

Rychlý imunochromatografický kvantitativní test ke stanovení antigenu *Streptococcus pyogenes* skupiny A.

**Provedení:** proužková kazeta, 3 druhy extrakčních reagensů, konjugát, pozitivní kontrola  
Kat. číslo: (REF) 114120

**Balení:** testovací kazety  
reagencie a spotřební materiál na 20 testů

**Vyrábí:** Oy REAGENA Ltd  
Takojiangtie 18  
70900 Toivala, FINLAND  
IVD  
CE

**Distribuuje:** inlab medical s.r.o. **ČSN EN ISO 9001:2001**  
Kubelíkova 1779/23, 130 00, Praha 3-Žižkov  
Telefon/Fax: (+420) 222721023, 222721025,  
222721032  
e-mail: inlab@inlab.cz  
www.inlab.cz

Určeno pro diagnostické účely *in vitro*, pouze k profesionálnímu použití!

## ÚVOD

Rychlý kvantitativní imunochromatografický test na detekci *Streptococcus pyogenes* skupiny A, (GAS) ze vzorků získaných z výtěru krku nebo k identifikaci beta hemolytických kolonií bakteriálních kultur. Test detekuje streptokokový antigen skupiny A dle Lancefieldové. Výsledek je odečten na readeru REASCAN™ pomocí, kterého lze získat číselný výsledek množství antigenu A ve vzorku. Před začátkem použití jak soupravy REASCAN™ Strep A, tak REASCAN readeru, je třeba si pečlivě přečíst návod. Test je určen pouze pro profesionální použití. GAS (Streptokoky skupiny A) jsou nejvýznamnější příčinou tonsilitidy a faryngitidy. Mohou být také příčinou erysipelu (růže), sepse, středoušní infekce, infekce dolních cest dýchacích nebo myositidy. REASCAN™ Strep A test pomáhá při včasné diagnostice a bezprostřední intervenci při GAS infekcích.

## PRINCIP

REASCAN™ Strep A používá modifikovanou imunochromatografickou techniku, ve které je streptokokový antigen A extrahován ze vzorku extrakčními činidly obsaženými v soupravě. Extrahovaný GAS antigen pak umožní reagovat s částicemi zlata navázanými na sekundární protilátka a výsledkem vazby je vytvoření červené linie.



## BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

- REASCAN™ Strep A Extrakční reagentie 1
- **Nebezpečná látka:** dusitan sodný
- **EY-číslo:** 231-555-9
- **Koncentrace:** 13,8% m/V
- T Toxický
- R25 Jedovatý při požití
- S45 v případě úrazu nebo necítíte-li se dobře, vyhledejte okamžitě lékařskou pomoc

## SLOŽENÍ SOUPRAVY

- Extrakční reagentie 1
- Extrakční reagentie 2
- Extrakční reagentie 3
- 20 testovacích kazet
- 20 lahvíček s konjugátem
- 20 prázdných extrakčních zkumavek
- 20 sterilních výtěrových tampónů z nylonových vláken
- 20 výsledkových karet
- Pozitivní kontrolní vzorek
- Příbalový leták

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Soupravu skladujte při 5 - 25 °C a při relativní vlhkosti 5 - 50%. Datum expirace je vyznačeno na štítku soupravy.

## DALŠÍ POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- ReaScan® reader.
- Pipety na objemy 100 µl a 80 µl
- Hodinky

## ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

Nepoužívejte zmrazené vzorky plné krve. Zajistěte, aby rozmražené vzorky séra nebo plasmy byly před analýzou zbavené precipitátů. Doporučuje se, aby rozmražené vzorky séra nebo vzorky z lednice byly centrifugovány při 3000 x g po dobu 5 minut k odstranění jakýchkoliv precipitátů. Revmatoidní faktor, chylózní nebo ikterické zabarvení neinterferují při stanovení.

Pro odběr vzorku na Streptococcus A dodržujte následující pravidla. Používejte pouze výtěrové štětičky z nylonového vlákna, které jsou součástí soupravy a tvoří kompatibilní systém pro REASCAN™. Vyvarujte se kontaminace odběrové štětičky dotykem zubů, jazyka a kůže krku. Nepoužívejte k testování vzorky odebrané z jiných zdrojů, jako je např.: moč, sliny, potraviny nebo okolní prostředí. Doporučuje se vzorek zpracovat bezprostředně po odběru. Ve výjimečných případech může být vzorek skladován v lednici, chráněný před kontaminací a poškozením jeden den (24 hodin). Test je možné použít k identifikaci beta-hemolytických kolonií z bakteriálních kultur. V tom případě setřete povrch kolonie (cca 1x1mm) sterilní bakteriální kličkou a vložte asi do 1 ml sterilní vody. Dobře promíchejte, pak odeberte 50 µl vzorku a extrahujte stejně jako vzorek z výtěrových štětiček.

#### POZNÁMKY

1. Nepoužívejte kazety nebo štětičky, u kterých byl porušený obal.
2. Nepoužívejte prošlé komponenty soupravy.
3. Nemíchejte dohromady komponenty různých šarží.
4. Uzávěry extrakčních reagensů jsou odlišeny barvou víčka. Nepomíchejte je mezi sebou.
5. Abyste se vyhnuli kontaminacím, dodržujte zásady správné laboratorní praxe.
6. Při práci s Reagensí 1 obsahující dusitan sodný, dodržujte zásady bezpečnosti práce.
7. S pozitivním kontrolním vzorkem zacházejte jako s potenciálně infekčním materiálem.

#### PROVEDENÍ TESTU

Pokud test nebyl skladován při pokojové teplotě, přeneste test do místnosti s pokojovou teplotou a ponechte ho 30 minut před testováním temperovat.

#### POSTUP EXTRAKCE

1. Označte extrakční zkumavku pacienta značkovačem nesismatelným vodou.
  2. Přidejte tři kapky extrakčního činidla 1 do extrakční zkumavky.  
**Poznámka: Barva roztoku je lehce narůžovělá.**
  3. Přidejte tři kapky extrakčního činidla 2 do extrakční zkumavky.  
**Poznámka: Barva roztoku se změní na nažloutlou.** Dobře promíchejte.
  4. Ponořte výtěrovou štětičku do extrakční zkumavky označené jménem pacienta, ponechte ji ponořenou v tekutině za stálého otáčení ve zkumavce asi 1 minutu. Vysuňte štětičku z tekutiny a stiskněte ji o stěnu lahvičky tak, aby se uvolnila tekutina absorbovaná v tampónu.
  5. Přidejte tři kapky extrakčního činidla 3 do extrakční zkumavky.  
**Poznámka: Barva roztoku se změní na slabě narůžovělou.** Pečlivě promíchejte na vortexové míchačce nebo pipetou.
1. Vyjmete testovací kazetu z obalu a označte ji jménem pacienta.
  2. Přeneste **100 µl** promíchané extrakční směsi z extrakční zkumavky do lahvičky s konjugátem. Pečlivě promíchejte pomocí vortexové míchačky nebo důkladným obracením tak, aby se konjugát úplně rozpustil.
  3. Přeneste **80 µl** směsi konjugátu do testovací jamky kazety. Začněte měřit čas.
  4. Zpozorujete, že světle růžová kontrolní linie začne tmavnout, jakmile čelo kapaliny dosáhne blíž k linii.
  5. Odečtěte po 15 minutách hodnotu na REASCAN™.
  6. Interpretujte výsledek jako pozitivní, slabě pozitivní nebo negativní porovnáním s pozitivní kontrolou.

#### ODSTRANĚNÍ ZÁVAD

1. Špatná kvalita vzorku; Pokud je vzorek sbírán nevhodným postupem nebo pokud je kontaminován bakteriemi (např. bakteriemi z úst) výsledek nebude odpovídající.
2. Nedostatečné promíchání extrakčních reagensů se vzorkem; Pokud není promíchání důkladné, extrakční směs nemůže být homogenní a může být příčinou falešných výsledků.
3. Nevhodný objem tekutiny přidáný do testovací kazety: objem směsi vzorek-konjugát by měl být 70-90 µl. Příliš malý nebo příliš velký objem vzorku se projeví neodpovídajícím průtokem vzorku a nastává tudíž chybný výsledek.
4. Do testovací kazety nebyl přidán konjugát. Bílá barva testovací okénka se změní na slabě růžovou záhy po napipetování směsi vzorek-konjugát do testovací kazety. Pokud pozadí zůstane bílé, je pravděpodobné, že konjugát nebyl přidán do kazety.
5. Konjugát nebyl dostatečně rozpuštěn: Pokud zůstalo jakékoliv množství nerozpuštěného konjugátu v lahvičce po té, co byl přenesen do směsi v testovací kazetě, je výsledek nespolehlivý.
6. Nedodrželi jste reakční čas: Pokud není dodržen předepsaný čas odečítání (14 - 16 min.), je výsledek testu nehodnotitelný. Je to většinou příčinou nárůstu falešně pozitivních výsledků.
7. Okolní osvětlení: Okolní osvětlení má vliv na měření. Provádějte, prosím, měření při denním osvětlení, bez ohledu na jiné okolní přímé světelné zdroje.
8. Prach: ujistěte se, že na okénku kazety není přilepený prach nebo jiný cizí materiál. Mohlo by to způsobit falešné výsledky.
9. Porucha funkce readeru REASCAN™: doporučuje se provést kontrolu readeru kontrolní kazetou před měřením každé série vzorků. Odečtěte readerem hodnotu kontrolní kazety na displeji a porovnejte ji s hodnotou, kterou ukazuje displej REASCAN™ pro referenční hodnotu, která je uvedena na zadní straně kontrolní kazety. Kontrolní kazeta je uložena v pouzdře na reader. Pokud je výsledek odečtení v referenčních mezích, je kontrolní měření přijato. Pokud je referenční měření mimo referenční rozmezí, výsledek kontroly je zamítnutý a je třeba provést servis přístroje. Vyměňte baterie a proveďte kontrolu znovu. Pokud je výsledek opět neakceptovatelný, kontaktujte svého distributora REASCAN™.

Pokud si nejste jisti, že výsledek je správný nebo, že test byl proveden správně, proveďte test s novou kazetou. V případě dalších pochybností, kontaktujte výrobce.

#### KONTROLA KVALITY (JAKOSTI)

Ke kontrole kvality slouží pozitivní kontrola se Streptokokem A, která je součástí každé soupravy. Pozitivní kontrola by měla být provedena vždy při výměně soupravy za novou. Pozitivní kontrola může být použita ke kontrole výkonnosti testu. Kontrolu použijte následujícím postupem:

1. Přidejte 3 kapky extrakčního činidla 1, a 3 kapky extrakčního činidla 2 do lahvičky s pozitivní kontrolou.
2. Pečlivě promíchejte a pipetujte.
3. Čekejte 1 minutu.
4. Přidejte 3 kapky extrakčního činidla 3. Další postup je jako u patientského vzorku.

Hodnota na REASCAN™ by měla být vyšší než 150. Pokud REASCAN™ hodnota není vyšší než 150 a Vaše souprava není prošlá, kontaktujte výrobce o poskytnutí dalších informací. NEPOUŽÍVEJTE dál takovou soupravu.

## ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Zkřížené reakce byly testovány s kulturami Streptokoků skupin B, C, F a G, Streptokokus Milleri (arginosus, constellatus, intermedius), Str. Salivarius, Enterococcus faecalis, Ent. casseiflavus, Stafylokokus aureus a Arc. Hemolyticum. Hodnoty < 5 (= negativní) byly systémem REASCAN™ získány u všech těchto organismů (viz studie v mikrobiologické laboratoři univerzitní nemocnice v Oulu v období: 11/2006 - 02/2009 a 03/2008).

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Výsledek je **negativní**, jestliže hodnota získaná REASCAN™ soupravou, je nižší než negativní cut off hodnota na výsledkové škále. Tím se míní, že pacient nemá GAS (infekci Streptokokem skupiny A) nebo, že počet bakterií je tak malý, že ho nelze touto metodou zjistit. (viz charakteristiky výkonnosti testu). Negativní výsledek by měl být potvrzen standardní kultivační metodou na GAS.

Výsledek je **slabě pozitivní**, jestliže hodnota získaná REASCAN™ je u LOW POS cut off (lehce nad hraniční hodnotou) výsledkové škály. Toto ukazuje, že pacient má přítomnou infekci GAS. Slabě pozitivní výsledky jsou dány velmi nízkým počtem analyzovaných bakterií (viz charakteristiky výkonnosti testu). Tyto výsledky by měly být potvrzeny opakováním analýzy s novým lépe odebraným vzorkem nebo metodou standardní kultivace na GAS.

Výsledek je **pozitivní**, jestliže hodnota získaná REASCAN™ je vyšší, než cut off hodnota na výsledkové škále.

Výsledek je **nehodnotitelný**, obzvláště tehdy, jestliže hodnota 0 získaná REASCAN™ je u testovací linie zřetelná a kontrolní linie není viditelná nikde. V případě nehodnotitelného výsledku, opakujte test.

## CHARAKTERISTIKY VÝKONNOSTI TESTU

Teoretická citlivost (senzitivita):  $1 \times 10^4$  CFU / vzorku.

Specifická: v testu byly nalezeny pouze reaktivní Streptokoky skupiny A (GAS).

Vzorek	N	CFU/tampón	REASCAN™ rozmezí	Průměr
GAS kontrolní výtěrový tampón (Bioclin, Finsko)	20	$1,2 \times 10^5$	100 -112	109
GAS kontrolní výtěrový tampón (Bioclin, Finsko)	20	$1,2 \times 10^4$	40 -52	46
GAS kontrolní výtěrový tampón (Bioclin, Finsko)	20	$1,2 \times 10^3$	10 - 19	13
GAS pozitivní kontrola obsažená v soupravě	30	NA	276-347	239
Kolonie GAS na 1mm x1 mm krevního agaru připraveného v 1 ml PBS	10	NA	220 -260	239
Extrakční činidlo (blank)	10	0	0,0 - 3,0	1,0
Kolonie Streptokoku skupiny B na krevním agaru velikosti 1mm x 1 mm připraveného v 1ml PBS	10	NA	0,0 - 5,0	3,0
Sebrané vzorky od zdravých dárců **	50	NA	0,0 -19	3,0
Negativní vzorky pacientů ***	10	0	0,0 - 9,0	3,0