

### 1. Uso previsto

El test NADAL® Strep A es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de la presencia de antígenos de *Streptococcus* del grupo A (strep A) en muestras humanas de hisopos faríngeos. El test está diseñado para servir como ayuda en el diagnóstico de infecciones por estreptococo del grupo A en pacientes que presentan síntomas típicos. Está diseñado únicamente para uso profesional.

### 2. Introducción y significado clínico

El grupo hemolítico *Streptococcus* A causa infecciones respiratorias superiores tales como amigdalitis, faringitis y fiebre escarlata. Se ha demostrado que un diagnóstico temprano y el tratamiento de la faringitis por estreptococo A reducen la severidad de los síntomas y otras complicaciones, como la fiebre reumática y la glomerulonefritis.

Los métodos convencionales para detectar una infección por strep A dependen del aislamiento y la posterior identificación del organismo, y requieren normalmente unas 24-48 horas. El reciente desarrollo de las técnicas inmunológicas para detectar antígenos de strep A, a partir directamente de exudados faríngeos, permite al personal médico diagnosticar infecciones de antígenos de strep A y administrar inmediatamente un tratamiento.

### 3. Principio del test

El test NADAL® Strep A permite la detección de antígenos de *Streptococcus* del grupo A, a través de la interpretación visual de la aparición del color en la tira de test interna. Los anticuerpos anti-strep A se inmovilizan en la región de test de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con anticuerpos policlonales anti-strep A, conjugados con partículas coloreadas, que recubren el pocillo de muestra del casete de test. La mezcla migra entonces a través de la membrana por acción capilar e interactúa con los reactivos. Si hay suficientes antígenos de strep A en la muestra, se formará una línea coloreada en la región de test de la membrana. La presencia de esta línea coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La aparición de una línea coloreada en la región de la línea de control sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

### 4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Strep A, con pipetas desechables incluidas  
Cada casete contiene conjugados coloreados y agentes reactivos recubiertos en las correspondientes regiones de la membrana.
- 1 bote de reactivo 1: 1,0 M nitrito de sodio (7 ml)  
 Peligro  
H301: Tóxico en caso de ingestión
- 1 bote de reactivo 2: 0,4 M de ácido acético (7 ml)
- 1 bote de control positivo: strep A no viable; 0,09% de azida de sodio (1 ml)
- 20 tubos de extracción con tapones cuentagotas incluidos
- 1 soporte para los reactivos
- Material provisto de acuerdo a 93/42/EEC:  
20 hisopos faríngeos estériles CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC

31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 Estados Unidos  
(representante EU autorizado EMERGO EUROPE,  
La Haya, Holanda)

- 1 manual de instrucciones

### 5. Otros materiales necesarios

- Cronómetro

### 6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a una temperatura entre 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en bolsa sellada. Mantenga el casete de test en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit. Proteja los componentes del test de su posible contaminación. No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo dispensado, los contenedores o reactivos puede conducir a resultados falsos.

### 7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción, a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits. No mezcle los tapones cuentagotas.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras y ejecute las pruebas.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- Utilice solo puntas de pipeta de rayón o dacrón estériles con mango de plástico como las provistas. No utilice hisopos de alginato de calcio, hisopos de algodón con mango de madera.
- Los reactivos 1 y 2 son ligeramente cáusticos. Evite el contacto con los ojos y las membranas mucosas. En caso de producirse un contacto accidental, lávese con abundante agua.

- El control positivo contiene azida de sodio, que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías, formando azidas de sodio potencialmente explosivas. Al desechar esta solución, deje correr abundante cantidad de agua para prevenir la formación de azida. Evite el contacto con los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, lávese con abundante agua.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

**8. Recolección de muestras y preparación**

Recolecte las muestras de exudado faríngeo utilizando los métodos clínicos estándar. Limpie con un algodón la parte posterior de la faringe, amígdalas o áreas inflamadas. Evite tocar con el hisopo la lengua, la cara interna de las mejillas o los dientes.

Se recomienda analizar las muestras de los hisopos lo más pronto posible tras su recolección. Si no se van a procesar inmediatamente, se deben depositar en un tubo o bote seco y estéril, bien tapado y refrigerarlo. No congele los hisopos. Se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-30°C) hasta 4 horas, o refrigerados (2-8°C) hasta 24 horas. Lleve todas las muestras a temperatura ambiente antes de la realización de la prueba.

No coloque los hisopos en ningún dispositivo que contenga medio de transporte, ya que interfiere con el ensayo y la viabilidad de los organismos. Si se requiere un cultivo bacteriano, deslice el hisopo ligeramente en una placa de agar sangre de oveja al 5% antes de utilizarlo en el test. Los reactivos de extracción del test matan las bacterias de los hisopos, lo que imposibilita el cultivo.

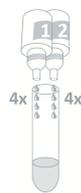
**9. Procedimiento del test**

**Lleve los test, las muestras, los reactivos y/o controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.**

**Para evitar una contaminación cruzada, el extremo de los botes de reactivos no debe entrar en contacto con el material del frotis.**

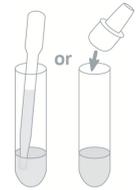
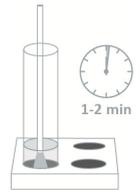
**1. Preparación de los hisopos con las muestras.**

- Sitúe un tubo de extracción en el área designada de la estación de trabajo. Añada 4 gotas del reactivo 1 al tubo de extracción, seguido de 4 gotas del reactivo 2. Sostenga los botes verticalmente al añadir los reactivos para asegurar, de este modo, que la gota tenga un tamaño adecuado. Mezcle la solución agitando suavemente el tubo de extracción.
- Sumerja inmediatamente el hisopo en el tubo de extracción. Realizando movimientos circulares, ruede el hisopo presionando contra el lateral del tubo, de modo que la presión expulse el líquido del hisopo y se pueda reabsorber.
- Deje reposar la solución 1-2 minutos a temperatura ambiente, a continuación, presione con firmeza el hisopo contra el

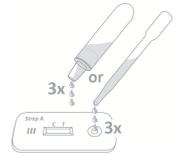


tubo, para obtener la mayor cantidad de líquido posible. Elimine el hisopo según las directrices para el tratamiento de agentes infecciosos.

2. Retire el casete de test de su envase sellado y sitúelo sobre una superficie limpia y plana. Una vez abierto el envase, se debería utilizar el test inmediatamente o en un máximo de una hora. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control. Para mejores resultados, realice la prueba antes de una hora.



3. Transfiera 3 gotas (aproximadamente 120 µL) de la solución extraída, con la pipeta desechable incluida, o el tapón cuentagotas, del tubo de extracción al pocillo de muestra del casete de test.



**Evite la formación de burbujas en el pocillo de muestra (S) y no añada ninguna solución al área de resultados.**

Cuando el test comienza a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.

4. Espere a que aparezca la línea coloreada. Lea el resultado del test a los 5 minutos. No interprete los resultados después de 10 minutos.



**10. Interpretación de los resultados**

**Positivo:**

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una línea aparece en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).



**Negativo:**

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece la línea coloreada en el área de test (T).



**No válido:**

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y deben descartarse. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



**Nota:**

La intensidad de la línea en el área de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de

la línea de prueba se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito en la muestra.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

**Después de interpretar los resultados, se deben eliminar inmediatamente los dispositivos utilizados siguiendo las regulaciones locales para materiales potencialmente infecciosos.**

### 11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento.

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las buenas prácticas de laboratorio (BPL) recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto. Con cada kit se suministra un control positivo que contiene *Streptococcus* del grupo A inactivado por calor.

**Procedimiento operativo para el análisis del control de calidad externo.**

- Añada 4 gotas del reactivo 1, y 4 gotas del reactivo 2 en el tubo de extracción.
- Mezcle completamente el control positivo agitando el bote enérgicamente. Añada 1 gota del control positivo en el bote.
- Coloque un hisopo limpio y estéril en el tubo y gírelo. Déjelo en el tubo de extracción durante 1 minuto. Después, expulse el líquido del extremo del hisopo girándolo y realizando cierta presión contra la pared interior del tubo de extracción, presionando el tubo al retirar el hisopo. A continuación, deseche el hisopo.
- Siga las instrucciones indicadas en el paso 2 del apartado "Procedimiento del test".  
Si el control no proporciona un resultado positivo, no utilice el test con las muestras. Repita el test de control de calidad o contacte con su proveedor.

### 12. Limitaciones

- El test NADAL® Strep A solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y solo se debe utilizar para la detección cualitativa de *Streptococcus* del grupo A. La intensidad del color o la anchura de las líneas formadas no tienen relevancia.
- La precisión del test depende de la calidad de la muestra en el hisopo. Pueden producirse falsos resultados negativos si la recolección o el almacenamiento no se han realizado de forma adecuada. También se puede producir un falso resultado negativo en el comienzo de la enfermedad, ya que la concentración de antígenos en ese momento todavía es muy baja.
- El test NADAL® Strep A no diferencia entre individuos asintomáticos portadores de *Streptococcus* del grupo A, y los que sufren una infección sintomática. Si los signos y síntomas clínicos no coinciden con los resultados de los test

de laboratorio, se recomienda realizar un cultivo de una muestra faríngea.

- En algunos casos, los hisopos con muestras altamente colonizadas por *Staphylococcus aureus* pueden producir resultados positivos falsos.
- Al igual que con otros test, el diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un único test, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

### 13. Valores esperados

El estreptococo del grupo A es responsable de alrededor del 19% de todas las infecciones del tracto respiratorio superior. Estas infecciones son más prevalentes durante el invierno y el principio de la primavera, y en la mayoría de los casos afecta a pacientes que viven en áreas muy pobladas.

Las infecciones respiratorias, incluidas las faringitis, pueden estar causadas por estreptococos de otros serogrupos diferentes al grupo A, así como por otros patógenos.

### 14. Características de rendimiento

#### Estudio de correlación

##### Tabla: test NADAL® Step A vs. cultivo

Se realizó un estudio de correlación entre el test NADAL® Strep A y los cultivos convencionales. Se tomaron muestras de hisopos faríngeos de niños y adultos que mostraban síntomas de faringitis. Después, se utilizaron los hisopos para la inoculación de cultivos (placas de agar sangre) y para analizar con el test NADAL® Strep A.

Las colonias beta-hemolíticas de las placas de agar sangre se determinaron como *Streptococcus* del grupo A utilizando métodos serológicos de agrupación estreptocócica. Se valoró el strep A como presente o no presente. No se realizó la cuantificación durante el análisis de muestras clínicas.

En la siguiente tabla se muestran los resultados:

|         |       | Test NADAL® Strep A |     |       |
|---------|-------|---------------------|-----|-------|
|         |       | +                   | -   | Total |
| Cultivo | +     | 82                  | 2   | 84    |
|         | -     | 4                   | 156 | 160   |
|         | Total | 86                  | 158 | 244   |

Sensibilidad relativa: 97,6% (91,7%-99,7%)\*

Especificidad relativa: 97,5% (93,7%-99,3%)\*

Concordancia general: 97,5% (94,7%-99,1%)\*

\*95% intervalo de confianza

#### Estudio de sensibilidad

Se analizaron 8 cepas diferentes de strep A (ATCC números: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) a diferentes niveles con la ayuda del test NADAL® Strep A. Los resultados positivos obtenidos a niveles de al menos  $1,5 \times 10^5$  organismos/hisopo para todas las cepas indica que el test NADAL® Strep A es sensible a la bacteria estreptococo del grupo A.

#### Estudio del efecto prozona

Para concentraciones de Strep A de hasta  $1,0 \times 10^9$  organismos por hisopo no se observó alteración en la formación de la línea T.

### Estudio de especificidad

Se estudiaron las reacciones cruzadas del test NADAL® Strep A con organismos que se pueden encontrar en el tracto respiratorio. Los siguientes organismos se analizaron a  $1 \times 10^7$  organismos/hisopo y mostraron resultados negativos.

| Organismos                        | ATTC No. | Organismos                       | ATCC no. |
|-----------------------------------|----------|----------------------------------|----------|
| <i>Bordetella pertussis</i>       | 8467     | <i>Strep B</i>                   | 12386    |
| <i>Branhamella catarrhalis</i>    | 25238    | <i>Strep C</i>                   | 12401    |
| <i>Candida albicans</i>           | 1106     | <i>Strep F</i>                   | 12392    |
| <i>Corynebacterium diphthiae</i>  | 13812    | <i>Strep G</i>                   | 12394    |
| <i>Enterococcus durans</i>        | 19432    | <i>Streptococcus canis</i>       | 43496    |
| <i>Enterococcus faecalis</i>      | 19433    | <i>Streptococcus equismilis</i>  | 9528     |
| <i>Haemophilus influenzae</i>     | 9006     | <i>Streptococcus equismilis</i>  | 9542     |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>      | 9987     | <i>Streptococcus equismilis</i>  | 12388    |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>      | 27633    | <i>Streptococcus mutans</i>      | 25175    |
| <i>Neisseria meningitidis</i>     | 13077    | <i>Streptococcus pneumoniae</i>  | 27338    |
| <i>Neisseria sicca</i>            | 9913     | <i>Streptococcus sanguis</i>     | 10556    |
| <i>Neisseria subflava</i>         | 14799    | <i>Streptococcus oralis</i>      | 9811     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>     | 9721     | <i>Streptococcus mitis</i>       | 903      |
| <i>Serratia marcescens</i>        | 8100     | <i>Streptococcus anginosus</i>   | 33397    |
| <i>Staphylococcus aureus*</i>     | 12598    | <i>Streptococcus intermedius</i> | 27335    |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1228     | <i>Streptococcus agalactiae</i>  | 13813    |

\* En casos raros, una fuerte colonización por *Staphylococcus aureus* puede inducir a falsos resultados positivos (ver el apartado 12. "Limitaciones").

### Estudios en laboratorios de consultas médicas

Se llevó una evaluación del test NADAL® Strep A a tres laboratorios médicos utilizando un panel de muestras codificadas con control negativo, muestras positivas débiles y positivas medias. Se analizó cada muestra, en cada sitio, en réplicas de cinco durante un periodo de cinco días. El estudio mostró una concordancia >99.9% con los resultados esperados.

### Estudio de interferencia

Se analizaron también varios medicamentos para el dolor de garganta (pastillas para la tos) y enjuagues bucales a concentraciones del 1%. Ninguno de ellos tuvo influencia en los resultados del test.

### Variabilidad inter- e intra-lote

Se analizaron tres lotes independientes con controles negativos, y controles positivos débiles, medios y altos en series de 10. No se obtuvo ningún resultado incoherente o inesperado, lo que indica una baja variabilidad inter- e intra-lote.

### 15. Referencias

1. Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
2. Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
3. Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
4. Gupta R, Talwar GP, Gupta SK. Rapid antibody capture assay for detection of group-A streptococci using monoclonal antibody and colloidal gold-monospecific polyvalent antibody conjugate. J Immunoassay. 1992; 13(3): 441-55.
5. Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
6. Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 2, 2016-07-13 MP