

Prueba rápida de *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A'

(Orofaringea)
SAR 0725/01
REF DMSPN02

Uso deseado

La prueba rápida de *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de los antígenos de *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A) en muestras orofaríngeas.

Resumen

Los estreptococos son bacterias grampositivas. Específicamente el *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) más conocido como estreptococo del grupo A puede propagarse por medio de la tos, estornudos e inclusive con el contacto de una de herida, todo esto proveniente de una persona infectada. La infección por *S. pyogenes* puede causar enfermedades como amigdalitis, faringitis, impétigo, celulitis y escarlatina. El diagnóstico de estreptococo del grupo A puede ser realizado con pruebas rápidas de antígenos o cultivos bacterianos y, por lo general se trata con antibióticos. Es importante realizar un tratamiento adecuado, pues aunque no es común, una infección por este patógeno puede derivar en enfermedades mortales como la fasciitis necrosante, el síndrome del choque tóxico estreptocócico, entre otras [1].

Principio

La prueba rápida para la detección cualitativa de antígenos de *S. pyogenes* en muestras orofaríngeas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba es un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba (T) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho junto con el reactivo de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno de *S. pyogenes* por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígenos de *S. pyogenes* por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó correctamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos anti-*S. pyogenes* y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Instructivo de uso
- Tubo de extracción con tapa cuenta gotas
- Hisopo
- Solución de corrimiento 1 (Buffer 1) (solución color rojo)
- Solución de corrimiento 2 (Buffer 2) (solución incolora)

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Gradilla
- Abatelenguas
- Medio de transporte/Tubo estéril

Obtención de muestra

Recuerde utilizar guantes, cubrebocas, protector para ojos o careta antes de realizar el proceso de recolección.

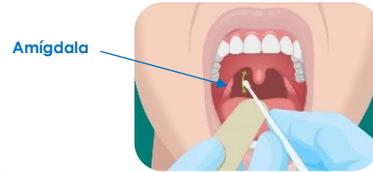
- I. Posicione al individuo en un área iluminada.
- II. Solicite a la persona que abra la boca y relaje la lengua mientras dice 'aaaah'.

III. Con ayuda de un abatelenguas 'nuevo y limpio' (no incluido) presione levemente la lengua para tener acceso a una mayor apertura en la zona.

IV. Utilizando un hisopo (incluido) y tomándolo desde la base, frote suavemente el área de algodón contra ambas amígdalas (véase imagen al final del paso V) y la parte posterior de la faringe, que son las zonas con más signos por *S. pyogenes*.

Nota: Evite tocar lengua, mejillas y dientes con el hisopo.

V. Al finalizar realice la prueba, de lo contrario coloque el hisopo en un medio de transporte o tubo de ensayo estéril (no incluidos).



Almacenamiento de la muestra

- Se recomienda realizar la prueba inmediatamente después de que las muestras han sido recolectadas.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- La muestra puede ser almacenada en un tubo estéril hasta por 72 días en refrigeración (4°C).
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y buffers (1 y 2) alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque un tubo de extracción sobre una gradilla (no incluida) y deposite 4 gotas de la solución de corrimiento 1 (solución color rojo), después deposite 4 gotas del reactivo de corrimiento 2 (solución incolora), al finalizar mezcle ambas soluciones moviendo el tubo de extracción en forma circular.

Nota: Una vez la solución de corrimiento 2 es agregado, la solución de corrimiento 1 cambiará de color rojo a amarillo.

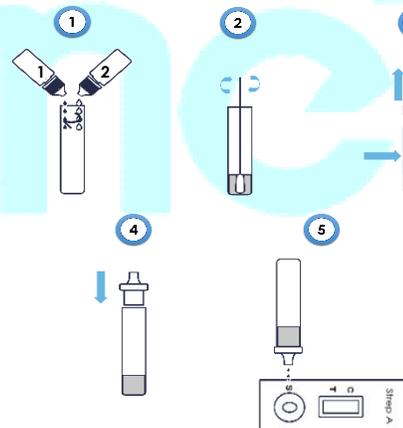
2. Obtenga la muestra como se indicó anteriormente e inmediatamente coloque el hisopo en el tubo de extracción preparado del paso anterior. Incorpore la muestra del hisopo a la solución del tubo de extracción mediante 15 movimientos circulares y déjelo reposar por dos minutos.

3. Levante el hisopo de la solución de corrimiento y apriete el tubo de extracción al mismo tiempo que aprieta el hisopo para obtener la mayor cantidad de muestra, al finalizar deseche el hisopo.

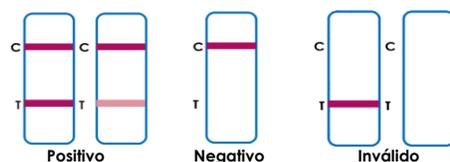
4. Coloque la punta del gotero en el tubo de extracción.

5. Agregue 3 gotas de la mezcla en el pozo (S) del cartucho. Inicie un temporizador por 10 minutos e interprete los resultados. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Nota: Debido a la susceptibilidad del buffer a ser contaminado por condiciones ambientales, se recomienda no usarlo 3 meses después de haber sido abierto.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba (T). Nota: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea de color en la región de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de color en la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región de control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

- Al igual que todas las pruebas rápidas, la **funcionalidad** del buffer incluido con esta prueba **puede verse afectado** por la contaminación ambiental, considere el tiempo establecido (**3 meses** después de ser abierto) para obtener resultados óptimos.
- La prueba rápida de *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea) para la detección cualitativa del antígeno de *Streptococcus pyogenes* no proporciona un valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de *S. pyogenes*.
- Esta prueba puede indicar la presencia de *S. pyogenes* en forma viable o no viable.
- La prueba rápida de *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea) detecta antígenos de *S. pyogenes* viables y no viables. El rendimiento de la prueba depende de la carga de antígeno en la muestra. Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes.
- Si se obtiene un resultado negativo, este debe ser confirmado por medio de cultivo.
- El rendimiento de la prueba no se ha establecido para controlar el tratamiento de *S. pyogenes*.
- El exceso de sangre o mucosa puede llevar a falsos positivos, evite tocar la lengua, mejillas, dientes o cualquier área con sangre al momento de recolectar la muestra.

Valores esperados

La prueba rápida *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea) para la detección cualitativa de antígenos de *S. pyogenes* en muestras orofaríngeas fue comparada con una prueba comercial de cultivo, se obtuvo una precisión global de 97.81%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Exactitud

Se utilizó la prueba rápida de *Streptococcus pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea) para analizar un total de 319 muestras orofaríngeas provenientes de personas relativamente sanas y con síntomas como fiebre, dolor o infección de garganta y tener inflamación de ganglios del cuello entre otros. Los resultados fueron confirmados mediante una prueba de cultivo, el cual, se consideró un resultado negativo si después de 48 horas no se presentó crecimiento de *S. pyogenes*. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Resultados	Cultivo		Resultados totales
		Positivo	Negativo	
Prueba rápida de <i>Streptococcus pyogenes</i> 'Grupo A' (Orofaringea)	Positivo	112	2	114
	Negativo	5	200	205
Resultados totales		117	202	319

Sensibilidad relativa: 95.73% (95% IC: 92.91%-97.45%)

Especificidad relativa: 99.01% (95% IC: 97.20%-99.65%)

Exactitud relativa: 97.81% (95% IC: 95.54%-98.93%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa, dos positivas (baja y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 20 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa, dos positivas (baja y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes microorganismos indicados en la siguiente tabla con la prueba rápida *S. pyogenes* 'Grupo A' (orofaríngea), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y una negativa a *S. pyogenes*. Ninguno presentó reactividad cruzada.

Bacterias	
• <i>Acinetobacter baumannii</i>	• <i>Moraxella catarrhalis</i>
• <i>Bacteroides fragilis</i>	• <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
• <i>Bordetella pertussis</i>	• <i>Proteus mirabilis</i>
• <i>Cándida albicans</i>	• <i>Proteus vulgaris</i>
• <i>Candida glabrata</i>	• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
• <i>Cardiobacterium hominis</i>	• <i>Serratia marcescens</i>
• <i>Eikenella corrodens</i>	• <i>Staphylococcus aureus</i>
• <i>Enterococcus gallinarum</i>	• <i>Staphylococcus epidermidis</i>
• <i>Escherichia coli</i>	• <i>Streptococcus pneumoniae</i>
• <i>Haemophilus paraphrophilus</i>	• <i>Streptococcus agalactiae</i>
• <i>Haemophilus influenzae</i>	• <i>Streptococcus ssp. grupo C, G y F</i>
• <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	• <i>Streptococcus mutans</i>
• <i>Haemophilus paraphrophilus</i>	• <i>Chlamydia pneumoniae</i>
• <i>Kingella kingae</i>	• <i>Chlamydia psittaci</i>
• <i>Klebsiella pneumoniae</i>	• <i>Chlamydia trachomatis</i>
• <i>Listeria monocytogenes</i>	

Virus	
• Virus de Influenza A (H1N1, H3N2)	• VHS-1
• Virus de Influenza B	• Virus Mumps
• Adenovirus tipo 1-8, 11, 19, 37.	• Virus Parainfluenza tipo 1-3
• Virus Coxsackie tipo A16, B1-5	• Polivirus tipo 1-3
• Cytomegalovirus	• Virus sincitial respiratorio
• Echovirus tipo 3, 6, 9, 11, 14, 18, 30.	• Rhinovirus tipo 1A, 13, 14.
• Enterovirus tipo 71	

Referencias

- [1]. Organización Mundial de la Salud. Noticias sobre brotes de enfermedades: Aumento de la incidencia de la escarlatina y de infecciones invasivas por estreptococos del grupo A en varios países. Ginebra: OMS; 2022. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencias/disease-outbreak-news/item/2022-DON429>

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar