

NOW[®] Strep A TEST

POUŽITÍ

NOW[®] Strep A Test je rychlá imunochromatografická metoda ke kvalitativnímu určení antigenu *Streptococcus pyogenes* sk. A z výtěru krku

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU

Streptokoky sk. A jsou nejčastějším původcem akutního zánětu hltanu. Přesná a včasná diagnostika etiologického agens je nutná k cílené a účinné léčbě. V případě infekce *Streptococcus* Sk. A je indikována antibiotická terapie. Pokud se léčba zanedbá, je riziko rozvoje pozdních následků streptokokových infekcí (např. revmatické horečky¹ či glomerulonefritidy).

Standardní metody detekce streptokoků skupiny A zahrnují 24-48 hodinovou kultivaci zpracovaných vzorků (výtěr z krku) a následné hodnocení růstu β -hemolytických kolonií streptokoka². Podezření lze dále upřesnit testem s bacitracinovým diskem umístěným na krevní agar s naočkovaným streptokokem, kde dochází k inhibici jeho růstu^{3,4}. Imunologické potvrzení infekce streptokokem je založeno na detekci specifického antigenu (ASLO)⁵.

NOW[®] Strep A imunochromatografická metoda využívající specifické protilátky proti *Streptococcus* sk. A. Test umožňuje okamžité zpracování vzorku a to kompletně pouze v rámci diagnostického setu. Výsledek je dostupný během 5 minut.

PRINCIPIY STANOVENÍ

NOW[®] Strep A je imunochromatografické stanovení na membráně detekující antigen *Streptococcus* sk. A z výtěru krku. Na nitrocelulózovou membránu jsou absorbovány králičí protilátky anti-Strept A (tvoří linii Sample line) níže jsou na stejnou membránu absorbovány králičí protilátky proti kozímu IgG (tvoří linii Control line). Oba druhy králičích protilátek jsou kvůli vizualizaci konjugovány částicemi uchycenými na inertní vláknitou oporu. Membrána s absorbovanými protilátkami a konjugované částice tvoří vlastní testovací proužek. Ten společně s otvorem pro zpracování výtěrového tamponu tvoří samotnou uzavíratelnou testovací kazetu.

K provedení testu je nezbytné vložit výtěrový tampon do testovací jamky. Extrakční činidla jsou přidána z kapacích lahviček. Následně se otočí třikrát výtěrový tampon. Po minutové inkubaci se testovací kazeta zavře, aby mohlo dojít ke kontaktu extrahovaného vzorku s testovacím proužkem. Antigen Strep A se váže na protilátku nati-Strep A a je vizualizován konjugovanými částicemi. Imobilizované protilátky proti kozímu IgG se vizualizují druhým konjugátem. Pozitivní test se odečítá po 5 minutách. Negativní

výsledek NOW® Strep A Testu, odečtený po 5 minutách, znamená pravděpodobnou nepřítomnost antigenu streptokoka sk. A.

Interpretace testu probíhá zhodnocením přítomnosti či absence růžového až purpurového zabarvení testovacích linií. Pozitivní výsledek zahrnuje zbarvení obou testovacích linií (Sample line, Control line), negativní výsledek pouze zbarvení kontrolního proužku (Control line). Každý jiný výsledek poukazuje na chybu v provedení testu a je nutné test zopakovat.

REAGENCIE A MATERIÁL

Kit obsahuje:

- Testovací kazeta – membrána potažená králičími anti-Strep A protilátkami a králičími protilátkami proti kozímu IgG v kombinaci se směsí konjugátu (anti-Strep A, anti-goat IgG) v zavíratelné testovací kazetě.
- Extrakční činidlo 1 - 2M dusitan sodný s Tween® 20
- Extrakční činidlo 2 – 0,125M kyselina octová s Tween® 20
- Sterilní tampóny – Přizpůsobeny užití v NOW® Strep A Testu
- Tampony pro pozitivní kontrolu – obsahující teplem inaktivovaný *Streptococcus* sk. A
- Návod k použití

Další dostupné materiály:

NOW® Strep A Test Control Swabs (katalog. číslo 730-010) obsahuje:

- 5 tamponů pro pozitivní kontrolu - obsahující teplem inaktivovaný *Streptococcus pyogenes* sk. A
- 5 tamponů pro negativní kontrolu - obsahující teplem inaktivovaný *Streptococcus* sk. C

Kit neobsahuje:

- stopky
- alternativně použitelné tampony (viz. Získání vzorku)

UPOZORNĚNÍ :

1. Pouze pro in vitro diagnostiku.
2. Nepoužívejte činidla po uplynutí expirační doby.
3. Nezaměňujte víčka kapacích lahvíček.
4. Nepoužívejte k testování součásti různých setů.
5. Chybné výsledky mohou být důsledkem aplikace nedostatečného množství extračních činidel. K zajištění dostatečného množství činidla držte lahvičky vertikálně cca 3 cm nad jamkou a nechte kapky pomalu vsáknout.

6. Tampony pro pozitivní kontrolu obsahují inaktivované bakterie, přesto s nimi zacházejte jako s infekčním materiálem.
7. Tampony pro pozitivní kontrolu jsou určeny pouze pro NOW® Strep A Test.
8. Kapejte reakční činidla pouze do jamky označené zeleným trojúhelníkem, NE do jamky nad ní.
9. Výtěrové tampony je nutno otáčet VE SMĚRU hodinových ručiček (doprava).
10. Testovací kazeta musí zůstat v ochranné fólii do doby těsně před použitím.
11. K zajištění správného průběhu testu zabraňte uvolnění konce tamponu z jamky při odlamování rukojeti tampónu.
12. Extrakční činidlo 1 je žíravinou a může při zásahu způsobit poranění oka.
13. Se všemi vzorky od pacientů je nutno zacházet jako s infekčním materiálem.
14. Nepoužívejte výtěrové tampony uchovávané v transportních médiích.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Skladujte při pokojové teplotě (15-30°C). NOW® Strep A Test testovací souprava a činidla jsou stabilní do data uvedeného na obalu.

SBĚR VZORKU

Pomocí tamponu dodaného v soupravě získajte vzorek stěrem, zejména z obloků a oblasti tonzil, případně povlaků či čepů na nich^{6,7}.

Vyvarujte se kontaktu tamponu s jazykem⁸, zuby, dásněmi či bukální sliznicí. Pokud je zároveň prováděno kultivační vyšetření, před vyšetřením NOW® Strep A Testem otřete valivým pohybem tampon nejprve na část agarové plotny. Pro toto vyšetření je možno případně použít i druhý tampon. Poté rozočkujte inokulum sterilní kličkou po celé ploše agarové plotny^{9,10}. NOW® Strep A Test proveďte ihned po vyočkování na kultivační půdu.

Neprovádějte nikdy testování pomocí NOW® Strep A Test před vyočkováním na kultivační půdu, složky extrakčních činidel bakterie usmrcují.

Pokud není možno provést vyšetření hned po odebrání vzorku, uložte do suché sterilní zkumavky a uchovávejte při teplotách 2-8°C. Maximální délka uchování je 72 hodin¹¹. Použití transportních médií není doporučeno.

Užití alternativního výtěrového tamponu:

Je doporučeno použít k získání vzorku originálního tamponu ze setu NOW® Strep A Test. Přesto však je možno použít i jiného tamponu, který byl validován k použití se setem. Pro informace o komerčních produktech obsahujících dané tampony kontaktujte Vašeho distributora.

KONTROLA KVALITY

Denní kontrola kvality:

NOW® Strep A Test má implementovanou kontrolu postupu. Pro denní kontrolu kvality společnost Binax navrhuje záznam těchto výsledků kontrol při každém testu.

Kontrola postupu:

- A. Růžová linie v kontrolní pozici Control line je vnitřní kontrola postupu. Pokud test je funkční a činidla fungují dojde k objevení této linie.
- B. Odbarvení pozadí výsledkového okna je negativní kontrola pozadí. Barva pozadí se během 5 minut mění z lehce růžové na bílou. Zbarvení pozadí by nemělo bránit odečtení výsledku.

Externí pozitivní a negativní kontroly:

Správná laboratorní praxe zahrnuje použití pozitivních a negativních kontrol k ujištění, že:

- testovací činidla jsou funkční
- test byl proveden správně, včetně správné extrakce antigenu.

NOW® Strep A Test obsahuje 1 tampon pro pozitivní kontrolu. Tento tampon společně s řádnou negativní kontrolou monitoruje průběh celého testu. Proved'te jednou tyto kontroly u každého kitu.

Další kontroly se mohou provádět pro potřeby:

- akreditačního procesu
- standardních laboratorních kontrol dané laboratoře

Další pozitivní a negativní kontrolní tampony jsou dostupné jako samostatný produkt (katalogové číslo 730-010). U provádění kontrol je testovací postup shodný s postupem při testování vzorku od pacienta.

Pokud nedojde k správným výsledkům kontrol, netestujte vzorek od pacienta a kontaktujte Vašeho distributora.

PRACOVNÍ POSTUP

1. Otevřete testovací kazetu těsně před použitím, položte na rovnou plochu a postupujte dle následujícího návodu:
2. Vložte vzorek od pacienta či kontrolní tampon do zeleného trojúhelníku (▲) a silně vtlačte tampon



směrem vzhůru, až se objeví špička tamponu v otvoru nad trojúhelníkem.

3. Kápněte **ČINIDLO 1** ve vertikální poloze, zhruba 3 centimetry nad jamkou postupně **4 KAPKY** do otvoru v trojúhelníku ▲ .

4. Poté stejným způsobem kápněte **4 KAPKY ČINIDLA 2**.



5. Poznámka: Nesprávná aplikace činidel může způsobit falešné výsledky testu.

6. Otočte třikrát tamponem **VE SMĚRU** hodinových ručiček. Tampon nevyjímejte.

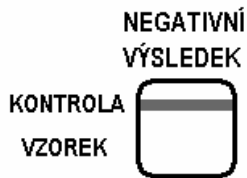
7. Vyčkejte 1 minutu.

8. Sloupněte folii z adhezivního proužku na pravém okraji testovací kazety. Zavřete opatrně obě poloviny kazety. Vyčkejte 5 minut a odečtěte ihned výsledek ve výsledkovém okně. Výsledky odečtené před i po uvedeném čase mohou být nepřesné.

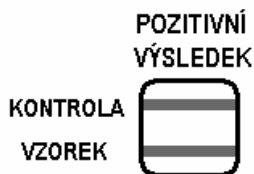


9. Poznámka: Pro lepší pohodlí, lze odlomit přesahující prodlouženou špejli tamponu. Je nutné dát pozor na to, aby se neposunul z jamky.

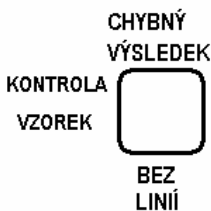
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



Negativní výsledek u negativních vzorků dojde k zabarvení kontrolní linie (Control line) v horní části výsledkového okna do růžova až purpurova. Tento výsledek značí správně provedený test a nepřítomnost Strep A antigenu.



Pozitivní výsledek pozitivní vzorky způsobí objevení dvou růžových až purpurových linií. To značí, že byl detekován antigen Strep A. U vzorků obsahujících menší množství antigenu mohou být testovací linie (Sample line) slaběji zabarveny.



Chybný výsledek - pokud se neobjeví žádná linie nebo se objeví jen linie v dolní části okénka, je test chybný a měl by být opakován.

OMEZENÍ

NOW® Strep A Test nerozliší živé bakterie od usmrcených bakterií. Pacienti, kteří byli zaléčeni pro streptokokovou či jinou infekci, mohou mít určitou dobu pozitivní výsledek testu. Je to díky průkazu antigenu Strep A z usmrcených bakterií.

Akutní zánět hltanu může být způsoben i jinými mikroorganismy než je *Streptococcus* sk. A. Proto je další diagnostika zahrnující kultivační vyšetření nutná, pokud klinické příznaky neodpovídají zjištěným výsledkům.

NOW® Strep A Test neodliší symptomatické nosiče *Streptococcus* sk. A od těch, kteří mají projevy streptokokové infekce.

Může dojít k falešně negativnímu výsledku, pokud je množství extrahovaného antigenu nižší než je senzitivita testu. Kultivační vyšetření je doporučeno u všech NOW® Strep A Test negativních výsledků^{8,12}.

Pokud je použit jeden jak k naočkování na kultivační půdu, tak k detekci testem, může dojít k snížení senzitivity u NOW® Strep A Test.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Analytická senzitivita

Studie testující senzitivitu testu užívali suspendované kolonie *Streptococcus pyogenes* kmenu ATCC 19615 a určili hranici detekce NOW® Strep A Testu na $1,8 \times 10^5$ CFU. Přitom u mukózních kolonií *Streptococcus pyogenes* sk. A byla zjištěna hranice positivity na 10^5 CFU. Kvantifikace byla určena standardními mikrobiologickými metodami.

Klinická senzitivita a specifita

NOW® Strep A Test byl použit k určení 145 výtěrů z krku získaných od pacientů s klinickými příznaky akutního zánětu hltanu. Každý vzorek byl nejprve inokulován na SXT selektivní půdu a poté podroben testování NOW® Strep A Test. Kultivační misky byly inkubovány 18-48 hodin při teplotě 33-37°C v mikroaerofilním prostředí s atmosférou 5% CO₂. Suspektní β-hemolytické kolonie byly testovány latex aglutinačním testem k potvrzení skupinového A antigenu. Souhrnné výsledky uvedené níže odpovídají výsledkům ostatních komerčně dostupných testů k určení streptokoků sk. A¹³⁻¹⁷.

V této studii senzitivita byla 92% (36/39) na 95% hladině nejistoty ve srovnání s 84-100% u kultivačního vyšetření. Specifita testu byla 100% (106/106) a celková shoda 98% (142/145) na 95% hladině nejistoty ve srovnání s 96-100% u kultivačního vyšetření.

NOW® Strep A Test vs Kultivační vyšetření		
Senzitivita	92%	36/39
Specifita	100%	106/106
Celková shoda	98%	142/145

Senzitivita testu je ovlivněna zastoupením vzorků obsahujících nízká množství bakterií. NOW® Strep A Test detekoval 4 z 5 1+ (na jeden křížek) pozitivních výsledků, 14 ze 16 2+ výsledků, 10 z 10 3+ výsledků a 8 z 8 4+ hodnocených výsledků.

Reprodukovatelnost studie

Zaslepená studie s NOW® Strep A Test byla provedena u tří praktických lékařů za užití kódované skupiny vzorků. Test byl proveden osobami s rozdílným stupněm vzdělání. Panel vzorků obsahoval vzorky negativní a dále s rozdílnými stupni positivity (od lehké positivity po jasně pozitivní). Každý stupeň positivity vzorku byl testován patnáctkrát na daném místě po tři dny.

Získané výsledky na každém místě dosahovaly 98-100% shody s očekávanými výsledky. Nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl výsledků v rámci jednoho testovacího místa, mezi různými místy, či mezi uživateli lékaři a ne-lékaři.

