

# PRUEBA RÁPIDA DE MYCOPLASMA PNEUMONIAE

(Exudado nasofaríngeo o hisopado nasal)

BMN 1123/01

REF DMMYC01

## Uso deseado

La prueba rápida de *Mycoplasma pneumoniae* es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* en muestras de exudado nasofaríngeo o hisopado nasal.

## Resumen

Perteneciente a la familia *Mycoplasmataceae* de la clase *Mollicutes*, es la bacteria más pequeña que puede dividirse de manera autónoma y por ello es que no es posible detectarlas por microscopía óptica o por medio de turbidez en medios líquidos además de que posee resistencia a antibióticos como los betalactámicos. Si bien las micoplasmas son patógenas que necesitan parasitar las células epiteliales generalmente del tracto respiratorio o urogenital, solo *M. pneumoniae* es exclusivo del ser humano [1]. *M. pneumoniae* se encuentra distribuido a nivel mundial y las personas entre 5 a 20 años suelen ser las más afectadas, es especial menores de 5 años. La infección por este patógeno puede incluso no presentar síntomas, sin embargo, en determinados casos puede llegar a causar neumonía fulminante, necrotizante o desarrollo del síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA) entre otras infecciones relacionadas. Actualmente existen distintos métodos de detección como lo son inmunoensayos enzimáticos (ELISA), cultivo o detección de ácidos nucleicos. Debido a que los cuadros clínicos son poco claros y parecidos a los causados por otros virus o bacterias es que es importante utilizar pruebas más precisas para la correcta identificación de este patógeno [2].

## Principio

La prueba rápida para la detección cualitativa de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* en muestras de exudado nasofaríngeo o hisopado nasal es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cartucho tiene una membrana con dos regiones: una de prueba (T) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo (S) del cartucho junto con el reactivo de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno de *M. pneumoniae* por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno *M. pneumoniae* por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

## Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos anti-*M. pneumoniae* y anticuerpos anti-ratón.

## Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilice bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

## Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (4°C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

## Almacenamiento de la muestra

- No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos prolongados, solo por un máximo de dos horas.
- La muestra puede ser almacenada hasta por 5 días en refrigeración (4°C).

## Materiales

### Materiales incluidos:

- Prueba rápida en cartucho
- Instructivo de uso
- Tubo de extracción con tapa cuenta gotas
- Hisopo estéril
- Reactivo de corrimiento (Buffer)

### Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador

## Obtención de muestra

### Muestra de exudado nasofaríngeo:

- a) Tome un hisopo nasal e identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- b) Introduzca el hisopo de forma gentil en el orificio nasal hasta que produzca una resistencia al avance, esto sucede a la altura de la cavidad faríngea superior (aproximadamente 2.5 cm después de la entrada del orificio nasal). Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
- c) Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
- d) Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.

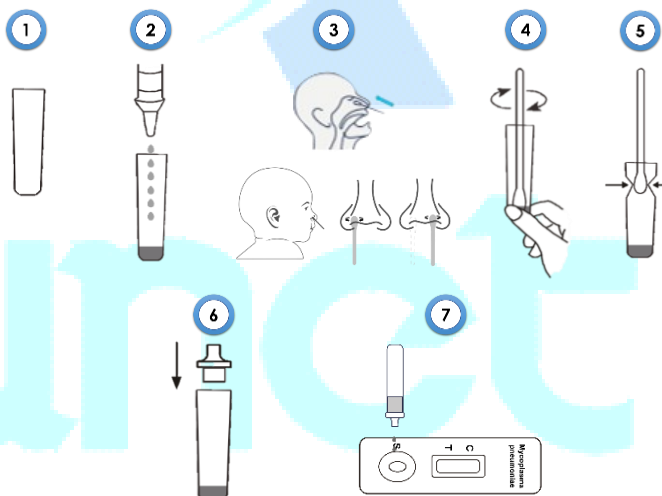
### Muestra de hisopado nasal (sugerido en infantes):

- A. Tome un hisopo nasal e identifique el orificio nasal con la vía más despejada.
- B. Introduzca el hisopo de forma gentil en el orificio nasal sin ir más allá de la cavidad nasal.
- C. Rote el hisopo 5 veces o más contra la pared nasal.
- D. Retire lentamente el hisopo del orificio nasal.
- E. Usando el mismo hisopo, repita el procedimiento en el orificio nasal restante.

