



STREPTOKOKO A antigeno nustatymas ryklės tepinėliuose



Platintojas : UAB "Diagnosticinės Sistemos"
Kalvarijų sodų 1-oji g 2, LT-08315 Vilnius
Tel. 8 5 2740494, Fak. 8 5 2777620

PASKIRTIS

Greitas kokybinis Streptokoko A antigeno nustatymas ryklės tepinėliuose. Skirtas profesionaliam naudojimui *in vitro* diagnostikai.

BENDRA INFORMACIJA

Streptococcus pyogenes – nejudrūs gram-teigiami kokai, kurie sudėtyje yra Lancefield A grupės antigenai galintys sukelti sunkias infekcijas, pvz. faringitą, kvėpavimo takų, pūlinėlinę, endo karditą, meningitą, pogimdyminį sepsį ar artritą [1]. Negydomos infekcijos gali komplikuotis ir sukelti reumatinį karščiavimą, peritonsiliaus abscesą [2]. Tradiciškai nustatant A grupės streptokoką atliekamas mikrobiologinis auginimo ant terpės metodas 24-48 val. [3,4].

Strep A ant juostelės – greitas kokybinis A grupės streptokoko Ag nustatymas tiriant ryklės išiminius, reakcijos laikas 5 minutės. Reakcijos pasekoje sureaguoja Lancefield A grupės streptokokams specifiniai antikūnai ir nustatomas A grupės streptokoko antigenas ryklės tepinėliuose.

REAKCIJOS PRINCIPAS

Tai kokybinis tyrimas skirtas A grupės streptokoko nustatymui. Plokštelės membranos tyrimo juostelė yra dengta antikūnais specifiniais Strep A karbohidratiniam antigenui. Reakcijos pasekoje paruoštas skystas ryklės mėginys reaguoja su Strep A dengtais antikūnais. Susidaręs junginys juda membrana ir reaguoja su Strep A antikūnais ant membranos, jei reakcija teigiama tyrimo zonoje pasikeičia spalva. Jei reakcija neigiama – spalvos pasikeitimo tyrimo zonoje nėra. Kontrolės zonoje juostelės spalva visada turi pasikeisti, tai parodo, kad tyrimo eiga yra teisinga, naudotos priemonės yra tinkamos.

REAGENTAI

Plokštelė dengta monokloniniais antikūnų prieš-Strep A antikūnais dalelėmis ir membrana dengta antikūnais prieš Strep A.

ĮSPĖJIMAI

1. Skirta tik profesionaliam naudojimui *in vitro* diagnostikai. Nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
2. Darbo aplinkoje negalima valgyti, gerti, rūkyti.
3. Atliekant tyrimus būtina laikytis darbo su pavojingomis infekcijomis reikalavimų.
4. Tyrimo metu dėvėkite darbinius rūbus, pirštines, apsauginius akinius.
5. Utilizuojant laikykite bendros darbo laboratorijoje tvarkos.
6. Aplinkos drėgmė ir temperatūra gali įtakoti tyrimų rezultatus.
7. Nenaudoti jei pažeista originali pakuotė.
8. Reagento B sudėtyje yra rūgštinis tirpalas, jei jis patenka ant odos ar į akis prašom gausiai nuplauti vandeniu.
9. Teigiamos ir neigiamos kontrolių sudėtyse yra natrio azido junginių (stabilizatorius Proclin300).
10. Nesumaišykite reagentų dangtelių.
11. Nesumaišykite išorinių kontrolių dangtelių.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Rinkinys gali būti laikomas kambario temperatūroje 2-30°C temperatūroje. Tyrimo plokštelės stabilumas yra iki datos nurodytos ant pakuotės. Plokštelės išpakuokite tik prieš tyrimą. Negalima užšaldyti. Nenaudoti pasibaigusio galiojimo laiko reagentų.

ĖMINIŲ SURINKIMAS IR PARUOŠIMAS

- Ryklės ėminiai surenkami naudojant sterilius tamponus esančius rinkinio sudėtyje. Taip pat ėminių surinkimui galima naudoti Stuart ar Amies transportines terpes. Tamponu paimkite tolesnius faringito, tonzilito ar kitų uždegiminių zonų ėminius. Stenkitės tamponu nepaliesiti liežuvio, skruostų ar dantų [5].
- Tyrimą atlikite kuo greičiau paėmus ėminį. Ėminiai surinkti tamponu gali būti laikomi švariose, sausuose mėgintuvėliuose iki 8 valandų kambario temperatūroje arba iki 72 valandų laikant 2-8°C temperatūroje.
- Esant poreikiui prieš atliekant greitą tyrimą paimtą ėminį galima užsėti ant kraujo agarų lėkštelės (GAS).

RINKINIO SUDĖTIS

- Tyrimo plokštelės/ar juostelės
- Ekstracinis reagentas 1 (2M natrio nitritas)
- Ekstracinis reagentas 2 (0,027M citrinos rūgštis)
- Sterilūs tamponai
- Mėgintuvėliai ekstrakcijai
- Teigiamą kontrolę (neaktyvus Strep A; sudėtyje yra 0,01% Proclin300 stabilizatoriaus)
- Neigiamą kontrolę (neaktyvus Strep C; sudėtyje yra 0,01% Proclin300 stabilizatoriaus)
- Naudojimo instrukcija

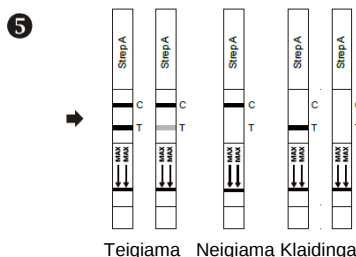
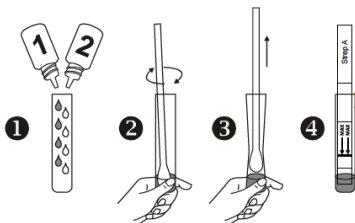
TYRIMAMS PAPILDOMAI REIKALINGOS PRIEMONĖS

Atliekų chronometras.

TYRIMO EIGA

Prieš tyrimą visi reagentai turi būti kambario temperatūros 15-30°C.

1. Iš hermetinės pakuotės išimkite tik prieš pat tyrimą, nuo to priklausys ir tyrimo kokybė.
2. Į ekstracinį mėgintuvėlį įlašinkite 4 lašus (240µl) ekstrakcinio reagento 1, jis yra raudonos spalvos, po to į tą patį mėgintuvėlį įlašinkite 4 lašus (160µl) ekstrakcinio reagento 2, jis yra bespalvis. Gautą mišinį gerai išmaišykite, tirpalo spalva pasikeis į geltoną, žr. iliustraciją 1.
3. Į ekstracinį mėgintuvėlį kuo greičiau įdėkite tamponą su paimtu ėminiu, 15 minučių lengvai pamaišykite, palikite dar 1 minutei pastovėti, žr. iliustraciją 2.
4. Prieš išimdami tamponą iš ekstrakcinio mėgintuvėlio lengvai nubraukite paspaudžiant į vidines mėgintuvėlio sienelės, kad kuo daugiau ėminio liktų tirpale. Po to tamponą išimkite iš mėgintuvėlio, žr. iliustraciją 3.
5. Tyrimo juostelę įmerkite į paruoštą mėgintuvėlį su mėginiu iki ribos (MAX) pažymėtos juostelėje, po to ištraukite, chronometru fiksuokite reakcijos pradžią, žr. iliustraciją 4.
6. Stebėkite spalvos pasikeitimus juostelėje, rezultatą fiksuokite po 5 min. nuo reakcijos pradžios. Praėjus 10 minučių rezultatas nebepali būti vertinamas, žr. iliustraciją 5.



REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Teigiamas : jei po 5 minučių vertinimo zonoje (T) atsiranda aiškio spalvotos 2 juostelės, rezultatas teigiamas ir tinkamas vertinti (t.y. kontrolė, C). Pastaba: spalvos intensyvumas rezultato vertinimo zonoje parodo Strep A koncentraciją mėginyje. Bet koks spalvos pasikeitimas tyrimo zonoje vertinamas kaip teigiamas rezultatas.

