

Streptococcus Group A Card

Streptococcus Group A Card jest szybkim testem immunochromatograficzny służącym do jakościowej oceny występowania antygenów paciorkowców z grupy A z wymazów z gardła.

Beta-hemolityczne paciorkowce z grupy A są główną przyczyną infekcji górnych dróg oddechowych, takich jak: zapalenie migdałków, zapalenie gardła oraz szkarlatyna u dzieci.

1. Zasada działania testu

Test Streptococcus Group A Card jest szybkim testem służącym do wykrycia antygenów streptokoków z grupy A. Zastosowana metoda wykorzystuje kombinację koniugatu specyficznych przeciwciał z cząsteczkami koloidalnego złota umieszczonego w fazie stałej. Podczas przeprowadzania testu zostają wyekstrahowane antygeny z wymazu z gardła za pomocą odczynnika do ekstrakcji nr 1 i nr 2. Wyekstrahowany roztwór jest następnie dodawany do okienka testowego. Antygeny paciorkowców z grupy A reagują z barwnym koniugatem przeciwciał z koloidalnymi cząsteczkami złota tworząc kompleks antygen-przeciwciało. Mieszanina ta migruje wzdłuż membrany do unieruchomionych w linii testowej króliczych przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom paciorkowców z grupy A. Jeżeli badane antygeny występują w badanej próbce, pojawia się czerwone pasmo w linii testowej (T). Brak czerwonej linii testowej wskazuje na wynik ujemny. Bez względu na obecność antygenów streptokoków z grupy A, wyekstrahowana mieszanina wędruje dalej, w kierunku pasma kontrolnego (C), w którym znajdują się unieruchomione kozie przeciw-królicze przeciwciała, powodując pojawienie się czerwonego pasma kontrolnego. Obecność tego pasma weryfikuje: 1) czy została dodana odpowiednia objętość próbki, 2) czy nastąpił prawidłowy przepływ próbki wzdłuż nitrocelulozowej membrany oraz 3) służy jako kontrola dodatnia.

2. Materiały dostarczone

- Testy Strep A Card i próbki z zakraplaczem- 50 szt.
- Instrukcja użycia;
- Bufor do ekstrakcji 1- 1 x 16,5 ml
- Bufor do ekstrakcji 2- 1 x 16,5 ml
- Wymazówki- 50 szt.

3. Przechowywanie i stabilność

Test należy przechowywać w temperaturze 4-30°C w szczelnie zamkniętym opakowaniu do upływu terminu ważności.

4. Ostrzeżenia

- Tylko do użytku profesjonalnego do diagnostyki *in vitro*.
- Nie należy używać po upływie terminu ważności.
- Test przed użyciem powinien znajdować się w szczelnie zamkniętym opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie zostało uszkodzone.
- Należy stosować się do zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP), używać odzieży ochronnej, jednorazowych rękawiczek, nie jeść, nie pić i nie palić w laboratorium.
- Wszystkie próbki należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny i powinien być traktowany tak samo jak czynnik infekcyjny.
- Test powinien być wyrzucony do odpowiedniego pojemnika po wykonaniu badania.
- Należy wykonać test w ciągu dwóch godzin od otwarcia.

5. Pobieranie próbki i przechowywanie

W celu uzyskania optymalnych wyników należy używać tylko plastikowych wymazówek z końcówką ze sztucznego jedwabiu lub dakronową. Nie używać wymazówek z końcówkami bawełnianymi lub z alginianu wapnia. Zaleca się, aby badanie wykonać jak najszybciej po pobraniu próbki. Jeżeli jest to niemożliwe, należy umieścić wymazówkę w sterylnej, suchej i szczelnie zamkniętej probówce, następnie przechowywać ją w lodówce. Wymazówka może być przechowywana w temperaturze pokojowej do 4 godzin, natomiast w warunkach chłodniczych (4-8°C) do 5 dni.

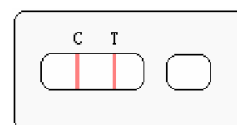
6. Procedura wykonania testu

1. Wyjąć test z opakowania foliowego i umieścić go na płaskiej, suchej powierzchni.
2. Umieścić wymazówkę w plastikowej probówce. Dodać 6 kropli Buforu ekstrakcyjnego nr 1 (300 µl) i 6 kropli Buforu ekstrakcyjnego nr 2 (300 µl). Wymieszać energicznie w celu dobrego wymieszania buforów. Mieszaninę inkubować w temperaturze pokojowej przez 2-5 minut.
3. Po tym okresie czasu, należy wycisnąć jak najwięcej płynu z końcówki wymazówki poprzez jej dociskanie do ścianek probówki. Wymazówkę wyrzucić.
4. Do okienka testowego należy dodawać kolejno 4 krople (200 µl) wymieszanej próbki, czekając aż kolejne krople zostaną zaabsorbowane.
5. Wyniki należy interpretować po 10 minutach. Nie interpretować wyników po upływie 10 minut.

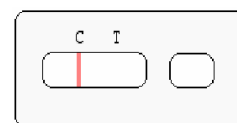
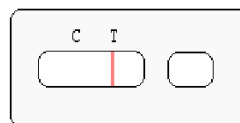
8. Interpretacja wyników

WYNIK POZYTYWNY: dwie linie pojawiają się w centralnym okienku. Linia testowa (koloru czerwonego) oznaczona jest literą **T**, natomiast linia kontrolna (koloru czerwonego) jest oznaczona literą **C**.

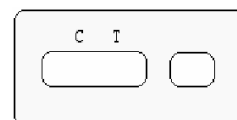
Intensywność koloru czerwonej linii testowej (T) różni się w zależności od stężenia antygeny w próbce. Jednakże test jest testem jakościowym i nie można oznaczać ilościowo antygeny ani nie można badać zmiany stężenia antygeny w próbce.



WYNIK NEGATYWNY: tylko jedna linia pojawiająca się w miejscu oznaczonym C jest linią kontrolną.



TEST NIEPOPPRAWNIE WYKONANY: zupełny brak czerwonej linii kontrolnej. Uwagi: niewystarczająca objętość pobranej próbki, niepoprawna technika wykonania testu lub pogorszenie jakości odczynników są najczęstszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Należy ponownie przejrzeć procedurę wykonania testu i wykonać test. Jeżeli problem pojawia się ponownie, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z producentem testu.



9. Charakterystyka testu

Czułość analityczna: W celu określenia czułości analitycznej testu Streptococcus Group A Card, wykonano hodowlę paciorkowców z grupy A w bulionie. Wykrywalność testu dla *Streptococcus* z grupy A oszacowano na $2,5 \times 10^5$ komórek na test.

Specyficzność: W celu określenia specyficzności poddano testowi poniższe szczepy streptokoków z grupy A w różnych stężeniach. Wynik dodatni otrzymano na poziomie $2,5 \times 10^5$ komórek/test dla wszystkich szczepów *Streptococcus* z grupy A, co wskazuje, iż test Streptococcus Group A jest czuły dla wszystkich szczepów paciorkowców z grupy A. Z użyciem powyższego testu badano również reakcje krzyżowe z mikroorganizmami obecnymi w układzie oddechowym. Poniższe mikroorganizmy były testowane w stężeniu 1×10^8 komórek/test.

ORGANIZMY	WYNIK
Strep-A ($2,5 \times 10^5$ kom./test) szczepy: SS-091; SS-410; SS-492; SS-496; SS-633; SS-634; SS-635; SS721; SS-754; SS-799; ATCC-19615	+
Strep-B, -C, -D, -F, -G	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Streptococcus bovis, faecalis, mitis, mutans, salivarius, pneumoniae, sanguis</i>	-
<i>Staphylococcus aureus, epidermidis, saprophyticus</i>	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-
<i>Neisseria lactima, gonorrhoeae, meningitidis, sicca, subflava</i>	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-
<i>Haemophilus parabaemophilicus</i>	-

Dokładność: Badano korelację testu Streptococcus Group A Card i konwencjonalnej hodowli w dużych szpitalach klinicznych. Pobierano próbki od pacjentów z objawami zapalenia gardła.

Otrzymane wyniki podsumowano w poniższej tabeli:

		Hodowla		Calkowite
		Dodatnie	Ujemne	
Streptococcus Group A Card	Dodatnie	21	3	24
	Ujemne	2	35	37
	Calkowite	23	38	61

Czułość: $21/23=91,3\%$

Specyficzność: $35/38=92,1\%$

Dokładność: $(21+35)/61=91,8\%$

10. Zewnętrzna kontrola jakości

Kontrola dodatnia, jak i ujemna znajdują się w katalogu (UD80025).

10. Ograniczenia testu

Dokładność testu zależy od jakości pobranej próbki. Wynik fałszywie dodatni można uzyskać, jeżeli próbka została niewłaściwie pobrana lub przechowywana. Można otrzymać wynik ujemny u pacjentów ze wstępną fazą choroby ze względu na niski poziom antygenów. Jeżeli podejrzewa się u pacjenta infekcję, należy wykonać również hodowlę z pobranego wymazu.

Test nie umożliwia rozróżnienia bezobjawowego nosicielstwa od aktualnej infekcji. Jeżeli obraz kliniczny i objawy nie są zgodne z wynikiem badania, należy wykonać hodowlę.

Infekcje układu oddechowego, łącznie z zapaleniem gardła, mogą być wywołane przez paciorkowce z innych serogrup niż grupa A, jak również przez inne patogeny.

Jak w przypadku innych procedur diagnostycznych, wynik testu powinien być rozpatrywany w powiązaniu z innymi danymi uzyskanymi od lekarza.

Test Streptococcus Group A Card służy do jakościowej oceny obecności antygenów paciorkowców z grupy A.

12. Literatura

1. Facklam RR and Carey RB "Streptococci and Aerococci, Manual of Clinical Microbiology" 4th ed, Lenette EH, Balows A, Hausler WJ and Shadomy H, American Society for Microbiology, 1985.
2. Levinson ML and Frank PK "Differentiation of Group A from other Beta Hemolytic Streptococci with Bacitracin" J. Bacteriol 69,284-287 (1995).
3. Edwards EA, Phillips IA and Suiter WC "Diagnosis of Group A Streptococcal Infections Directly from Throat Secretions" J. Clin. Micro., 15,481-483 (1982). v
4. Gupta R, Talwar GP and Gupta SK "Rapid Antibody Capture Assay for Detection of Group A Streptococci Using Monoclonal Antibody and Colloidal Gold-Monospecific Polyvalent Antibody Conjugate" J. Immunoassay, 1992, 13, 441-445.
5. Rose PW "Throat Swabs and Swabbing Technique" The Practitioner, 207,791-796
6. Lauer BA, Rellar LB and Mirrett S "Effect of Atmosphere and Duration of Incubation Group A Streptococci from Throat Cultures" J.Clin. Micro 17,338-340 (1983).

(1971).
on Primary Isolation of
NR KAT. VQ81210

