

**STREPTOCOCCUS A CASSETTE**  
014B055  
Flocked swabs



**Rychlý test pro kvalitativní detekci antigenu Streptokoku A ve výtěru z hrdla**  
In vitro diagnostikum pouze pro profesionální použití

**Zamýšlené použití**

Tento test je rychlý chromatografický immunoassay pro kvalitativní detekci Strep A antigenu ve vzorcích výtěru z hrdla, pro upřesnění diagnostiky infekce streptokokem skupiny A.

**Souhrn**

Streptococcus pyogenes je grampozitivní kok, obsahující antigen skupiny A (Lancefield). Může vyvolat vážné infekce jako faryngitidu, respirační infekce, angínu, impetigo, endokarditidy, meningitidu, puerperální sepsi nebo artritidy. Pokud nejsou léčeny, tyto infekce mohou způsobit velmi vážné komplikace včetně revmatické horečky a peritonsilárního abscesu. Běžný identifikační postup pro streptokoky skupiny A zahrnuje kultivaci, následnou izolaci a identifikaci organismu technikami, které trvají 24-48 hod. i déle. Rychlá diagnóza a včasná antibiotická léčba může zabránit komplikacím a redukovat rozvoj choroby.

**Ultimed streptococcus A-card** je rychlý test pro kvalitativní detekci přítomnosti antigenu strep A ve vzorcích výtěru z hrdla během 5 minut. Specifická protilátka použitá v testu je selektivní pro detekci celé skupiny A.

**Princip**



Test obsahuje specifickou protilátku proti karbohydrátovému antigenu strep A, která je navázaná v linii v oblasti T-testovacího pole. Během testu vzorek ( roztok extrahovaný ze stěru) reaguje nejprve s protilátkou proti strepA, navázanou na partikulích.

Tato směs migruje vzhůru membránou, reaguje s protilátkou navázanou v linii na membráně a tvoří v této oblasti červený proužek. Přítomnost této červené linie v oblasti testu znamená pozitivní výsledek, zatímco nepřítomnost této linie znamená negativní nález. Pro kontrolu správného postupu se musí vytvořit barevná linie v kontrolní oblasti C, která potvrzuje, že bylo aplikováno dostatečné množství vzorku a membrána má adekvátní nasákavost.

**Reagencie**

V testu jsou použity polyklonální a monoklonální protilátky pro specifickou identifikaci antigenu strep A.

**Skladování a stabilita**

Ultimed StrepA Card může být skladován při pokojové teplotě, nebo v chladničce (2-30°C). Test musí být uložen v originální uzavřené obálce až do doby použití. Kazeta i činidla jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

**Nemrazit! Nepoužívejte po datu expirace!**

**Odběr a příprava vzorku**

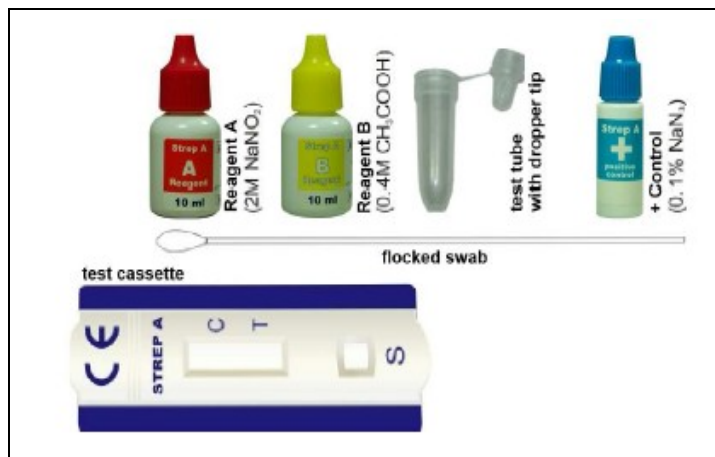
Používejte pouze originální reagencie a sterilní tampony dodané v soupravě. Odeberte vzorek stěru z hrdla sterilním tamponem tak, že seřete posteriorpharyngs, mandle a ostatní zánětlivé oblasti. Vyvarujte se dotyku tamponu s jazykem, zuby a tvářemi.

