes urogénitaux.

2 - INTRODUCTION

Le contrôle de qualité des méthodes d'analyse qualitative est important pour suivre les bonnes pratiques de laboratoires d'analyses médicales. Le contrôle en laboratoire de microbiologie nécessite l'utilisation de souches connues. Ces microorganismes sont le plus souvent fournis sous forme lyophilisée permettant une longue conservation.

La détection des mycoplasmes urogénitaux dans les prélèvements cliniques est un test de routine en laboratoire. Les deux principales espèces isolées à partir du tractus urogénital sont *Ureaplasma urealyticum* (Uu) et *Mycoplasma hominis* (M.h). Ces bactéries sont présentes à l'état commensal mais peuvent se comporter comme de véritables pathogènes.

3 - PRINCIPE

Les mycoplasmes sont des germes fragiles dépourvus de paroi et exigeants en facteurs de croissance. Les souches U.u et M.h lyophilisées sont réalisées à partir d'une culture en bouillon mycoplasme enrichi contenant des excipients pour protéger les micro-organismes lors des différentes étapes de la lyophilisation.

4 - REACTIFS

MYCOPLASMA U.u: 6 flacons de souche U.u sous forme lyophilisée

MYCOPLASMA M.h: 6 flacons de souche M.h sous forme lyophilisée

Chaque flacon contient le milieu de culture sous forme lyophilisée (bouillon mycoplasmes, sérum de poulain, mannitol et antibiotiques). Les souches U.u et M.h ont été isolées à partir de prélèvements cliniques et caractérisées selon des méthodes de référence (§10).

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

Les flacons de ce coffret sont destinés uniquement à un diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.

Les flacons contiennent du matériel infectieux, ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation pour ce type de produit.

Les flacons MYCOPLASMA M.h contiennent des bactéries de groupe 2 (*M. hominis*) et doivent être manipulés avec les précautions d'usage. **Risque de contamination par un agent biologique.**

Ne pas utiliser les souches au-delà de la date de péremption.

Ne pas utiliser les souches mal conservées ou endommagées.

Après la première ouverture du coffret, sortir du réfrigérateur uniquement les flacons nécessaires. Les souches U.u et M.h sont **sensibles à la chaleur et aux variations de température.**

6 - PREPARATION ET CONSERVATION DES REACTIFS

Les souches conservées à 2-8 °C sous leur état d'origine sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

Les flacons de souches U.u et M.h sont à reconstituer avant utilisation (§8).

Les souches régénérées doivent être utilisées de suite ou conservées maximum 24 heures à 2-8°C. Elles ne peuvent pas être congelées.

7 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipettes stériles
- Eau distillée stérile
- Récipients pour déchets contaminés

8 - MODE OPERATOIRE

Équilibrer les réactifs à température ambiante (18-25 °C). Reconstituer le contenu d'un flacon de souche U.u ou M.h par 1 mL d'eau distillée stérile (suspension bactérienne).

8.1. MYCOFAST Evolution 2 / MYCOFAST US

Régénérer un milieu UMMlYo (+ 2 mL UMMt) avec un milieu UMMt (2 mL). Inoculer ce milieu régénéré avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Evolution 2 (ou MYCOFAST US):

-100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 10 puits (ou 7 puits pour MYCOFAST US).

- 50 µL de S.Mh dans les puits 9 et 10 (ou puits 6 et 7 pour MYCOFAST US).

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 10 puits (ou 7 puits pour MYCOFAST US).

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

Pour la méthode MYCOFAST Screening xp, procéder comme ci-dessus (§ 8.1) en inoculant la galerie MYCOFAST Evolution 2 après conservation 24 heures à 2-8 °C du milieuensemencé.

8.2. MYCOFAST Evolution 3

Régénérer un milieu UMMlYo (+ 3 mL UMMt) avec un milieu UMMt (3 mL). Inoculer ce milieu régénéré avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Evolution 3:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 20 puits

- 50 µL de S.Mh dans les puits 6 et 7

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 20 puits

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

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

Pour la méthode MYCOFAST Screening Evolution 3, procéder comme ci-dessus (§ 8.2) en inoculant la galerie MYCOFAST Evolution 3 après conservation 24 heures à 2-8 °C du milieuensemencé.

8.3. MYCOFAST Revolution

Inoculer un milieu UMMt (3 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Revolution:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 20 puits

- 50 µL de S.Mh dans les puits 6 et 7

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 20 puits

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

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

8.4. MYCOFAST Revolution 2

Inoculer un milieu UMMt (3 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL.

Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Revolution 2:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 24 puits

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 24 puits

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

8.5. MYCOFAST Revolution 2 AMIES

Inoculer un milieu UMMt AMIES (2.6 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL.

Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Revolution 2:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 24 puits

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 20 puits Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus identiques à ceux du (§ 8.4).

8.6. MYCOFAST Revolution ATB+

Inoculer un milieu UMMt (3 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL.

Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Revolution ATB+:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les 24 puits

- 2 gouttes d'huile minérale dans les 24 puits

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

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

8.7. MYCOFAST Screening Revolution

Inoculer un milieu UMMt (3 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Screening Revolution:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les puits U.u et M.h

- 50 µL de S.Mh dans les puits M.h

- 2 gouttes d'huile minérale dans les puits U.u et M.h

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

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

Poursuivre le diagnostic avec le COMPLEMENT MYCOFAST Revolution (00062) ou le COMPLEMENT MYCOFAST Revolution ATB+ (00073) ou le COMPLEMENT MYCOFAST Revolution 2 (00082) en inoculant une galerie MYCOFAST Revolution ou Revolution ATB+ ou Revolution 2 comme ci-dessus (§ 8.3 - 8.4 - 8.5 - 8.6) avec le milieuensemencé restant, conservé 24 heures à 2-8 °C pendant le dépistage.

8.8. MYCOFAST Screening PLUS et MYCOFAST Screening PLUS UMMt

Inoculer un milieu UMMt (3 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret

MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Screening PLUS:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les puits U.u et M.h
- 2 gouttes d'huile minérale dans les puits U.u et M.h

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

	U.u ≥10 ⁴	M.h ≥10 ⁴
Souche U.u	+	-
Souche M.h	-	+

8.9. MYCOFAST Screening PLUS UMMt AMIES

Inoculer un milieu UMMt AMIES (2.6 mL) avec une quantité de suspension bactérienne (U.u ou M.h) déterminée selon la dilution indiquée sur l'étiquette du coffret MYCOPLASMA CONTROL. Procéder à l'inoculation de la galerie MYCOFAST Screening PLUS:

- 100 µL de milieu UMMtensemencé dans les puits U.u et M.h
- 2 gouttes d'huile minérale dans les puits U.u et M.h

Incuber la galerie à 37 °C +/- 1 °C pendant 24 heures et interpréter par rapport aux résultats attendus ci-dessous :

	U.u ≥10 ⁴	M.h ≥10 ⁴
Souche U.u	+	-
Souche M.h	-	+

9 - LIMITES / CAUSES D'ERREURS

- En cas de température d'incubation non constante ou < 36 °C (ouverture fréquente de l'étuve, hétérogénéité de la température dans l'étuve, ...) l'incubation peut être prolongée de 2 à 4 heures.
- Mauvaise conservation durant le transport ou le stockage des souches.
- Non-respect du protocole d'utilisation en général.
- Utilisation de dispositifs à contrôler périmés.

10 - CARACTERISTIQUES - PERFORMANCES

10-1 Identification / Pureté: Les souches U.u et M.h ont été identifiées sur gélose A7 et en milieu U9 pour U.u et en milieu Hayflick pour M.h. Il y a absence de contamination entre les souches U.u et M.h. D'autre part il y a absence de contamination bactérienne ou mycologique sur gélose Columbia et sur gélose Sabouraud.

10-2 Numération:

Les souches U.u et M.h ont été numérées en milieu liquide en utilisant la méthode de référence en milieu U9 pour U.u et en milieu Shepard pour M.h. Les résultats obtenus avec les différentes galeries sont concordants.

10-3 Test de sensibilité aux antibiotiques:

Les tests de sensibilité aux antibiotiques obtenus avec les souches U.u et M.h montrent une concordance entre les résultats obtenus avec les différentes galeries et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide.

10-4 Répétabilité et Reproductibilité:

Des études réalisées avec deux différents lots de souches U.u et M.h. pour le contrôle de MYCOFAST *Evolution* 3 ont montré une répétabilité et une reproductibilité intra et inter-lots de 100%. Des études réalisées avec les souches U.u et M.h. pour le contrôle de dix différents lots de réactifs suivants : galeries MYCOFAST *Evolution* 2, galeries MYCOFAST *Evolution* 3, milieux UMMIyo (2 mL) et milieux UMMIyo (3 mL), ont montré une homogénéité dans les résultats.

11 - ELIMINATIONDESDECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de réactifs dans le pays d'utilisation.

12 - BIBLIOGRAPHIE

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.

Noite. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris

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

