

# MYCOFAST<sup>®</sup> Revolution

## Diagnóstico de Micoplasmas urogenitales

Detección  
Recuento  
Identificación  
Sensibilidad a antibióticos

25 tests (REF 00060)

CPA 0394\_ES-2012-01



### 1 - FINALIDAD

El estuche MYCOFAST *Revolution* permite la detección, el recuento y la identificación del *Ureaplasma urealyticum* / *Ureaplasma parvum* (U.u.) y de *Mycoplasma hominis* (M.h.) a partir de distintas muestras clínicas. El estuche MYCOFAST *Revolution* permite, además, la detección de la sensibilidad de U.u. y de M.h. a los antibióticos, de conformidad con las recomendaciones del CLSI (Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio, por sus siglas en inglés)(2).

### 2 - INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas, de los que hay más de 15 especies censadas en el hombre en la actualidad, pertenecen a la clase de los mollicutes. Se diferencian de otras bacterias en numerosos aspectos, entre ellos la falta de pared, que les confiere una resistencia natural a los betalactámicos, así como una membrana rica en esteroides procedente de membranas de las células eucariotas sobre las que se fijan. Los micoplasmas son organismos relativamente frágiles, que se multiplican en un medio acelular solamente en presencia de muchos factores de crecimiento y a una temperatura óptima de 37°C (4).

La mayor parte de los micoplasmas humanos son simples comensales. Las especies más comunes son las aisladas a partir del tracto urogenital, *U. urealyticum* y *M. hominis*. La especie *U. urealyticum* se divide en dos biovariedades: *U. urealyticum* y *U. parvum* (U.u.).

U.u. o M.h. pueden comportarse como verdaderos patógenos. Son responsables de infecciones genitales masculinas (uretritis no gonocócicas, epididimitis, prostatitis, infertilidad); infección ginecológica (vaginosis bacteriana, endometritis, salpingitis); trastornos de la reproducción (corioamnionitis, endometritis postparto, nacimientos prematuros, aborto espontáneo); problemas neonatales (poco peso al nacer, infecciones respiratorias, neurológicas, bacteriemias, absceso); infecciones extragenitales (artritis sépticas, artritis de reacción, otras localizaciones) (1).

El diagnóstico de las infecciones por micoplasmas depende de la determinación de un umbral patológico y, por lo tanto, de un recuento.

La aparición de resistencia de U.u. y M.h. a determinadas moléculas conduce a realizar una prueba de sensibilidad a los antibióticos (5, 6). Los antibióticos probados y los criterios de interpretación se adaptan al tratamiento de las infecciones por micoplasmas a nivel del tracto urogenital y en otros lugares extra genitales.

### 3 - PRINCIPIO

MYCOFAST *Revolution* es un método en medio líquido basado en la aptitud de U.u. y de M.h. para metabolizar la urea y la arginina, respectivamente. El crecimiento de micoplasmas en medio líquido se visualiza mediante el cambio de un indicador de color – el rojo de fenol – del amarillo anaranjado al rojo, lo que indica la alcalinización del medio debido a la liberación de amoníaco.

El crecimiento de micoplasmas así visualizado permite:

- el recuento basado en la velocidad de la hidrólisis de los sustratos, proporcional a la cantidad de gérmenes contenidos en la muestra;
- la identificación basada en la sensibilidad o no del germen frente a tres antibióticos;
- el estudio de la sensibilidad de U.u. y M.h. a los antibióticos.

### 4 – REACTIVOS

Descripción	Cantidad
UMMt: Frasco de 3 mL de medio de micoplasmas con antibióticos y agente conservador. pH: 6,0 ± 0,1.	25
MYCOFAST <i>Revolution</i> : Galería de 20 pocillos envasada en un sobre de aluminio con desecante integrado.	25
S. Mh.: Frasco de 4,5 mL de activador de crecimiento de <i>M. hominis</i> .	2
Closing system: Tapa de protección de la galería con el cultivo, en plástico transparente.	25

La galería MYCOFAST *Revolution* contiene en los 20 pocillos el medio de crecimiento de los micoplasmas en forma deshidratada (suero de caballo, extracto de levaduras, cisteína, arginina, urea, rojo de fenol, antibióticos, pH: 6,1 ± 0,1) e incluye 4 partes diferenciadas:

pocillos 1-3 Recuento de U.u. para proporciones de  $10^3$  a  $\geq 10^5$  UCC/mL (solución tamponada y lincomicina inhibidora del crecimiento de M.h.).

pocillos 4-6 Identificación de U.u. y M.h. por su perfil de resistencia o de sensibilidad a: lincomicina (L), trimetropim-sulfametoxazol (SXT) y eritromicina (E).

pocillos 7 Recuento de Mh para proporciones  $\geq 10^4$  UCC/ mL (solución tamponada y eritromicina inhibidora del crecimiento de U.u.).

pocillos 8-20 Evaluación de la sensibilidad de Uu y Mh a los antibióticos: levofloxacin (LVX) 1-2-4 µg/mL, moxifloxacin (MXF) 0,25-2 µg/mL, eritromicina (E) 8-16 µg/mL, clindamicina (CM) 0,25-0,5 µg/mL, tetraciclina (TE) 1-2-4-8 µg/mL.

### 5 - PRECAUCIONES DE EMPLEO

- Los reactivos de este estuche deben utilizarse únicamente para el diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados por personas autorizadas para ello.
- Las muestras y los reactivos sembrados son potencialmente infecciosos; deben manipularse con precaución, respetando las reglas de higiene y la reglamentación en vigor en el país de utilización de este tipo de producto.
- Los reactivos que contienen materias primas de origen animal deben manipularse de acuerdo con las precauciones de uso.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilice los reactivos deteriorados o mal conservados antes de usar.
- Un resultado positivo con el método MYCOFAST indica una colonización de los micoplasmas urogenitales, pero no puede servir por sí mismo para realizar un diagnóstico clínico. El diagnóstico debe ser realizado por un médico en función de los resultados biológicos y de la sintomatología clínica.

### 6 - RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

#### 6.1 Recogida de las muestras

##### Muestras endocervicales/vaginales

Utilizar únicamente un hisopo de Dacron o de rayón, o un citocepillo. Realizar la toma de la muestra tras eliminar bien las secreciones del exocérvix mediante un primer hisopo.

Los micoplasmas tienen una gran afinidad por las células de las mucosas a las que se adhieren, por lo tanto, es esencial raspar bien la mucosa para obtener un buen resultado.

##### Muestras uretrales

Limpiar el meato y recoger las muestras con el hisopo o por raspado de las células.

##### Esperma, orinas

Recoger el esperma o el primer chorro de orina en un frasco estéril.

##### Líquidos gástricos

Recoger el líquido gástrico de los recién nacidos por aspiración, con un catéter, y depositarlo en un frasco estéril.

#### 6.2 Transporte en medio UMMt

Muestras en hisopo: Descargar el hisopo en un frasco con medio UMMt.

Muestras líquidas: Sembrar un frasco con medio UMMt con 300 µL de líquido homogeneizado.

### 6.3 Conservación en medio UMMt

Una vez sembrado, el medio UMMt puede conservarse a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 20 horas, o a 2-8 °C durante 56 horas. Para una conservación durante 3 días a -20 °C, añadir previamente 2 gotas de "MYCOPLASMA Stabilizer".

### 7 - PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Todos los reactivos están listos para usar. Los reactivos conservados a 2-8 °C en su estado original se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.
- El medio UMMt puede conservarse temporalmente a temperatura ambiente, pero presenta mejor estabilidad a 2-8 °C.
- El suplemento S.Mh se mantiene estable durante 3 meses después de abrirlo.
- Los reactivos del estuche no deben congelarse.

### 8 - MATERIAL REQUERIDO NO SUMINISTRADO

- Material para muestras (hisopos, citocepillos, frascos estériles para recoger muestras líquidas)
- MYCOPLASMA Stabilizer (REF 00064)
- Pipetas y conos.
- Recipiente para residuos contaminados.
- Vaselina líquida estéril.
- Estufa calibrada a 37 °C ± 1°C.

### 9 - PROCEDIMIENTO

**Poner los reactivos a temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos.**

#### 9.1 Siembra de la galería

● Retirar la película adhesiva tirando de las 2 lengüetas y distribuir sucesivamente en los pocillos:

pocillos 1-20 100 µL de medio UMMt regenerado

pocillos 6-7 50 µL de suplemento S.Mh

pocillos 1-20 2 gotas de la vaselina estéril

● Tapar la galería mediante el "sistema de cierre" de la tapa.

● Identificar la muestra.

**Conservar el excedente del frasco UMMt a 2-8 °C durante 48 horas** como mínimo para permitir una eventual verificación (véase el apartado 11).

#### 9.2 Incubación de la galería

Incubar la galería a 37 °C ± 1 °C durante 24 horas.

Para el recuento de los U.u. y M.h, leer los resultados en 24 horas.

### 10 - LECTURA E INTERPRETACIÓN

#### 10.1 Validación

Verificar que todos los pocillos están limpios. Un pocillo turbio indica contaminación bacteriana. En este caso empezar otra vez la prueba.

#### 10.2 Lectura e Interpretación

La lectura de los resultados consiste en identificar las coloraciones obtenidas en los diferentes pocillos de las galerías.

El crecimiento de los micoplasmas urogenitales en los pocillos, se traduce por una alcalinización del medio que vira al rojo. En ausencia de crecimiento de micoplasmas urogenitales, el medio permanece amarillo. Una coloración anaranjada debe ser considerada como un test positivo (tasa límite).

##### 10.2.1 Identificación (pocillos 4, 5 y 6)

La identificación se realiza en función de la reacción específica de los pocillos 4, 5 y 6:

	4 (L)	5 (SXT)	6 (E)
<i>U. urealyticum</i>	rojo	rojo	amarillo
<i>M. hominis</i>	amarillo	rojo	rojo

##### 10.2.2 Recuento (pocillos 1, 2, 3 y 7)

Marcar los pocillos que hayan cambiado a rojo e interpretar:

1	tasa U.u. $10^3$ UCC/mL
1 y 2	tasa U.u. $10^4$ UCC/mL
1, 2 y 3	tasa U.u. $\geq 10^5$ UCC/mL
7	tasa M.h. $\geq 10^4$ UCC/mL

Las proporciones patológicas indicadas habitualmente para *U. urealyticum* son:  $\geq 10^4$  UCC/mL para una muestra uretral o una muestra endotraqueal,  $\geq 10^3$  UCC/mL para un primer chorro de orina o el esperma. Para *M. hominis*, su presencia en una proporción  $\geq 10^4$  UCC/mL en una muestra cérvico-vaginal es anómala (1, 3).