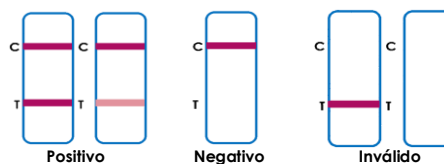
## Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y reactivo de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque un tubo de extracción sobre una gradilla.
2. Agregue 10 gotas (aproximadamente 500 µL) de reactivo de corrimiento al tubo de extracción.
3. Recolecte la muestra cómo se indicó en la sección 'Obtención de muestra'.
4. Incorpore la muestra insertando el hisopo en el tubo de extracción con buffer y realice movimientos circulares.
5. Levante el hisopo del reactivo de corrimiento y apriete el tubo de extracción al mismo tiempo que aprieta el hisopo para obtener la mayor cantidad de muestra.  
Nota: No interprete el resultado después de 20 minutos.
6. Coloque la punta del gotero en el tubo de extracción.
7. Agregue 3 gotas (aproximadamente 120 µL) de la mezcla en el pozo (S) del cartucho y programe un temporizador por 15 minutos.
8. Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.



## Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

**POSITIVO:** Aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T). Nota: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea de color en la región de prueba (T).

**INVÁLIDO:** La línea de color en la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

### Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región de control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

### Limitaciones

1. La prueba rápida *Mycoplasma pneumoniae* para la detección cualitativa del antígeno de *mycoplasma pneumoniae* es para la fase aguda. Considere que la muestra recolectada puede contener niveles de antígeno por debajo del umbral de sensibilidad de la prueba.
2. La prueba rápida de *Mycoplasma pneumoniae* detecta antígenos de *M. pneumoniae* viables y no viables. El rendimiento de la prueba depende de la carga de antígeno en la muestra. Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes. Por lo tanto, los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica disponible.
3. El rendimiento de la prueba no se ha establecido para controlar el tratamiento antiviral de *M. pneumoniae*.

### Valores esperados

La prueba rápida *Mycoplasma pneumoniae* (exudado nasofaríngeo o hisopado nasal) para la detección cualitativa de antígenos de *M. pneumoniae* en exudado nasofaríngeo o hisopado nasal fue comparada con una prueba comercial líder de PCR, se obtuvo una precisión global de 98.20%.

### Características de rendimiento

#### Sensibilidad, Especificidad y Exactitud

Se utilizó la prueba rápida *Mycoplasma pneumoniae* (exudado nasofaríngeo o hisopado nasal) para procesar un total de 271 muestras de diferentes pacientes y se utilizó una prueba de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) como referencia para la detección de *M. pneumoniae*, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	PCR		Resultados totales
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida de <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Positivo	33	36
	Negativo	2	235
<b>Resultados totales</b>	<b>35</b>	<b>236</b>	<b>271</b>

Sensibilidad relativa: 94.30% (95% IC: 80.80%-99.30%)

Especificidad relativa: 98.70% (95% IC: 96.60%-100%)

Precisión relativa: 98.20% (95% IC: 95.70%-99.40%)

IC: Intervalo de Confianza

#### Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

#### Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 20 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

### Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes microorganismos indicados en la siguiente tabla con la prueba rápida *Mycoplasma pneumoniae* (exudado nasofaríngeo o hisopado nasal), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y una negativa a *M. pneumoniae*. Ninguno presentó reactividad cruzada.

#### Bacterias

- *Acinetobacter baumannii*,
- *Bacteroides fragilis*
- *Bordetella pertussis*
- *Cándida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Cardiobacterium hominis*
- *Eikenella corrodens*
- *Enterococcus gallinarum*
- *Escherichia coli*
- *Haemophilus paraphrophilus*
- *Haemophilus influenzae*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Haemophilus paraphrophilus*
- *Kingella kingae*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Proteus mirabilis*
- *Proteus vulgaris*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Serratia marcescens*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus* ssp. grupo C, G y F
- *Streptococcus mutans*
- *Chlamydia pneumoniae*
- *Chlamydia psittaci*
- *Chlamydia trachomatis*.





#### Virus

- Virus de Influenza A (H1N1, H3N2)
- Virus de Influenza B
- Adenovirus tipo 1-8, 11, 19, 37,
- Virus Coxsackie tipo A16, B1-5
- Cytomegalovirus
- Echovirus tipo 3, 6, 9, 11, 14, 18, 30,
- Enterovirus tipo 71
- VHS-1
- Virus Mumps
- Virus Parainfluenza tipo 1-3
- Polivirus tipo 1-3
- Virus sincitial respiratorio
- Rhinovirus tipo 1A, 13, 14.

### Referencias

- [1]. Waites, K. B., & Talkington, D. F. (2004). *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 17(4), 697-728.
- [2]. Merida-Vieyra, J., Aquino-Andrade, A., Ribas-Aparicio, RM, & De Colsa-Ranero, A. (2017). Cambiando los paradigmas de la infección por *M. pneumoniae* en pediatría. *Acta pediátrica de México*, 38(6), 412-426. <https://doi.org/10.18233/apm38no6pp412-4261509>

### Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 15 - 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
<b>UPI</b>	Uso para investigación

	Caducidad
<b>REF</b>	Número de catálogo
<b>LOT</b>	Número de lote
	No reutilizar