

**VIROTECH Mycoplasma pneumoniae IgG LINE Immunoblot
(M. pneumoniae IgG LINE-16)**

Nº de pedido: WE214G16

**VIROTECH Mycoplasma pneumoniae IgM LINE Immunoblot
(M. pneumoniae IgM LINE-16)**

Nº de pedido: WE214M16

**VIROTECH Mycoplasma pneumoniae IgA LINE Immunoblot
(M. pneumoniae IgA LINE-16)**

Nº de pedido: WE214A16

EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

**VIROTECH Diagnostics GmbH
Löwenplatz 5
D- 65428 Rüsselsheim
Tel.: +49-6142-6909-0
Fax: +49-6142-966613
<http://www.virotechdiagnostics.com>**



Índice

1. Finalidad	3
2. Principio de la prueba.....	3
3. Contenido	3
3.1 Kit para 16 determinaciones.....	3
4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos	3
5. Medidas de precaución y advertencias	4
6. Material adicional necesario (no suministrado).....	4
7. Material de muestras.....	5
8. Realización de la prueba	5
8.1 Preparación de las muestras.....	5
8.2 Preparación de los reactivos	5
8.3 Realización de la prueba de inmunotransferencia	5
8.4 Empleo de procesadores de inmunotransferencia.....	6
9. Valoración del ensayo	6
9.1 Evaluación de las muestras de paciente	7
9.2 Empleo del control de Cut off.....	7
9.3 Significado de los antígenos	7
9.4 Criterios de evaluación.....	8
9.5 Esquema de interpretación IgG, IgA, IgM.....	8
9.6 Constelaciones de diagnósticos generales (IgG, IgA e IgM).....	9
9.7 Evaluación P1-EP1	9
9.8 Limitaciones del ensayo	9
10. Bibliografía.....	9
11. Símbolos	10
12. Esquema de la realización de la prueba	11

1. Finalidad

Kit de ensayo Immunoblot LINE para la determinación cualitativa en suero humano de anticuerpos IgG, IgA o IgM específicos. El Immunoblot LINE se utiliza para el diagnóstico serológico de una infección de *Mycoplasma pneumoniae* reciente o recién adquirida. El kit puede utilizarse sólo para el diagnóstico serológico o, si el resultado de otro ensayo es dudoso o positivo, como prueba de confirmación. El Immunoblot LINE aún no ha sido evaluada para cuestiones especiales como la búsqueda diferenciada de patógenos en la artritis post-infecciosa o el síndrome de Guillain-Barree.

2. Principio de la prueba

Las proteínas del antígeno patógeno son transmitidas mediante un procedimiento de rociado específico a una membrana de nitrocelulosa. A continuación, la membrana de nitrocelulosa se corta en tiras individuales.

La incubación de las tiras de nitrocelulosa portadoras de antígeno con muestras de suero/plasma humano permite la identificación de los anticuerpos específicos existentes. Estos anticuerpos forman complejos inmunitarios con los antígenos fijados en las tiras de prueba. Una vez eliminados los anticuerpos no ligados mediante pasos de lavado, las tiras de nitrocelulosa se incuban con anticuerpos IgG, IgA o IgM antihumanos conjugados con fosfatasa alcalina. Después de eliminar los anticuerpos conjugados no ligados mediante un paso de lavado adicional tiene lugar la visualización de los complejos antígeno-anticuerpo (de los anticuerpos ligados) mediante la adición de un sustrato incoloro que, al reaccionar con las enzimas, genera bandas azul-violeta ("bandas de antígeno"). La reacción enzima-sustrato se interrumpe lavando las tiras de nitrocelulosa con agua destilada o desionizada. En función de los patrones de bandas observados puede determinarse la presencia de anticuerpos IgG, IgA o IgM específicos.

3. Contenido

3.1 Kit para 16 determinaciones

- | | | |
|---|-----------|----------|
| 1. Tiras de prueba de IgG / IgA / IgM nitrocelulosa con antígenos pulverizados sobre las mismas, reforzadas con lámina de plástico, clasificadas en cuadernillos, listas para usar | 1x | 16 tiras |
| 2. Control de Cut off IgG / IgA / IgM suero humano, prediluido | 1x | 1,0 ml |
| 3. Tampón de dilución/lavado , pH 7,3 (conc. 10x), con conservante y Tris | 1x | 50 ml |
| 4. Conjugado IgG (concentración 100x) antihumano, (caprino)-fosfatasa alcalina, con conservante | 1x | 0,7 ml |
| 5. Sustrato (BCIP/NBT), listo para usar | 1x | 57 ml |
| 6. Hoja de protocolo de valoración , para protocolizar y archivar los resultados | 1x | 1 unidad |

Bajo demanda puede suministrarse adicionalmente:

IgG o IgA o IgM-Control positivo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

Las bandas positivas > bandas de Cut off se indican en el certificado suministrado.

(Nº de pedido: IgG: WE214P60 o IgA: WE214P40 o IgM: WE214P80)

IgG o IgA o IgM-Control negativo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

El control negativo no muestra ninguna banda o bien ninguna banda relevante para la evaluación > banda de Cut off.

(Nº de pedido: IgG/IgA/IgM: WE214N50)

4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos

Conserve el kit de ensayo a 2-8°C. El plazo de caducidad de cada componente figura en la correspondiente etiqueta; el plazo de caducidad del kit puede consultarse en el Certificado de Control de Calidad.

1. No congele los reactivos ni los exponga a temperaturas elevadas.
2. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
3. Evite conservar los reactivos en un lugar expuesto a luz intensa.

4. La solución de sustrato BCIP/NBT es fotosensible y debe conservarse en un lugar oscuro.
5. **Tiras de prueba de nitrocelulosa:** Utilice las tiras inmediatamente después de sacarlas de la bolsa. Vuelva a cerrar bien la bolsa con las tiras que no necesite y consérvela a 2-8°C. Para archivar los resultados, es imprescindible proteger las tiras de prueba de nitrocelulosa contra la incidencia directa de la luz solar, para evitar una descoloración de las bandas.
- 6.

Material	Estado	Almacenamiento	Estabilidad
Muestras de análisis	sin diluir	de +2 hasta +8°C	1 semana
Tiras de análisis	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (almacenamiento en la bolsa suministrada)	3 meses
Controles	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
Conjugado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
	diluido	de +2 hasta +8°C	aprox. 6h
Sustrato	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegido contra la luz)	3 meses
Solución de lavado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegida contra la luz)	3 meses
	dilución final (lista para el uso)	de +2 hasta +8°C	4 semanas
	dilución final (lista para el uso)	o a temperatura ambiente	2 semanas

5. Medidas de precaución y advertencias

1. Como sueros de control sólo deben utilizarse sueros que hayan dado resultado negativo en las pruebas de anticuerpos VIH1, anticuerpos VIH2, anticuerpos VHC y antígeno de superficie de la hepatitis B. En cualquier caso, todos los sueros de control, muestras, muestras diluidas, conjugados y tiras de prueba de nitrocelulosa deben considerarse como material potencialmente infeccioso y manipularse con las correspondientes precauciones. Deberán seguirse las correspondientes directrices para trabajos de laboratorio.
2. Al realizar el Immunoblot LINE deben utilizarse guantes desechables y pinzas de plástico.
3. Los materiales utilizados deberán eliminarse según la normativa de eliminación de residuos de cada país.
4. Las cubetas de incubación han sido diseñadas por el fabricante exclusivamente para un único uso. Si las cubetas de incubación se emplean más de una vez, la responsabilidad recae sobre el usuario. En caso de que se decida emplear las cubetas más de una vez, recomendamos que después de su uso se desinfecten durante varias horas en una solución de hipoclorito sódico al 1%, se limpien y se enjuaguen a fondo con agua corriente y posteriormente con agua destilada o desionizada.

6. Material adicional necesario (no suministrado)

1. Cubeta de incubación (disponible con el nº de pedido WE300.08)
2. Agitador (vertical, no centrífugo)
3. Frasco lavador para interrumpir la reacción
4. Pipeta o lavador manual
5. Micropipetas de 5 µl - 1500 µl
6. Puntas de pipeta
7. Tubos de ensayo, volumen 2-20 ml
8. Pinzas de plástico
9. Agua destilada o desionizada
10. Papel de filtro

7. Material de muestras

Como material de análisis se pueden utilizar suero o plasma (sin importar el tipo de anticoagulantes), aunque en el folleto sólo se mencione el suero.

