**Strep A Greitos diagnostikos testas kasetė**

**(iš gerklės tepinėlio mėginio)**

**Pakuotės lapelis**

Strep A greitos diagnostikos testas kasetė, skirtas kokybiniam Streptokoko antigeno aptikimui nosiaryklės mėginiuose.

Skirta tik profesionaliai in vitro diagnostikai.

**PASKIRTIS**

Strep A greitos diagnostikos testo kasetė yra greitos diagnostikos chromatografinis imuninis tyrimas kokybiniam Streptokoko antigeno aptikimui nosiaryklės mėginiuose, naudojamas Streptokoko A grupės infekcijų nustatymui.

**SANTRAUKA**

Streptococcus pyogenes yra neaktyvus gramteigiamas kokas, iš Lancefield Grupės A antigenų, galintis sukelti sunkia infekcijas, tokias kaip faringitas, kvėpavimo takų infekcija, impetiga, endokarditas, meningitas, pogimdyminis sepsis ir artritas. Negydomos šios infekcijos gali sukelti sunkias komplikacijas, įskaitant reumatą ir PTA. Tradiciniai identifikavimo būdai A grupės streptokokų infekcijos nustatymui apima gyvybingų organizmų išskyrimą ir identifikavimą naudojant metodus, kurie atliekami laikotarpyje nuo 24 iki 48 valandų ir ilgiau.

Greitasis Strep A Testas (iš gerklės tepinėlio) yra greitas kokybinis testas Strep A antigenų nustatymui, tiriant tepinėlį iš gerklės, ir pateikiantis rezultatus per 5 minutes. Teste yra naudojami antikūnai specifiniai visoms Lancefield Streptokoko A grupės ląstelėms.

**PRINCIPAS**

Greitasis Strep A Testas (iš gerklės tepinėlio) kokybinis, lateralinės tėkmės imunotyrimas Strep A karbohydrato antigenų nustatymui iš gerklės tepinėlio. Šiame teste, specifinis Strep A antikūno antigenas yra įterptas testo linijos srityje. Tyrimo procese, paimtas tepinėlis reaguoja su Strep A antikūnu. Mišinys juda išilgai membranos ir reaguoja su Strep A antikūnu ir generuoja spalvinės juostelės atsiradimą testo srityje. Tokios spalvotos juostelės atsiradimas reiškia teigiamą rezultatą, o jos nebuvimas parodo neigiamą rezultatą. Mėlyna juostelė turi išryškėti visais atvejais kontrolės zonoje ir parodo, kad yra panaudotas tinkamas mėginio kiekis.

**REAGENTAI**

Greitasis Strep A Testas (iš gerklės tepinėlio) pagamintas su Strep A antikūnų dalelėm ir Strep A antikūnais padengta membrana.

**ATSARGUMO PRIEMONĖS**

1. Šis testas yra skirtas in vitro diagnostikai ir gali būti naudojamas tik specialistų.

2. Nevalgykit, negerkit ir nerūkykit patalpoje, kurioje laikomi mėginiai ir testų rinkiniai.

3. Rekomenduojama, kad su šiais produktais būtų elgiamasi kaip su potencialiais infekcijų šaltiniais, kurie būtų laikomi pagal įprastus saugumo reikalavimus. Atlikdami tyrimą, imkitės mikrobiologinio saugumo priemonių ir vadovaukitės standartinėmis procedūromis teisingai sunaikinant mėginius.

4. Atlikdami tyrimą vilkėkite apsauginę aprangą: laboratorinę aprangą, vienkartines pirštines ir apsaugą akims.

5. Panaudotos tyrimui medžiagos turi būti sunaikintos pagal vietines taisykles.

6. Drėgmė ir temperatūra gali neigiamai įtakoti tyrimo rezultatus.

7. Nenaudokite testo, jei jo apsauginė pakuotė yra pažeista.

8. Reagente B yra rūgšties tirpalo. Jei su tirpalu kontaktavo oda, akys, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.

9. Teigiamoje ir neigiamoje kontrolėse yra Proclin300 konservanto.

10.Neapkeiskite reagentų buteliukų dangtelių.

11.Neapkeiskite išorinių kontrolių tirpalų buteliukų dangtelių.

**LAIKYMO SĄLYGOS IR STABILUMAS**

Testų rinkiniai turi būti laikomi 2-30°C temperatūroje visą jų galiojimo laiką, kuris nurodytas ant pakuotės. Testai turi būti laikomi pakuotėje iki jų panaudojimo. Testų nešaldyti.

**MĖGINIŲ PAĖMIMAS IR LAIKYMO SĄLYGOS**

1. Paimkite gerklės tepinėlio mėginį naudodami sterilę mentelę, kurią rasite testo rinkinyje. Mėginiui paimti taip pat gali būti naudojamos transportinės mentelės su modifikuota Stiuarto ar Amies terpėmis. Tepinėlį imkite nuo ryklės, tonzilių ir kitų uždegimo vietų. Venkite su mentele liestis prie liežuvio, žandų ir dantų.

2. Tyrimas turėtų būti atliktas iš karto po mėginio paėmimo. Mėginiai gali būti laikomi sausame, švariame plastiko mėgintuvėlyje iki 8 valandų kambario temperatūroje arba 72 valandas 2-8°C temperatūroje.

3. Jei norima auginti kultūrą, prieš panaudojant mentelę Strep A greitos diagnostikos testui, švelniai pamaišykite jos galiuką ant Grupės A selektyvaus (GAS) kraujo agaro lėkštelės.

**MEDŽIAGOS**

**Esančios rinkinyje**

•Testo kasetė •Mėgintuvėlis mėginiui •Sterili mentelė • Lašintuvas • Instrukcija

• Ekstrakcijos regentas 1(2M NaNO2) • Ekstrakcijos regentas 2(0.027M Acide Citrique)

•Teigiama kontrolė (Neaktyviam Strep A; 0.01% Proclin300)

•Neigiama kontrolė (Neaktyviam C; 0.01% Proclin300)

**Reikalingos papildomos medžiagos**

•Laikmatis

**NAUDOJIMAS**

**Prieš tyrimą leiskite testams, reagentams, gerklės tepinėlio mėginiui ir / arba kontrolei sušilti iki kambario temperatūros (15-30 C).**

1. Išimkite testą iš sandaraus folijos maišelio ir panaudokite jį per vieną valandą. Geriausi rezultatai bus gauti, jei testas bus atliekamas iš karto po atidarymo.

2. Ekstrakcijos reagento 1 buteliuką laikykite vertikaliai ir įpilkite 4 lašus (maždaug 240 ul) į mėgintuvėlį. Ekstrakcijos reagentas 1 yra raudonos spalvos. Ekstrakcijos reagento 2 buteliuką laikykite vertikaliai ir įpilkite 4 lašus (maždaug 160 ul) į mėgintuvėlį. Ekstrakcijos reagentas 2 yra bespalvis. Tirpalą maišykite švelniai sukant ekstrahavimo mėgintuvėlį. Ekstrakcijos reagento 2 papildymas Ekstrakcijos Reagentu 1 keičia tirpalo spalvą nuo raudonos iki geltonos. Žr. iliustraciją 1

3. Iškart įdėkite mentelę į ekstrahavimo mėgintuvėlį, pamaišykite mentelę energingai 15 kartų, palikite ekstrahavimo mėgintuvėlį su mentele pastovėti 1 minutę. Žr. iliustraciją 2.

4. Paspauskite mentelę prie mėgintuvėlio vidinės sienelės ir ištraukite mentelę taip, kad skystis liktų mėgintuvėlyje. Išmeskite tamponą. Žr. iliustraciją 3

5. Uždėkite lašintuvo galiuką ant ekstrahavimo mėgintuvėlio. Padėkite testo kasetę ant švaraus ir lygaus paviršiaus. Įlašinkite tris lašus tirpalo (maždaug 100ul) ir paleiskite laikmatį. Vertinkite rezultatą per 5 minutes. Negalima interpretuoti rezultatų po 10 min. Žr. Iliustraciją 4 ir iliustraciją 5.



**REZULTATŲ INTERPRETACIJA**

**TEIGIAMAS:\*** Ant testo membranos pasirodo dvi spalvotos juostelės. Viena juostelė pasirodo kontrolės zonoje (C), o kita juostelė pasirodo testo zonoje (T). Teigiamas rezultatas parodo, kad mėginyje yra Strep A. **\*PASTABA:** Spalvos intensyvumas testo zonoje (T) gali kisti priklausomai nuo mėginio koncentracijos mėgintuvėlyje. Dėl to, bet kokie juostelės atspalviai testo zonoje parodo, kad testas teigiamas.

**NEIGIAMAS:** atsiranda tik viena juostelė kontrolės zonoje (C). Testo zonoje (T) juostelė neatsiranda. Neigiamas rezultatas parodo, kad Strep A antigenas mėginyje yra žemesnės koncentracijos nei nustato testas. Iš mėginio turi būti išauginta kultūra, kuri patvirtintų STREP A infekcijos nebuvimą.

**NETEISINGAS TESTAS**: Neatsiranda kontrolinė juostelė. Bet kuris testas, neatsiradus kontrolinei juostelei per nustytą laiką, turi būti panaikinamas. Tokiu atveju, tyrimo procedūra turi būti pakartojama su nauju testu. Jei situacija pasikartoja, nebenaudokite testų iš rinkinio ir nedelsiant susisiekite su tiekėju.

**KOKYBĖS KONTROLĖ**

**Vidinė kokybės kontrolė**

Vidinė testo kontrolė yra pačiame teste. Spalvota juostelė, atsirandanti testo kontrolės zonoje (C) patvirtina, kad paimtas tinkamas mėginio kiekis ir tyrimo procedūra atlikta teisingai.

**Išorinė kokybės kontrolė** Rekomenduojama, kad teigiama ir neigiama išorės kontrolės būtų atliekamos kas 25 tyrimus. Išorės teigiami ir neigiami kontroliniai tirpalai tiekiamas rinkinyje. Alternatyviai, kita grupė A ir ne Streptococcus padermės grupės gali būti naudojamas kaip išorės kontrolės. Kai kurios komercinės kontrolės gali sudėtyje turėti konservantų; todėl, kitos komercinės kontrolės nerekomenduojamos.

**Procedūra išorinės kokybės kontrolės atlikimui**

1. Įlašinkite 4 lašus Reagento 1 ir 4 lašus Reagento 2 į ekstrahavimo mėgintuvėlį. Švelniai pamaišykite mišinį.

2. Įpilkite 1 lašą teigiamo arba neigiamo kontrolinių tirpalų, į mėgintuvėlį, laikydami buteliuką vertikaliai.

3. Įmerkite švarią mentelę į šį mėgintuvėlį ir pakratyti tirpalą sukant jį bent 15 kartų. Palikite ekstrahavimo mėgintuvėlyje mentelę 1 minutę. Paspauskite mentelę į mėgintuvėlio vidinę sienelę ir ištraukite mentelę taip, kad skystis liktų mėgintuvėlyje. Išmeskite mentelę.

4. Tęskite procedūrą pagal naudojimo instrukcijos 5 punkto nurodymus. Jei kontrolė neduoda laukiamų rezultatų, pakartokite testą arba kreipkitės į platintoją.

**TYRIMŲ APRIBOJIMAI**

1. Greitasis Strep A Testas (iš gerklės tepinėlio) skirtas tik in vitro diagnostikai. Testas turėtų būti naudojamas Strep A antigeno nustatymui iš gerklės tepinėlio mėginio.

2. Šis testas parodys esant Strep A antigeną ir gyvybingų ir negyvybingų Streptococcus grupės bakterijų buvimą.

3. Neigiamas rezultatas turi būti patvirtintas auginant kultūras. Neigiamas rezultatas gali būti gaunamas, jei Strep A antigeno koncentracija, esanti gerklės tepinėlio mėginyje yra nepakankama, arba yra žemiau aptikimo lygio.

4. Kraujo ar gleivių perteklius ant mentelės po mėginio paėmimo, gali trukdyti tyrimo atlikimui ir gali sąlygoti klaidingą teigiamą rezultatą. Imant mėginį, stenkitės neliesti liežuvio, skruostų ir dantų ir vengti bet kokio kraujavimo burnos srityje.

5. Kaip ir su visais diagnostiniais tyrimais, visi rezultatai turi būti aiškinami kartu su kita turima klinikine informacija.

**TIKĖTINOS REIKŠMĖS**

Vaikams, kurių amžius nuo 3 mėnesių iki 5 metų, maždaug 15% atvejų faringito priežastimi tampa A grupės hemolitinis streptokokas. Mokyklinio amžiaus vaikams ir suaugusiems streptokokas sukelia gerklės infekcijas 40% atvejų. Šia liga dažniausiai yra susergama žiemos metu ir vidutinės klimatinės zonos šalyse.

**ATLIKIMO CHARAKTERISTIKOS**

**Jautrumas ir specifiškumas**

Vertinimui buvo naudojami trijų medicinos centrų 526 gerklės tepinėlių mėginiai iš pacientų, kuriems pasireiškė faringito simptomai. Kiekvienas mėginys buvo padengtas ant lėkštelės su avies kraujo agaru ir paskiau tiriamas su Greituoju Strep A testu. Lėkštelės buvo izoliuojamos ir inkubuojamos 37C temperatūroje su 5-10% CO2 ir Baritracino disku 18-24 valandas. Neigiamų kultūrų ląstelės papildomai buvo inkubuojamos 18-24 valandas. Galimos GAS kolonijos buvo subkultūrizuotos ir patvirtintos su lateks agliutinacijos testais. Iš visų 526 mėginių, 404 buvo neigiami, 122 - teigiami. Šios studijos metu, buvo gautas teigiamas vienas Strep F mėginys tyrimą atliekant su Testo kasete. Vienas iš šių testų buvo rekultūrizuotas, tada tyrimas atliktas pakartotinai ir buvo gautas neigiamas rezultatas. Trys papildomi skirtingos Strep F padermės buvo kultivuotos ir tirtos dėl kryžminio reaktyvumo nustatymo ir buvo taip pat gautos neigiamos.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  | | --- | | **Metodas** | | **Metodas** |   **Metodas** | | **Kultūra** | | **Viso** |
| **Greitasis Strep A Testas** | Rezultatai | Teigiamas | Neigiamas |
| Teigiamas | 116 | 9 | 125 |
| Neigiamas | 6 | 395 | 401 |
| **Visi rezultatai** | | 122 | 404 | 526 |

Santykinis jautrumas: 95.1% (95%CI\*: 89.6%-98.2%)

\*Patikimumo intervalas: *97.8% (95%CI*; 95.8%-99%)

Santykinis specifiškumas: 97.1% (95%CI\*: 95.3%-98.4%)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Teigiamos kultūros klasifikacija** | **Strep A Greitas Testas/Kultūra** | **% Santykis** |
| Retas | 8/10 | 80.0% |
| 1+ | 18/20 | 90.0% |
| 2+ | 19/20 | 95.0% |
| 3+ | 33/34 | 97.1% |
| 4+ | 38/38 | 100.0% |

**Kryžminis reaktyvumas**

Nurodyti organizmai buvo tiriami esant kiekiui 1.0 x 107 organizmų testui ir naudojant Strep A Greitos diagnoostikos testo kasetę buvo nustatyta, kad visi buvo neigiami. Nebuvo ištirtos gleives išskiriančios padermės.

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

**BIBLIOGRAFIJA**

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 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.