Zkřížená reaktivita

Bordetella pertusis, Candida albicans, Corynebacterium pseudodiphthericum, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Haemophilus influenzae typ B, Klebsiella pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Neisseria subflava, Neisseria gonorrhoea, Neisseria meningitidis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus a epidermidis, Streptococcus agalactiae, pneumoniae, skupiny C, skupiny F, skupiny G, mitis, mutans a parasanguis byly testovány NOW® Strep A Test v kvantitách přesahujících 10^7 mikroorganismů na každý test a nebyla prokázána žádná zkřížená reaktivita.

INTERFERENCE

NOW® Strep A Test vykazoval očekávané výsledky jak u pozitivních, tak negativní vzorků v přítomnosti 2 komerčně dostupných léků proti bolestem v krku. Shoda byla 100%.

REFERENCE

1. Wannamaker, L.E. Reviews of Inf. Dis., 1:967-973, 1979.
2. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM 1995, pg. 301.
3. Maxted, W.R.J. Clinical Pathology, 6:224-226, 1953.
4. Levinson, M.L., and P.F. Frank. J. Bacteriology 69:284-287, 1955.
5. Youmans, G.P., Paterson, P.Y., and Sommers H. M. The Biological and Clinical Basis of Infectious Disease, 1975. pp. 172-185.
6. Hoeprich, P.D. Inf. Diseases, Harper & Row, 1983.
7. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM 1995, pp. 19, 28.
8. Facklam, R. R. Isolation and identification of streptococci. Part 1. Collection, transport and determination of hemolysis. CDC Publication, 1977.
9. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM 1995, pp. 300-302.
10. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9th Edition, The C.V. Mosby Company, 1994, pg. 92.

11. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 9th Edition, The C.V. Mosby Company, 1994, pp. 56-57.
12. American Academy of Pediatrics. Group A Streptococcal Infections In: Peter, G. ed. "1994 Red Book. Report of the Committee on Infectious Diseases." 23rd edition Elk Grove Illinois: American Academy of Pediatrics; 1994:433.
13. Evangelista, A., Jungkind, D., Sowa, F., and Christopher, T. Evaluation of Two Chromatographic Immunoassays for the Direct Detection of Pharyngeal Group A Streptococci. Abstracts Gen. Meet. American Society Microbiol. C45:458, 1994.
14. Heiter, B. J., Bourbeau, P.P. Comparison of the Gen-Probe Group A Streptococcus Direct Test with culture and a rapid streptococcal antigen detection assay for diagnosis of streptococcal pharyngitis. J. Clinical Microbiology 31(8):2070-3, 1991.
15. Dale, J.C., Vetter, E.A., Conzalez, J.M., Iverson, L.K. et al. The evaluation of two rapid antigen assays, Biostar Strep A OIA and Pacific Biotech CARDS O.S., and culture for detection of group A streptococci in throat swabs. J. Clinical Microbiology. 32(11):2698-701, 1994.
16. Roe, M., Kishiyama, C., Davidson, K., Schaefer, L., Todd, J. Comparison of BioStar Strep A OIA Optical Immune Assay, Abbott TestPack Plus Strep A, and culture with selective media for diagnosis of group A streptococcal pharyngitis. J. Clinical Microbiology. 33(6):1551-3, 1995.
17. Heiter, B.J., Bourbeau, P.P. Comparison of two rapid streptococcal antigen detection assays with culture for diagnosis of streptococcal pharyngitis. J. Clinical Microbiology. 33(5):1408-10, 1995.

KATALOGOVÁ OBJEDNACÍ ČÍSLA

Katalogová čísla:

730-025: NOW® Strep A Test (25 testů v soupravě)

730-010: NOW® Strep A Kontrolní tampony

VÝROBCE

Binax, Inc., 10 Southgate Road, Scarborough, Maine 04047 USA

TEL: USA: 800-257-9525 Mimo USA: 1-609-627-8000

FAX: (207) 730-5710

INTERNET: www.binax.com