**Dodaný materiál v soupravě**

- testovacích kazety
- zkumavky s kapacím uzávěrem
- sterilní odběrové tampony
- papírový stojánek na zkumavky
- reagent A (2M-dusitan sodný)
- reagent B (0,4M- kyselina octová)
- pozitivní kontrolu(neživý StrepA v 0,1%NaN<sub>3</sub>)
- 1 návod k použití

**Materiál doporučený, ale nedodaný**

- časoměřič (minutky)
- negativní kontrola

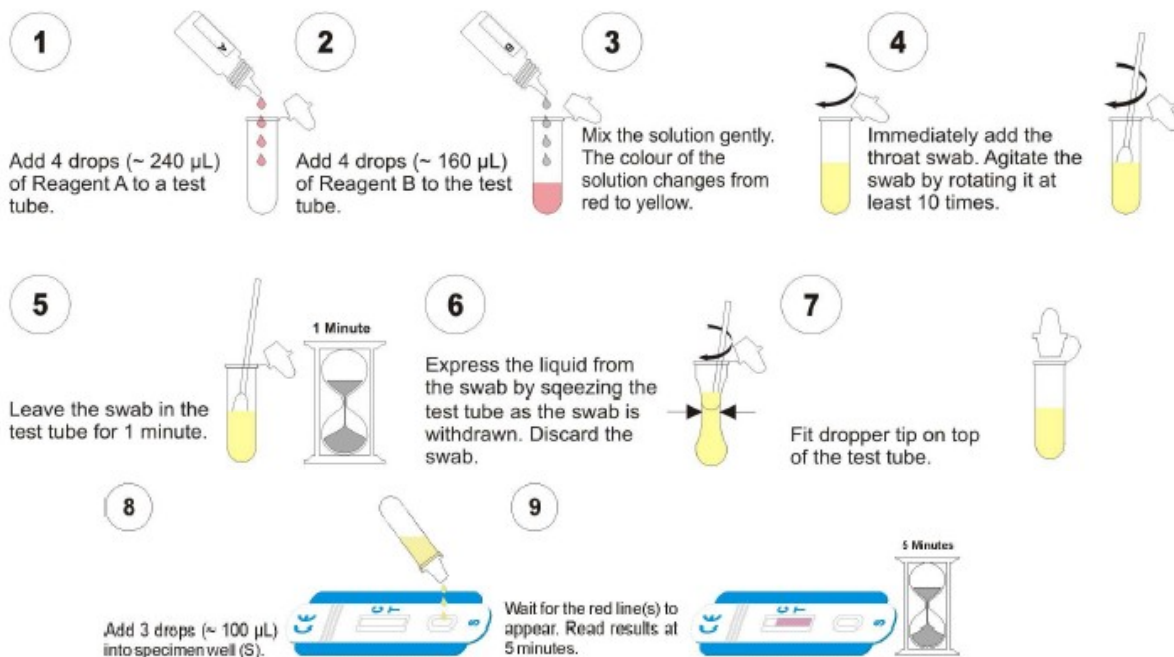


## Návod k použití

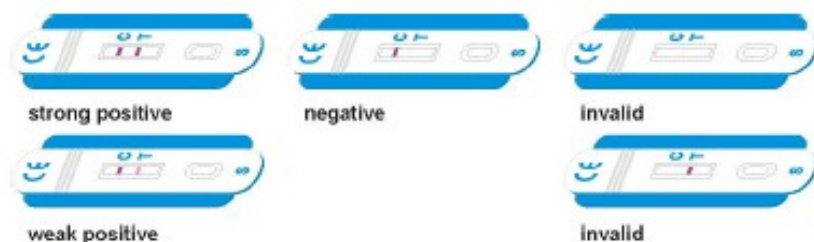
Vytemperujte testovací kazetu (v uzavřené obálce), činidla (příp.kontroly) na pokojovou teplotu (15-30°C). Vyjměte kazetu z ochranné obálky a použijte ji co nejdříve. Nejlepší výsledky získáte při použití kazety ihned po jejím vyjmutí z obalu.

### POSTUP

1. Přidejte 4 kapky činidla A do extrakční zkumavky
2. Přidejte 4 kapky činidla B do extrakční zkumavky
3. Roztok jemně promíchejte. Barva roztoku se změní z jemně narůžovělé na nažloutlou.
4. Ihned vložte tampon se stěrem, promíchejte otáčením tamponu nejméně 10x.
5. Ponechte tampon v extrakční zkumavce 1 minutu
6. Vytláče kapalinu z tamponu přitisknutím ke stěně zkumavky, a pomalým vytažením jej odstraňte.
7. Nasadte kapací uzávěr na zkumavku
8. Aplikujte 3 kapky (cca 100 µl) do jamky pro vzorek, označené **S** (sample) na testovací kazetě.
9. Vyčkejte, až se vytvoří barevné linie v testovacím poli.
10. Výsledek odečtěte po 5 minutách.



## Interpretace výsledků



### Pozitivní nález\*:

Dvě oddělené červené linie, jedna v oblasti **C** (kontrolní), druhá v oblasti testu **T**. Pozitivní výsledek indikuje, že ve vzorku je přítomen antigen Strep A

\*pozn.: intenzita červené barvy linie testu T bude různá v závislosti na koncentraci strep A, přítomného ve vzorku. To znamená, že jakýkoliv odstín červené v oblasti T má být považován za pozitivní nález.

### Negativní nález:

Jedna červená linie v kontrolní oblasti **C**, v oblasti **T** není pozorovatelná červená, ani růžová linka.

Negativní výsledek znamená, že ve vzorku není přítomen antigen strep A, nebo je přítomen v koncentraci nižší, než je mez detekce testu. Vzorek pacienta může být kultivován pro potvrzení nepřítomnosti infekce strep A. Jestliže výsledek nesouhlasí s klinickými symptomy, je třeba získat jiný vzorek pro kultivaci.

### Neplatný nález:

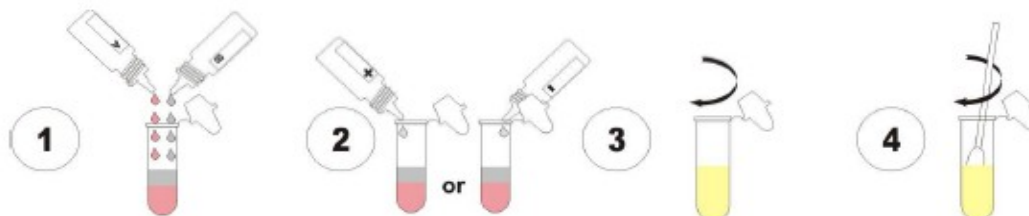
Pokud se neobjeví kontrolní linie v oblasti **C**, test nehodnoťte. Buď bylo aplikováno nedostatečné množství vzorku, nebo došlo k jiné chybě v postupu. Ověřte si postup a zopakujte test s novou kazetou. Pokud problémy přetrvávají, kontaktujte distributora.

## Kontrola kvality

Vnitřní kontrola postupu je součástí testu. Červená linie vytvořená v oblasti C je vnitřní pozitivní kontrolou. Potvrzuje odpovídající objem vzorku a správný pracovní postup. Navíc se doporučuje použít laboratorní standard kontroly kvality, to znamená otestovat pozitivní a negativní externí kontrolu nejméně po každých 25 vzorcích (tedy během 1 soupravy). Tím se ověří, že činidla a testy pracují spolehlivě a uživatel je schopen správně provést test. Externí pozitivní kontrola je obsažena v soupravě.

POSTUP zpracování kontrolního vzorku

1. Přidejte 4 kapky činidla A a činidla B do extrakční zkumavky
2. Přidejte 1 kapku pozitivní, nebo negativní kontroly
3. Roztok opatrně zamíchejte, jeho zbarvení se změní z červené do žluté
4. Vložte čistý tampon a postupujte dále, jak je popsáno v pracovním postupu



## Omezení metody

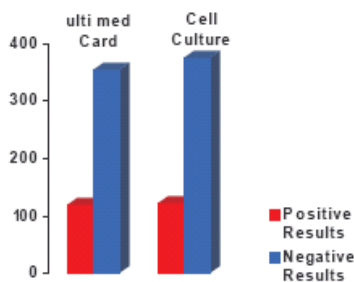
1. **Ultimed Strep A card** je určen pouze pro in vitro diagnostiku, pro detekci strep A antigenu ve výtěru z hrdla. Ani kvantitativní hodnotu, ani poměr zvýšení koncentrace strep A antigenu nelze tímto kvalitativním testem stanovit
2. Tento test pouze indikuje přítomnost strep A antigenu ve vzorcích a to jak živých, tak neživých skupin bakterie Streptococcus A.
3. *Negativní* výsledek získaný tímto testem musí být ověřen kultivací, negativní výsledek může být získán, jestliže strep A antigen je přítomen ve stěru ale v *koncentraci nižší, než je mez detekce metody.*
4. Pro odběr vzorku smí být použity pouze sterilní tampony, s použitím jiných tamponů není test validní.
5. Přítomnost krve nebo hlenu ve stěru může interferovat a způsobit falešně pozitivní výsledek.
6. Dotek jazyka, tváří, zubů, nebo jiných částí ústní dutiny tamponem může též způsobit falešné výsledky.
7. Jako u všech diagnostických testů, výsledky musí být hodnoceny společně s ostatními klinickými informacemi

## Očekávané hodnoty

Přibližně 15% faryngitid u dětí 3-5 let je způsobeno bakteriemi skupiny A  $\beta$ -hemolytických streptokoků. U školních dětí a dospělých je incidence strep A, způsobující infekci okolo 40%. Choroba obvykle propuká v zimě a na jaře.

## Charakteristika testu

### Senzitivita a specifita metody



Senzitivita: 97% (120+4)  
Specifita: 95.5% (20+335)

Bylo vyšetřeno 499 výtěrů z krku odebraných od pacientů se symptomy faryngitidy ve 3 lékařských centrech. Každý výtěr byl naočkovan na ovčí krevní agar a paralelně testován ultimed StrepA card testem. Plotny byly připraveny pro izolaci a pak inkubovány při 37°C s 5-10% CO<sub>2</sub> a bacitracinovým diskem 18-24 hodin. Negativní kultury byly inkubovány dalších 18-24 hodin. Pozitivní GAS kolonie byly rozděleny a potvrzeny komerčně dostupným latex aglutinačním skupinovým kitem. Ze 499 vzorků bylo 375 hodnoceno jako negativní kulturačně a 124 jako pozitivní. Během této studie daly pozitivní výsledek 2 vzorky StrepF. Jeden z nich byl znovu kultivován a znovu testován a získán negativní výsledek. Navíc nově přidané vzorky StrepF byly kultivovány a testovány na zkříženou

## Detekční limit

Strep A Organism / swab	Test A	Test B	Test C
1.0 x 10 <sup>4</sup>	Negative	Negative	Negative
1.0 x 10 <sup>5</sup>	Positive	Positive	Positive
2.5 x 10 <sup>5</sup>	Positive	Positive	Positive
5.0 x 10 <sup>5</sup>	Positive	Positive	Positive
6.0 x 10 <sup>6</sup>	Positive	Positive	Positive

Roztok buněk StrepA byl naředěn 1x10<sup>6</sup>, 1x10<sup>7</sup>, 2,5x10<sup>7</sup>, 5,0x10<sup>7</sup> a 1x10<sup>8</sup> buněk/ ml. Vždy 10  $\mu$ l každého z těchto ředění bylo aplikováno na suchý dakronový tampon a proveden test dle návodu. Výsledky byly hodnoceny v předepsaném čase jako pozitivní / negativní.

Výsledky ukazují, že nejnižší detekční limit testu je 1,0 x 10<sup>5</sup> buněk na tamponu.

## Ověření Hookova efektu

Strep A Organism / swab	Test A	Test B	Test C
1.0 x 10 <sup>9</sup>	Positive	Positive	Positive
1.0 x 10 <sup>8</sup>	Positive	Positive	Positive
1.0 x 10 <sup>7</sup>	Positive	Positive	Positive

Na tampony byly aplikovány StrepA buňky v koncentracích 1,0x10<sup>9</sup> 1,0x 10<sup>8</sup> a 1,0x10<sup>7</sup> na tampon pro ověření efektu prozóny, neboli zda se od určité koncentrace klesá signál se stoupající koncentrací analytu. Byly použity 3 šarže testů a testování provedeno přesně dle návodu. Výsledky ukazují, že **Ultimed Strep A card** umožňuje detekovat až 10<sup>9</sup> organismů na tamponu bez Hookova efektu.

## Ověření interferencí

Interfering Substances	Level Tested		
	Negative	Low	Medium
Cough drops A, B, C	Negative	Positive	Positive
Cough syrup A	Negative	Positive	Positive
Aseptic spray A, B	Negative	Positive	Positive
Mouthwash A, B	Negative	Positive	Positive

Na tampony byly aplikovány potencionálně interferující substance (kapky proti kašli, sirup proti kašli, antiseptický spray a ústní voda) v počáteční koncentraci 1%.

Tyto tampony byly použity k testu přímo nebo naočkovány Strep A v nízké a střední koncentraci v tripletech. Výsledky byly hodnoceny jako pozitivní / negativní po 5 minutách.

Výsledky prokazují, že uvedené substance neinterferovaly, tedy neovlivnily očekávanou hodnotu testu.

## Zkřížená reaktivita

Níže uvedené mikroorganismy byly připraveny v koncentraci 1 x 10<sup>7</sup> a testovány **Ultimed Strep A card** testem. Ve všech případech byly nálezy **negativní**.

*Bordetella pertussis*  
*Branhamella catarrhalis*  
*Candida albicans*  
*Corynebacterium diphtheria*  
*Enterococcus faecalis*  
*Group B Streptococcus*  
*Group C Streptococcus*  
*Group F Streptococcus*

*Group G Streptococcus*  
*Hemophilus influenza*  
*Klebsiella pneumoniae*  
*Neisseria gonorrhoea*  
*Neisseria meningitidis*  
*Neisseria sicca*  
*Neisseria subflava*  
*Pseudomonas aeruginosa*

*Serratia marcescens*  
*Staphylococcus aureus*  
*Staphylococcus epidermidis*  
*Streptococcus mutans*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Streptococcus sanguis*

## Ověření v praxi

Pro srovnání byly **Ultimed Strep A card** testy použity ve třech různých ordinacích praktických lékařů, osobami které měly odlišné předchozí zkušenosti s jakýmkoliv testy.

V každé z těchto ordinací byl testován předem připravený randomizovaný panel vzorků, obsahující 20 negativních, 20 slabě pozitivních, 20 středně pozitivních a 20 pozitivních vzorků paralelně ve třech dnech. Získané výsledky souhlasily v 96% s očekávanými nálezy.

## Literární odkazy

- 1 Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM Press, p. 299-307.
- 2 Webb, KH. Pediatrics (Feb 1998), 101:2, 2.
- 3 Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, Kaplan EL, Schwartz RH. Clinical Infectious Diseases (1997), 25, 574-83.
- 4 Needham CA, McPherson KA, Webb KH. Journal of Clinical Microbiology (Dec 1998), 3468-3473.
- 5 Shea, Y.R., Specimen Collection and Transport, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, Isenberg, H.D., American Society of Microbiology, Washington, D.C., 1.1.1-1.1.30, 1992.
- 6 Nussinovitch, M, Finkelstein Y, Amir J, Varsano, I. Clinical Pediatrics (June 1999), 357-360.
- 7 Woods WA, Carter CT, Stack M, Connors Jr AF, Schlager TA, Southern Medical Journal (May 1999), 491-492.

## Bezpečnostní pokyny

Reagent A  
 (2M Nitrát sodný)



R8 Dotek s hořlavým materiálem může způsobit požár  
 R25 Toxický při požití, R50 Vysoce toxický pro vodní organismy  
 S1/2 Uchovávejte uzamčené a mimo dosah dětí  
 S45 V případě úrazu, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení)  
 S60 Tento materiál nebo jeho obal musí být zneškodněn jako nebezpečný odpad  
 Bezpečnostní list pro profesionální uživatele je k dispozici na vyžádání

Reagent B (0,4M kyselina octová)



ulti med Products (Deutschland) GmbH  
 Reeshoop 1 • 22926 Ahrensburg  
 Telefon: 04102 - 80090  
 Fax: 04102 - 60082  
 e-mail: info@ultimed.de

Distributor:  
 ulti med Products (Belgium) BVBA  
 Honzebroekstraat 137 • 8800 Roeselare  
 Phone: +32 +51 200 426  
 Fax: +32 +51 200 449  
 e-mail: belgium@ultimed.org



Duben 2008/A

## Distributor pro ČR a SR:

**JK Trading, spol. s r.o.**, Za Opravnou 5, 150 00 Praha 5  
 tel: 257 220 760, email: [paha@jktrading.cz](mailto:paha@jktrading.cz), [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)

překlad k 6.6.2008

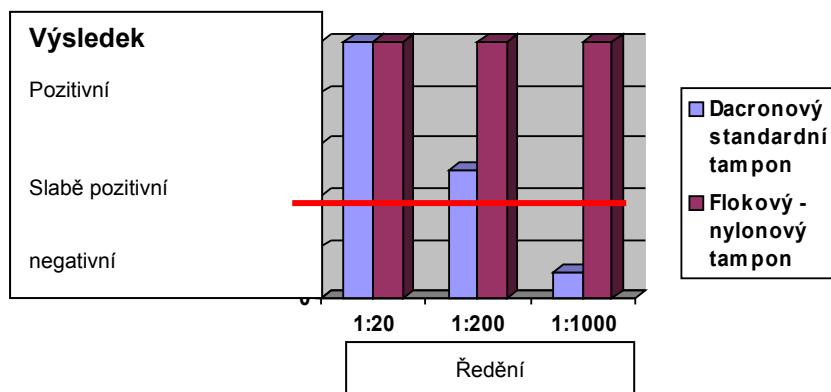
### Použití Flokového - nylonového tamponu ve srovnání s Dacronovým standardním tamponem

Nový typ Flokového tamponu při použití v Ulti med Streptokokus A testu má následující výhody:

- Svislá nylonová vlákna se chovají jako jemný kartáček a umožňují lepší odběr buněčného vzorku.
- Kapilární akce která vzniká mezi nylonovými vlákny ulehčuje odběr tekutého vzorku.
- Vzorek se lépe přichytí k jeho povrchu a dovoluje jeho lepší eluci.

Nylonový odběrový tampon zvyšuje senzitivitu Streptokokového testu

**Srovnání mezi nylonovým a standardním tamponem ukazuje následující graf:**



### Výsledek

Pozitivní

Slabě pozitivní

negativní