



WL Check

Strep A

Para la detección cualitativa de *Streptococcus pyogenes* en muestras de exudado faríngeo

SIGNIFICACION CLINICA

Streptococcus pyogenes, del grupo A de Lancefield, es una de las bacterias más importantes en patología humana. Este microorganismo es la causa bacteriana más frecuente de faringitis agudas y también da lugar a una gran variedad de infecciones cutáneas y sistémicas. Es agente causal tanto de infecciones leves como la faringitis y el impétigo, como así también de infecciones graves como bacteriemia, sepsis, erisipela, celulitis, fascitis necrotizante y el síndrome de shock tóxico estreptocócico.

La adquisición faríngea o cutánea de *S. pyogenes* ocurre por transmisión de persona a persona a través de microgotas aerosolizadas o por contacto directo. El tracto respiratorio superior y las lesiones de piel constituyen los reservorios y los principales focos primarios de infección por *S. pyogenes*. La faringitis estreptocócica puede presentar complicaciones supurativas (absesos periamigdalinos, retrofaríngeos, otitis, sinusitis, linfadenitis y meningitis) y no supurativas (artritis reactiva, fiebre reumática y glomerulonefritis). La escarlatina puede ser considerada como una faringitis complicada cuando la infección es producida por cepas productoras de exotoxinas pirogénicas.

El tratamiento antibiótico está indicado para evitar las complicaciones supurativas y no supurativas, acelerar la mejoría clínica del paciente y limitar la cadena epidemiológica.

El método "gold standard" para el diagnóstico de las infecciones por *Streptococcus pyogenes* es el cultivo directo positivo, en medio de agar sangre ovino, de una muestra de exudado faríngeo. Pero dicho diagnóstico demora por lo menos 1-2 días y esto hace que el tratamiento se demore hasta que se tengan los resultados del laboratorio.

Una alternativa consiste en arribar al diagnóstico etiológico mediante la realización de una prueba rápida en muestras de exudado faríngeo. Estos tests rápidos requieren de una etapa previa de extracción para liberar un carbohidrato grupo específico (antígeno) de la pared celular del *S. pyogenes*. Luego se realiza la identificación inmunológica del antígeno liberado.

WL Check Strep A es una prueba rápida para la detección cualitativa de *Streptococcus pyogenes* Grupo A en muestras de exudado faríngeo.

FUNDAMENTOS DEL METODO

WL Check Strep A es un ensayo inmunocromatográfico "in vitro", de lectura visual, para la detección cualitativa de *Streptococcus pyogenes* en muestras de exudado faríngeo. La prueba consta de una tira reactiva que contiene:

- Una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con anticuer-

pos anti-*Streptococcus* Grupo A en la zona de prueba "T".
- Un parche impregnado con anticuerpos anti-*Streptococcus* Grupo A conjugados a oro coloidal.

Este test requiere de una etapa previa de extracción para liberar un carbohidrato grupo específico (antígeno) de la pared celular del *Streptococcus pyogenes*. Luego se realiza la identificación inmunológica del antígeno liberado. Para ello los reactivos de extracción se colocan en un tubo de reacción y el hisopo, con el cual se tomó la muestra de exudado faríngeo, se coloca dentro del mismo. Es decir, el antígeno estreptocócico de Grupo A se extrae a partir del hisopado faríngeo. Se gira el hisopo varias veces y se lo aprieta para realizar la extracción. Luego se desecha el hisopo y se coloca la tira reactiva en el tubo de reacción que contiene la muestra extraída y así comienza la reacción inmunológica, migrando los distintos componentes por capilaridad.

El antígeno estreptocócico del Grupo A, en caso de estar presente, formará un complejo con los anticuerpos conjugados a oro coloidal. Este complejo se unirá posteriormente a los anticuerpos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura. La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control "C". La ausencia de esta línea invalida los resultados.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: reactivo de extracción a base de solución de nitrito de sodio 1 M, azida sódica 0,9 g/L. Color rosa intenso.

B. Reactivo B: reactivo de extracción a base de solución de ácido acético 0,25 M. Incoloro.

C. Reactivo C: tira reactiva compuesta por una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con anticuerpos anti-*Streptococcus* Grupo A y conjugado de anticuerpos anti-*Streptococcus* Grupo A.

Control Positivo*: solución de *Streptococcus* Grupo A no viable, azida sódica 0,9 g/L.

Control Negativo*: solución negativa para *Streptococcus* Grupo A, no viable, azida sódica 0,9 g/L.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- hisopos estériles envasados en forma individual.