8. Realización de la prueba

Para obtener resultados correctos es imprescindible respetar exactamente las instrucciones de uso de VIROTECH Diagnostics.

8.1 Preparación de las muestras

1. Para cada muestra de paciente son necesarios 15 µl de suero o de plasma.
2. Las muestras de sangre se deben extraer por punción venosa bajo condiciones asépticas. Tras la coagulación completa se debe separar el suero (no procede para el plasma). Para un almacenamiento más prolongado, los sueros deben congelarse a -20°C.
3. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas de los sueros.
4. Los sueros térmicamente inactivados o que presenten lipemia, hemólisis o contaminación microbiana pueden llevar a resultados incorrectos, por lo que no deben utilizarse.
5. No utilice muestras de suero turbias (especialmente después de la descongelación); en caso necesario, centrifúguelas (5 min a 1000 x g), pipetee el sobrenadante transparente y utilícelo para la prueba.

8.2 Preparación de los reactivos

1. Para la adaptación a la rutina de laboratorio se pueden utilizar todos los LINEs en un ciclo de prueba (con tiempos de incubación idénticos y parámetros y lotes de componentes similares). Los controles de Cut off se realizan de forma específica para los parámetros y lotes.
2. Antes de diluir todos los reactivos de ensayo, el correspondiente reactivo concentrado debe llevarse a temperatura ambiente. Sólo debe utilizarse agua destilada o desionizada de alta calidad y a temperatura ambiente.
3. Antes de iniciar el ensayo, las diluciones deben mezclarse bien.
4. **Tampón de dilución/lavado**
El tampón de dilución/lavado se suministra en una concentración de 10x. Diluya el concentrado de tampón de dilución/lavado al 1:10 con agua destilada o desionizada (10ml/50ml/100ml de concentrado + 90ml/450ml/900ml a. dest./desionizada) y mézclelo bien.
Tanto el tampón de dilución/de lavado concentrado como el diluido pueden presentar una coloración amarilla. Esta coloración amarilla no afecta a la estabilidad del tampón de dilución/de lavado ni a la funcionalidad y capacidad diagnóstica de la preparación de ensayo.
5. **Conjugado IgG / IgA / IgM**
Diluya el conjugado (1+100) con tampón para dilución/lavado ya diluido y mezcle bien. Por cada muestra de suero se necesitan 1,5 ml de solución de conjugado lista para usar. Consulte la tabla de dilución del conjugado (apartado "Esquema de la realización de la prueba").
6. **Solución de sustrato**
La solución de sustrato se suministra lista para usar.

8.3 Realización de la prueba del Immunoblot LINE

¡Cuidado! Las tiras de prueba de nitrocelulosa sólo pueden ser probadas en la clase aprobada de Ig (ver la etiqueta en el cuadernillo de tiras y el nombre en cada tira de prueba).

Para el correcto funcionamiento y evaluación de la LINE *Mycoplasma pneumoniae*, se debe incluir en cada procedimiento de prueba un control de Cut off específico para el parámetro y del lote.

Para un diagnóstico seguro de *Mycoplasma pneumoniae* debe realizarse la prueba LINE para IgG, IgA e IgM.

1. La prueba se realiza a temperatura ambiente.
2. Por cada prueba, coloque 1 tira en la ranura de una cubeta de incubación limpia. En la medida de lo posible, la tira sólo debe sujetarse por el extremo superior marcado.
3. Pipetee en cada tira 1,5 ml de **tampón de dilución/lavado** listo para usar y colóquela en el agitador. Asegúrese de que las tiras de prueba de nitrocelulosa estén uniformemente cubiertas de líquido: no debe secarse en ningún momento del ensayo.
4. Las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas están totalmente humedecidas al cabo de un minuto, y pueden incubarse hacia arriba, hacia abajo o de lado.
5. Agregar cada vez **15µl de suero/plasma de paciente o 100µl del control de Cut off / positivo / negativo**, en lo posible en el extremo superior y marcado de la banda. Incube el suero de paciente y el control durante **30 minutos** en el agitador. Incube el suero de paciente y el control durante **30 minutos** en el agitador. Durante el pipeteado y el posterior vertido debe prestarse atención a evitar contaminaciones cruzadas entre las distintas muestras de paciente.
6. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo cuidadosamente. El verter el líquido, las tiras de prueba de nitrocelulosa permanecen adheridas al suelo de las ranuras. Seque el líquido residual con papel absorbente.
7. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. Antes de realizar el último paso de lavado, prepare la cantidad necesaria de conjugado diluido fresco (véase tabla).
8. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
9. Pipetee 1,5 ml del **conjugado diluido** preparado en cada ranura de incubación e incube durante **30 minutos** en el agitador.
10. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo.
11. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. A continuación, lávelas **1 vez durante 1 minuto con agua destilada/desionizada**.
12. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
13. Pipetee 1,5 ml de **solución de sustrato** lista para usar en cada ranura y revele las tiras durante **10 ± 3 minutos** en el agitador.
14. **Interrumpa** el revelado del color vertiendo la solución de sustrato. A continuación, lave **3 veces** las tiras sin incubación intermedia con 1,5 ml de **agua destilada/desionizada** cada vez.
15. Vierta el agua destilada/desionizada y seque las tiras sobre un papel absorbente limpio. La coloración de fondo que puede observarse en las tiras de prueba de nitrocelulosa húmedas desaparece por completo al secarse. En comparación con las tiras de prueba de nitrocelulosa normales, las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas tardan algo más en secarse.
16. Utilice el protocolo de valoración adjunto para la evaluación. Las indicaciones que figuran en las bandas altamente específicas en la hoja de protocolo facilitan la evaluación de las muestras de paciente.

Véase esquema de la realización de la prueba en la última página

8.4 Empleo de procesadores del Immunoblot LINE

Para el procesamiento automatizado de los Blot y de las LINE se han validado los equipos siguientes: Apollo y Profiblot. Por principio son adecuados todos los equipos automáticos para Blot de tipo usual en el comercio.

9. Valoración del ensayo

Para la valoración segura, cada tira LINE está equipada con dos controles:

1. **Control de suero** (= serum control):
La marca de incubación con suero debajo de la línea de marca (= markline) sólo aparece después de incubar la tira con suero de paciente.
2. **Control de conjugado** (= conjugate control):
La tira LINE está dotada de una banda de control de conjugado que aparece después de la incubación con el correspondiente conjugado.

La prueba realizada es válida si, una vez revelada, en la tira de prueba de nitrocelulosa aparecen claramente tanto la banda de control de suero como la de control interno de conjugado.

La posición de las bandas de control de suero y de conjugado se indican en la hoja de protocolo.

9.1 Evaluación de las muestras de paciente

La posición y denominación de las bandas reactivas se indican en la hoja de protocolo.

Bandas IgG: P1, P90, P400, NMP, RP3M, RP3F und P1-EPI

Bandas IgA: P1, P90, P400, RP14, P200

Bandas IgM: P1, P90, P400, Pdh-B, GL, I-Prot.

9.2 Empleo del control de Cut off

Las bandas cuya intensidad es más débil que la banda de corte (P1) del control de Cut off no se incluyen en la evaluación.

La banda P1 debe mostrar una intensidad débil.

Evaluación de las intensidades de las bandas (notables excepciones: Pdh-B, GL, proteína-I, RP3M, RP3F y P1-EPI):

Banda P1: La intensidad de la banda P1 del control de Cut off determina la evaluación de todas las bandas de proteínas en IgG, IgA e IgM de la siguiente manera:

- Una intensidad más baja que la banda P1 del control de Cut off = 0
- La misma intensidad que la banda P1 del control de Cut off = 1
- Una intensidad más fuerte que la banda P1 del control de Cut off = 2

La suma de las intensidades de las bandas da la evaluación general.

Excepciones importantes:

- En IgM, las bandas: Pdh-B, GL y proteína-I sólo se evalúan si al menos una de las bandas: P1, P90 o P400 > Banda de Cut off, es decir, se evalúa con 1 o 2.
- En IgG sólo se evalúa una de las bandas RP3M y RP3F. La banda más reactiva se utiliza para la evaluación.
- En el IgG, la banda P1-EPI no está incluida en el total. Se evalúa como positivo si su intensidad > banda P1 es el control de Cut off y da - en caso de una evaluación general negativa adicional en todas las clases de Ig - una indicación de un contacto previo con Mycoplasma pneumoniae.

9.3 Significado de los antígenos

Lista de antígenos recombinantes (P1, P90, P400, RP3M, RP3F, RP14, P200) y nativos purificados (NMP, Pdh-B, GL, proteína-I) utilizados.

antígeno denominación	Importancia de los antígenos	Especificidad de los anticuerpos en la LINE
P1	La proteína P1 es el adhesivo principal (antígeno principal) de M. pneumoniae (Mw 176 kDa). Se expresa en la superficie, se encuentra en la tip región y es responsable de la citoadherencia.	Altamente específico
P90	El P90 se expresa en la superficie y es responsable de la correcta y específica integración de la proteína P1 en la membrana bacteriana	Altamente específico
P400	Se desconoce en gran medida la función del P400.	Específico
NMP	Proteínas de bajo peso molecular: componentes de la membrana y proteínas expresadas en la superficie.	Específico

RP3M & RP3F	Debido a las diferencias de secuencia en el gen P1, los aislados de <i>M. pneumoniae</i> se asignan al serotipo 1 - M129 (RP3M) - o al serotipo 2 - FH (RP3F).	Altamente específico
RP14	RP14 es el correcto sección C-terminal de la adherencia P1. Los anticuerpos contra el RP14 pueden inhibir la citadherencia de <i>M. pneumoniae</i> a HBEC (células epiteliales bronquiales humanas).	Altamente específico
P200	El P200 participa en la formación del citoesqueleto de <i>M. pneumoniae</i> como proteína estructural y permite a la bacteria deslizarse sobre las superficies y así colonizar con éxito el huésped	Altamente específico
Pdh-B	La Pdh-B es un componente de la piruvato deshidrogenasa. La Pdh-B se expresa en la superficie y es una de las cinco proteínas que se encuentran en mayores concentraciones en <i>M. pneumoniae</i> .	Posible marcador agudo en combinación con antígenos muy específicos del <i>M. pn.</i>
GL	<i>M. pneumoniae</i> sólo está rodeada por una membrana de doble capa sobre la que se deposita una capa de lipoglicanos. Por consiguiente, es evidente que los fosfocompuestos y los glicolípidos, como componentes esenciales de las membranas, se presentan parcialmente en la superficie celular de la bacteria y son reconocidos por el sistema inmunológico humano.	Posible marcador agudo en combinación con antígenos muy específicos del <i>M. pn</i>
Proteína-I	Las Proteínas-I son antígenos eritrocitarios reconocidos por las aglutininas frías (CA). Las CA inducidas por <i>M. pneumoniae</i> son del tipo IgM y en más del 90% de los casos se dirigen contra la proteína-I.	Posible marcador agudo en combinación con antígenos muy específicos del <i>M. pn</i>
P1-EPI	Una mezcla de los antígenos P1 de las cepas FH y M129, e indica la infestación de IgG.	Altamente específico

9.4 Criterios de evaluación

La interpretación de los resultados serológicos siempre debe tener en cuenta el cuadro clínico, los datos epidemiológicos así como otros hallazgos disponibles de laboratorio.

Evaluación de IgG o IgA	
La suma de los Intensidades de banda	Evaluación
< 4	negativo
= 4	llamativo
> 4	positivo

Evaluación de IgM	
La suma de los Intensidades de banda	Evaluación
< 3	negativo
= 3	llamativo
> 3	positivo

9.5 Esquema de interpretación IgG, IgA, IgM

Evaluación	Interpretación	
negativo	No hay pruebas serológicas de la infección por <i>Mycoplasma pneumoniae</i> o de una condición posterior a una infección más reciente	Una banda P1-EPI positiva en IgG (> banda de corte) indica un contacto previo con <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .

llamativo	Los anticuerpos contra <i>Mycoplasma pneumoniae</i> son detectables. Reacción debilitada durante la convalecencia, anticuerpos persistentes o en el caso de una infección que acaba de empezar. Se recomienda solicitar un seguimiento.
positivo	Los anticuerpos contra <i>Mycoplasma pneumoniae</i> son detectables. Sospecha de una infección reciente o una infección recién adquirida de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .

9.6 Constelaciones de diagnósticos generales (IgG, IgA e IgM)

IgG	IgA	IgM	Interpretación
-	-	-	No hay evidencia serológica de una infección con <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
-	+	+	Fase temprana de una infección aguda o reinfección.
-	+	-	Fase temprana de una infección aguda o reinfección.
+	+	+	Infección aguda
+	-	+	Infección aguda (fase tardía)
+	+	-	Reinfección o infección sin formación de IgM.
+	-	-	Infección vencida o reinfección.
-	-	+	Fase temprana de una infección aguda.

9.7 Evaluación P1-EP1

IgG	IgA	IgM	P1-EP1	Interpretación
-	-	-	+	Indicación de una infección más reciente con <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .

9.8 Limitaciones del ensayo

1. Un resultado negativo del Immunoblot LINE no permite descartar por completo la posibilidad de una infección por *Mycoplasma pneumoniae*. La muestra puede haberse extraído antes de la aparición de anticuerpos, o el nivel de anticuerpos puede encontrarse por debajo del límite de detección del ensayo.
2. En casos poco frecuentes, los sueros de pacientes pueden presentar bandas "invertidas" (fondo oscuro, bandas blancas); si ocurre esto no es posible evaluar la prueba. En ese caso, el suero debe analizarse mediante otros métodos serológicos.

10. Bibliografía

1. Clyde WA.J.: Clinical overview of typical *Mycoplasma pneumoniae* infections. J. Clin Infect. Dis. 1993, 17 (suppl. 1) 32-37
2. Hu, P.-C., Collier, A.M. and Baseman, J.B. (1977): Surface parasitism by *Mycoplasma pneumoniae* of respiratory epithelium. J. of Experimental med. 145, 1328-13343.
3. Razin, S. (1992): Peculiar properties of mycoplasmas: the smallest self-replicating prokaryotes. FEMS Microbiol. Lett. 100, 423-432.
4. Taylor-Robinson, D. (1996): Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. Clin. Infect. Dis. 23, 671-684.
5. Jacobs, E.: Mycoplasmen-Infektionen. mta. 1997, 12: 236-239
6. Jacobs, E.: Das Adhäsion von *Mycoplasma pneumoniae*: Seine Bedeutung als Virulenzfaktor in der Pathogenese und in der Diagnostik. Klin. Lab. 1994: 40: 228-229
7. Foy, HM: Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. J Clin Infect Dis 1993, 17(suppl. 1) 37-47.
8. Sasaki Y, et al., Detection of *Mycoplasma fermentans* DNA from lymph nodes of acquired immunodeficiency syndrome patients. Microb Pathog (England) Aug. 1994, 17 (2) p131-5
9. Daxboeck F., Krause R. and Wenisch C., „Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection, Clin. Microbiol. Infect 2003;9: p263-273

10. Bebear C., Biological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory infections, Diagnostic biologique des infections respiratoires a *Mycoplasma pneumoniae*, Rev. Mal Respir (FRANCE) 1986, 3 (2) p67-71
11. Jacobs, E. (1991) *Mycoplasma pneumoniae* virulence factors and immune response. Reviews in Medical Microbiology 2, 83-90

11. Símbolos



¡Vean las instrucciones de uso!

12. Esquema de la realización de la prueba

Resumen de la realización de la prueba:

Incubación de muestras	30 minutos	15 µl de suero/plasma del paciente/100 µl de control en cada caso en 1,5 ml de tampón de dilución/lavado
Lavado	3 x 5 minutos	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso
Incubación de los conjugados	30 minutos	con 1,5 ml de dilución para el uso (1 + 100)
Lavado	3 x 5 minutos 1 x 1 minuto	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso con agua destilada/desionizada
Incubación del sustrato	10 ± 3 minutos	con 1,5 ml de solución de sustrato en cada caso
Parada	3 x sin incubación intermedia	con 1,5 ml de agua destilada/desionizada en cada caso

Tabla para dilución de conjugado: (valores redondeados)

Número de tiras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tampón de dilución/lavado	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Conjugado concentrado	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Volumen final	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Número de tiras	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tampón de dilución/lavado	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Conjugado concentrado	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Volumen final	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Número de tiras	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tampón de dilución/lavado	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Conjugado concentrado	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Volumen final	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Número de tiras	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Tampón de dilución/lavado	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Conjugado concentrado	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Volumen final	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml