

1. Uso previsto

El test NADAL® Strep B es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de la presunta presencia de antígenos de *Streptococcus* del grupo B (GBS) en muestras recolectadas de frotis vaginales o rectales. También se pueden utilizar las muestras de exudados del oído o de la garganta de recién nacidos directamente después de su nacimiento. El test está diseñado para servir de ayuda en el diagnóstico de la presencia de GBS en materiales de muestra que pueden mostrar signos de colonización o infección. El ensayo proporciona información epidemiológica sobre infecciones causadas por GBS. El test NADAL® Strep B está destinado sólo al uso profesional. El límite de detección del test es 1×10^5 bacterias/frotis y no depende de la viabilidad de los organismos.

2. Introducción y significado clínico

Los *Streptococcus* del grupo B (GBS) o *Streptococcus agalactiae* están entre las causas más frecuentes de infecciones que amenazan la vida de recién nacidos. Hasta un 30% de las mujeres embarazadas están colonizadas con GBS. Algunos estudios recientes han demostrado que la profilaxis antibiótica intraparto de mujeres colonizadas por GBS reduce significativamente la incidencia de sepsis causada por GBS en recién nacidos. Los exámenes de rutina de GBS están recomendados con frecuencia entre la semana 35 y la 37 del embarazo. Un estudio CDC ha mostrado que este test es 50% más efectivo que el uso de antibióticos para mujeres embarazadas de riesgo clínico identificado.

Los métodos de cultivo estándar precisan 24 o 48 horas y los resultados pueden no estar disponibles suficientemente pronto para un tratamiento efectivo. Por esta razón, se requieren estos métodos utilizando técnicas de detección más rápidas. El test NADAL® Strep B es especialmente apropiado si el tiempo y/o la disponibilidad de los métodos del cultivo están limitados. Permite la detección de GBS directamente desde hisopos, ayudando a los médicos a hacer un presunto diagnóstico y decidir si está indicado un tratamiento.

3. Principio del test

El test NADAL® Strep B permite la detección de antígenos de *Streptococcus* del grupo B a través de la interpretación visual de la aparición del color en la tira de test interna. Los anticuerpos anti-*Streptococcus* B están inmovilizados en la región de test de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con los anticuerpos policlonales anti-*Streptococcus* B que están conjugados con partículas coloreadas recubriendo la almohadilla de conjugado de la tira de test interna. La mezcla migra entonces a través de la membrana por acción capilar e interactúa con los reactivos de la membrana.

Si hay suficientes antígenos de *Streptococcus B* en la muestra, se formará una línea coloreada en la región de la línea 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 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 B (individualmente envasados). Cada casete de test contiene conjugados coloreados y agentes reactivos recubiertos en las correspondientes regiones de la membrana interna.

- 1 reactivo 1: 1,0 M de nitrito de sodio



Peligro

H301 Tóxico en caso de ingestión

- 1 reactivo 2: 0,4 M de ácido acético
- 1 control positivo: GBS no viable: 0,09% azida de sodio
- 1 control negativo: conteniendo *Streptococcus* no pertenecientes al grupo B inactivados por calor
- Material provisto según la 93/42/EEC:
20 hisopos esterilizados Copan Floqswabs: para la recolección de la muestra; CE 0123



Tecnologías Copan Flock srl, Via F. Perotti 18,
25125 Brescia - Italia

- 20 pipetas desechables: para añadir la muestra
- 20 tubos de extracción: para la preparación de las muestras
- 1 soporte para el reactivo
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele los dispositivos. 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, contenedores o reactivos puede conducir a resultados falsos.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el 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 (región de resultados), 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 intercambie tapas entre los diferentes botes de reactivos de extracción.
- 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.
- 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 (ej. no ingerir ni inhalar).
- Utilice los hisopos suministrados para la recolección de la muestra. No utilice hisopos de alginato de calcio, algodón o hisopos con mango de madera.
- No utilice los test si los envases están dañados.
- Los reactivos 1 y 2 son ligeramente cáusticos. Evite el contacto con los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, enjuague con abundante agua.
- Los controles contienen azida de sodio, que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías, formando azidas de sodio potencialmente explosivas. Para evitar esto, deje correr abundante cantidad de agua al desechar esta solución. Evite el contacto con los ojos y las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, enjuague con abundante agua.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

- La calidad de las muestras obtenidas es de extrema importancia. Utilice métodos clínicos estándar para la recolección de las muestras.
- Se recomienda procesar los hisopos con las muestras lo más pronto posible después de 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 (15-30°C) antes de la realización de la prueba.
- No coloque los hisopos en ningún dispositivo de transporte que contenga líquido o medio de transporte con agar o carbón activado. El medio de transporte puede interferir con el ensayo y la viabilidad de los organismos. En caso de que sea necesario, recomendamos utilizar el medio de transporte modificado Stuart según las instrucciones del fabricante.
- Si se quiere hacer un cultivo bacteriano, rote ligeramente el hisopo sobre una placa de cultivo celular apropiada antes de utilizarlo en el test. Los reactivos de extracción del test matarán las bacterias de los hisopos imposibilitando el cultivo.