- tubos plásticos descartables para extracción de muestra.

2- No provisto

- Reloj alarma o cronómetro.
- Guantes descartables, guardapolvo, protección ocular.
- Contenedor para el descarte de residuos biológicos.
- Hipoclorito de sodio.

PRECAUCIONES

- Leer el manual de instrucciones de manera completa antes de realizar el ensayo y seguir las instrucciones cuidadosamente.
- No realizar la prueba si el envase está dañado o no contiene el desecante.
- No utilizar los reactivos y materiales después de la fecha de vencimiento indicada en el envase.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Esta prueba proporciona un resultado cualitativo y visual. Es necesaria una buena fuente de luz para la lectura de los resultados.
- No mezclar reactivos de diferentes lotes.
- No utilizar reactivos y materiales de otro origen.
- No tocar la membrana de nitrocelulosa con los dedos.
- Seguir las prácticas de seguridad biológica al utilizar muestras, reactivos y controles:
 - Manipular todas las muestras de exudado faríngeo y los controles como potencialmente infecciosos.
 - Utilizar guantes, guardapolvo y protección ocular.
 - No pipetear con la boca.
 - No comer, beber, fumar, utilizar maquillaje ni manejar lentes de contacto en los lugares donde se trabaje con estos materiales.
 - Limpiar y desinfectar, en caso de contacto con las muestras, reactivos o controles, usando hipoclorito sódico (concentración final 5%) u otro desinfectante adecuado. Para inactivar el material empleado autoclavar durante 1 hora a 121°C.
- Evitar la formación de burbujas durante el dispensado de los reactivos de extracción en el tubo plástico. Al dispensar los mismos descartar cualquier gota con burbuja.
- Evitar la formación de burbujas durante el dispensado de los controles en el tubo plástico. Al dispensar los mismos descartar cualquier gota con burbuja.
- Durante la realización de la prueba, trabajar en una superficie limpia, plana y sin vibraciones.
- No agitar la tira durante la realización del ensayo.
- Las tiras, los tubos plásticos y los hisopos provistos son descartables, no reutilizar. Desechar en recipientes destinados a residuos con riesgo biológico.
- El Reactivo A y los Controles Positivo y Negativo contienen azida sódica en bajas concentraciones como conservante.
- El Reactivo B es una solución ácida. En caso de contacto con los ojos o la piel, enjuagar con abundante cantidad de agua.
- No intercambiar las tapas de los frascos de los Reactivos.
- No intercambiar las tapas de los frascos de los Controles.
- Los reactivos y las muestras de exudado faríngeo deben ser descartados de acuerdo a la normativa vigente

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

El kit es estable entre 2 y 30°C hasta la fecha de vencimiento

indicada en la caja. No congelar. En caso de almacenar refrigerado, asegurarse que el sobre alcance temperatura ambiente antes de ser utilizado, de lo contrario se favorecerá la humectación del contenido.

La tira reactiva debe permanecer en su sobre original sellado y con el desecante. No abrir el envoltorio hasta el momento de usar.

MUESTRA

Exudado faríngeo

a) Recolección: para obtener los mejores resultados debe seguirse el procedimiento estándar para toma de muestra de exudado faríngeo. Para ello:

- Abrir el envoltorio que contiene el hisopo estéril.
- Utilizando un bajalenguas, frotar con el hisopo la faringe posterior, amígdalas y otras zonas inflamadas. Es muy importante tomar la muestra de las zonas inflamadas o con exudado.
- Evitar tocar la lengua, los dientes, las encías y la parte interna de las mejillas con el hisopo.
- Realizar la prueba inmediatamente luego de la toma del exudado faríngeo.

b) Estabilidad y almacenamiento: la muestra de exudado faríngeo debe ser procesada inmediatamente luego de su recolección. En caso de no poder realizarse la prueba rápidamente, las muestras de exudado faríngeo pueden conservarse en un tubo plástico, limpio y seco hasta 8 horas a temperatura ambiente (18-30°C) o hasta 5 días refrigeradas (2-10°C). Para períodos de tiempo mayores conservar la muestra a -20°C.

c) Transporte: si las muestras deben ser transportadas, embalar de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO

1- Los reactivos, los controles y las muestras de exudado faríngeo deben estar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de realizar el ensayo.

2- Sujetar el gotero del Reactivo A verticalmente y colocar 3 gotas (200 µL) en el tubo de extracción provisto. El Reactivo A es de color rosa intenso.

3- Sujetar el gotero del Reactivo B verticalmente y colocar 3 gotas (200 µL) en el tubo de extracción anterior. El Reactivo B es incoloro.

El agregado del Reactivo B sobre el Reactivo A produce un cambio de color de la solución desde rosa intenso a ligeramente amarillento.

4- Mezclar las soluciones agitando suavemente el tubo de extracción con la mano.

5- a) Para muestras de exudado faríngeo

Introducir inmediatamente el hisopo, luego de tomar la muestra, en el tubo de extracción. Girar el hisopo 10 veces dentro del tubo presionando la cabeza del mismo contra el fondo y las paredes del tubo.

b) Para controles

- Homogeneizar suavemente cada control invirtiéndolo 10 veces.

- Sujetar el gotero del Control Positivo o Negativo verticalmente y colocar 1 gota dentro del tubo de extracción anterior.

- Colocar un hisopo limpio dentro del tubo de extracción y girarlo 10 veces presionando la cabeza del mismo contra el fondo y las paredes del tubo.

6- Dejar el hisopo en el tubo durante 1 minuto a temperatura ambiente.

Luego presionar la cabeza del hisopo apretando el tubo plástico con los dedos para extraer la mayor cantidad posible de líquido del hisopo, mientras se saca el mismo del tubo.

Descartar el hisopo.

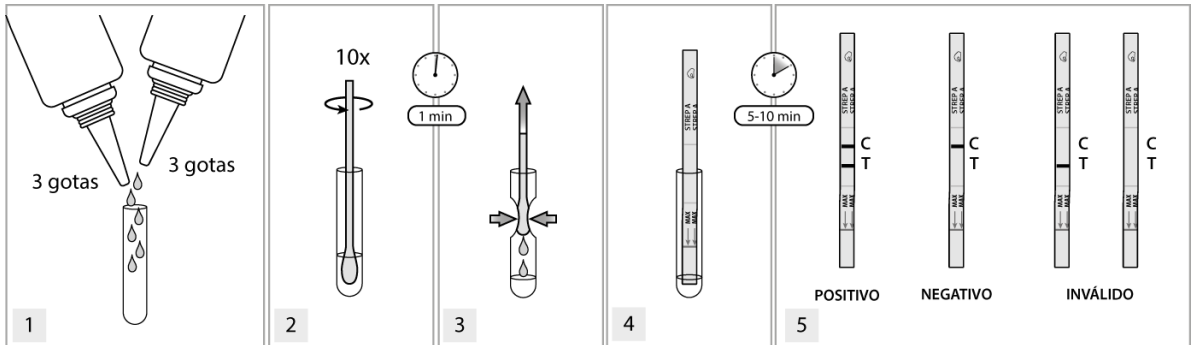
Agitar suavemente el tubo de extracción con la mano.

7- Extraer la tira reactiva del sobre sellado que la contiene. Colocar la tira reactiva dentro del tubo de extracción que

contiene la solución con la muestra extraída. Colocar la tira en la orientación correcta dirigiendo las flechas impresas en la tira hacia el fondo del tubo. No sumergir la tira por encima de la marca indicada.

8- Iniciar el cronómetro. Incubar la tira en el tubo de extracción sin remover la misma.

9- Leer los resultados entre los 5 y 10 minutos. No leer pasados los 10 minutos ya que pueden obtenerse resultados erróneos. Algunas muestras positivas reaccionan inmediatamente mientras que otras lo hacen más lentamente dentro del tiempo de lectura indicado. El color de fondo de la membrana puede quedar ligeramente rosado sin afectar la interpretación de los resultados.



METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Interno

El agregado del Reactivo B sobre el Reactivo A produce un cambio de color de la solución desde rosa intenso a ligeramente amarillento. Este cambio de color indica que la mezcla de los reactivos de extracción fue realizada en forma correcta y que los reactivos están funcionando adecuadamente.

La tira reactiva cuenta con una línea de color celeste en la zona de control "C" que permite identificar la determinación **WL Check Strep A** e indica que los componentes de la prueba están presentes y activos.

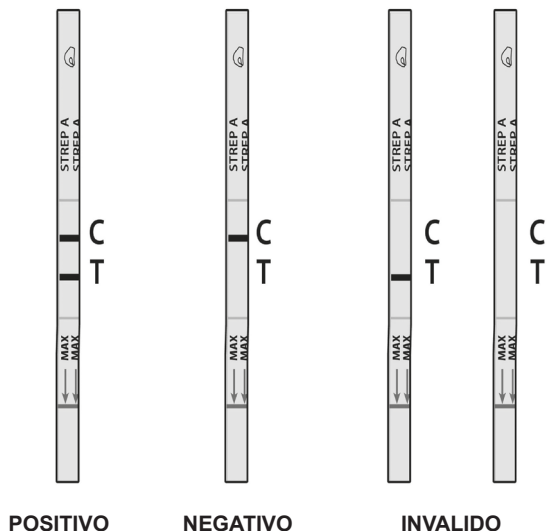
Al realizar el ensayo la línea de color celeste debe cambiar a color rosa-rojo púrpura. Este cambio de color indica que la realización del procedimiento fue correcta.

Externo

Siguiendo las Buenas Prácticas del Laboratorio, se recomienda el uso del Control Positivo y del Control Negativo, para asegurar la correcta performance del kit y que el operador está realizando el ensayo adecuadamente. Ambos controles son provistos en el kit.

Es responsabilidad del usuario efectuar el Control de Calidad del equipo de acuerdo a las normas locales vigentes.

INTERPRETACION DE RESULTADOS



Resultado Positivo (2 líneas): Se observan 2 líneas de color rosa-rojo púrpura, una en la zona de prueba "T" y otra en la zona de control "C". La intensidad de color de la línea "T" dependerá de la muestra en estudio. Cualquier color rosado visible, aunque sea muy tenue, debe ser interpretado como positivo. El resultado es positivo aunque las intensidades del color de las líneas "T" y "C" sean diferentes.

Resultado Negativo (1 línea): Se observa solamente una línea de color rojo-rosa púrpura en la zona de control "C". No aparece línea de color en la zona de prueba "T".

Resultado Inválido: La ausencia de la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de control "C" invalida el resultado, aunque esté o no presente la línea de color rosa-rojo púrpura en la zona de prueba "T". Un resultado inválido generalmente indica un error en la realización del procedimiento o un problema con la muestra. En cualquier caso, revisar el procedimiento y repetir el ensayo utilizando una nueva tira reactiva.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- **WL Check Strep A** es una prueba cualitativa para la detección de *Streptococcus pyogenes* Grupo A en muestras de exudado faríngeo. Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto a los resultados obtenidos con otros procedimientos diagnósticos y a los datos clínicos del paciente antes de realizar el diagnóstico definitivo.
- Para un óptimo funcionamiento de la prueba es muy importante y crítico realizar una correcta toma de muestra de exudado faríngeo y una correcta extracción antigénica. Se deben seguir las instrucciones de uso detalladamente para evitar resultados erróneos.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *Streptococcus pyogenes* Grupo A. Se puede obtener un resultado falso negativo en las siguientes circunstancias:
 - Concentración bacteriana en la muestra de exudado por debajo del nivel de detección de esta prueba.
 - Infección con una cepa bacteriana que no se detecta con esta prueba.
 - Incorrecta toma de muestra de exudado faríngeo.
 Por estas razones se debe tener cuidado al interpretar un resultado negativo, especialmente en pacientes con presencia de síntomas clínicos. Todo resultado negativo se debe confirmar realizando un cultivo directo de la muestra de exudado faríngeo, el cual constituye el método gold standard.
- Un resultado positivo por **WL Check Strep A** indica la presencia de antígeno específico de *Streptococcus pyogenes* en muestra de exudado faríngeo, proveniente tanto de bacterias viables como no viables.
- Para un resultado positivo, la intensidad de color de la línea "T" no necesariamente se correlaciona con la concentración bacteriana en la muestra.
- El exceso de sangre o moco en el hisopado puede producir resultados falsos positivos. Evitar tocar con el hisopo la lengua, mejillas, dientes, encías y cualquier zona de la boca con sangrado.
- **WL Check Strep A** ha sido diseñado para la detección cualitativa de *Streptococcus pyogenes* Grupo A en muestras de

exudado faríngeo solamente. Utilizar los hisopos estériles provistos en el kit para tomar la muestra.

PERFORMANCE

a) Sensibilidad y Especificidad Clínica

En un estudio clínico fueron evaluadas 500 muestras de exudado faríngeo provenientes de diferentes centros de salud y de pacientes con síntomas de faringitis. A dichos exudados se les realizó cultivo bacteriano en placas de agar sangre y la prueba rápida **WL Check Strep A**. Se obtuvieron los siguientes resultados:

		Cultivo bacteriano		
		Positivo	Negativo	Total
WL Check Strep A	Positivo	242	10	252
	Negativo	8	240	248
	Total	250	250	500

De los 500 exudados evaluados:

- 250 fueron positivos por cultivo, de los cuales 242 fueron positivos por **WL Check Strep A**, dando una sensibilidad de 96,80% con un IC 95%= 94,32%-98,34%.

- 250 fueron negativos por cultivo, de los cuales 240 fueron negativos por **WL Check Strep A**, dando una especificidad de 96,00% con un IC 95%= 93,28%-97,78%.

b) Reactividad cruzada

Los siguientes microorganismos fueron evaluados con la prueba **WL Check Strep A** en concentraciones aproximadas de 1x10⁸ UFC/test. En todos los casos se obtuvieron resultados negativos no presentándose reactividad cruzada. *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) Lancefield's Group B
Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis (ATCC 12388) Lancefield's Group C
Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis (ATCC 12394) Lancefield's Group G
Streptococcus salivarius subsp. salivarius (ATCC 13419)
Streptococcus mutans (ATCC 25175)
Streptococcus sanguinis (ATCC 10556)
Moraxella catarrhalis (ATCC 25238)
Neisseria perflava (ATCC 14799)
Streptococcus Grupo C aislamiento clínico
Streptococcus agalactiae Grupo B aislamiento clínico
Streptococcus grupo viridans
Staphylococcus
Enterococcus

c) Precisión

Se evaluó la precisión del test siguiendo el protocolo EP5-A2 recomendado por el CLSI. Los ensayos fueron realizados con 3 muestras positivas con diferentes niveles de reactividad y con 1 muestra negativa. Se realizaron 2 ensayos diarios evaluando cada muestra por duplicado por el transcurso de 20 días. Los resultados fueron leídos a los 10 minutos en un lector inmunocromatográfico y en forma visual. Las muestras positivas siempre dieron un resultado positivo y la muestra negativa siempre dio un resultado negativo.

	Línea T					Línea C				
	Media (mAbs)	Intraensayo		Total		Media (mAbs)	Intraensayo		Total	
		S	CV	S	CV		S	CV	S	CV
Muestra Positiva 1	104.99	31.07	29.59%	35.79	34.09%	200.36	30.97	15.46%	33.13	16.53%
Muestra Positiva 2	16.15	6.11	37.84%	6.45	39.92%	186.23	45.77	24.57%	44.79	24.05%
Muestra Positiva 3	23.22	5.76	24.82%	9.04	38.98%	186.17	40.43	21.72%	40.94	21.99%
Muestra Negativa	(-)	NC	NC	NC	NC	166.93	36.53	21.88%	33.48	20.06%

n=80; (-) Negativo por lectura visual; NC= No Corresponde

PRESENTACION

Equipo para 25 determinaciones:

- 1 x 6,5 ml Reactivo A
 - 1 x 6,5 ml Reactivo B
 - 25 sobres Reactivo C
- (Cód. 1691000)

BIBLIOGRAFIA

- Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología, Volumen I: "Bacterias de Importancia Clínica". Editores: Horacio A. Lopardo, Silvia C. Predari, Carlos Vay. Parte IIa.2: "Cocos Gram Positivos Catalasa Negativos". Capítulo IIa.2.1: "Estreptococos β hemolíticos", Mónica Sparo, Emma G. Sutich.
- A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, Third Edition. Section III: Respiratory Specimens, Throat Specimens. J. Michael Miller, PHD, Shelley A. Miller, PHD, 2017. ASM Press, Washington, DC.
- Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012 Update

by the Infectious Diseases Society of America.

- Clinical Practice, Streptococcal Pharyngitis. Wessels Michael R. N Engl J Med 2011; 364:648-655.
- Rapid antigen detection testing in diagnosing group A β -hemolytic streptococcal pharyngitis. Review. Alexander KC Leung, Rachel Newman, Ashir Kumar and H Dele Davies. Expert Rev. Mol. Diagn. 6(5): 761-6, 2006.
- Methods of use of one step immunochromatographic device for *Streptococcus A* antigen. United States Patent No: US6,979,576 B1 (2005).
- Microorganism antigen extraction methods. United States Patent No:US5,494,801(1996).
- Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline – Second Edition. EP5-A2, Vol. 24, N° 25, CLSI.
- User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition. EP12-A2, Vol. 28, N° 3, CLSI.
- Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents. Approved Guideline. EP-25A, Vol. 29, N° 20, CLSI.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-163



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina