

Prueba rápida de *Mycoplasma pneumoniae*

(exudado orofaríngeo)

BMN 0825/01

REF DMMYC01

Uso deseado

La prueba rápida de *Mycoplasma pneumoniae* (exudado orofaríngeo) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* en muestras de exudado orofaríngeo.

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 detectarla 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 de *Mycoplasma pneumoniae* para la detección cualitativa de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* en muestras de exudado orofaríngeo es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impreso anticuerpos anti-*M. pneumoniae* y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígenos de *Mycoplasma pneumoniae* mayores al límite de detección se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

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

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Solución de corrimiento (Buffer)
- Tubos de extracción
- Tapas cuenta gotas
- Hisopo
- Instructivo de uso

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador

Recolección de muestra

Recuerde utilizar guantes, cubrebocas, protector para ojos o careta antes de realizar el proceso de recolección.

- a) Posicione al individuo en un área iluminada.
- b) Solicite a la persona que abra la boca y relaje la lengua mientras dice 'aaaah'.
- c) Con ayuda de un abatelenguas 'nuevo y limpio' (no incluido) presione levemente la lengua para tener acceso a una mayor apertura en la zona.
- d) Utilizando un hisopo (incluido) y tomándolo desde la base, frote suavemente el área de algodón contra ambas amígdalas y alrededores.
Nota: Evite tocar lengua, mejillas y dientes con el hisopo.
- e) Al finalizar realice la prueba, de lo contrario coloque el hisopo en un medio de transporte o tubo de ensayo estéril (no incluidos).

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

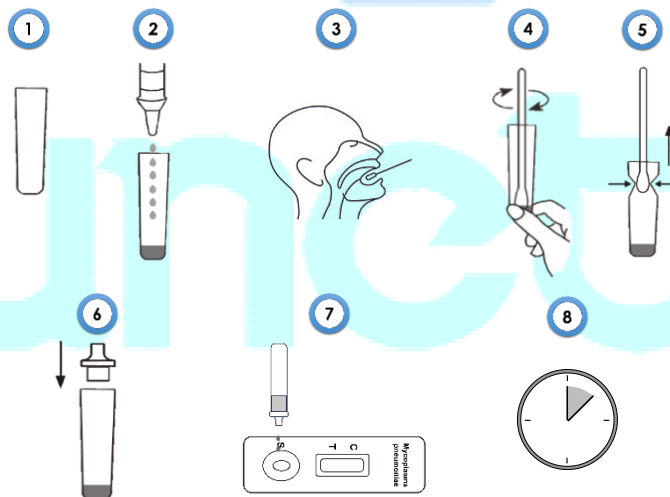
- No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados, solo por un máximo de dos horas.
- La muestra puede ser almacenada hasta por 5 días en refrigeración (4°C).

Instrucciones de uso

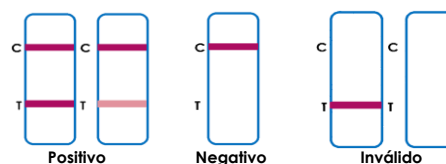
Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque un tubo de extracción sobre una gradilla.
2. Agregue 10 gotas (aproximadamente 500 µL) de solución de corrimiento (Buffer) al tubo de extracción.
3. Obtenga la muestra como se indicó en la sección 'Recolección 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.
6. Coloque la tapa cuentagotas 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. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 15 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales, se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región T. Nota: La intensidad del color de la línea en la región 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 C. No aparece ninguna línea de color en la región T.

INVÁLIDO: La línea de la región 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 C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

- Al igual que todas las pruebas rápidas, la **funcionalidad** del buffer incluido con esta prueba **puede verse afectado** por la contaminación ambiental, considere el tiempo establecido (**3 meses** después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.
- Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
- Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
- 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.
- 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.
- El rendimiento de la prueba no se ha establecido para controlar el tratamiento antibiótico de *M. pneumoniae*.

Valores esperados

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

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida de *Mycoplasma pneumoniae* 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 | Positivo | Negativo |
| | Resultados | Positivo | Negativo |
| Prueba rápida de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | Positivo | 33 | 3 |
| | Negativo | 2 | 233 |
| Resultados totales | | 35 | 236 |

Sensibilidad relativa: 94.30% (95% IC: 80.80%-99.3%)
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 orofaríngeo), 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*
- *Candida albicans*
- *Candida glabrata*
- *Cardiobacterium hominis*
- *Eikenella corrodens*
- *Enterococcus gallinarum*
- *Escherichia coli*
- *Haemophilus paraprofitus*
- *Haemophilus influenzae*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Haemophilus paraprofitus*
- *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
- Poliovirus 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 in vitro |
| | Almacenar entre 15 – 30 °C |
| | No utilizar si el paquete está dañado |
| UPI | Uso para investigación |

| | |
|------------|--------------------|
| | Caducidad |
| REF | Número de catálogo |
| LOT | Número de lote |
| 2 | No reutilizar |