9. Procedimiento del test

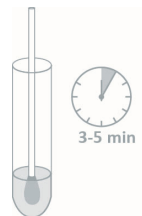
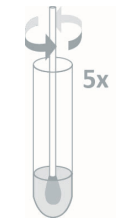
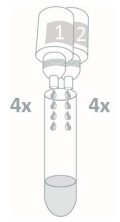
Lleve las muestras, los reactivos y los casetes de test a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

Para evitar la contaminación cruzada, no permita que las puntas de los botes del reactivo entren en contacto con el material de muestra.

Para utilizar los controles, consulte el apartado 11 "Control de calidad".

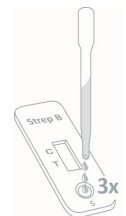
1. Preparación de los hisopos con las muestras:

- Sitúe un tubo de extracción limpio en el área designada de la estación de trabajo. Añada 4 gotas de reactivo 1 y 4 gotas del reactivo 2 en el tubo de extracción. Para asegurar un tamaño de gota adecuado al añadir los reactivos, sostenga los botes en posición vertical. Mezcle la solución agitando suavemente el tubo de extracción.
- Sumerja inmediatamente el hisopo con la muestra en el tubo de extracción. Realizando movimientos circulares, ruede el hisopo contra el lateral del tubo de extracción y apriete el tubo con fuerza, de modo que la presión expulse el líquido del hisopo y se pueda reabsorber. Repita al menos 5 veces.
- Deje reposar la solución durante 3-5 minutos a temperatura ambiente. Después, expulse el líquido de la cabeza del hisopo girándolo contra la pared interior del tubo de extracción y apriete el tubo cuando haya retirado el hisopo. 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.

- 3. Tranfiera 3 gotas (aproximadamente 120 µL), de la solución extraída o del control, con la pipeta desechable suministrada, 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.

Una vez que el ensayo empiece a funcionar, observará un líquido coloreado que migra a lo largo de la membrana.

- 4. Espere a que aparezca la línea coloreada. Lea el resultado del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T). Esto indica que el antígeno de *Streptococcus B* se ha detectado en la muestra.



Negativo

Sólo aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece la línea coloreada en el área de test (T). Esto indica que no se han detectado antígenos de *Streptococcus* B o la concentración GBS es inferior al punto de corte.

**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 se deben descartar. 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 local.

**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 test se debe considerar positiva. Recuerde que este test sólo 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.

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 (BLP) recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto. Con cada kit de test se suministra un control positivo con streptococcus del grupo B inactivado por calor y un control negativo con streptococcus no pertenecientes al grupo B.

Procedimiento operativo para el análisis del control de calidad externo:

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

1. Sitúe un tubo de extracción en el área designada de la estación de trabajo. Añada 4 gotas de reactivo 1 y 4 gotas del reactivo 2 en el tubo de extracción. Para asegurar un tamaño de gota adecuado al añadir los reactivos, sostenga los botes verticalmente. Mezcle la solución agitando suavemente el tubo de extracción.
2. Mezcle completamente la solución de control (control positivo/negativo) agitando el bote enérgicamente. Añada 1 gota de control positivo o negativo al tubo.
3. Coloque un hisopo limpio y estéril en el tubo y gírelo. Déjelo en el tubo de extracción durante 1 minuto. Después, expulse el líquido de la cabeza del hisopo girándolo contra la pared interior del tubo de extracción y apriete el tubo al retirar el hisopo. A continuación, deseche el hisopo.

4. Continúe como se describe en el paso 2 del "Procedimiento del test".

Si los controles no le ofrecen los resultados esperados, no use los test con las muestras. Repita el test de control de calidad o contacte con su proveedor.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Strep B sólo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro* y sólo se debe utilizar para la detección cualitativa de Streptococcus del grupo B (GBS). 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 pueden obtener resultados negativos de pacientes con una ligera colonización GBS debido a la baja concentración de antígenos. Es aconsejable confirmar resultados negativos de test con un método alternativo, ej. cultivo.
- La colonización maternal con GBS puede ser intermitente, transitoria o permanente y no suele causar síntomas clínicos. Por eso, se suele recomendar que el momento de realización del test esté próximo al nacimiento.
- No hay estudios clínicos disponibles para analizar exudados de oído o de la garganta de recién nacidos con este test. Los resultados negativos no se deben utilizar para excluir la presencia de GBS porque la cantidad de bacterias puede estar por debajo del punto de corte. Se suele recomendar tomar muestras de múltiples regiones para incrementar la probabilidad de detección.
- El test no diferencia entre portadores asintomáticos de *Streptococcus* del grupo B y los que poseen infección. Si los signos y síntomas clínicos no coinciden con los resultados de los test de laboratorio, se recomienda realizar un cultivo como seguimiento.
- Al igual que con otros test, un diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de una única prueba, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