Neigiamas : jei tyrimo zonoje spalvinio pasikeitimo nėra, o kontrolės zonoje atsiranda 1 spalvota juostelė, rezultatas neigiamas ir tinkamas vertinti. Toks rezultatas gali būti gautas kai sukėlėjo nėra mėginys arba jo koncentracija per maža. Todėl rekomenduojama paciento ėminį ištirti naudojant mikrobiologinį mikroorganizmų išskyrimo ant terpių metodą. Jei tyrimų rezultatai nesutampa su klinikiškai simptomatika, tai ėminio paėmimą ir ištyrimą rekomenduojama pakartoti iš naujo.

Klaidingas : jei kontrolės zonoje spalvinio pasikeitimo nėra, tada nėra spalvos pasikeitimo tyrimo zonoje, rezultatas klaidingas ir netinkamas vertinti. Tyrimą būtina pakartoti iš naujo.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Vidinė kokybės kontrolė

Ši kontrolė yra integruota tyrimo juostelėje, kontrolės zona (C) , pasibaigus reakcijai ji turi būti teigiama ir parodo, kad teisinga tyrimo eiga, naudoti tinkami reagentai ir jų kiekiai.

Išorinė kokybės kontrolė

Kiekvieno 25 tyrimo rinkinio sudėtyje yra teigiamos ir neigiamos kontrolių buteliukai, šios kontrolės gali būti atliekamos kiekvienai serijai tyrimų, kiekvienai naujai rinkinio serijai. Išorinėje kokybės kontrolėje gali būti panaudoti iki ne A grupės streptokokų referentiniai štamai. Nerekomenduojama naudoti kitų (pašalinių, ne iš to rinkinio) kontrolių.

Išorinės kokybės kontrolės procedūra

1. Į ekstracinį mėgintuvėlį sulašinkite 4 lašus ekstrakcinio reagento 1 ir 4 lašus ekstrakcinio reagento 2, gerai išmaišykite.
2. Į ekstracinį mėgintuvėlį įlašinkite 1 lašą teigiamos ar neigiamos kontrolės.
3. Į ekstracinį mėgintuvėlį įdėkite tamponą ir 15 minučių lengvai pamaišykite, palikite dar 1 minutei pastovėti. Po to lengvai tamponą nubraukite į mėgintuvėlio vidines sienelės ir ištraukite iš mėgintuvėlio, utilizuokite.
4. Po to tyrimą tęskite kaip aprašyta pradedant 5 tyrimo eigos pakopa.
5. Jei kontrolės nėra tinkamos naudoti būtina pranešti rinkinių platintojui.

TYRIMO APRIBOJIMAI

1. Skirta *in vitro* diagnostikai. Tyrimas skirtas Strep A antigeno kokybiniam nustatymui ryklės tepinėliuose.
2. Vertinant galutinį rezultatą būtina įvertinti kitus tyrimus ir klinikinius duomenis.
3. Gavus teigiamą rezultatą būtina atlikti papildomus testinius tyrimus.
4. Gleivės ar kraujas ėminiuose gali įtakoti klaidingus teigiamus tyrimų rezultatus. Paimant ėminį stenkitės tamponu nepaliesiti liežuviu, skruostų ar dantų.
5. Vertinant galutinius tyrimų rezultatus būtina įvertinti ir gydytojų gautus klinikinius duomenis.

LAUKIAMIEJI REZULTATAI

Apie 15% faringitų serga vaikai nuo 3 mėnesių iki 5 metų amžiaus ir šias infekcijas sukelia A grupės beta hemoliziniai streptokokai. Apie 40% ryklės uždegimų mokyklinio amžiaus vaikams ir suaugusiems irgi sukelia šis sukėlėjas. Šios infekcijos sezonai yra žiema ir ankstyvas pavasaris [3].

PAGRINDINĖS CHARAKTERISTIKOS

JAUTRUMAS IR SPECIFIŠKUMAS

Tyrimuose dalyvavo 3 medicinos centrai, buvo ištirti 526 ryklės tepinėliai paimti faringitu sergantiems pacientams. Kiekvienas ėminys buvo ištirtas naudojant klasikinį sukėlėjo auginimo ant terpės metodą ir naudojant greitą imunologinį tyrimą ant juostelės (plokštelės). Lėkštelės su terpe buvo inkubuotos 37°C temperatūroje 18-24 Valandas 5-10%CO₂ aplinkoje ir papildomai atliktas Bacitracino diskų tyrimas. Neigiamos lėkštelės papildomai buvo paliktos inkubuotis dar 18-24 valandoms. Teigiamo išaugusios GAS kolonijos buvo patvirtintos atlikus latekso agliutinacijos reakcijas. Iš viso tirtų 526 ėminių mikrobiologiškai buvo patvirtinti kaip 404 neigiami ir 122 kaip teigiami. Vienas mėginys teigiamas Streptokokui F buvo nustatytas teigiamas. Vienas iš šių mėginių buvo ištirtas pakartotinai. Papildomai dar buvo ištirti trys mėginiai teigiami streptokokui F vertinant kryžmines reakcijas, visi gauti neigiami.

Metodas	Endoskopiniai tyrimai			Bendri rezultatai
	rezultatas	teigiamas	neigiamas	
Strep A tyrimas	teigiamas	116	9	125
	neigiamas	6	395	401
	Bendras rezultatas	122	404	526
Santykinis jautrumas: 95,1% (95%CI: 89,6%~98,2%); Santykinis specifiškumas: 97,8% (95%CI: 95,8%~99%); Tikslumas: 97,1% (95%CI: 95,3%~98,4%)				

Teigiama pasėlis	Strep A greitas tyrimas/pasėlis	Atitikimas %
Retos	8/12	80,0%
1+	18/22	90,0%
2+	19/20	95,0%
3+	33/34	97,1%
4+	38/38	100,0%

Kryžminės reakcijos

Buvo tirti šios koncentracijos mikroorganizmai 1.0⁷ , gauti Strep A juostelės tyrimų rezultatai neigiami, gleivėti mėginiai nebuvo tirti.

Group B Streptococcus	Neisseria meningitidis	Serratia marcescens	Staphylococcus aureus	Streptococcus sanguis
Group F Streptococcus	Neisseria sicca	Klebsiella pneumoniae	Corynebacterium diphtheria	Staphylococcus epidermidis
Streptococcus pneumoniae	Branhamella catarrhalis	Bordetella pertussis	Candida albicans	Neisseria subflava
Streptococcus mutans	Group C Streptococcus	Neisseria gonorrhea	Group G Streptococcus	Hemophilus influenza
				Pseudomonas aeruginosa

LITERATŪRA

1. Murray, P.R., et al. Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition, ASM Press, Washington D.C., 1995, p. 299-307.
2. Webb, KH. Does Culture Confirmation of High-sensitivity Rapid Streptococcal Tests Make Sense? A Medical Decision Analysis. Pediatrics (Feb 1998), 101:2, 2.
3. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, Kaplan EL, Schwartz RH. Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis. Clinical Infectious Diseases (1997), 25: 574-83.
4. Needham CA, McPherson KA, Webb KH. Streptococcal Pharyngitis: Impact of a High-sensitivity Antigen Test on Physician Outcome. Journal of Clinical Microbiology (Dec 1998), 36: 3468-3473.
5. Shea, Y.R., Specimen Collection and Transport, 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. Group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis in preschool children aged 3 months to 5 years. Clinical Pediatrics (June 1999), 38: 357-360.
7. Woods WA, Carter CT, Stack M, Connors Jr AF, Schlager TA. Group A Streptococcal Pharyngitis in Adults 30 to 65 years of age. Southern Medical Journal (May 1999), 491-492.

Simboliai

	Dėmesio		Produkto kodas
	Tik <i>in vitro</i> tikslais		Naudoti iki
	Saugoti tarp		Gamintojas
	Testų sk.		Vienkartiniam naudojimui