

NADAL[®] Strep B Test (test cassette)

REF 232001



DE	Gebrauchsanweisung	2	CZ	Návod k použití	31
EN	Instructions for use	7	FI	Käyttöohje	35
FR	Instructions d'utilisation	11		Symbols	39
ES	Instrucciones de uso	15		Our Teams	40
IT	Istruzioni per l'uso	19			
PL	Sposób użycia	23			
PT	Instruções de Utilização	27			



1. Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der NADAL® Strep B Test ist ein schneller, visueller Immunoassay für den qualitativen, präsumptiven Nachweis von Gruppe B-Streptokokken-Antigenen (GBS) in Proben aus Vaginal- oder Rektalabstrichen. Ohr- oder Rachenabstriche von Neugeborenen direkt nach der Geburt können ebenfalls verwendet werden. Der Test wird als Hilfsmittel eingesetzt, um das Vorhandensein von GBS im Probenmaterial zu diagnostizieren, welches ein Hinweis auf eine Kolonisierung oder eine Infektion sein kann. Damit liefert der Test epidemiologische Informationen über GBS. Der NADAL® Strep B Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt. Die Nachweisgrenze des Tests liegt bei 1×10^5 Bakterien/Abstrich und ist unabhängig von der Lebensfähigkeit der Organismen.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Die Gruppe B-Streptokokken (GBS) bzw. *Streptococcus agalactiae* sind eine der häufigsten Ursachen von lebensbedrohlichen Infektionen bei Neugeborenen. Bis zu 30% aller schwangeren Frauen sind mit GBS kolonisiert. Jüngste Studien haben belegt, dass eine intrapartale Antibiotikaphylaxe von mit GBS kolonisierten Frauen das Vorkommen der durch GBS verursachten Sepsis in Neugeborenen eindeutig verringert. Routineuntersuchungen auf GBS werden häufig zwischen der 35. und 37. Schwangerschaftswoche empfohlen. Eine Studie der amerikanischen Gesundheitsbehörde CDC belegt, dass dieser Screening-Ansatz um 50% wirksamer ist als die Anwendung von Antibiotika bei schwangeren Frauen, die über einen klinischen Risikoansatz identifiziert wurden.

Herkömmliche Bakterienkulturmethoden benötigen 24-48 Stunden. Daher können deren Ergebnisse nicht schnell genug für eine wirksame Behandlung zur Verfügung stehen. Deshalb sind Methoden erforderlich, die schnellere Screening-Techniken verwenden. Der NADAL® Strep B Test ist besonders geeignet, wenn die Zeit und/oder die Verfügbarkeit von Kulturmethoden begrenzt sind. Er ermöglicht den Nachweis von GBS direkt aus Abstrichen und hilft Ärzten eine vorläufige Diagnose zu stellen und zu entscheiden, ob eine Therapie eingesetzt werden sollte.

3. Testprinzip

Der NADAL® Strep B Test weist Antigene der Gruppe B Streptokokken durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung auf dem internen Teststreifen nach. Anti-Streptokokken B-Antikörper sind im Testlinienbereich der Membran immobilisiert. Während der Testung reagiert die Probe mit weiteren polyklonalen anti-Streptokokken B-Antikörpern, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad des internen Teststreifens vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den Reagenzien auf der Membran.

Wenn in der Probe genügend Streptokokken B-Antigene vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich der Membran. Die Anwesenheit dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist. Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® Strep B Testkassetten (einzeln verpackt): Jeder Test enthält farbige Konjugate und reaktive Reagenzien, die in den entsprechenden Bereichen des internen Teststreifens vorbeschichtet sind.

- 1 Reagent 1: 1,0 M Natriumnitrit



Gefahr

H301: Giftig beim Verschlucken

- 1 Reagent 2: 0,4 M Essigsäure
- 1 Positivkontrolle (Positive Control): nicht-lebensfähige GBS; 0,09% Natriumazid
- 1 Negativkontrolle (Negative Control): enthält durch Hitze abgetötete nicht-Gruppe B Streptokokken
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material:
20 sterile Tupfer Copan Floqswabs: Zur Probenentnahme; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,

Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 Einwegpipetten: Zum Hinzugeben der Probe
- 20 Extraktionsröhrchen: Zur Probenvorbereitung
- 1 Reagenzienhalter
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C gelagert und bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Die Testkassette sollte bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Tests nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Extraktionsröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test Kits austauschen oder mischen.
- Nicht die Verschlüsse der Reagenzienflaschen vertauschen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.

- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitätszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Benutzen Sie nur die beigelegten Tupfer für die Probenentnahme. Verwenden Sie keine Calciumalginat-Baumwoll-Tupfer oder Tupfer mit Holzstiel.
- Tupfer nicht verwenden, wenn seine Verpackung beschädigt ist.
- *Reagent 1* und *Reagent 2* sind leicht ätzend. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit den Augen und den Schleimhäuten. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser sorgfältig waschen.
- Die Kontrollen enthalten Natriumazid, das mit Blei- oder Kupferwasserleitungen zu potentiell explosiven Metallaziden reagiert. Wenn Sie die Lösungen entsorgen, spülen Sie mit reichlich Wasser nach, um eine übermäßige Azid-Ansammlung zu verhindern. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit den Augen und den Schleimhäuten. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser sorgfältig waschen.
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

- Die Qualität der entnommenen Probe ist ausschlaggebend. Verwenden Sie nur standardisierte klinische Methoden.
- Es empfiehlt sich, dass die Proben unmittelbar nach der Entnahme untersucht werden. Wenn die Proben nicht sofort verarbeitet werden, sollten sie in ein steriles, trockenes und fest verschlossenes Röhrchen oder Fläschchen gegeben und kühl aufbewahrt werden. Frieren Sie die Abstrichtupfer nicht ein. Die Abstrichtupfer können bis zu 4 Stunden bei Raumtemperatur (15-30°C) oder bis zu 24 Stunden gekühlt (2-8°C) gelagert werden. Bringen Sie alle Proben vor der Testung auf Raumtemperatur.
- Geben Sie die Abstrichtupfer nicht in einen Transportbehälter, welcher ein flüssiges Transportmedium oder Transportmedien mit Agar oder Aktivkohle enthält. Transportmedien können den Assay und die Lebensfähigkeit der Organismen beeinflussen. Wenn ein Transportmedium erforderlich ist, empfehlen wir die Verwendung von modifiziertem Stuart's Transportmedium gemäß der Anweisung des Herstellers.
- Falls eine Bakterienkultur gewünscht wird, streichen Sie den Tupfer vor seiner Benutzung im Test leicht über eine 5%ige Schafblut-Agarplatte. Die Extraktionsreagenzien im Test töten die Bakterien auf dem Tupfer ab und es ist im Nachhinein nicht mehr möglich vom Tupfer eine Kultur anzulegen.

9. Testdurchführung

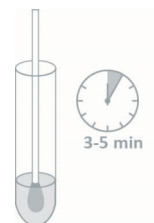
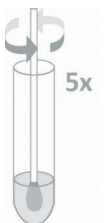
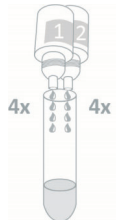
Bringen Sie alle Tests, Proben und Reagenzien vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

Die Spitzen der Reagenzienfläschchen dürfen auf keinen Fall mit Probenmaterial in Berührung kommen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Zur Testung von Kontrollen siehe Punkt 11 „Qualitätskontrolle“.

1. Vorbereitung der Abstrichproben

- Platzieren Sie ein sauberes Extraktionsröhrchen in den vorgesehenen Bereich des Reagenzienhalters. Geben Sie 4 Tropfen des Reagent 1 und 4 Tropfen des Reagent 2 ins Extraktionsröhrchen. Um eine verlässliche Tropfengröße zu gewährleisten, halten Sie die Fläschchen mit Tropfaufsatz beim Tropfen der Reagenzien senkrecht. Mischen Sie die Lösung, indem Sie das Extraktionsröhrchen vorsichtig schwenken.
- Führen Sie unverzüglich den Abstrichtupfer mit der Probe in das Röhrchen ein. Drehen Sie den Tupfer mit kreisförmigen Bewegungen gegen die Röhrchenwand und drücken Sie dabei das Röhrchen fest zusammen, so dass so viel Flüssigkeit wie möglich aus dem Tupfer ausgedrückt und wieder absorbiert wird. Wiederholen Sie den Vorgang mindestens 5x.
- Lassen Sie die Lösung bei Raumtemperatur für 3-5 Minuten stehen. Dann drücken Sie die Flüssigkeit aus der Tupferspitze heraus, indem Sie den Tupfer gegen die Röhrchenwand drehen und das Röhrchen beim Entfernen des Tupfers fest zusammendrücken. Entsorgen Sie den Tupfer nach Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösen Erregern.

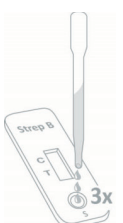


- Entnehmen Sie die Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und legen Sie sie auf eine saubere und ebene Oberfläche. Die Testkassette muss unverzüglich oder spätestens innerhalb einer Stunde nach der Öffnung des Folienbeutels verwendet werden. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
- Geben Sie 3 Tropfen (ca. 120 µl) der extrahierten Lösung oder der Kontrolle mit der Einwegpipette in die Probenvertiefung der Testkassette.

Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung.

Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

- Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T). Dies zeigt an, dass Streptokokken B-Antigen in der Probe nachgewiesen wurde.



Negativ

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie. Dies zeigt an, dass kein Streptokokken B-Antigen in der Probe nachweisbar ist oder die GBS-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze liegt.



Ungültig

Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertezeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.



Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Testkit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der Konzentration der Antigene, die in der Probe vorhanden sind, variieren. Daher sollte jede Farbtönung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Antigenkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Testkits. Eine Positivkontrolle (Positive Control), die hitzeinaktivierte Streptokokken der Gruppe B enthält, und eine Negativkontrolle (Negative Control), die hitzeinaktivierte nicht-Gruppe B-Streptokokken enthält, sind dem Test-Kit beigelegt.

Durchführung der externen Kontrolltestungen:

Bringen Sie alle Tests, Kontrollen und Reagenzien vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Platzieren Sie ein sauberes Extraktionsröhrchen in den vorgesehenen Bereich des Reagenzienhalters. Geben Sie 4 Tropfen des Reagent 1 und 4 Tropfen des Reagent 2 in das Extraktionsröhrchen. Um eine verlässliche Tropfengröße zu gewährleisten, halten Sie die Fläschchen mit Tropfaufsatz beim Tropfen der Reagenzien senkrecht. Mischen Sie die Lösung, indem Sie das Extraktionsröhrchen vorsichtig schwenken.
2. Mischen Sie die Kontrolllösung (Positive/Negative Control), indem Sie das Fläschchen kräftig schütteln. Geben Sie 1 Tropfen der Positiv- oder Negativkontrolle in das Extraktionsröhrchen.
3. Führen Sie einen sauberen und sterilen Tupfer in das Röhrchen ein und drehen Sie ihn. Belassen Sie den Tupfer für 1 Minute im Extraktionsröhrchen. Dann drücken Sie die Flüssigkeit aus der Tupferspitze heraus, indem Sie den Tupfer gegen die Röhrchenwand drehen und das Röhrchen beim Entfernen des Tupfers fest zusammendrücken. Entsorgen Sie den Tupfer.
4. Fahren Sie fort, wie es im Schritt 2 der „Testdurchführung“ beschrieben ist.

Wenn die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, verwenden Sie die Tests nicht für Proben. Wiederholen Sie die Qualitätskontrolltestung oder setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Strep B Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch bestimmt und sollte nur für den qualitativen Nachweis von Gruppe B-Streptokokken (GBS) verwendet werden. Keine Bedeutung sollte der Farbintensität oder der Breite der sichtbaren Linien entnommen werden.
- Die Genauigkeit des Tests hängt von der Qualität der Abstrichprobe ab. Eine unsachgemäße Probenentnahme oder -lagerung kann zu falsch negativen Ergebnissen führen. Negative Ergebnisse können bei Patienten mit einer leichten GBS-Kolonisierung aufgrund einer niedrigen Antigenkonzentration auftreten. Es empfiehlt sich, negative Testergebnisse mit einer alternativen Testmethode, z. B. Kultur zu bestätigen.
- Materne Kolonisierung mit GBS kann intermittierend, vorübergehend oder dauerhaft sein und verursacht in der Regel keine klinischen Symptome. Es wird daher in der Regel empfohlen, dass der Zeitpunkt der Testung nahe an der Geburt liegt.
- Für die Testung von Rachen-/Ohrenabstrichen von Neugeborenen stehen keine klinischen Studien für diesen Test zur Verfügung. Negative Ergebnisse sollten nicht verwendet werden, um das Vorhandensein von GBS auszuschließen, weil die Bakterienzahlen unter der Nachweisgrenze liegen können. Es wird allgemein empfohlen, Abstriche aus mehreren Regionen zu entnehmen, um die Wahrscheinlichkeit des Nachweises zu erhöhen.
- Der Test unterscheidet nicht zwischen asymptomatischen Trägern von Gruppe B-Streptokokken von solchen mit einer Infektion. Wenn klinische Zeichen und Symptome nicht mit Labortestergebnissen übereinstimmen, wird es empfohlen mit einer Kultur nachzutesten.

- Wie bei allen diagnostischen Tests sollte die endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren, sondern vom Arzt nach der Evaluierung weiterer klinischer und labortechnischer Befunde gestellt werden.

13. Erwartete Werte

Bis zu 30% aller Frauen tragen GBS in ihrer vaginalen oder rektalen Flora. Normalerweise verursacht diese Kolonisierung keine Symptome. Allerdings können schwere Infektionen auftreten, wenn Bakterien während der Geburt übertragen werden, so dass GBS eine führende Ursache für Morbidität und Mortalität bei Neugeborenen sind. Das Vorkommen einer Early-Onset-Neugeborenen-Krankheit beträgt etwa ein bis zwei Fälle pro 1.000 Lebendgeburten. Die Mortalitätsrate beträgt bis zu 20% bei betroffenen Neugeborenen. In stark kolonisierten Frauen ist das Infektionsrisiko ca. 2,5-fach erhöht im Vergleich zu leicht kolonisierten Frauen. Eine intrapartale Chemoprophylaxe verringert das Infektionsrisiko einer Early-Onset-Neugeborenen-Krankheit.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Korrelationsstudie

Eine Korrelationsstudie wurde zwischen dem NADAL® Strep B Test und einer konventionellen Kultur durchgeführt. Als Probenmaterial wurden vaginale, rektale Abstriche verwendet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

NADAL® Strep B Test	Kultur			
		+	–	Total
	+	20	2	22
	–	2	96	98
Total		22	98	120

Relative Sensitivität: 90,9%

Relative Spezifität: 97,9%

Gesamtübereinstimmung: 96,7%

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des NADAL® Strep B Tests wurde als 1×10^5 Organismen/Abstrich bestimmt. Die Sensitivitätstestung wird für jede Charge als Teil der Qualitätskontrolle durchgeführt und ist in dem chargenspezifischen Analysenzertifikat angegeben.

Prozoneneffekt-Studie

Streptokokken B-Konzentrationen von bis zu 1×10^9 Organismen/Abstrich zeigten keine nachteilige Auswirkung auf die T-Linienbildung.

Spezifitäts-Studie

Kreuzreaktivitäts-Studien mit Organismen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Vagina/im Rektum auftreten können, oder mit anderen Streptokokken-Spezies wurden unter Verwendung des NADAL® Strep B Tests durchgeführt. Die folgenden Organismen wurden bei einer Konzentration von 1×10^7 Organismen/Abstrich getestet und zeigten negative Ergebnisse.

Organismen	ATCC Nr.	Organismen	ATCC Nr.
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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		

Arztpraxis-Labor (POL) Studien

Eine Evaluierung des NADAL® Strep B Tests wurde in drei Praxislaboratorien unter Verwendung von einem Panel kodierter Proben einschließlich einer Negativkontrolle, niedrig positiver und mittel-positiver Proben durchgeführt. Jede Probenkonzentration wurde in 30 Replikaten an jedem Standort über einen Zeitraum von 3 Tagen getestet. Die Studie zeigte eine Übereinstimmung von >99,9% mit den erwarteten Ergebnissen.

Interferenz-Studie

Verschiedene vaginale Spülungen wurde bei Konzentrationen von 1% getestet. Keine der Spülungen interferierte mit der Ausbildung korrekter Testergebnisse.

Inter-Chargen- und Intra-Chargen-Variabilität

Drei verschiedene Chargen wurden mit negativen, niedrig-, mittel- und hoch-positiven Kontrollen in 10-facher Bestimmung getestet. Keine unerwarteten oder inkonsistenten Ergebnisse wurden erhalten, was darauf hindeutet, dass die Inter-Chargen- und Intra-Chargen-Variabilität niedrig ist.

15. Referenzen

- 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
- 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
- Apgar B.S. et al. (2005) Prevention of Group B Streptococcal Disease in the Newborn, American Family Physician 71(5): 903-910
- 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. 1, 2017-05-30 OM/UJ

1. Intended Use

The NADAL® Strep B Test is a rapid, visual immunoassay for the qualitative, presumptive detection of group B Streptococcus (GBS) antigens in specimens collected from vaginal or rectal swab. Ear or throat swabs from newborns collected directly after birth can also be used. The test is intended as an aid in diagnosing the presence of GBS in sample material that may either be a sign of colonisation or infection. This test provides epidemiological information about infections caused by GBS. The NADAL® Strep B Test is designed for professional use only. The detection limit of the assay is 1×10^5 bacteria/swab and does not depend on viability of organisms.

2. Introduction and Clinical Significance

Group B Streptococci (GBS) or *Streptococcus agalactiae* are among the most frequent causes of life-threatening infections in neonates. Up to 30% of all pregnant women are colonised with GBS. Some recent studies have shown that the intrapartum antibiotic prophylaxis of GBS-colonised women significantly reduces the incidence of GBS-caused sepsis in newborns. Routine examination for GBS is frequently recommended between the 35th and the 37th week of pregnancy. A CDC study has shown that this screening approach is 50% more effective than the use of antibiotics for pregnant women identified by clinical risk approach.

Standard culture methods require 24 to 48 hours, and the results may not be available soon enough for efficient treatment. Thus, methods utilising more rapid screening techniques are required. The NADAL® Strep B Test is especially suitable if time and/or availability of culture methods are limited. It enables the detection of GBS directly from swabs, helping physicians make a presumptive diagnosis and decide whether a therapy should be indicated.

3. Test Principle

The NADAL® Strep B Test detects group B Streptococcus antigens through visual interpretation of colour development on the internal test strip. Anti-streptococcus B antibodies are immobilised in the test line region of the membrane. During testing, the specimen reacts with further polyclonal anti-streptococcus B antibodies conjugated to coloured particles and precoated onto the conjugate pad of the internal test strip. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with reagents on the membrane.

If there are sufficient streptococcus B antigens in the specimen, a coloured line will form in the test line region of the membrane. The presence of this coloured line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. The appearance of a coloured line in the control line region serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® Strep B test cassettes (individually packaged). Each test contains coloured conjugates and reactive reagents precoated in the corresponding regions of the internal test strip.
- 1 Reagent 1: 1.0 M sodium nitrite



Danger

H301: Toxic if swallowed

- 1 Reagent 2: 0.4 M acetic acid
- 1 Positive Control: Non-viable GBS: 0,09% sodium azide
- 1 Negative Control: containing heat-killed non-Group B Streptococci
- Provided additional material according to 93/42/EEC:
20 sterilized swabs Copan Floqswabs: For specimen collection; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 disposable pipettes: For adding specimens
- 20 extraction tubes: For specimen preparation
- 1 reagent holder
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer

6. Storage & Stability

The test kit should be stored at 2-30°C and used before the expiry date printed on the packaging. The test cassette should remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze test kits. Care should be taken to protect components of the test kit from contamination. Do not use tests if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to false results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new extraction tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not swap caps between different extraction reagent bottles.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled

in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).

- Use the provided swabs for sample collection. Do not use calcium alginate, cotton-tipped or wooden-shafted swabs.
- Do not use swabs from damaged pouches.
- Reagents 1 & 2 are slightly caustic. Avoid contact with eyes or mucous membranes. In the event of accidental contact, wash thoroughly with water.
- Controls contain sodium azide, which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of this solution, always flush with copious amount of water to prevent azide build-up. Avoid contact with eyes or mucous membranes. In the event of accidental contact, wash thoroughly with water.
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

- The quality of specimen obtained is of extreme importance. Collect swab specimens using standard clinical methods.
- It is recommended that swab specimens be processed as soon as possible after collection. If swabs are not processed immediately, they should be placed into a sterile, dry, tightly capped tube or bottle and refrigerated. Do not freeze swabs. Swabs can be stored at room temperature (15-30°C) up to 4 hours or refrigerated (2-8°C) up to 24 hours. All specimens should be brought to room temperature (15-30°C) before testing.
- Do not place swabs in any transport device containing liquid transport media or transport media containing agar or charcoal. Transport media may interfere with the assay and viability of organisms. If transport medium is required, we recommend using Modified Stuart's Transport Medium as outlined in the manufacture's instructions.
- If a bacterial culture is desired, lightly roll the swab on an appropriate cell culture plate before using it in the test. The extraction reagents in the test will kill bacteria on swabs and make them impossible to culture.

9. Test Procedure

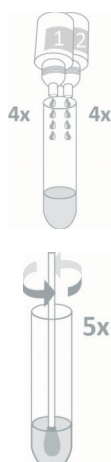
Bring tests, specimens and reagents to room temperature (15-30°C) prior to testing.

To avoid cross contamination, do not allow the tips of the reagent bottles to come into contact with sample material.

For testing of controls refer to section 11 'Quality Control'.

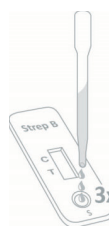
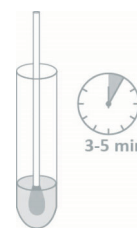
1. Prepare swab specimens:

- Place a clean extraction tube onto the designated area of the reagent holder. Add 4 drops of Reagent 1 and 4 drops of Reagent 2 to the extraction tube. In order to ensure reliable drop size when adding the reagents, hold the dropper bottles vertically. Mix the solution by gently swirling the extraction tube.
- Immediately immerse the swab with the sample into the extraction tube. Using circular motions, roll the swab against the side of the extraction tube and squeeze the extraction tube tightly so that as much liquid



as possible is expressed from the swab and can reabsorb. Repeat at least 5 times.

- Let the solution stand for 3-5 minutes at room temperature. Then express the liquid from the swab head by rolling the swab against the wall of the extraction tube and squeezing the extraction tube as the swab is withdrawn. Discard the swab in accordance with the guidelines for handling infectious agents.
2. Remove the test cassette from the sealed foil pouch and place it on a clean and level surface. The test cassette should be used immediately or within one hour at the latest after opening the foil pouch. Label the test cassette with the patient or control identification.
 3. Transfer 3 drops (approximately 120 µL) of the extracted solution or the control with the included disposable pipette from the extraction tube to the sample well of the test cassette.



Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the result area.

As the test begins to run, you will observe a coloured liquid migrate along the membrane.

4. Wait for the coloured line(s) to appear. The test result should be read after 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.



10. Result Interpretation

Positive

Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T). This indicates that streptococcus B antigen has been detected in the sample.



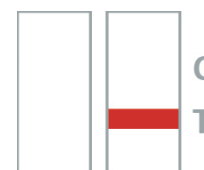
Negative

Only one coloured line appears in the control line region (C). No apparent coloured line appears in the test line region (T). This indicates that no streptococcus B antigen has been detected or the GBS concentration is below the detection limit.



Invalid

The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.



Note:

The colour intensity in the test line region (T) may vary depending on the concentration of the antigen present in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the concentration of the antigen in the specimen.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance. A positive control containing heat-killed group B streptococci and a negative control containing heat-killed non-group B streptococci are provided with each test kit.

Operating Procedure for External Quality Control Testing:

Bring tests, reagents and controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

1. Place a clean extraction tube onto the designated area of the reagent holder. Add 4 drops of Reagent 1 and 4 drops of Reagent 2 to the extraction tube. In order to ensure reliable drop size when adding the reagents, hold the dropper bottles vertically. Mix the solution by gently swirling the extraction tube.
2. Thoroughly mix the control solution (Positive/Negative Control) by shaking the bottle vigorously. Add 1 drop of Positive or Negative Control to the tube.
3. Place a clean sterile swab into the tube and swirl. Leave the swab in the extraction tube for 1 minute. Then express the liquid from the swab head by rolling the swab against the wall of the extraction tube and squeezing the extraction tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
4. Continue as described in the Step 2 of the 'Test Procedure'. If controls do not yield expected results, do not use the tests with samples. Repeat the Quality Control Testing or contact your distributor.

12. Limitations

- The NADAL® Strep B Test is for professional *in-vitro* diagnostic use and should only be used for the qualitative detection of group B streptococci (GBS). No meaning should be inferred from the colour intensity or width of any apparent lines.
- The accuracy of the test depends on the quality of the swab specimen. False negative results may occur due to improper specimen collection or storage. A negative result may also be obtained from patients with a light GBS colonization due to low antigen concentration. It is advisable to confirm negative test results with an alternative method e.g. culture.
- Maternal colonisation with GBS can be intermittent, transient or permanent and usually does not cause any

clinical symptoms. Therefore, it is usually recommended that the time point of testing should be close to birth.

- For throat/ear swabs testing of newborns no clinical studies are available for the test. Negative results should not be used to exclude the presence of GBS because bacterial numbers may be below the detection limit. It is generally recommended to take swabs from multiple locations to increase the probability of detection.
- The test does not differentiate asymptomatic carriers of Group B streptococci from those with infection. If clinical signs and symptoms are not consistent with laboratory test results, a follow-up culture is recommended.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

13. Expected values

Up to 30% of women carry GBS in their vaginal or rectal flora. Usually this colonisation does not cause any symptoms. However, severe infections may occur if bacteria are transmitted during birth so that GBS is a leading cause of morbidity and mortality amongst newborns. The incidence of early-onset neonatal disease is approximately one to two cases per 1,000 live births. Mortality rate is up to 20% in affected neonates. In heavily colonized women infection risk is increased ca. 2.5 fold if compared to lightly colonised women. Intrapartum chemoprophylaxis reduces the infection risk of early onset neonatal disease.

14. Performance Characteristics**Correlation Study**

A correlation study between the NADAL® Strep B Test and conventional culture was performed. Vaginal, rectal swabs were used as sample material.

The results are presented in the following table:

NADAL® Strep B Test	Culture			
		+	–	Total
	+	20	2	22
	–	2	96	98
Total		22	98	120

Relative sensitivity: 90.9%

Relative specificity: 97.9%

Overall agreement: 96.7%

Detection limit

The detection limit of the NADAL® Strep B Test was determined to be 1×10^5 organisms/swab. Sensitivity testing is done for each lot as part of quality control and is stated in the lot-specific Certificate of Analysis.

Prozone effect study

No adverse effect on T-line formation was recorded for streptococcus B concentration of up to 1×10^9 organisms/swab.

Specificity study

Cross-reactivity studies with organisms likely to be found in the vagina/rectum or with other *Streptococcus* species were performed using the NADAL® Strep B Test. The following

organisms were tested at 1×10^7 organisms/swab and showed negative results:

6. Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. (2010) Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010

Rev. 1, 2017-05-30 OM/UJ

Organism	ATCC No.	Organism	ATCC No.
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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		

Physician Office Laboratory (POL) Studies

An evaluation of the NADAL® Strep B Test was conducted at three physicians' office laboratory sites, using a panel of coded samples containing negative control, low positive and medium positive specimens. Each specimen level was tested at each site in replicates of 30 over a period of 3 days. The study showed >99.9% agreement with the expected results.

Interference study

A variety of vaginal washes were tested at concentrations of 1%. None of them interfered with the generation of correct test results.

Inter-lot and intra-lot variability

Three independent lots were tested with negative, low, medium and high positive controls in 10-fold determinations. No unexpected or inconsistent results were obtained, indicating that inter-lot and intra-lot variability is low.

15. References

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

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Strep B est un immunodosage rapide pour la détection qualitative d'antigènes streptococciques du groupe B (SGB) dans les prélèvements d'écouvillonnage vaginal ou rectal. Il est également possible de réaliser un écouvillonnage oropharyngé chez le nouveau-né directement après sa naissance. Le test est une aide lors de la détection des SGB dans les échantillons. Le diagnostic indique une colonisation ou une infection. Le test livre des informations épidémiologiques sur les SGB. Le test NADAL® Strep B est réservé à un usage professionnel. Le seuil de détection du test est de 1×10^5 bactéries/échantillon et est indépendant de la viabilité des organismes.

2. Introduction et signification clinique

Les bactéries streptococciques de groupe B (SGB) ou *Streptococcus agalactiae* sont l'un des principaux responsables d'infections mortelles chez les nouveau-nés. Jusqu'à 30% des femmes enceintes sont porteuses du Strep B. Plusieurs études récentes ont montré que le traitement des femmes infectées pendant leur grossesse réduit nettement la fréquence des septicémies dues au Strep B. Un dépistage de routine de la bactérie du streptocoque B est souvent réalisé entre la 35ème et la 37ème semaine de grossesse. Une étude des services de santé américains CDC a conclu que ce dépistage de routine est 50% plus performant que la prescription d'antibiotiques aux femmes enceintes présentant des facteurs de risques cliniques.

Les méthodes de cultures bactériennes traditionnelles requièrent entre 24 et 48 heures ce qui ne permet pas d'obtenir les résultats à temps pour un traitement efficace. Ainsi des techniques de diagnostic rapide sont indispensables. Le test NADAL® Strep B est particulièrement utile si le facteur temps et la disponibilité de méthode de culture sont limités. Il permet la détection des SGB directement à partir des écouvillons et permet aux médecins d'établir un diagnostic temporaire et de décider si un traitement doit être mis en place.

3. Principe du test

Le test NADAL® Strep B permet la détection des streptocoques du groupe B grâce à une interprétation visuelle des lignes colorées apparaissant sur la bandelette interne. Des anticorps anti-strep B sont immobilisés sur la membrane de la ligne de test. Pendant la manipulation, le prélèvement réagit avec les anticorps polyclonaux anti-strep B conjugués à des particules d'or préalablement immobilisés sur le tampon de conjugué de la membrane interne. Le mélange migre le long de la membrane par capillarité et interagit avec les réactifs le long de la membrane.

Si le prélèvement contient une quantité d'antigènes Strep-B suffisante, une ligne colorée apparaît à hauteur de la ligne de test de la membrane. La présence de cette ligne colorée indique un résultat positif. L'absence de cette ligne indique un résultat négatif. La ligne de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Réactifs et matériel fournis

- 20 cassettes NADAL® Strep B (emballées individuellement) : Chaque test contient un conjugué coloré et des réactifs actifs, immobilisés dans les zones correspondantes de la membrane.

- 1 réactif 1 : 1,0 M Nitrite de sodium



Danger

H301 : Toxique en cas d'ingestion

- 1 réactif 2 : 0,4 M d'acide acétique
- 1 contrôle positif (Positif Control) : SGB non-viables, 0,09% d'azoture de sodium
- 1 contrôle négatif (Negativ Control) : contient des streptocoques n'appartenant pas au groupe B détruits à la chaleur
- Matériel fourni en accord avec les normes 93/42/CEE :
20 écouvillons stériles Copan : Pour le recueil des échantillons; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,

Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 pipettes à usage unique : Pour le dépôt des échantillons
- 20 tubes d'extraction : Pour la préparation des échantillons
- 1 support pour réactifs
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre

6. Conservation et stabilité

Conserver le test à une température comprise entre 2 et 30°C dans son emballage d'origine jusqu'à la date de péremption. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les kits. Il est recommandé de protéger les kits de toute contamination. Ne pas utiliser les tests si des signes de contaminations bactériennes ou de précipités sont observables. Une contamination biologique des doseurs, des contenants ou des réactifs peut entraîner des résultats faussés.

7. Avertissement et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Pour chaque prélèvement, utiliser un collecteur différent afin d'éviter tout risque de contaminations croisées.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits.
- Ne pas mélanger les bouchons des différents réactifs.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.

- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaires (ne pas avaler ou inhaler.)
- Utiliser exclusivement les écouvillons fournis avec le kit. Ne pas utiliser d'écouvillons à l'alginate de calcium ou d'écouvillons avec tige en bois.
- Ne pas utiliser les écouvillons dont l'emballage est endommagé.
- *Reagent 1* et *Reagent 2* sont légèrement corrosifs. Éviter tout contact avec les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau.
- Les contrôles positifs contiennent de l'azoture de sodium qui, au contact de canalisations en cuivre ou en plomb, peuvent provoquer des acides explosifs. Lors de l'élimination de la solution, rincer abondamment avec de l'eau afin d'éviter toute accumulation d'acide. Éviter tout contact avec les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau.
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et stockage des échantillons

- La bonne qualité de l'échantillon recueilli est déterminante. Utiliser exclusivement des méthodes aux normes cliniques.
- Il est conseillé d'analyser les échantillons directement après leur recueil. Dans le cas où les échantillons ne sont pas préparés immédiatement, il est conseillé de les conserver dans un tube ou un flacon stérile, sec et fermé dans un milieu réfrigéré. Ne pas congeler les écouvillons. Les prélèvements peuvent être conservés pendant 4 heures à température ambiante (15-30°C) ou 24 heures en milieu réfrigéré (2-8°C). Amener tous les échantillons à température ambiante avant la réalisation du test.
- Ne pas déposer l'écouvillon dans un récipient de transport contenant un milieu aqueux de transport ou un milieu de transport contenant de l'agar ou du charbon actif. Les milieux de transport peuvent influencer l'essai et la viabilité des organismes. Dans le cas où un transport soit nécessaire, il est conseillé d'utiliser le type Stuart Transport Medium selon les notifications du fabricant.
- Dans le cas où une culture de bactéries est nécessaire, frotter légèrement l'écouvillon sur une plaque de gélose contenant 5% de sang de mouton. Le réactif d'extraction du test tue les bactéries sur l'écouvillon. Une fois cette

manipulation effectuée, il est impossible de créer une culture de bactéries à partir de l'écouvillon.

9. Procédure du test

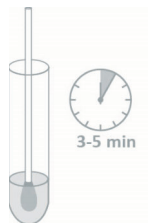
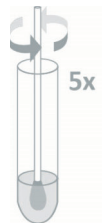
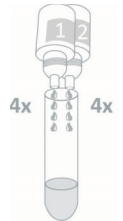
Amener tous les tests et les échantillons et les réactifs à température ambiante avant la réalisation du test (15-30°C).

L'extrémité des flacons de réactifs ne doivent jamais entrer en contact avec les échantillons afin d'éviter toute contamination croisée.

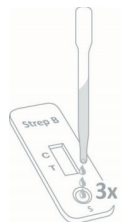
Voir le paragraphe 11 „Contrôle qualité“ pour l'exécution des contrôles

1. Préparation des échantillons

- Placer un tube d'extraction propre dans la zone prévue pour la manipulation. Déposer 4 gouttes du Reagent 1 et 4 gouttes du Reagent 2 dans le tube d'extraction. Afin que la taille de la goutte soit fiable, tenir le flacon de réactifs avec le bouchon compte-goutte à la verticale. Mélanger la solution en faisant prudemment pivoter le tube d'extraction.
- Insérer immédiatement l'écouvillon avec l'échantillon prélevé dans le tube. Faire pivoter l'écouvillon en effectuant une pression sur les parois du tube, de façon à ce que l'échantillon soit libéré dans le tube et que l'écouvillon s'imbibe complètement. Répéter la manipulation au moins 5 fois.
- Laisser reposer la solution pendant 3-5 minutes à température ambiante. Puis extraire le liquide de l'écouvillon en pressant l'écouvillon contre les parois et en s'assurant que l'écouvillon est énergiquement vidé lors de son retrait du tube. Éliminer l'écouvillon selon les directives relatives au traitement d'agents infectieux en vigueur.



- Retirer la cassette de son emballage d'origine et déposer la cassette sur une surface plane et propre. Utiliser la cassette immédiatement après l'ouverture de l'emballage ou maximum une heure après. Indiquer sur la cassette les identifiants du patient et du contrôle.
- Déposer 3 gouttes (env. 120 µl) de la solution extraite ou des contrôles à l'aide de la pipette à usage unique dans le puits de dépôt de la cassette.



Éviter la formation des bulles d'air dans le puits de dépôt (S).

Au début du test, un liquide coloré migre le long de la membrane.

- Attendre que la ou les lignes colorées apparaissent. Interpréter les résultats après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 20 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif

Deux lignes colorées apparaissent sur la membrane. Une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (T). Ce résultat indique que les antigènes streptocoques B sont présents dans les échantillons.



Négatif

Une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de test (T). Ce résultat indique que les antigènes du streptocoque B ne sont pas présents dans les échantillons ou que la concentration en SGB se situe en deçà du seuil de détection.



Non-valide

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation fixé doivent être jetés.



Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne plus utiliser le test et contacter le distributeur.

NOTE:

L'intensité de la couleur de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration des analytes présents dans le prélèvement. La moindre apparition d'une ligne de couleur (T) doit être considérée comme un résultat positif. Veuillez prendre en compte qu'il s'agit d'un test qualitatif et que la concentration en analytes dans le prélèvement ne peut être déterminée.

Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôles afin de confirmer la fiabilité du test. Une contrôle positif (Positiv Control), contenant des streptocoques du groupe B inactivées par la chaleur, et un contrôle négatif (Negativ Control), contenant des streptocoques hors groupe B inactivés par la chaleur sont fournis avec le kit.

Exécution des contrôles externes :

Amener tous les tests, les échantillons et les réactifs à température ambiante avant la réalisation du test (15-30°C).

1. Placer un tube d'extraction propre dans la zone prévue pour la manipulation. Ajouter 4 gouttes du Reagent 1 et 4 gouttes du Reagent 2 dans le tube d'extraction. Afin que la taille de goutte soit fiable, tenir le flacon de réactifs avec le bouchon compte-goutte à la verticale. Mélanger la solution en faisant basculer prudemment le tube d'extraction.
2. Mélanger les solutions de contrôle (Positiv/Negativ Control) en secouant énergiquement les flacons. Déposer 1 goutte des contrôles positifs/négatifs dans le tube d'extraction.
3. Insérer un écouvillon propre et stérile dans le flacon et le faire pivoter. Laisser l'écouvillon 1 minute dans le tube d'extraction. Effectuer une pression de l'écouvillon contre les parois du tube pour en extraire complètement le liquide. Lors du retrait de l'écouvillon du tube, bien appuyer plusieurs fois sur le tube. Éliminer l'écouvillon.
4. Poursuivre la manipulation comme décrite dans le point 2 "Exécution du test".
Si les contrôles ne fournissent pas les résultats attendus, ne pas utiliser le test pour les échantillons. Répéter les contrôles positifs ou contacter le distributeur.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Strep B est réservé au diagnostic professionnel *in-vitro* et a été conçu pour la détection qualitative des streptocoques du groupe B. Ne pas prendre en compte l'intensité de la couleur ou la taille de la ligne de test.
- La précision du test dépend de la qualité de l'échantillon recueilli. Une erreur lors du recueil des échantillons ou de la conservation peut mener à de faux négatifs. Les faux négatifs peuvent apparaître chez les patients avec une légère colonisation du SGB due à une faible concentration en antigènes. Il est conseillé de confirmer les résultats négatifs avec une méthode alternative.
- Une colonisation maternelle au SGB peut survenir par intermittence, provisoirement ou durablement et ne provoque généralement pas de symptômes cliniques. Il est généralement conseillé de réaliser le test peu de temps avant la naissance.
- Pour les tests réalisés sur un prélèvement d'écouvillonnage oropharyngé de nouveau-nés, il n'existe aucune étude clinique pour ce test. Les résultats négatifs n'excluent aucunement la présence de SGB. En effet, le nombre de bactéries peut être situé en deçà du seuil de détection. C'est pour cette raison qu'il est conseillé de recueillir les échantillons à plusieurs endroits afin d'augmenter les probabilités de détection.
- Le test ne différencie pas les porteurs asymptomatiques des streptocoques du groupe B des porteurs ayant une infection. Dans le cas où les signes cliniques et les symptômes ne correspondent pas aux résultats de laboratoire, il est conseillé de retester en culture.
- Comme pour avec tous les tests diagnostiques, un diagnostic clinique définitif ne devrait pas être établi sur la base d'un seul test, mais établi par un médecin en corrélation avec des données techniques de laboratoire et cliniques.

13. Résultats attendus

Plus de 30% de toutes les femmes sont porteuses de SGB dans la flore vaginale ou rectale. Une colonisation ne provoque généralement pas de symptômes. Cependant, les infections aiguës peuvent apparaître lorsque, pendant la naissance, des bactéries sont retransmises au nouveau-né. Ainsi le SGB est la principale cause de morbidité et de mortalité chez les nouveau-nés. Le taux de mortalité est de 20% chez les nouveau-nés. Chez les femmes fortement colonisées, le risque d'infection est augmenté de 2,5 en comparaison avec les femmes légèrement colonisées. Une chimioprophylaxie antepartum réduit les risques d'infection.

14. Performance du test

Étude de corrélation

Une étude de corrélation a été menée entre le test NADAL® Strep B et une culture conventionnelle. Les échantillons utilisés sont des prélèvements vaginaux et rectaux. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Strep B	Culture		
		+	-
	+	20	2
	-	2	96
Total		22	98
			120

Sensibilité relative : 90,9%

Spécificité relative : 97,9%

Concordance générale : 96,7%

Seuil de détection

Le seuil de détection du test NADAL® Strep B a été déterminé à 1×10^5 Organismes/échantillon.

Étude sur les effets prozones

Les concentrations en streptocoques B jusqu'à une concentration 1×10^9 Organismes/échantillon n'ont indiqué aucune influence négative sur la formation des lignes T.

Étude sur la spécificité

Une étude sur les réactions croisées a été réalisée avec le test NADAL® Strep B sur tous les organismes dont la présence dans le vagin/rectum est très probable ou sur d'autres espèces de streptocoques. Les organismes suivants ont été testés à une concentration de 1×10^7 organismes/écouvillon et ont fourni des résultats négatifs.

Organismes	Nr. ATCC	Organismes	Nr. ATCC
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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

Organismes	Nr. ATCC	Organismes	Nr. ATCC
<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		

Études des laboratoires de cabinet médicaux

Une évaluation du test NADAL® Strep B a été menée dans le laboratoire de trois cabinets de médecin en utilisant un panel de prélèvements codés comprenant des contrôles négatifs, des échantillons faiblement positifs et moyennement positifs. Chaque concentration de prélèvements a été testée avec 30 reproductions à différents endroits sur une période déterminée de 3 jours. L'étude a indiqué une concordance générale > 99,9% avec les résultats attendus.

Étude de l'interférence

Différents échantillons vaginaux ont été testés à une concentration de 1%. Aucun des échantillons vaginaux n'interfère avec les résultats du test.

Variation inter et intra-lots

Trois lots différents ont été testés avec des contrôles négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs sur 10 reproductions. Aucun résultat inattendu ou incohérent n'a été obtenu. Ceci indique que la variation inter et intra-lots est faible.

15. Bibliographie

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. 1, 2017-05-30 PF

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 de hisopos vaginales o rectales. También se pueden utilizar las muestras de hisopos 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/hisopo 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 adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test NADAL® Strep B en formato casete (individualmente envasados). Cada casete de test contiene conjugados coloreados y agentes reactivos recubiertos en las correspondientes regiones de la membrana interna.

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



Peligro

H301 Tóxico en caso de ingestión

- 1 reactivo 2: ácido acético 0,4 M
- 1 control positivo: GBS no viable: azida de sodio 0,09%
- 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



Copan Italia S.p.A.,

Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 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 incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo 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 patógenos 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:

- Coloque un tubo de extracción limpio en el área designada del portarreactivos. 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, haga rodar 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 haciéndolo rodar 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.



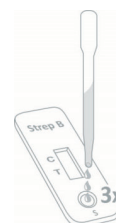
2. Retire el casete de test de su envase sellado y sitúelo sobre una superficie limpia y plana. Una vez abierto el envase, se debería utilizar el test inmediatamente o en un máximo de una hora. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.

3. Con la pipeta desechable suministrada, transfiera 3 gotas (aproximadamente 120 µL), de la solución extraída, o del control, 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.

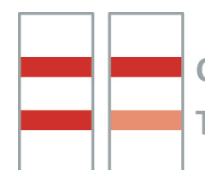
4. Espere a que aparezca la línea coloreada. Lea el resultado del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



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

Solo 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 adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

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. Coloque un tubo de extracción en el área designada del portarreactivos. 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. Introduzca un hisopo limpio y estéril en el tubo y hágalo girar. Déjelo en el tubo de extracción durante 1 minuto. Después, expulse el líquido de la cabeza del hisopo haciéndolo rodar 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 solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro* y solo 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 hisopos 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. Se utilizaron hisopos vaginales y rectales como material de muestra.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Test NADAL® Strep B	Cultivo			Total
		+	–	
	+	20	2	
	–	2	96	
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 diphthiae</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. 1, 2017-05-30 MP

1. Scopo del test

Il test NADAL® Strep B è un immunodosaggio rapido, per la determinazione qualitativa presumibile degli antigeni dello Streptococco del gruppo B (GBS) in campioni raccolti tramite tamponi vaginali oppure rettali. È possibile utilizzare anche tamponi otologici o faringei. Il test è concepito come supporto nella diagnosi per la presenza di GBS nei campioni il che potrebbe essere segno di colonizzazione oppure infezione. Il test fornisce informazioni epidemiologiche circa le infezioni causate da GBS. Il test NADAL® Strep B è concepito solo per uso professionale. Il limite di rilevazione del test è 1x10⁵ batterio/tampone e non dipende dalla vitalità degli organismi.

2. Introduzione e Significato Clinico

Gli Streptococchi del gruppo B (GBS) o *Streptococcus agalactiae* sono tra le cause più frequenti di infezioni mortali nei neonati. Fino al 30% di tutte le donne incinte sono colonizzate da ceppi di GBS. Alcuni studi recenti hanno dimostrato che la profilassi antibiotica intraparto delle donne colonizzate con GBS riduce significativamente l'incidenza di sepsi causate da GBS nei neonati. Esami di routine per i GBS vengono frequentemente raccomandati tra la 35 e la 37 settimana di gravidanza. Uno studio CDC ha mostrato che questo tipo di approccio di screening risulta nel 50% dei casi molto più efficace rispetto all'utilizzo di antibiotici per le donne incinte.

I metodi di coltura standard richiedono tra le 24 e le 48 ore ed i risultati potrebbero non essere disponibili abbastanza in tempo per la somministrazione di un trattamento efficace. Pertanto è necessario l'impiego di metodi che utilizzino tecniche di screening più rapide. Il test NADAL® Strep B risulta particolarmente indicato se tempi e/o disponibilità di metodi di coltura sono limitati. Esso permette la rilevazione degli GBS direttamente dai tamponi il che aiuta i medici a produrre una possibile diagnosi e a decidere la terapia giusta da somministrare.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Strep B rileva gli antigeni dello Streptococco del gruppo B attraverso l'interpretazione visiva dello sviluppo di colore sulla striscia interna del test. Gli anticorpi anti-streptococco B sono immobilizzati sulla membrana nella regione della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con altri anticorpi policlonali anti-streptococco B coniugati a particelle colorate di cui il tampone coniugato della striscia interna del test è rivestito. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare e va ad interagire con i reagenti presenti sulla membrana.

Se nel campione sono presenti sufficienti antigeni dello streptococco B, si sviluppa una linea colorata nella regione della linea del test sulla membrana. La presenza di questa linea colorata nella regione del test indica un risultato positivo mentre la sua assenza è indice di un risultato negativo. La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Strep B (confezionati singolarmente). Le regioni corrispondenti della striscia interna di ogni test sono prerivestite con coniugati colorati e reagenti reattivi.

- 1 Reagente 1: 1.0 M nitrito di sodio



Attenzione

H301: tossico se ingerito

- 1 Reagente 2: 0.4 M acido acetico
- 1 Controllo Positivo: GBS non vitali: 0,09% azoturo di sodio
- 1 Controllo Negativo: contenente Streptococchi del non-Gruppo B pastorizzati
- Materiali forniti secondo la regolamentazione 93/42/EEC: 20 tamponi sterilizzati Copan Floqswabs: per la raccolta del campione; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 pipette monouso: per l'aggiunta dei campioni
- 20 tubi di estrazione: per la preparazione del campione
- 1 supporto reagenti
- 1 istruzioni per l'uso

5. Altri materiali richiesti

- Timer

6. Conservazione e Stabilità

Il kit di test va conservato a 2-30°C e utilizzato prima della data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo. Non congelare i kit di test. Adottare le misure necessarie a proteggere i componenti del test dal rischio di contaminazione. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre un nuovo tubo di estrazione per ogni campione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non scambiare i tappi dei differenti flaconi di reagenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.

- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Utilizzare i tamponi forniti per la raccolta del campione. Non utilizzare tamponi contenenti alginato di calcio oppure tamponi con punta in cotone o asta di legno.
- Non utilizzare tamponi da confezioni danneggiate.
- I reagenti 1 & 2 sono leggermente caustici. Evitare il contatto con occhi o mucose. In caso di contatto accidentale, sciacquare con abbondante acqua.
- I controlli contengono azoturo di sodio che potrebbe reagire con conduttori o impianti in rame e portare alla formazione di acidi metallici potenzialmente esplosivi. Prima di gettare la soluzione, sciacquare sempre con abbondante acqua al fine di evitare l'accumulo di azoturi. Evitare il contatto con occhi o mucose. In caso di contatto accidentale, sciacquare con abbondante acqua.
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

- La qualità dei campioni ottenuti è di fondamentale importanza per la buona riuscita del test. Raccogliere i campioni seguendo i metodi clinici standard per l'utilizzo dei tamponi.
- Si consiglia di utilizzare i campioni nel più breve tempo possibile dopo la raccolta. Se i tamponi non vengono testati immediatamente si consiglia di conservarli al fresco in una provetta o flacone sterile, asciutto e ben chiuso. Non congelare. I tamponi possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30°C) fino a 4 ore o al fresco (2-8°C) per 24 ore. Portare i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.
- Non mettere i campioni in contenitori nei quali siano presenti terreni di trasporto liquidi oppure terreni di trasporto contenenti agar o carbone. I terreni di trasporto infatti, potrebbero interferire con l'analisi e la vitalità degli organismi. Nel caso in cui l'utilizzo di terreni di trasporto fosse necessario, raccomandiamo l'impiego dei Modified Stuart's Transport Medium come consigliato dal produttore.
- Nel caso in cui si necessiti di una coltura batterica, far ruotare leggermente il tampone su una piastra di colture cellulari prima di utilizzarlo con il test. I reagenti di estrazione nel test uccideranno i batteri sui tamponi rendendone impossibile la coltura.

9. Procedura del Test

Portare i test, i campioni ed i reagenti a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

Al fine di evitare il rischio di contaminazione incrociata, fare in modo che le punte dei flaconi di reagenti non entrino in contatto con il materiale campione.

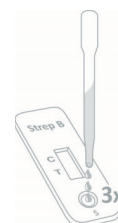
Per testare i controlli, fare riferimento alla sezione 11 'Controllo Qualità'.

1. Preparare i campioni di tampone:

- Appoggiare un tubo di estrazione pulito sull'apposito supporto per i reagenti. Aggiungere 4 gocce di Reagente 1 e 4 gocce di Reagente 2 nel tubo di estrazione. Mantenere il flacone contagocce in posizione verticale al fine di assicurarsi che la giusta quantità di reagenti sia aggiunta. Mescolare la soluzione ruotando leggermente il tubo di estrazione.
- Immergere immediatamente il tampone con il campione nel tubo di estrazione. Effettuando movimenti circolari, ruotare il tampone contro le pareti del tubo di estrazione e premere fermamente il tubo di estrazione in modo che il liquido fuoriesca dal tampone e possa riassorbirsi ripetutamente. Ripetere almeno 5 volte.
- Lasciare riposare la soluzione ottenuta per 3-5 minuti a temperatura ambiente. Estrarre il liquido dalla punta del tampone ruotando il tampone contro le pareti del tubo di estrazione e premendo il tubo di estrazione una volta che il tampone viene rimosso. Smaltire il tampone in accordo con le regolamentazioni per il trattamento di agenti infettivi.



2. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione e posizionarlo su una superficie piana e pulita. Il test a cassetta dovrebbe essere utilizzato immediatamente o entro un'ora al massimo dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.
3. Trasferire nel pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta 3 gocce (circa 120 µL) della soluzione estratta oppure del controllo utilizzando la pipetta monouso fornita.



Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) ed evitare l'aggiunta di qualsiasi soluzione nell'area del risultato.

Quando il test comincia a funzionare, potrete osservare un liquido colorato migrare lungo la membrana.

4. Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato del test dopo 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

Positivo

Compaiono due linee colorate sulla membrana. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T). Ciò indica che l'antigene dello streptococco B è stato rilevato nel campione.



Negativo

Si sviluppa solo una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea visibile nella regione della linea del test (T). Ciò indica che l'antigene dello streptococco B non è stato rilevato o che la concentrazione di GBS è al di sotto dei limiti di rilevazione.



Non valido

La linea di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Nota bene:

L'intensità di colore della linea del test nella regione della linea del test (T) potrebbe variare in base alla concentrazione degli antigeni presenti nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nell'area della linea del test (T) va considerata come indicativa di risultato positivo. Nota Bene: questo è un test qualitativo ed in quanto tale non può essere utilizzato per determinare la concentrazione degli antigeni nel campione.

Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test. Un controllo positivo contenente streptococchi pastorizzati del gruppo B e un controllo negativo contenente streptococchi non-gruppo B sono forniti con ogni kit di test.

Procedure operative per lo svolgimento di Controlli Qualità Esterni:

Portare i test, i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

1. Appoggiare un tubo di estrazione pulito sull'apposito supporto per i reagenti. Aggiungere 4 gocce di Reagente 1 e 4 gocce di Reagente 2 nel tubo di estrazione. Mantenere il flacone contagocce in posizione verticale al fine di assicurarsi la giusta aggiunta di reagenti. Mescolare la soluzione ruotando leggermente il tubo di estrazione.
2. Mescolare la soluzione di controllo (Controllo Positivo/Negativo) agitando energicamente il flacone. Aggiungere 1 goccia di Controllo Positivo o Negativo al tubo.
3. Mettere un tampone pulito e sterile nel tubo e ruotare. Lasciare il tampone nel tubo di estrazione per 1 minuto. Estrarre il liquido dalla punta del tampone ruotando il tampone contro le pareti del tubo di estrazione e premendo il tubo di estrazione una volta che il tampone viene rimosso. Smaltire il tampone.
4. Continuare come descritto al punto 2 "Procedura del Test". Se i controlli non producono i risultati attesi non utilizzare i test con i campioni. Ripetere il Controllo Qualità oppure contattare il proprio distributore.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Strep B è concepito per l'utilizzo nella diagnostica *in-vitro* ed esclusivamente per l'individuazione qualitativa degli streptococchi del gruppo B (GBS). Nessun significato è attribuibile all'intensità di colore o ampiezza delle linee comparse.
- L'accuratezza del test dipende dalla qualità del campione tampone. Potrebbero verificarsi dei falsi risultati negativi dovuti alla raccolta o conservazione errate del campione. Un risultato negativo potrebbe verificarsi anche per quei pazienti con una leggera colonizzazione di GBS dovuta ad una bassa concentrazione di antigeni. È consigliabile confermare i risultati negativi del test con un metodo alternativo, ad es. coltura.
- La colonizzazione materna di GBS può essere intermittente, transitoria o permanente e normalmente non causa nessun sintomo clinico. Pertanto, è raccomandabile che il periodo adatto per lo svolgimento del test sia quanto più possibile vicino alla nascita.
- Per i tamponi faringei/otologici svolti sui neonati, non ci sono studi disponibili per questo test. I risultati negativi quindi non vanno interpretati per escludere del tutto la presenza di GBS in quanto la concentrazione batterica potrebbe essere al di sotto dei limiti di rilevazione. Si raccomanda, generalmente, di effettuare tamponi da diverse posizioni al fine di aumentare la probabilità di rilevazione.
- Questo test non è in grado di distinguere tra i portatori asintomatici di streptococchi del gruppo B e quelli con infezione. Se i segni clinici ed i sintomi non risultano in accordo con i risultati dei test di laboratorio, si consiglia di effettuare una coltura supplementare.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi finale non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati di un singolo test ma dovrebbe essere elaborata dal medico solo dopo la

valutazione di tutte le analisi cliniche e di laboratorio condotte.

13. Risultati attesi

Fino al 30% delle donne è portatrice di GBS nella propria flora vaginale o rettale. Di solito questa colonizzazione non è causa di sintomi. Potrebbero però verificarsi serie infezioni se i batteri vengono trasmessi durante il parto tanto che gli GBS sono considerati una delle cause principali di morbidità e mortalità tra i neonati. L'insorgenza precoce di malattie neonatali va da circa uno a due casi su 1000 nascite. Il grado di mortalità raggiunge il 20% nei neonati affetti. Nelle donne fortemente colonizzate, il rischio di infezione sale di circa 2,5 volte se comparato alle donne meno colonizzate. La chemioprophilassi intraparto riduce il rischio di insorgenza precoce di malattie neonatali.

14. Caratteristiche Tecniche

Studio comparativo

È stato condotto uno studio comparativo tra il test NADAL® Strep B ed un metodo di coltura convenzionale. Come materiale campione sono stati utilizzati tamponi vaginali e rettali.

I risultati sono riassunti nella seguente tabella:

Test NADAL® Strep B	Coltura			
		+	–	Totale
	+	20	2	22
	–	2	96	98
Totale		22	98	120

Sensibilità Relativa: 90,9%

Specificità Relativa: 97,9%

Andamento complessivo: 96,7%

Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione del test NADAL® Strep B è stato rilevato a 1×10^5 organismi/tampone. Il controllo della sensibilità del test viene effettuato per ogni lotto come componente del controllo qualità e dichiarato nel Certificato di Analisi dello specifico lotto.

Studio effetto prozona

Non è stato rilevato alcun effetto avverso sulla formazione della linea-T per la concentrazione di Streptococco B fino a 1×10^9 organismi/tampone.

Specificità

Sono stati condotti studi sulla reattività incrociata con organismi possibilmente presenti nella vagina/retto o con altri tipi di *Streptococcus* utilizzando il test NADAL® Strep B. I seguenti organismi sono stati testati a 1×10^7 organismi/tampone ed hanno prodotto risultati negativi:

Organismo	ATCC No.	Organismo	ATCC No.
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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

Organismo	ATCC No.	Organismo	ATCC No.
<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		

Laboratorio di Studio Medico

È stata condotta una valutazione del test NADAL® Strep B in tre laboratori di studi medici utilizzando una serie di campioni codificati contenenti controllo negativo, basso positivo e medio positivo. Ogni tipo di campione è stato testato in ogni laboratorio in ripetizioni di 30 in un periodo di 3 giorni. Lo studio ha mostrato un accordo con i risultati attesi >99,9%.

Studi di Interferenza

È stata analizzata una varietà di lavaggi vaginali con una concentrazione dell'1%. Nessuno di essi ha interferito con i risultati del test.

Variabilità inter ed intra lotto

Sono stati analizzati tre lotti indipendenti con controlli negativi, bassi, medi e alti positivi in determinazioni di 10. Non sono stati ottenuti risultati inaspettati o inconsistenti indicando che la variabilità inter ed intra lotto è bassa.

15. Bibliografia

- 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
- 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
- Apgar B.S. et al. (2005) Prevention of Group B Streptococcal Disease in the Newborn, American Family Physician 71(5): 903-910
- 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-
- 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
- Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. (2010) Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010

Rev. 1, 2017-05-30 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® Strep B jest szybkim, wizualnym testem immunologicznym, do jakościowego oznaczania antygenów streptokoków grupy B (GBS) w próbkach z wymazów pochwy lub odbytu. Zastosowane mogą zostać również wymazy z ucha lub gardła noworodków, bezpośrednio po ich narodzinach. Test stosowany jest, jako środek pomocniczy w celu diagnozowania obecności GBS w materiale próbki, który może stanowić wskazówkę dotyczącą kolonizacji lub infekcji. Dzięki temu test dostarcza epidemiologicznych informacji na temat GBS. Test NADAL® Strep B przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego. Granica wykrywalności testu znajduje się na poziomie 1×10^5 bakterii/wymaz i jest niezależna od żywotności organizmów.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Grupa B streptokoków (GBS) ew. *Streptococcus agalactiae* jest jedną z najczęstszych przyczyn infekcji zagrażających życiu noworodków. Nawet do 30% wszystkich kobiet w ciąży zainfekowanych jest GBS. Najnowsze badania wykazały, że śródporodowa profilaktyka antybiotykowa kobiet z kolonizacją GBS, znacznie zmniejsza pojawianie się sepsy spowodowanej GBS u noworodków. Rutynowe badania na wykrycie GBS zalecane są najczęściej pomiędzy 35 a 37 tygodniem ciąży. Badanie Amerykańskiego Instytutu Zdrowia CDC wykazuje, że zastosowanie skriningu jest o 50% bardziej efektywne, niż stosowanie antybiotyków u kobiet w ciąży, co niesie ze sobą kliniczne czynniki ryzyka.

Konwencjonalne metody kultur bakterii potrzebują 24-48 godzin. Wyniki ich badań nie mogą być wystarczająco szybko dostarczone w czasie pozwalającym na zastosowanie skutecznego leczenia. Dlatego potrzebne są metody, które stosują szybsze techniki skriningu. Test NADAL® Strep B w szczególności sprawdza się, gdy czas i dostępność metod kultur jest ograniczona. Umożliwia on oznaczanie GBS bezpośrednio z wymazów i pomaga postawić lekarzom wstępną diagnozę, a następnie zdecydować, jaką terapię zastosować.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Strep B oznacza antygeny grupy B streptokoków poprzez wizualną interpretację rozwoju kolorowych linii na wewnętrznym pasku testowym. Przeciwciała przeciw Strep B unieruchomione są w obszarze linii testowej membrany. Podczas badania próbka reaguje z poliklonalnymi przeciwciałami przeciw Strep B, które sprzężają się z kolorowymi cząsteczkami i powleczone są na płytce koniugatu wewnętrznego paska testowego. Mieszanka wędruje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi interakcja z odczynnikami znajdującymi się na membranie.

Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość antygenów Streptokoków B, to w obszarze linii testowej membrany pojawi się kolorowa linia. Pojawienie się tej kolorowej linii wskazuje na wynik pozytywny, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny. Pojawienie się kolorowych linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że zastosowana została odpowiednia ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 testów kasetowych NADAL® Strep B (pakowanych pojedynczo): Każdy test zawiera kolorowe koniugaty oraz reaktywne odczynniki, którymi powleczone są wewnętrzne obszary paska testowego
- 1 odczynnik 1: 1,0 M azotynu sodowego
 Niebezpieczeństwo
H301: Trujący podczas połykania
- 1 odczynnik 2: 0,4 kwasu octowego
- 1 kontrola pozytywna (Positive Control): nieżywotne GBS 0,09% azotku sodu
- 1 kontrola negatywna (Negative Control): zawiera zabite przez gorąco Streptokoki nie z grupy B
- Materiał dodatkowy, dostarczony zgodnie z dyrektywą 93/42/EWG:
20 sterylnych wacików Copan Floqswabs: Do pobierania próbek; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 pipet jednorazowych: do dodawania próbki
- 20 probówek ekstrakcyjnych: do przygotowania próbki
- 1 stojak na odczynniki
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C i stosowane do daty użyteczności podanej na opakowaniu. Kaset testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Nie używać testów przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub probówek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie należy pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie zamieniać nakrętek butelek z odczynnikami.
- Nie jeść, nie pić i nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.

- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie zupełnie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać poćnięcia lub wdychania).
- Używać wyłącznie dołączonych wacików w celu pobrania próbki. Nie używać bawełnianych wacików z alginianem wapnia lub wacików z drewnianą rączką.
- Nie używać wacików, których opakowanie jest uszkodzone.
- Odczynnik 1 i odczynnik 2 są lekko żrące. Unikać jakiegokolwiek kontaktu z oczami lub błonami śluzowymi. Podczas przypadkowego kontaktu, dokładnie przemyć dużą ilością wody.
- Kontrole zawierają azydek sodu, który reaguje z ołowiem lub miedzią do potencjalnie eksplodujących azydów metalu. Przed utylizacją roztworów, należy je przepłukać dużą ilością wody, aby uniknąć nadmiernego nagromadzenia się azydu. Unikać jakiegokolwiek kontaktu z oczami lub błonami śluzowymi. Podczas przypadkowego kontaktu, dokładnie przemyć dużą ilością wody.
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

- Jakość pobranej próbki jest niezwykle ważna. Stosować wyłącznie standardowe metody kliniczne.
- Zaleca się, aby badać próbki bezpośrednio po ich pobraniu. Jeżeli próbki nie mogą być przebadane od razu, włożyć je do sterylnej, suchej i dobrze zamkniętej probówki lub butelki i przechowywać w chłodnym otoczeniu. Nie zamrażać wacika wymazu. Waciki wymazu mogą być przechowywane do 4 godzin w temperaturze pokojowej (15-30°C) lub przez 24 godziny schłodzone (2-8°C). Przed przeprowadzeniem badania, doprowadzić wszystkie próbki do temperatury pokojowej.
- Nie wkładać wacika wymazu do pojemnika transportowego, który zawiera płynne podłoże transportowe lub podłoże transportowe z agarem lub węglem. Podłoża transportowe mogą mieć wpływ na test oraz żywotność organizmów. Jeżeli medium transportowe jest wymagane, zalecamy zastosowanie zmodyfikowanego medium transportowego Stuart's, zgodnie z zaleceniem producenta.
- Jeżeli kultura bakterii jest wymagana, to przed użyciem testu, należy potrząsnąć wacik o płytkę agarową z 5-cio % krwi owczej. Odczynniki ekstrakcyjne w teście zabijają bakterie na waciku, co uczyni je niezdolnymi do utworzenia kultur.

9. Przeprowadzanie testu

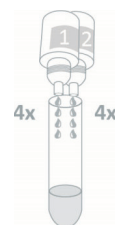
Przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie testy, próbki i odczynniki do temperatury pokojowej (15-30°C).

Aby uniknąć zanieczyszczenia, końcówki buteleczek z odczynnikiem, nie mogą mieć kontaktu z materiałem próbki.

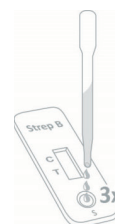
W celu badania kontroli patrz punkt 11 "Kontrola jakości".

1. Przygotowanie próbek wymazu

- Umieścić czystą rurkę ekstrakcyjną do przewidywanego obszaru zbiornika odczynników. Dodać 4 krople odczynnika 1 i 4 krople odczynnika 2 do probówki ekstrakcyjnej. Aby zagwarantować odpowiednią wielkość kropli, trzymać pionowo podczas zakraplania odczynników butelkę z zakraplaczem. Wymieszać roztwór przez ostrożne pochylanie probówki ekstrakcyjnej.
- Niezwłocznie wprowadzić wacik wymazu z próbką do probówki. Obracać wacik wymazu ruchem okrężnym w kierunku ścianki probówki i ścisnąć przy tym mocno probówkę, w taki sposób, aby jak najwięcej cieczy wydostało się z wacika, a następnie zostało ponownie zaabsorbowanej. Powtórzyć proces przynajmniej 5 razy.
- Pozostawić roztwór w temperaturze pokojowej na 3-5 minut. Wycisnąć ciecz z końcówki wacika, przez przyciskanie wacika do ścianki probówki i ściśnięcie wacika przy usuwaniu go z probówki. Zutylizować wacik zgodnie ze standardowymi przepisami dotyczącymi zakażonych odczynników.



2. Wyciągnąć kasetę testową z zamkniętego opakowania foliowego i położyć ją na czystą i równą powierzchnię. Kasetę testową musi być użyta bezpośrednio lub w ciągu jednej godziny po otwarciu opakowania foliowego. Oznaczyć kasetę testową danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.



3. Przy pomocy pipety, dodać 3 krople (ok. 120 µl) wyekstrahowanego roztworu lub kontroli do zagłębienia próbki kasety testowej.

Unikać przy tym wytwarzania się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu próbki.

Jeżeli test się rozpocznie, zaobserwować jak kolorowa ciecz wędruje wzdłuż membrany.

4. Poczekać na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik interpretować dopiero po 10 minutach. Po upływie więcej jak 20 minut nie interpretować wyniku testu.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny

Na membranie pojawiają się w 2 kolorowe linie. Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii



testowej (T). Oznacza to, że antygeny streptokoków B zostały oznaczone w próbce.

Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia. Oznacza to, że w próbce nie oznaczono antygenów streptokoków grupy B lub stężenie GBS leży poniżej granicy wykrywalności.



Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.



Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Wskazówka:

Intensywność kolorów w obszarze linii testowej (T) może różnić się, w zależności od stężenia antygenów, które zawarte są w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowej (T) powinien być traktowany, jako pozytywny wynik. Test ten jest testem jakościowym, a więc nie może wskazać dokładnej koncentracji antygenów w próbce.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową:

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest, jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna (GLP) zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego. Kontrola pozytywna (Positive Control), zawierająca zabite w wysokiej temperaturze streptokoki z grupy B, oraz kontrola negatywna (Negative Control), zawierająca zabite w wysokiej temperaturze streptokoki nie należące do grupy B.

Przeprowadzenie zewnętrznych badań kontrolnych:

Przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie testy, kontrole i odczynniki do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Umieścić czystą probówkę ekstrakcyjną w stojaku na odczynniki. Dodać 4 krople odczynnika 1 i 4 krople odczynnika 2 do probówki. Aby zagwarantować dokładną wielkość kropli, trzymać pionowo butelkę z zakraplaczem podczas zakraplania odczynników. Wymieszać roztwór przez ostrożne przechylanie probówki.
2. Wymieszać roztwór kontrolny (kontrola pozytywna/negatywna), przez mocne potrząsanie buteleczki. Dodać

jedną kroplę kontroli pozytywnej lub negatywnej do probówki.

3. Wprowadzić czysty i sterylny wacik do probówki i obrócić go. Pozostawić wacik na jedną minutę w probówce ekstrakcyjnej. Wycisnąć ciecz z końcówki wacika, przez przyciskanie wacika do ścianki probówki i ściśnięcie probówki podczas usuwania wacika. Zutyliżować wacik.
4. Kontynuować, jak jest to opisane w punkcie 2 "Przeprowadzenie testu".
Jeżeli kontrole nie dostarczą oczekiwanych wyników, nie używać testów. Ponowić badanie kontroli jakości lub skontaktować się z dystrybutorem.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Strep B przeznaczony jest do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro* i ma służyć wyłącznie do jakościowego oznaczania streptokoków grupy B (GBS). Żadnego znaczenia nie mają tutaj intensywność lub szerokość widocznych linii.
- Dokładność testu zależna jest od jakości próbki wymazu. Niepoprawne pobranie i przechowywanie próbki może prowadzić do wyników fałszywie negatywnych. Fałszywie negatywne wyniki mogą wystąpić u pacjentów ze słabą kolonizacją GBS na skutek niskiego stężenia antygenów. Zaleca się potwierdzanie negatywnych wyników testów alternatywną metodą, np. kulturą.
- Należąca od chorej matki kolonizacja GBS może być nieregularna, przejściowa lub trwała i z reguły nie wywołuje objawów klinicznych. Dlatego zaleca się, aby moment badania przeprowadzić jak najbliżej narodzin.
- Wyniki badań klinicznych dotyczące testowania wymazów z gardła/ucha u noworodków nie zostały udokumentowane. Wynik negatywny testu nie wyklucza obecności GBS, ponieważ liczba bakterii może znajdować się poniżej granicy wykrywalności. Ogólnie zaleca się pobranie wymazów z kilku obszarów, aby zwiększyć prawdopodobieństwo wykrycia.
- Test nie rozróżnia pomiędzy asymptomatycznymi nośnikami streptokoków grupy B, a takimi z infekcją. Jeżeli kliniczne oznaki i symptomy nie są zgodne z wynikami laboratorium, zaleca się założyć kulturę.
- Jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, ostateczna diagnoza kliniczna, nie może być oparta na wynikach jednego testu, tylko musi być poddana ocenie lekarza, uwzględniając kolejne kliniczne i laboratoryjne wyniki.

13. Oczekiwane wartości

Prawie 30% wszystkich kobiet nosi GBS w swojej florze waginalnej lub odbycie. W normalnych przypadkach, kolonizacja ta nie powoduje żadnych objawów. Jednakże mogą pojawić się ciężkie infekcje, jeżeli podczas porodu, bakterie zostaną przeniesione i GBS będzie główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności u noworodków. Wystąpienie sepsy u noworodków (Early-Onset) to ok. 1-2 przypadków na 1000 narodzin. Umieralność wynosi do 20% u noworodków, których to dotyczy. U kobiet z wysoką kolonizacją, ryzyko zakażenia jest ok. 2,5 razy większe, w porównaniu do kobiet z niską kolonizacją. Chemo-profilaktyka podczas porodu, zmniejsza ryzyko zakażenia sepsą u noworodków (Early-Onset).

14. Charakterystyka testu

Badanie korelacji

Przeprowadzone zostało badanie korelacji pomiędzy testem NADAL® Strep B, a konwencjonalną kulturą. Jako materiał próbny zastosowano wymazy z pochwy i odbytu. Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli:

Test NADAL® Strep B	Kultura			
		+	–	Suma
	+	20	2	22
	–	2	96	98
Suma		22	98	120

Relatywna czułość: 90,9%

Relatywna swoistość: 97,9%

Ogólna zgodność: 96,7%

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu NADAL® Strep B oznaczona została na poziomie 1×10^5 organizmów/wymaz. Badanie czułości przeprowadzane jest dla każdej serii, jako część kontroli jakości i podana jest w certyfikacie analizy specyficznym dla każdej serii.

Badanie efektu prozyny

Stężenia streptokoków B na poziomie do 1×10^9 organizmów/wymaz, nie wykazały żadnego wpływu na wytwarzanie się linii T.

Badanie swoistości

Przy użyciu testu NADAL® Strep B, przeprowadzone zostały badania dotyczące reakcji krzyżowych z organizmami, lub z innymi gatunkami streptokoków, które z dużym prawdopodobieństwem mogą występować w pochwie/odbycie. Następujące organizmy zostały przebadane przy koncentracji 1×10^7 organizmu na wymaz i wykazały negatywne wyniki.

Organizmy	Nr ATCC	Organizmy	Nr ATCC
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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

Organizmy	Nr ATCC	Organizmy	Nr ATCC
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
Strep A	19615		

Badania w laboratoriach przychodni lekarskich (POZ)

Ewaluacja testu NADAL® Strep B została przeprowadzona w laboratoriach trzech przychodni lekarskich, przy zastosowaniu panelu zakodowanych próbek wraz z kontrolą negatywną, nisko i średnio pozytywnymi próbkami. Każde stężenie próbki zostało zbadane w 30 powtórzeniach w każdej lokalizacji, przez okres 3 dni. Badania wykazały zgodność na poziomie >99,9% z oczekiwanymi wynikami.

Badanie interferencyjne

Przebadane zostały różne popłuczyny pochwowe o stężeniu 1%. Żadna z popłuczyn nie interferowała z wytworzeniem się poprawnych wyników testu.

Zróżnicowanie serii śródtestowych i międzytestowych

Przebadane zostały trzy różne serie, negatywnymi, niskimi, średnio i wysoko pozytywnymi kontrolami z 10-cio krotnym oznaczeniem. Nie otrzymano nieoczekiwanych lub niezgodnych wyników, co świadczy o tym, że różnorodność śródtestowa i międzytestowa serii jest niska.

15. Bibliografia

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. 1, 2017-05-30 AM

1. Uso Previsto

O NADAL® Strep B test é um imunoensaio visual rápido, para a detecção presuntiva qualitativa de antigénios de *Streptococcus* do grupo B (EGB) em amostras recolhidas de um esfregaço vaginal ou rectal. Também podem ser utilizados esfregaços da garganta ou do ouvido de recém-nascidos recolhidos directamente após o nascimento. O teste destina-se a auxiliar no diagnóstico da presença de EGB em materiais de amostra que possam ser um sinal de colonização ou infecção. Este teste fornece informações epidemiológicas sobre infecções causadas por EGB. O NADAL® Strep B Test é apenas para uso profissional. O limite de detecção do ensaio é 1×10^5 bactérias/esfregaço e não depende da viabilidade dos organismos.

2. Introdução e Significado Clínico

Streptococcus do grupo B (EGB) ou *Streptococcus agalactiae* estão entre as causas mais frequentes de infecções mortais em neonatos. Até 30% de todas as mulheres grávidas estão colonizadas com EGB. Alguns estudos recentes mostraram que a profilaxia com antibióticos intra-parto de mulheres colonizadas com EGB reduz significativamente a incidência de sepsé causada por EGB em recém-nascidos. O exame de rotina para EGB é frequentemente recomendado entre as semanas 35 e 37 da gravidez. Um estudo de CDC mostrou que esta abordagem de triagem é 50% mais eficaz do que o uso de antibióticos para mulheres grávidas identificadas pela abordagem de risco clínico.

Os métodos de cultura padrão requerem 24 a 48 horas, e os resultados podem não estar disponíveis suficientemente cedo para um tratamento eficiente. Assim, são necessários métodos que utilizem técnicas de triagem mais rápidas. O NADAL® Strep B Test é especialmente adequado se o tempo e/ou disponibilidade de métodos de cultura forem limitados. Este teste permite a detecção de EGB directamente da zaragatoa, ajudando os médicos a fazer um diagnóstico presuntivo e a decidir se deve ser indicada uma terapia.

3. Princípio do Teste

O NADAL® Strep B Test detecta antigénios de *Streptococcus* do grupo B através da interpretação visual do desenvolvimento de cores na tira de teste interna. Anticorpos anti-estreptococos B estão imobilizados na região de linha de teste da membrana. Durante o teste, a amostra reage com outros anticorpos policlonais anti-estreptococos B conjugados com partículas coloridas e pré-revestidos na almofada conjugada da tira de teste interna. A mistura migra ao longo da membrana por acção capilar e interage com reagentes na membrana.

Se existirem antigénios suficientes de estreptococos B na amostra, uma linha colorida irá surgir na região de linha de teste da membrana. A presença desta linha colorida indica um resultado positivo, enquanto que a sua ausência indica um resultado negativo. O aparecimento de uma linha colorida na região da linha de controlo serve como controlo de processo, indicando que o volume indicado de amostra foi adicionado e que a amostra percorreu a membrana de forma adequada.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 20 testes cassete NADAL® Strep B (embalados individualmente). Cada teste contém conjugados coloridos e reagentes reactivos pré-revestidos nas regiões correspondentes da tira de teste interna.

- 1 Reagente 1: Nitrito de sódio 1,0 M



Perigo

H301: Tóxico por ingestão

- 1 Reagente 2: Ácido acético 0,4 M
- 1 Controlo positivo: EGB não viável: Azida de sódio 0,09%
- 1 Controlo negativo: contendo *Streptococcus* sem ser do grupo B mortos pelo calor
- Material adicional fornecido de acordo com 93/42/EEC: 20 zaragatoas esterilizadas Copan Floqswabs: Para a recolha de amostras; CE 0123

Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 pipetas descartáveis: Para adicionar amostras
- 20 tubos de extração: Para a preparação de amostras
- 1 suporte para reagentes
- 1 folheto informativo

5. Materiais adicionais necessários

- Cronómetro

6. Armazenamento e Estabilidade

O kit de teste deve ser conservado entre 2-30°C e utilizado até à data de validade impressa na embalagem. O teste cassete deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. Não congelar os kits de teste. Os componentes do kit de teste devem ser cuidadosamente protegidos de contaminação. Não utilizar os testes se existir alguma evidência de contaminação microbiana ou precipitação. Contaminação biológica de equipamentos de distribuição, recipientes ou reagentes pode conduzir a resultados falsos.

7. Avisos e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler atentamente o procedimento de teste antes de realizar o teste.
- Não utilizar o teste após expirada a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar o teste caso a embalagem se encontre danificada.
- Não reutilizar os testes.
- Não adicionar amostras à área de reacção (área de resultados).
- De modo a evitar uma contaminação, não tocar na área de reacção (área de resultados).
- Evitar contaminação cruzada utilizando um tubo de extração novo para cada amostra obtida.
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste.
- Não trocar tampas entre diferentes garrafas de reagentes de extração.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes.
- Utilizar vestuário de protecção como batas, luvas descartáveis e protecção ocular durante o manuseamento das amostras.

- Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as regulamentações estabelecidas respeitantes a riscos microbiológicos durante todos os procedimentos e respeitar as directrizes padrão para a eliminação apropriada das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento da origem e do estado dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (p.e. não ingerir ou inalar).
- Usar as zaragatoas fornecidas para a recolha de amostras. Não utilizar zaragatoas de alginato de cálcio, algodão ou madeira.
- Não utilizar zaragatoas de embalagens danificadas.
- Os reagentes 1 e 2 são ligeiramente cáusticos. Evitar contacto com os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto accidental, lavar bem com água.
- Os controlos contêm azida de sódio, que pode reagir com canalização de chumbo ou cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Ao descartar esta solução, lavar sempre de seguida com uma quantidade abundante de água para evitar a acumulação de azida. Evitar contacto com os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto accidental, lavar bem com água.
- Humidade e temperatura podem afectar adversamente os resultados do teste.
- Materiais de testes usados devem ser descartados de acordo com as regulamentações locais.

8. Recolha e Preparação de Amostras

- A qualidade das amostras obtidas é de extrema importância. Recolher amostras de esfregaços usando métodos clínicos padrão.
- Recomenda-se que as amostras de esfregaço sejam processadas o mais rapidamente possível após a sua recolha. Se as zaragatoas não forem processadas imediatamente, devem ser colocadas num tubo ou garrafa estéreis, secos, e bem fechados e de seguida refrigerados. Não congelar zaragatoas. As zaragatoas podem ser armazenadas à temperatura ambiente (15-30°C) até 4 horas ou refrigeradas (2-8°C) até 24 horas. Todas as amostras devem estar à temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar o teste.
- Não colocar as zaragatoas em qualquer meio de transporte que contenha meios de transporte líquidos ou meios de transporte que contenham agar ou carvão vegetal. Os meios de transporte podem interferir com o ensaio e com a viabilidade dos organismos. Se for necessário um meio de transporte, é recomendado o uso do Modified Stuart's Transport Medium, conforme descrito nas instruções do fabricante.
- Se for desejada uma cultura bacteriana, rodar levemente a zaragatoa numa placa de cultura celular adequada antes de ser usada no teste. Os reagentes de extracção no teste vão provocar a morte das bactérias nas zaragatoas e torná-las impossíveis de cultivar.

9. Procedimento de teste

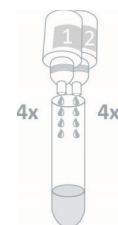
Colocar os testes, as amostras e os reagentes à temperatura ambiente (15–30°C) antes de testar.

Para evitar contaminação cruzada, não permitir que as pontas das garrafas dos reagentes contactem com o material da amostra.

Para os testes de controlos, consultar a seção 11 'Controlo de Qualidade'.

1. Preparar as amostras de esfregaços:

- Colocar um tubo de extracção limpo na área designada para o suporte do reagente. Adicionar 4 gotas do Reagente 1 e 4 gotas do Reagente 2 ao tubo de extracção. Para garantir um tamanho de gota fiável, quando adicionar os reagentes, segurar os frascos de reagentes verticalmente. Misturar a solução girando suavemente o tubo de extracção.
- Imergir imediatamente a zaragatoa com a amostra, no tubo de extracção. Usando movimentos circulares, rodar a zaragatoa contra um lado do tubo de extracção e apertar o tubo de extracção com força para que o máximo de líquido possível seja extraído a partir da zaragatoa. Repetir pelo menos 5 vezes.
- Deixar a solução repousar durante 3-5 minutos à temperatura ambiente. De seguida, extrair o líquido da cabeça da zaragatoa, rodando a zaragatoa contra a parede do tubo de extracção e apertar o tubo de extracção à medida que a zaragatoa é retirada. Descartar a zaragatoa de acordo com as directrizes para o tratamento de agentes infecciosos.

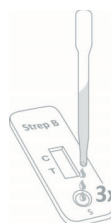


- Retirar o teste cassete da embalagem selada, e colocar o teste cassete numa superfície limpa e nivelada. O teste cassete deve ser usado imediatamente ou dentro de uma hora, o mais tardar, depois de abrir a embalagem. Etiquetar o teste cassete com a identificação do paciente ou de controlo.
- Transferir 3 gotas (aproximadamente 120 µL) da solução extraída ou do controlo com a pipeta descartável incluída, do tubo de extracção para o poço da amostra do teste cassete.

Evitar bolhas de ar no poço de amostra (S) e não adicionar qualquer solução à área de resultados.

À medida que o teste é iniciado, vai ser observado um líquido colorido a migrar ao longo da membrana.

- Esperar pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). O resultado do teste deve ser lido após 10 minutos. Não interpretar o resultado após decorridos mais de 20 minutos.



10. Interpretação dos Resultados

Positivo

Surtem duas linhas coloridas na membrana. Uma linha surge na região da linha de controlo (C), e outra linha surge na região da linha de teste (T). Isto indica que o antígeno do estreptococos B foi detectado na amostra.



Negativo

Apenas surge uma linha colorida na região da linha de controlo (C). Nenhuma linha colorida surge na região da linha de teste (T). Isto indica que o antígeno do estreptococos B foi detectado ou que a concentração de EGB está abaixo do limite de detecção.



Inválido

Não surge a linha de controlo. Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo no tempo especificado deverão ser descartados. Por favor, rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassete. Se o problema persistir, interromper imediatamente a utilização do kit de teste e contactar o distribuidor local.



Nota:

A intensidade da cor na região da linha de teste (T) pode variar, dependendo da concentração de antígeno presente na amostra. Assim, qualquer sombra de cor na região da linha de teste deve ser considerada positiva. Ter em atenção que este é apenas um teste qualitativo, não podendo ser determinada a concentração de antígenos na amostra.

As razões mais prováveis para a linha de controlo não surgirem são: um volume insuficiente de amostra, erros de procedimento ou testes expirados.

11. Controlo de qualidade

Um controlo interno de procedimento encontra-se incluído no teste cassete:

A linha colorida que aparece na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e um procedimento técnico correto.

As Boas Práticas Laboratoriais (BPL) recomendam a utilização de materiais de controlo para garantir um desempenho apropriado do kit de teste. Um controlo positivo contendo estreptococos do grupo B mortos pelo calor e um controlo negativo contendo estreptococos sem ser do grupo B mortos pelo calor são fornecidos com cada kit de teste.

Procedimento para Teste de Controlo de Qualidade Externo:

Colocar os testes, os reagentes e os controlos à temperatura ambiente (15-30°C) antes do teste.

1. Coloque um tubo de extracção limpo na área de trabalho designada para o suporte do reagente. Adicionar 4 gotas do Reagente 1 e 4 gotas do Reagente 2 ao tubo de extracção. Para garantir um tamanho de gota fiável, quando adicionar os reagentes, segurar os frascos de gotas verticalmente.

Misturar a solução rodando suavemente o tubo de extracção.

2. Misturar cuidadosamente a solução de controlo (Controlo Positivo/Negativo) agitando vigorosamente o frasco. Adicionar 1 gota do Controlo Positivo ou Negativo ao tubo.
3. Colocar uma zaragatoa limpa e estéril no tubo e rodar a zaragatoa. Deixar a zaragatoa no tubo de extracção durante 1 minuto. De seguida, extrair o líquido da cabeça da zaragatoa, rodando a zaragatoa contra a parede do tubo de extracção e apertar o tubo de extracção à medida que a zaragatoa é retirada. Descartar a zaragatoa.
4. Continuar conforme descrito no Passo 2 do "Procedimento de teste".

Se os controlos não produzirem os resultados esperados, não usar os testes com as amostras. Repetir o teste de Controlo de Qualidade ou contactar o seu distribuidor.

12. Limitações

- O NADAL® Strep B Test é para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro* e deve ser utilizado apenas para a detecção qualitativa de estreptococos do grupo B (EGB). Nenhum significado deve ser inferido da intensidade da cor ou da largura de qualquer linha aparente.
- A precisão do teste depende da qualidade da amostra do esfregaço. Resultados negativos falsos podem ocorrer devido à recolha ou armazenamento inadequado das amostras. Um resultado negativo também pode ser obtido de pacientes com uma colonização leve de EGB devido à baixa concentração de antígenos. É aconselhável confirmar resultados de teste negativos com um método alternativo, p.e. culturas.
- A colonização materna com EGB pode ser intermitente, transitória ou permanente e geralmente não causa sintomas clínicos. Portanto, é geralmente recomendado que o teste seja efectuado próximo do nascimento.
- Para testes de esfregaço da garganta/ouvido de recém-nascidos, não existem estudos clínicos disponíveis para o teste. Os resultados negativos não devem ser usados para excluir a presença de EGB, pois os números bacterianos podem estar abaixo do limite de detecção. Geralmente é recomendado retirar esfregaços de vários locais para aumentar a probabilidade de detecção.
- O teste não diferencia os portadores assintomáticos de estreptococos do grupo B daqueles com infecção. Se os sinais e sintomas clínicos não são consistentes com os resultados dos testes laboratoriais, recomenda-se uma cultura de seguimento.
- Como em todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico clínico definitivo não se deve basear apenas nos resultados de um único teste, mas deve ser apenas realizado pelo médico após todas as análises clínicas e laboratoriais serem avaliadas.

13. Valores Esperados

Até 30% das mulheres são portadoras de EGB na sua flora vaginal ou rectal. Normalmente, esta colonização não causa sintomas. No entanto, podem ocorrer infecções graves se as bactérias forem transmitidas durante o nascimento, e assim o EGB é uma das principais causas de doença e mortalidade entre os recém-nascidos. A incidência de doença neonatal de

início precoce é de aproximadamente um a dois casos por 1.000 nascidos vivos. A taxa de mortalidade é até 20% nos neonatos afectados. Em mulheres altamente colonizadas, o risco de infecção é aumentado 2,5 vezes comparando com mulheres levemente colonizadas. A quimioprofilaxia intraparto reduz o risco de infecção de doença neonatal de início precoce.

14. Características de Desempenho

Estudo de Correlação

Um estudo de correlação entre o NADAL® Strep B Test e a cultura convencional foi realizado. Esfregaços vaginais e rectais foram utilizados como material de amostra.

Os resultados encontram-se na seguinte tabela:

NADAL® Strep B Test	Cultura			
		+	–	Total
	+	20	2	22
	–	2	96	98
	Total	22	98	120

Sensibilidade relativa: 90,9%

Especificidade relativa: 97,9%

Concordância geral: 96,7%

Limite de detecção

O limite de detecção do NADAL® Strep B Test foi determinado para ser 1×10^5 organismos/esfregaço. O teste de sensibilidade é feito para cada lote como parte do controlo de qualidade e está indicado no Certificado de Análise do lote específico.

Estudo do efeito de prozona

Nenhum efeito adverso foi registado na formação da linha T para a concentração de estreptococos B até 1×10^9 organismos/esfregaço.

Estudo da especificidade

Estudos de reactividade cruzada com organismos possivelmente encontrados na vagina/recto ou com outras espécies de *Streptococcus*, foram realizados utilizando o NADAL® Strep B Test. Os seguintes organismos foram testados a 1×10^7 organismos/esfregaço e apresentaram resultados negativos:

Organismo	No. ATCC	Organismo	No. ATCC
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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

Organismo	No. ATCC	Organismo	No. ATCC
<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		

Estudos de Laboratório de Gabinete do Médico (POL)

Uma avaliação do NADAL® Strep B Test foi realizada em três locais laboratoriais de consultórios de médicos, usando um painel de amostras codificadas contendo controlos negativos, amostras positivas baixas e amostras positivas médias. Cada nível de amostra foi testada em cada local em replicados de 30 durante um período de 3 dias. O estudo mostrou >99,9% de concordância com os resultados esperados.

Estudos de interferência

Uma variedade de lavagens vaginais foi testada em concentrações de 1%. Nenhuma destas interferiu com a produção de resultados de teste correctos.

Variabilidade inter-lotes e intra-lotes

Três lotes independentes foram testados com controlos negativos, baixos, médios e altos positivos em determinações de 10 replicados. Não foram obtidos resultados inesperados ou inconsistentes, indicando que a variabilidade inter-lotes e intra-lotes é baixa.

15. Referências

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. 1, 2017-05-30 JC

1. Účel použití

Test NADAL® Strep B je rychlý, vizuální imunochromatografický test pro kvalitativní, předběžnou detekci antigenů streptokoka skupiny B (GBS) ve vzorku odebraném z vaginálního nebo rektálního výtěru. U novorozenců ihned po narození je též možné použít výtěr z ucha či krku. Test slouží jako pomůcka k detekci přítomnosti GBS ve vzorku, což může být příznakem kolonizace nebo infekce. Tento test poskytuje epidemiologické informace o infekcích způsobených GBS. Test NADAL® Strep B je určen pouze k profesionálnímu použití. Detekční limit testu je 1×10^5 bakterií/výtěr a nezáleží na životaschopnosti organismů.

2. Úvod a klinický význam

Streptokok skupiny B (GBS) nebo *Streptococcus agalactiae* patří k nejvíce rozšířeným a život ohrožujícím infekcím pro novorozence. Až 30 % všech těhotných žen je kolonizováno rodem bakterií GBS. Některé studie prokázaly, že intrapartální antibiotická profylaxe u žen kolonizovaných GBS výrazně redukuje výskyt GBS sepse u novorozenců. Mezi 35. a 37. týdnem těhotenství je doporučováno rutinní vyšetření na GBS. Studie amerického Centra pro kontrolu a prevenci chorob (CDC) ukázala, že tento screeningový přístup je o 50 % účinnější než použití antibiotik u těhotných žen, které nesou klinické rizikové faktory.

Standardní kultivační metody vyžadují 24 až 48 hodin a jejich výsledky nemusí být dostatečně brzy k dispozici pro účinnou léčbu. Tudíž jsou vyžadovány metody, které více využívají rychlejší screeningové techniky. Test NADAL® Strep B je obzvláště vhodný, pokud je omezen čas a/nebo dostupnost kultivačních metod. To umožňuje detekci GBS přímo z výtěru a pomáhá lékařům při určení předběžné diagnózy a při rozhodnutí, zda-li má být zahájena léčba.

3. Princip testu

Test NADAL® Strep B umožňuje detekci antigenů streptokoka skupiny B prostřednictvím vizuální interpretace barevných změn na testovacím proužku uvnitř testovací kazety. Protilátky proti streptokoku B jsou imobilizovány v oblasti testovací linie na membráně. Během testování vzorek reaguje s dalšími polyklonálními protilátkami proti streptokoku B, které jsou konjugované s barevnými částicemi a předem naneseny na konjugační podložku vnitřního testovacího proužku. Směs pak putuje membránou pomocí kapilárních sil a reaguje s činidly na membráně.

Pokud je ve vzorku dostatečné množství antigenů streptokoka B, zobrazí se barevná linie v oblasti testovací linie na membráně. Zobrazení této barevné linie znamená pozitivní výsledek, zatímco její nezobrazení znamená výsledek negativní. Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a že došlo k promočení membrány.

4. Činidla a dodávané materiály

- 20 NADAL® Strep B testovacích kazet (jednotlivě balených). Každá testovací kazeta obsahuje barevné konjugáty a reaktivní činidla, které jsou předem naneseny do odpovídajících oblastí vnitřního testovacího proužku.
- 1 činidlo 1: 1,0 M dusitan sodný



Nebezpečí
H301: Toxický při požití

- 1 činidlo 2: 0,4 M kyselina octová
- 1 pozitivní kontrola: životaneschopné GBS: 0,09% azid sodný
- 1 negativní kontrola: obsahuje teplem inaktivované streptokoky, které nejsou ze skupiny B
- Další poskytnutý materiál podle 93/42/EEC:
20 sterilizovaných tampónů Copan Floqswabs: pro odběr vzorku; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 jednorázových pipet: pro přidání vzorku
- 20 extrakčních zkumavek: pro přípravu vzorku
- 1 držák na činidla
- 1 návod k použití

5. Další potřebné materiály

- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sada by měla být skladována při teplotě 2-30 °C a použita před uplynutím data expirace uvedeného na obalu. Testovací kazeta by měla zůstat v zapečetěné ochranné fólii až do použití. Testovací sadu nezmrazujte. Je třeba dbát na ochranu součástí sady před kontaminací. Test nepoužívejte, pokud existují důkazy o mikrobiální kontaminaci nebo sražení. Biologická kontaminace pipet, nádob nebo činidel může vést k falešným výsledkům.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Nepoužívejte test po uplynutí data expirace, které je uvedeno na obalu.
- Test nepoužívejte, je-li ochranná fólie poškozena.
- Jen k jednorázovému použití.
- Nenamáhejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční zóny (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Zabraňte křížové kontaminaci vzorků tím, že pro každý nový vzorek použijete novou extrakční zkumavku.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nezaměňujte uzávěry lahvíček s činidly.
- V místě zacházení se vzorky a testovacími sadami nejezte, nepijte ani nekuřte.
- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je proto doporučováno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a dodržovat obvyklá bezpečnostní opatření (např. nepolykat, nevdechovat.)

- Pro odběr vzorku použijte poskytovaný tampón. Nepoužívejte alginát vápenatý, tampóny s bavlněnou špičkou nebo dřevěnou tyčinkou.
- Nepoužívejte tampóny z poškozených obalů.
- Činidla 1 & 2 jsou mírně žíravá. Zabraňte kontaktu s očima a sliznicemi. V případě kontaktu důkladně vypláchněte vodou.
- Pozitivní kontrola obsahuje azid sodný, který může reagovat s oloveným nebo měděným potrubím a mohou tak vznikat potenciálně výbušné kovové azidy. Při likvidaci roztoku proto potrubí vždy propláchněte velkým množstvím vody, aby se zabránilo tvorbě azidů. Zabraňte kontaktu s očima a sliznicemi. V případě kontaktu důkladně vypláchněte vodou.
- Vlhkost a teplota mohou ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorku

- Kvalita odebraného vzorku je velice důležitá. Výtěr proveďte standardní klinickou metodou.
- Doporučuje se vzorek otestovat v co nejkratší době po odebrání. V případě, že výtěry nejsou testovány okamžitě, měl by být tampón s výtěrem umístěn v chladničce ve sterilní, suché a těsně uzavřené zkumavce nebo láhvi. Tampóny nezmrazujte. Tampóny mohou být skladovány při pokojové teplotě (15-30 °C) po dobu až 4 hodin nebo chlazené (2-8 °C) po 24 hodin. Všechny vzorky by měly před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30 °C).
- Tampóny nevkládejte do přepravních nádob, které obsahují tekutá transportní média nebo transportní média obsahující agar nebo aktivní uhlí. Transportní médium může ovlivnit test a životaschopnost organismů. Pokud je potřeba transportní médium, doporučujeme použít upravené Stuartovo transportní médium podle pokynů od výrobce.
- Pokud je vyžadována bakteriální kultura, tak před použitím testu lehce otáčejte tampónem na nádobce s vhodnou buněčnou kulturou. Extrakční činidla testu zabijí bakterie na tampónu a znemožní tak jejich další použití pro kulturu.

9. Provedení testu

Testy, vzorky a činidla přiveďte před testováním na pokojovou teplotu (15-30 °C).

Aby nedošlo ke křížové kontaminaci, je třeba zamezit kontaktu špiček lahvíček s činidly se vzorkovým materiálem.

Pro testování kontrol viz kapitola 11 „Kontrola kvality“.

1. Příprava vzorků:

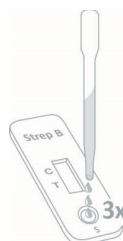
- Umístěte čistou extrakční zkumavku na určené místo v držáku na činidla. Nakapejte 4 kapky činidla 1 a 4 kapky činidla 2 do extrakční zkumavky. Aby bylo dosaženo dostatečné velikosti kapky při přidávání činidel, držte lahvičky při nakapávání visle. Roztok promíchejte lehkým protřepáním extrakční zkumavky.
- Ihned ponořte tampón se vzorkem do extrakční zkumavky. Tampónem otáčejte a zároveň jej tlačte proti stěně extrakční zkumavky tak, aby z něj bylo vytlačeno co nejvíce kapaliny, která může být znovu absorbována. Opakujte alespoň pětkrát.



- Roztok nechte 3-5 minut stát při pokojové teplotě. Poté kapalinu z tampónu vymačkejte přitlačením a krouživým pohybem tampónu proti stěně extrakční zkumavky a stisknutím extrakční zkumavky během vytahování tampónu. Zlikvidujte tampón dle předpisů o nakládání s infekčními prostředky.



2. Vyjměte testovací kazetu z ochranného fóliového sáčku a položte ji na čistou, rovnou plochu. Testovací kazeta by měla být použita okamžitě nebo do jedné hodiny po otevření ochranné fólie. Poznamenejte na testovací kazetu identifikaci pacienta nebo kontroly.



3. Naneste 3 kapky (přibližně 120 µL) extrahovaného roztoku nebo kontroly pomocí přiložené jednorázové pipety z extrakční zkumavky do otvoru pro vzorek na testovací kazetě.

Zamezte utváření bublin v otvoru pro vzorek (S) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.

Jakmile se spustí testovací proces, uvidíte barevnou kapalinu vzlínat membránou.

4. Vyčkejte až se zobrazí barevná/barevné linie. Výsledek testu by měl být odečten po 10 minutách. Po více než 20 minutách již výsledek neodečítejte.



10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní

Na membráně se zobrazí dvě barevné linie. Jedna linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá linie se zobrazí v oblasti testovací linie (T). To znamená, že byl ve vzorku detekován antigen streptokoka B.



Negativní

Zobrazí se pouze jedna barevná linie v oblasti kontrolní linie (C). Nezobrazí se žádná barevná linie v oblasti testovací linie (T). Toto indikuje, že nebyl detekován žádný antigen streptokoka B nebo že koncentrace GBS je pod hranicí detekce.



Neplatný

Kontrolní linie se neobjeví. Výsledky jakéhokoliv testu, na kterém se ve stanoveném čase pro odečítání výsledků nezobrazila kontrolní linie, musí být znehodnoceny. Revidujte prosím postup a zopakujte test s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.



Poznámka:

Intenzita barvy v oblasti testovací linie (T) se může lišit v závislosti na koncentraci analytu přítomného ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie by proto měl být

považován za pozitivní výsledek. Berte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávný postup při testování nebo prošlý test jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie.

11. Kontrola kvality

Součástí testovací kazety je interní procedurální kontrola:

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C), je považována za interní procedurální kontrolu. Potvrzuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku, že membrána funguje správně a že byl dodržen správný postup při testování.

Správná laboratorní praxe (SLP) doporučuje používání kontrolních materiálů k ověření správné funkce testu. Každá testovací sada zahrnuje pozitivní kontrolu obsahující teplem inaktivované streptokoky skupiny B a negativní kontrolu obsahující teplem inaktivované streptokoky, které nejsou ze skupiny B.

Postup při externím testování kvality:

Testy, činidla a kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30 °C).

- Umístěte čistou extrakční zkumavku na určené místo v držáku na činidla. Nakapejte 4 kapky činidla 1 a 4 kapky činidla 2 do extrakční zkumavky. Aby bylo dosaženo dostatečné velikosti kapky při přidávání činidel, držte lahvičky při nakapávání svisle. Roztok promíchejte lehkým protřepáním extrakční zkumavky.
- Pozitivní nebo negativní kontrolu pečlivě promíchejte tak, že intenzivně zatřepete lahvičkou. Přidejte 1 kapku pozitivní nebo negativní kontroly do zkumavky.
- Vložte do zkumavky čistý, sterilní tampón a roztok promíchejte. Ponechte tampón v extrakční zkumavce 1 minutu. Poté kapalinu z tampónu vymačkejte přitlačením a krouživým pohybem tampónu proti stěně extrakční zkumavky a stisknutím extrakční zkumavky během vytahování tampónu. Tampón zlikvidujte.
- Postupujte tak, jak je popsáno v kroku 2 „Provedení testu“. Pokud kontroly nevykazují očekávané výsledky, tak test nepoužívejte se vzorky. Zopakujte testování kvality nebo kontaktujte distributora.

12. Omezení

- Test NADAL® Strep B slouží pouze k profesionální *in-vitro* diagnostice a pouze pro kvalitativní detekci streptokoka skupiny B (GBS). Intenzita barevné linie ani její šířka nemá žádný vliv na výsledek testu.
- Přesnost testu závisí na kvalitě vzorku z výtěru. Falešně negativní výsledky se mohou objevit kvůli nesprávnému odebrání vzorku nebo nesprávnému skladování vzorku. Negativní výsledek může být získán i od pacientů s lehkou kolonizací GBS z důvodu nízké koncentrace antigenu. Je doporučeno potvrdit negativní výsledky testu pomocí alternativní metody - např. kulturou.
- Mateřská kolonizace GBS může být přerušovaná, přechodná nebo permanentní a obvykle nezpůsobuje žádné klinické symptomy. Je tudíž obvykle doporučováno, aby byla pacientka testována nedlouho před porodem.

- Pro výtěry z krku nebo ucha novorozenců nejsou k dispozici žádné klinické studie týkající se tohoto testu. Negativní výsledky by neměly být použity k vyloučení přítomnosti GBS, protože počty bakterií mohou být pod hranicí detekčního limitu testu. Je obecně doporučeno udělat výtěry z několika míst, aby se zvýšila pravděpodobnost detekce.
- Test nerozlišuje mezi asymptomatickými přenašeči streptokoka skupiny B od těch, kteří přenášejí infekci. Neshoduje-li se klinický nález a symptomy s výsledky laboratorního testu, je doporučeno udělat kulturu z výtěru z krku.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po vyhodnocení všech klinických i laboratorních nálezů.

13. Očekávané hodnoty

Až 30 % žen přenášejí GBS ve své vaginální nebo rektální flóře. Tato kolonizace obvykle nezpůsobuje žádné symptomy. Nicméně pokud jsou bakterie přenášeny během porodu, tak se může objevit závažná infekce, což činí GBS nejčastějším důvodem morbidit a mortalit mezi novorozenci. Výskyt časné novorozenecké nemoci je přibližně jeden až dva případy na 1000 živých porodů. U zasažených novorozenců je mortalita až 20 %. U silně kolonizovaných žen je riziko infekce zvýšeno asi 2,5krát ve srovnání s mírně kolonizovanými ženami. Intrapartální chemoprophylaxe snižuje riziko infekce časné novorozenecké nemoci.

14. Výkonnostní charakteristiky

Korelační studie

Byla provedena korelační studie mezi testem NADAL® Strep B a konvenční kulturou. Jako vzorkový materiál byly použity vaginální a rektální výtěry.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Test NADAL® Strep B	Kultura			
		+	–	Celkem
	+	20	2	22
	–	2	96	98
Celkem		22	98	120

Relativní senzitivita: 90,9 %

Relativní specifita: 97,9 %

Celková shoda: 96,7 %

Hranice detekce

Hranice detekce testu NADAL® Strep B byla stanovena na 1×10^5 organismů/výtěr. Testování senzitivity je prováděno s každou šarží jako kontrola kvality a jeho výsledky jsou uvedeny ve specifickém certifikátu analýzy šarže.

Studie prozónového efektu

Nebyl zaznamenán žádný nepříznivý vliv na tvorbu testovací linie T pro koncentraci streptokoka B až do 1×10^9 organismů/výtěr.

Studie specifity

Pomocí testu NADAL® Strep B byly provedeny studie křížové reaktivity s organismy, které se často nacházejí ve vagíně/rektu nebo s dalšími druhy bakterií rodu *Streptococcus*.

Následující organismy byly testovány při koncentraci 1×10^7 organismů/výtěr a podaly negativní výsledky:

Rev. 1, 2017-05-30 MP

Organismus	ATCC č.	Organismus	ATCC č.
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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		

Ordinačně-laboratorní (POL) studie

Test NADAL® Strep B byl prověřen v laboratořích tří různých ordinací za použití panelu zakódovaných vzorků sestávajícího z negativní kontroly, slabě pozitivních a středně pozitivních vzorků. Vzorek o každé koncentraci byl testován ve 30 replikacích na každém stanovišti v průběhu tří dnů. Studie ukázala >99,9% shodu s očekávanými výsledky.

Studie interference

Byly testovány různé vaginální výplachy při koncentracích 1 %. Žádné z nich neměly vliv na výsledky testu.

Inter-lot a intra-lot variabilita

Tři různé šarže byly 10x testovány pomocí negativní, slabě pozitivní, středně pozitivní a silně pozitivní kontroly. Nebyly získány žádné neočekávané nebo nekonzistentní výsledky, což indikuje, že inter-lot a intra-lot variabilita je nízká.

15. Reference

- 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
- 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
- Apgar B.S. et al. (2005) Prevention of Group B Streptococcal Disease in the Newborn, American Family Physician 71(5): 903-910
- 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-
- 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
- Verani J.R., McGee L., Schrag S.J. (2010) Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC, 2010

1. Käyttötarkoitus

NADAL® Strep B pikatesti on visuaalinen immunologinen määrittäminen ryhmän B Streptokokkien (GBS) vasta-aineiden havaitsemiseen emättimen tai virtsaputken pyyhkäisynäytteestä. Myös korvan tai nielun pyyhkäisynäytteet vastasyntyneiltä potilailta soveltuvat testattavaksi. Testi on tarkoitettu apuvälineeksi Streptokokki B:n havaitsemiseksi näyttemateriaalista. Streptokokki B-pitoisuus näytteessä saattaa johtua joko infektiosta, tai siitä, että testattu on streptokokki B:n kantaja. Testi tarjoaa epidemiologista tietoa Streptokokki B:n aiheuttamista infektioista. NADAL® Strep B testi on tarkoitettu vain ammattilaiskäyttöön. Testin raja-arvo on 1×10^5 bakteeria/näyte. Bakteerien eloperäisyydellä ei ole vaikutusta testin tulokseen.

2. Esittely ja kliininen merkitys

Ryhmän B Streptokokki (GBS) tai *Streptococcus agalactiae* on yksi yleisimmistä hengenvaarallisen infektion aiheuttajista vastasyntyneillä. Lähes 30% kaikista raskaana olevista naisista kantaa Streptokokki B-bakteeria. Viimeaikaisten tutkimusten mukaan synnytystä edeltävä antibioottiprofylaksi streptokokki B:tä kantavilla naisilla vähensi siitä johtuvaa verenmyrkytysriskiä vastasyntyneillä. Streptokokki B-ruutinitarkastus suositellaan tehtäväksi raskauden 35-37 viikolla. Yhdysvaltojen tartuntatautien valvonta- ja ehkäisykeskuksen tekemän tutkimuksen mukaan rutiinitarkastusten tekeminen riskiryhmään kuuluvilla naisilla on 50% tehokkaampaa kuin antibioottien käyttö.

Streptokokin havaitsemiseen yleisimmin käytetty soluviljelymetodi vaatii 24-48 tuntia, joten tuloksia ei aina saada tarpeeksi nopeasti tehokkaan hoidon takaamiseksi, joten nopeampi metodi on tarpeellinen. NADAL® Strep B pikatesti on erityisen sopiva, mikäli aika ei riitä ja/tai ympäristö ei sovellu soluviljelyn tekemiseen, sillä testi havaitsee Streptokokki B:tä suoraan pyyhkäisynäytteistä, täten mahdollistaen alustavan diagnoosin hoitoa suunnitella.

3. Testiperiaate

NADAL® Strep B pikatesti havaitsee ryhmän B streptokokin antigeenejä visuaalisen tuloksin avulla testiliuskasta. Anti-streptokokki B vasta-aineet immobilisoituvat testikalvon testiviivan alueelle. Testauksen aikana näyte reagoi esipäälystetyllä konjugaattityynillä muiden värillisiin partikkeleihin sitoutuneiden polyklonaalisten anti-streptokokki B vasta-aineiden kanssa. Tämän jälkeen näyte kulkeutuu kohti kalvoa kapillaarivaikutuksen myötä ja reagoi kalvossa oleviin reagensseihin. Mikäli näytteessä on tarpeeksi streptokokki B -vasta-aineita, testialueelle muodostuu värillinen viiva. Viivan ilmestyminen viittaa positiiviseen tulokseen. Mikäli viivaa ei ilmesty, näyte on negatiivinen. Testiin tulisi aina muodostua kontrolliviiva, joka varmistaa, että näytettä on riittävästi, ja että se on imeytynyt testin kalvoon.

4. Reagenssit ja mukana olevat tarvikkeet

- 20 NADAL® Strep B testikasettia (yksittäispakattu). Testikasetti sisältää värillisiä konjugaatteja ja reaktiivisia reagenssejä, jotka on esipäälystetty kalvon vastaaville alueille)
- 1 pullo reagenssi 1: 1.0M sodiumnitriitti



Vaara

H301: Myrkyllinen nieltynä

- 1 pullo reagenssi 2: 0.4 M etikkahappo
- 1 positiivinen kontrolli: Elotonta Streptokokki B:tä : 0,09% natriumatsidia
- 1 negatiivinen kontrolli: Sisältää elottomaksi lämpökäsiteltyä muun kuin B-ryhmän streptokokkia.
- Tarjotut lisämateriaalit 93/42/EEC direktiivin mukaan: 20 steriiliä nielunäytepuikkoa näytteen keräämistä varten; CE 0123



Copan Italia S.p.A.,
Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italy

- 20 kertakäyttöistä pipettiä näytteen lisäämistä varten
- 20 uuttoputkea näytteen valmisteluun
- 1 reagenssiteline
- 1 käyttöohje

5. Vaadittavat lisämateriaalit

- Ajastin

6. Säilytys ja stabiileetti

Testit tulisi säilyttää 2-30°C:ssa eräpäivään asti, joka on merkitty pakkaukseen. Testikasetti tulee säilyttää alkuperäisessä pakkauksessa. Älä jäädytä testiä. Testipakkauksen komponentteja tulisi suojata saastumiselta. Älä käytä testiä, jos mikrobisaastumisesta tai -saastumisesta on todisteita. Annostelulaitteiden, säiliöiden tai reagenssien biologinen saastuminen saattaa johtaa väärään tulokseen.

7. Varoitukset ja varotoimet

- Vain ammatilaiskäyttöön *in-vitro* diagnostiikassa.
- Lue käyttöohjeet huolellisesti ennen testauksen aloittamista.
- Älä käytä testiä eräpäivän jälkeen, mikä on merkitty pakkaukseen.
- Älä käytä testiä, mikäli pakkaus on vahingoittunut.
- Vain kertakäyttöön
- Älä lisää näytettä tulosalueelle.
- Älä kosketa tulosaluetta tai imeytymisaluetta välttääksesi saastumista.
- Vältä näytteiden ristikkäinsekoittumista käyttämällä aina uutta uuttoputkea jokaiselle näytteelle.
- Älä vaihda tai sekoita toisten testikomponenttien kanssa keskenään.
- Älä sekoita reagenssipullojen kansia keskenään.
- Älä syö, juo tai polta alueella, jossa käsitellään näytteitä tai testipakkauksia
- Käytä suojavarusteita, kuten laboratorio vaatteita, kertakäyttöhanskoja ja silmäsuojuksia näytteiden käsittelyssä.
- Käsittele kaikki näytteet mahdollisina tartuntalähteinä. Tutki varotoimet mikrobiologisista riskeistä ja ohjeistukset kuinka hävitetään näytteet oikeaoppisesti.
- Testipakkaus sisältää eläinperäisiä tuotteita. Sertifioitu tiedonalkuperä ja/tai eläinten terveydentila ei täysin takaa tarttuvien patogeeneiden poissaoloa. Tämän vuoksi suositellaan, että tuotteita käsitellään mahdollisina tartuntalähteinä ja käsiteltävä turvaohjeiden mukaisesti (esim. Älä syö tai hengitä).

- Käytä ainoastaan tarjottuja steriilejä dacron- tai rayonkärkisiä näytteenkeräjiä, jotka tulevat materiaalien mukana. Älä käytä kalsiumalginaatti-, puuvilla- tai puukärkisiä näytetikkua.
- Älä käytä näytteenkeräjiä vahingoittuneesta pakkauksesta.
- Reagenssit 1 & 2 ovat hieman syövyttäviä. Vältä kontaktia silmien ja limakalvojen kanssa. Onnettomuuden sattuessa, huuhtelee huolellisesti vedellä.
- Positiivinen kontrolli sisältää natriumatsidia, joka saattaa saattaa reagoida lyijyn tai kuparin kanssa muodostaen mahdollisesti räjähtäviä metalliatsideja. Kun näitä liuoksia hävitetään, huuhta aina runsaalla vedellä estääksesi atsidin muodostumista. Onnettomuuden sattuessa, huuhtelee huolellisesti vedellä.
- Kosteus ja lämpötila saattavat vaikuttaa tuloksiin.
- Käytetyt testimateriaalit tulisi hävittää paikallisten säädösten mukaisesti.

8. Näytteen keräys ja valmistelu

- Kerätyn näytteen laatu on äärimmäisen tärkeää. Kerää näyte noudattaen oikeanlaisia klinisiä metodeja.
- Pyyhkäisynäyte tulisi testata mahdollisimman pian ottamisen jälkeen. Mikäli näytteitä ei testata heti, ne tulisi säilöä kuivassa, steriilissä ja tiukasti kiinni menevässä putkessa tai pullossa. Pullo tai putki säilyy kylmässä (2-8°C) 24 tuntia. Näytteet tulee tuoda huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testaamista.
- Älä kuljeta näytettä missään siirtoainetta sisältävässä laitteessa. Siirtoaine saattaa häiritä testin toimintaa.
- Mikäli bakteeriviljelmää vaaditaan, pyöritä kerääjää sopivassa soluviljelmässä ennen sen käyttöä. Uuttoreagenssit testin suorittamisen yhteydessä tappaa kerääjän bakteerit ja täten tekee viljelyn mahdottomaksi uuttamisen jälkeen.

9. Testin tekeminen

Tuo testit, reagenssit, näytteet ja/tai kontrollit huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testaamista.

Vältäaksesi saastumista, älä päästä reagenssipulloja kosketuksiin näyttemateriaalin kanssa.

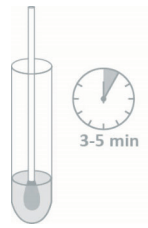
Kontrollien testaus: Lue osa 10 'Laaduntarkkailu'

1. Valmistele pyyhkäisynäytteet:

- Aseta puhdas uuttoputki reagenssipidikkeen merkitylle alueelle. Lisää neljä tippaa reagenssi 1:stä ja neljä tippaa reagenssi 2:sta uuttoputkeen. Varmistaaksesi oikean tippakoon reagenssia lisätessäsi, pitele pulloa pystysuorassa. Sekoita liuosta uuttoputkea varovasti pyörittäen.
- Työnnä näytetikkua uuttoputkeen välittömästi ja odota. Käännä tikkua pyörivällä liikkeellä ja paina sitä kohti putken sivuja niin, että neste poistuu tikusta ja imeytyy uudelleen. Toista ainakin 5 kertaa.

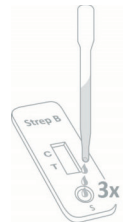


- Anna liuoksen seistä 3-5 minuuttia huoneenlämmössä. Siirrä sitten puikkoon kerääntynyt neste pyöryttämällä puikkoa kevyesti kohti putken sivuja. Purista uuttoputkea vetäessäsi näytepuikkoa ulos. Hävitä näytteenottotikku tarttuvien materiaalien hävitysohjeiden mukaisesti.



- Poista testikasetti pakkauksesta. Merkitse testikasetti potilas- tai henkilötunnuksella. Varmistaaksesi tarkimman tuloksen, määrittäminen tulisi suorittaa tunnin sisällä.

- Lisää tippapää uuttoputkeen. Lisää 3 tippaa (noin 100 µL) uutetusta näytteestä testikasetin näytekaivoon (S). Laita ajastin päälle.



Varo ilmakuplien joutumista näytekaivoon (S). Älä lisää mitään nestettä tai koske reaktioalueelle (tulosalue).

Kun testi alkaa toimia, väripartikkelit alkavat siirtyä kalvolla kohti testiviivaa.

- Odota värillisten viivojen muodostumista. Tulokset tulisi lukea 10 minuutin kuluttua. Älä tulkitse tuloksia 20 minuutin jälkeen.



10. Tulosten lukeminen

Positiivinen:

Kaksi värillistä viivaa ilmestyy kalvolle. Yksi viiva ilmestyy kontrollialueelle (C) ja toinen viiva ilmestyy testialueelle (T). Tämä viittaa, että Streptokokki A antigeeniä on havaittu näytteessä.



Negatiivinen:

Vain yksi värillinen viiva ilmestyy kontrollialueelle (C). Havaittavaa värillistä viivaa ei ilmesty tulosalueelle (T). Tulos viittaa, että Streptokokki A antigeenia ei ole havaittu näytteessä.



Mitätön:

Kontrolliviivaa ei ilmesty. Kaikki tulokset, joissa ei ilmesty kontrolliviivaa määrätyn ajan kuluessa, tulee hävittää. Tarkista testin suorittaminen ja toista testi uudella liuskalla. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testin käyttö ja ota yhteyttä paikalliseen toimittajaan.



Huomio:

Testiviivan (T) värin voimakkuus saattaa vaihdella, riippuen analyttien pitoisuudesta näytteessä. Tämän vuoksi mikä tahansa testiviivan värin sävy tulisi tulkita positiiviseksi tuloksesi. Huomioi, että tämä on laadullinen testi, jonka vuoksi analyttien pitoisuutta näytteessä ei voida määrittää.

Epäkelpo näytemäärä, vääränlainen testin suorittaminen tai vanhentuneiden testien käyttö voi johtaa kontrolliviivan puuttumiseen.

Testin tulosten tulkinnan jälkeen, käytetyt testit tulisi hävittää välittömästi mahdollisten tartunta-aineiden vuoksi, paikallisten turvallisuus- ja käsittelyohjeiden mukaisesti.

11. Laaduntarkkailu

Sisäinen laadunvalvonta sisältyy testiliuskaan. Värillisen viivan ilmestyminen kontrollialueelle (C) on sisäinen laadunvalvonta, joka varmistaa riittävän näytemäärän lisäyksen ja oikeanlaisen testin suorittamisen.

Hyvä laboratorio käytäntö (GLP) suosittelee käyttämään ulkoisia kontrollimateriaaleja oikeanlaisen testin suorituksen varmistamisen. Jokainen testipaketti sisältää positiivisen (lämpökäsitelty Streptokokki B) ja negatiivisen (lämpökäsittely, muu kuin Streptokokki B) kontrollin.

Ulkoisen laadunvalvonnan suorittaminen

Tuo testit, reagenssit ja kontrollit huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testin suorittamista.

- Lisää 4 tippaa Reagenssi 1:stä ja 4 tippaa Reagenssi 2:sta uuttoputkeen.
- Ravista positiivista kontrollipulloa läpikotaisin. Lisää 1 tippa positiivista kontrollia putkeen.
- Aseta puhdas ja steriili näytteenkerääjä putkeen ja sekoita. Jätä näytteenkerääjä uuttoputkeen 1 minuutiksi. Sitten purista ylimääräinen neste kerääjän päästä pyörittämällä sitä putken sisäpuolta vasten sekä puristamalla uuttoputkea samalla kun kerääjä nostetaan putkesta pois. Hävitä kerääjä.
- Jatka testin suoritusta kuten ohjeessa mainitaan kohdassa 2 "Testin suorittaminen".
Mikäli kontrolli ei tuota positiivista tulosta, älä käytä testejä näytteiden kanssa. Toista ulkoinen laadunvalvonta tai ota yhteyttä paikalliseen toimittajaan.

12. Rajoitukset

- NADAL® Strep B testi on tarkoitettu vain ammattilaiskäyttöön *in-vitro* diagnostiikassa ja sitä tulisi käyttää vain Streptokokki B ryhmän laadulliseen havaitsemiseen. Testiviivan värin voimakkuudella tai leveydellä ei ole merkitystä.
- Testin tarkkuus riippuu näytteen laadusta. Väärä-negatiivinen tulos saattaa johtua vääränlaisen näytteenkeräyksestä tai näytteen säilytyksestä. Negatiivinen tulos saatetaan saada potilailta, joilla on taudin ensioireita, mutta vielä liian alhainen antigeeni pitoisuus.
- Äidiltä tarttunut Streptokokki B tartunta voi olla ajoittainen, ohimenevä tai pysyvä, eikä se yleensä aiheuta kliinisiä oireita. Sen takia on suositeltavaa ajoittaa testi mahdollisimman lähelle syntymää.
- Testin tekemistä vastasyntyneiltä otetuilla kurkku- tai nielu-näytteillä ei ole testattu kliinisesti. Negatiivista tulosta ei tulisi käyttää Streptokokki B -tartunnan poissulkemiseen, sillä bakteerien määrä saattaa olla havaitsemiseen vaadittavan raja-arvon alapuolella. On suositeltavaa ottaa näyte useammasta paikasta toteamisen todennäköisyyden lisäämiseksi.
- Testi ei erota oireettomia Streptokokki B:n kantajia oireellisista. Mikäli kliiniset merkit ja oireet eivät ole yhdenmukaisia laboratorioissa tehtyjen testien kanssa, uusintaviljelyn tekeminen on suositeltavaa.

- Kuten muissakin diagnostisissa testeissä, lopullista kliinistä diagnoosia ei tulisi tehdä yhden testituloksen perusteella. Lääkärin tulisi arvioida ja tulkita kaikki kliiniset sekä laboratorio löydökset lopullisen diagnoosin tekemiseksi.

13. Odotetut arvot

Jopa 30% naisista kantaa Streptokokki B:tä joko emättimen tai peräsuolen bakteereissa. Yleensä kantajat ovat oireettomia. Tartunta voi kuitenkin aiheuttaa vakavia oireita, mikäli bakteereja siirtyy synnytyksen yhteydessä. Streptokokki B on yksi yleisimmistä syistä vastasyntyneiden kuolleisuudelle ja sairastumiselle. Varhain alkanutta Streptokokki B-tartuntaa esiintyy noin kahdella tuhannesta vastasyntyneestä. Kuolleisuus sairastuneilla vastasyntyneillä on 20%. Naisilla, jotka kantavat useaa Streptokokki B-bakteeria, tartuntariski on noin 2.5 kertainen normaaliin kantajaan verrattuna. Sairastumisen riskiä voidaan vähentää ennaltaehkäisevällä lääkityksellä.

14. Toiminnan ominaisuudet

Vertailututkimus

Vertailututkimus NADAL® Strep B testin ja perinteisen viljelyn välillä suoritettiin. Näytemateriaalina käytettiin näytteitä emättimestä ja virtsaputkesta. Tulokset voidaan lukea alla olevasta taulukosta.

NADAL® Strep B Test	Culture			
		+	–	Yht.
	+	20	2	22
	–	2	96	98
	Yht.	22	98	120

Suhteellinen sensitiivisyys: 90.9%

Suhteellinen tarkkuus: 97.9%

Yleinen yhteneväisyys: 96.7%

Havaitsemisraja

NADAL® Strep B testin havaitsemisraja määritettiin 1×10^5 organismia/näyte. Tarkkuustutkimus tehdään jokaiselle erälle osana laaduntarkkailua.

Prozone-efekti tutkimus

Haittavaikutuksia T-viivan muodostumiseen ei havaittu, kun Streptokokki B:n pitoisuus oli jopa 1.0×10^9 organismia per näyte.

Spesifisyys tutkimus

NADAL® Strep B testin ristikkäisreaktio tutkimukset suoritettiin organismeilla, joita yleisesti löytyy vaginan tai peräsuolen alueelta. Seuraavat organismit tutkittiin pitoisuudella 1×10^7 organismia/näyte ja ne tuottivat negatiivisia tuloksia.

Organismi	ATCC Nro.	Organismi	ATCC Nro.
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep C	12401
<i>Corynebacterium diphtheriae</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 influ enzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528

Organismi	ATCC Nro.	Organismi	ATCC Nro.
<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		

Lääkäriin laboratoriotutkimukset (POL)

NADAL® Strep B testin vertailututkimus suoritettiin kolmella eri lääkäriklinikan laboratoriollla. Tutkimuksessa käytettiin koodattujen näytteiden paneeleja, jotka sisälsivät negatiivisen kontrollinäytteen, heikon positiivisen näytteen sekä keskivahvan positiivisen näytteen. Jokainen näytetaso testattiin jokaisella klinikalla 30 tutkimuksen toistoina 3 päivän ajan. Tutkimus osoitti >99,9% yhteneväisyyden odotettujen tulosten kanssa

Tutkimus häiriötekijöistä

Laaja valikoima erilaisia intiimipesuaineita tutkittiin pitoisuudella 1%. Häiriövaikutuksia oikeanlaisen tuloksen muodostumiseen ei havaittu

Erän sisäinen ja erien välinen vaihtelevaisuus

Kolme erillistä erää tutkittiin negatiivisella, keskivahvalla ja korkeasti positiivisella kontrollilla 10-kertaisilla määrittäyksillä. Odottamattomia tai vaihtelevia tuloksia ei havaittu. Tämä viittaa siihen, että erän sisäinen ja erien välinen vaihtelevuus on matala.

15. Lähteet

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. Appgar 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. 1, 2017-05-30 HH

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico- diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro- diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in- vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräköodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestilingsnummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel –UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16

Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel. Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

Denmark:

Tel: +31 703075 603

Free Tel: +45 80 88 87 53

Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40

Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1