13. Valores esperados

Hasta un 30% de las mujeres son portadoras de GBS en su flora vaginal o rectal. Normalmente esta colonización no causa ningún síntoma. Sin embargo, pueden producirse infecciones severas si la bacteria se transmite durante el nacimiento, siendo el GBS la principal causa de morbilidad y mortalidad entre los recién nacidos. La incidencia del comienzo temprano de la enfermedad en recién nacidos se da en aproximadamente 1-2 casos por cada 1.000 nacimientos. La tasa de mortalidad llega al 20% en recién nacidos afectados. En mujeres con gran colonización, el riesgo de infección se incrementa aprox. 2,5 veces en comparación con mujeres con poca colonización. La quimioprofilaxis intraparto reduce el riesgo de infección de los comienzos tempranos de la enfermedad en recién nacidos.

14. Características del rendimiento**Estudio de correlación**

Se realizó un estudio de correlación entre el test NADAL® Strep B y los cultivos convencionales. Los hisopos vaginales y rectales se utilizaron como material de muestra.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

| Test NADAL® Strep B | Cultivo | | | Total |
|---------------------|---------|----|-----|-------|
| | | + | - | |
| | + | 20 | 2 | |
| - | 2 | 96 | 98 | |
| Total | 22 | 98 | 120 | |

Sensibilidad relativa: 90,9%

Especificidad relativa: 97,9%

Concordancia general: 96,7%

Límite de detección

El límite de detección del test NADAL® Strep B se determinó en 1×10^5 organismos/hisopo. La sensibilidad se determina para cada lote como parte del control de calidad, y se indica en el certificado del lote específico del análisis.

Estudios de efecto prozona

No se registraron efectos adversos en la formación de la línea T para la concentración de *Streptococcus* B de hasta 1×10^9 organismos/hisopo.

Estudio de especificidad

Se realizaron estudios de las reacciones cruzadas con organismos que se pueden encontrar en la vagina/recto, o con otras especies de *Streptococcus* utilizando el test NADAL® Strep B. Los siguientes organismos se analizaron a 1×10^7 organismos/hisopo y mostraron resultados negativos:

| Organismo | ATCC No. | Organismo | ATCC No. |
|-----------------------------------|----------|----------------------------------|----------|
| <i>Candida albicans</i> | 1106 | Strep C | 12401 |
| <i>Corynebacterium diphthriae</i> | 13812 | Strep F | 12392 |
| <i>Enterococcus durans</i> | 19432 | Strep G | 12394 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 19433 | <i>Streptococcus canis</i> | 43496 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 9006 | <i>Streptococcus equisimilis</i> | 9528 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 9987 | <i>Streptococcus equisimilis</i> | 9542 |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 27633 | <i>Streptococcus equisimilis</i> | 12388 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 13077 | <i>Streptococcus mutans</i> | 25175 |
| <i>Neisseria sicca</i> | 9913 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 27338 |
| <i>Neisseria subflava</i> | 14799 | <i>Streptococcus sanguis</i> | 10556 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 9721 | <i>Streptococcus oralis</i> | 9811 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 8100 | <i>Streptococcus mitis</i> | 903 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 12598 | <i>Streptococcus anginosus</i> | 33397 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1228 | <i>Streptococcus intermedius</i> | 27335 |
| Strep A | 19615 | | |

Estudios en laboratorios de centros médicos (POL)

Se llevó una evaluación del test NADAL® Strep B a tres laboratorios médicos utilizando un panel de muestras codificadas con control negativo, muestras positivas débiles y

positivas medias. Cada concentración de la muestra se analizó en cada lugar en réplicas de 30 durante 3 días. El estudio mostró >99,9% de acuerdo con los resultados esperados.

Estudio de interferencia

Se analizaron varios lavados vaginales a concentraciones de 1%. Ninguno de ellos interfiere en la formación de resultados de test correctos.

Variabilidad interlote e intralote

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

15. Referencias

1. Finch, R.G., French, G.L., and Phillips, I.; Group B streptococci in the female genital tract; Br. Med. J., 1 (6020) 1245-1247, 1976
2. Lim, D.V., Morales, W.J., Walsh, W.J. and Kazanis, D.; Reduction of morbidity and mortality rates for neonatal group B streptococcal disease through early diagnosis and chemo-prophylaxis; J. Clin. Microbiol. 23 489-492, 1986
3. Apgar B.S. et al. (2005) Prevention of Group B Streptococcal Disease in the Newborn, American Family Physician 71(5): 903-910
4. Ippolito D.L. et al. (2010) Group B Streptococcus serotype prevalence in reproductive-age women at a tertiary care military medical center relative to global serotype distribution, BMC Infectious Diseases 10: 336-
5. Hahn H., Kaufmann S.H.E., Schulz T.F., Suerbaum S. (eds) Medizinische Mikrobiologie, Springer Verlag, 6. komplett überarbeitete Auflage, Chapter 26.2 Streptococcus agalactiae
6. Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. (2010) Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010

Rev. 0, 2015-08-21 MP