

NADAL® Strep A Test (test cassette)

REF 222001A



DE Gebrauchsanweisung	2	CZ Návod k použití	30
EN Instructions for use	6	FI Käyttöohje	34
FR Instructions d'utilisation	10	Symbols	39
ES Instrucciones de uso	14	Our Teams	40
IT Istruzioni per l'uso	18		
PL Sposób użycia	22		
PT Instruções de Utilização	26		



1. Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der NADAL® Strep A Test ist ein schneller visueller Immunoassay für den qualitativen, präsumptiven Nachweis von Streptokokken-Antigenen der Gruppe A (Strep A) in humanen Rachenabstrichproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Strep A-Infektionen bei Patienten bestimmt, die typische Symptome aufweisen. Der Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung


Beta-hämolisierende Streptokokken der Gruppe A sind einer der Hauptursachen von Infektionen des oberen Respirationstraktes, wie Tonsillitis, Pharyngitis und Scharlach. Es hat sich gezeigt, dass eine frühzeitige Diagnose und Behandlung von Strep A-bedingter Pharyngitis die Schwere der Symptome und weitere Komplikationen, wie rheumatisches Fieber und Glomerulonephritis, verringern.

Konventionelle Nachweismethoden für Strep A-Infektionen umfassen die Isolierung und anschließende Identifizierung von Organismen, was in der Regel 24-48 Stunden dauert. Die neueste Entwicklung immunologischer Techniken zum Nachweis von Strep A-Antigenen direkt aus dem Rachenabstrich unterstützt den Arzt bei der Erstellung einer unverzüglichen Diagnose und Behandlung.

3. Testprinzip

Der NADAL® Strep A Test ermöglicht den Nachweis von Streptokokken-Antigenen der Gruppe A durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung auf dem internen Teststreifen. Anti-Strep A-Antikörper sind im Testlinienbereich der Membran immobilisiert. Während der Testung reagiert die Probe mit polyklonalen anti-Strep A-Antikörpern, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Sample Pad der Testkassette vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe genügend Strep A-Antigene vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich der Membran. Die Anwesenheit dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist. Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® Strep A Testkassetten inkl. Einwegpipetten:
Jede Testkassette enthält farbige Konjugate und reaktive Reagenzien, die in entsprechenden Bereichen der Membran vorbeschichtet sind
- 1 Flasche Reagent 1: 1,0 M Natriumnitrit (7 ml)
Gefahr
 H301: Giftig beim Verschlucken
- 1 Flasche Reagent 2: 0,4 M Essigsäure (7 ml)
- 1 Flasche Positive Control +/-: nicht-lebensfähige Streptokokken der Gruppe A; 0,09% Natriumazid (1 ml)
- 20 Extraktionsröhrchen inkl. Tropfaufsätze
- 1 Reagenzienhalter
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material:

20 sterile Abstrichtupfer CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC

31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (bevollmächtigter EU-Repräsentant EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Der Test sollte bei 2-30°C bis zum auf dem verschlossenen Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie den Test nicht ein. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Testkits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie den Test nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Extraktionsröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test Kits austauschen oder mischen. Tropfaufsätze nicht vertauschen.
- Nicht die Verschlüsse der Reagenzienflaschen vertauschen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Benutzen Sie nur sterile Dacron- oder Rayon-Tupfer mit Plastikstiel wie die gelieferten. Verwenden Sie keine Calciumalginat-Baumwolle-Tupfer oder Tupfer mit Holzstiel.

- Tupfer nicht verwenden, wenn seine Verpackung beschädigt ist.
- Reagent 1 und Reagent 2 sind leicht ätzend. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit den Augen und den Schleimhäuten. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser sorgfältig waschen.
- Die Positivkontrolle enthält Natriumazid, das mit Blei- oder Kupferwasserleitungen zu potentiell explosiven Metallaziden reagiert. Wenn Sie die Lösungen entsorgen, spülen Sie mit reichlich Wasser nach, um eine übermäßige Azid-Ansammlung zu verhindern. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit den Augen und den Schleimhäuten. Bei versehentlichem Kontakt mit viel Wasser sorgfältig waschen.
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Entnehmen Sie die Rachenabstrichprobe nach klinischen Standardmethoden. Streichen Sie mit dem Tupfer über den hinteren Pharynx, Mandeln und andere entzündete Bereiche. Es muss darauf geachtet werden, dass die Zunge, Wangen oder Zähne nicht mit dem Tupfer berührt werden.

Es wird empfohlen, die Abstrichproben möglichst schnell nach der Entnahme zu untersuchen. Wenn die Abstrichprobe nicht unverzüglich untersucht wird, sollte sie in ein steriles, trockenes und fest verschlossenes Röhrchen oder Fläschchen gegeben und gekühlt werden. Frieren Sie die Abstrichtupfer nicht ein. Die Abstrichtupfer können bei Raumtemperatur (15-30°C) bis zu 4 Stunden oder gekühlt (2-8°C) bis zu 24 Stunden gelagert werden. Alle Proben sollten vor der Testung auf Raumtemperatur (15-30°C) gebracht werden.

Geben Sie die Abstrichtupfer nicht in einen Transportbehälter, welcher ein flüssiges Transportmedium oder Transportmedien mit Agar oder Aktivkohle enthält. Transportmedien können den Assay und die Lebensfähigkeit der Organismen beeinflussen. Wenn ein Transportmedium erforderlich ist, empfehlen wir die Verwendung von modifizierten Stuart's Transportmedium gemäß der Anweisung des Herstellers. Falls eine Bakterienkultur gewünscht wird, streichen Sie den Tupfer vor seiner Benutzung im Test leicht über eine 5%ige Schafblut-Agarplatte. Die Extraktionsreagenzien im Test töten die Bakterien auf dem Tupfer ab und es ist im Nachhinein nicht mehr möglich vom Tupfer eine Kultur anzulegen.

9. Testdurchführung

Bringen Sie alle Tests, Proben, Reagenzien und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

Die Spitzen der Reagenzienfläschchen dürfen auf keinen Fall mit Abstrichmaterial in Berührung kommen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

1. Vorbereitung der Abstrichproben

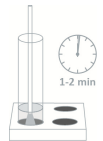
- Platzieren Sie ein sauberes Extraktionsröhrchen in den vorgesehenen Bereich des Reagenzienhalters. Geben Sie 4 Tropfen des Reagent 1 ins Extraktionsröhrchen. Dann fügen Sie 4 Tropfen des Reagent 2 hinzu. Um



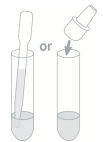
eine verlässliche Tropfengröße zu gewährleisten, halten Sie die Fläschchen mit Tropfaufsatz beim Tropfen der Reagenzien senkrecht. Mischen Sie die Lösung, indem Sie das Extraktionsröhrchen vorsichtig schwenken.



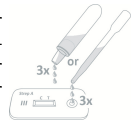
- Führen Sie unverzüglich den Abstrichtupfer in das Röhrchen ein. Drehen Sie den Tupfer mit kreisförmigen Bewegungen gegen die Röhrchenwand, so dass so viel wie möglich Flüssigkeit aus dem Tupfer ausgedrückt und wieder absorbiert wird. Wiederholen Sie den Vorgang mindestens 5mal.
- Lassen Sie die Lösung bei Raumtemperatur für 1-2 Minuten stehen, dann drücken Sie den Tupfer fest gegen das Röhrchen, um so viel wie möglich Flüssigkeit aus dem Tupfer auszupressen. Entsorgen Sie den Tupfer nach Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösen Erregern.



- Entnehmen Sie die NADAL® Strep A Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und legen Sie sie auf eine saubere und ebene Oberfläche. Die Testkassette muss unverzüglich oder spätestens innerhalb einer Stunde nach der Öffnung des Folienbeutels verwendet werden. Kennzeichnen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation. Um die besten Ergebnisse zu erhalten, sollte der Test innerhalb einer Stunde durchgeführt werden.



- Geben Sie 3 Tropfen (ca. 120 µl) der extrahierten Lösung aus dem Extraktionsröhrchen mit dem Tropfaufsatz oder mit der Einwegpipette in die Probenvertiefung der Testkassette.



Vermeiden Sie dabei die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung.

Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

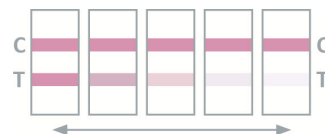
- Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 5 Minuten aus. Nach mehr als 10 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T). Das Ergebnis zeigt, dass Strep A Antigen in der Probe nachgewiesen wurde.



Negativ

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie. Strep A Antigen ist nicht in der Probe nachweisbar.



Ungültig

Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Testkit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.



Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der Konzentration der Analyten, die in der Probe vorhanden sind, variieren. Daher sollte jede Farbtonung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

Nach der Auswertung der Testergebnisse sollten benutzte Tests unverzüglich gemäß örtlicher Bestimmungen für potenziell infektiöse Materialien entsorgt werden.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Testkits. Die Positivkontrolle, die hitzeinaktivierte Streptokokken der Gruppe A enthält, ist dem Testkit beigelegt.

Durchführung der externen Testung der Positivkontrolle:

1. Geben Sie 4 Tropfen des Reagent 1 und 4 Tropfen des Reagent 2 in das Extraktionsröhrchen.
2. Mischen Sie gut die Positivkontrolle, indem Sie das Fläschchen kräftig schütteln. Geben Sie 1 Tropfen der Positivkontrolle in das Extraktionsröhrchen.
3. Führen Sie einen sauberen und sterilen Tupfer in das Röhrchen ein und drehen Sie ihn. Belassen Sie den Tupfer für 1 Minute im Extraktionsröhrchen. Dann drücken Sie die Flüssigkeit aus der Tupferspitze, indem Sie den Tupfer gegen das Innere des Röhrchens drehen und drücken Sie das Röhrchen beim Entfernen des Tupfers fest zusammen. Entsorgen Sie den Tupfer.
4. Fahren Sie fort, wie es im Schritt 2 der „Testdurchführung“ beschrieben ist.

Wenn die Kontrolle kein positives Ergebnis liefert, verwenden Sie die Tests nicht für Proben. Wiederholen Sie die Positivkontrolle oder setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Strep A Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch bestimmt und sollte nur für den qualitativen Nachweis von Streptokokken der Gruppe A verwendet werden. Keine Bedeutung sollte der Farbintensität oder der Breite der sichtbaren Linien entnommen werden.
- Die Genauigkeit des Tests ist von der Qualität der Abstrichprobe abhängig. Falsch-negative Ergebnisse können von einer unsachgemäßen Probenahme oder Probenlagerung herrühren. Negative Ergebnisse können bei erkrankten Patienten am Anfang der Erkrankung auftreten, wenn noch eine niedrige Antigenkonzentration vorliegt.
- Der NADAL® Strep A Test unterscheidet nicht zwischen asymptomatischen Trägern von Streptokokken der Gruppe A und solchen mit symptomatischer Infektion. Wenn die klinischen Zeichen und Symptome nicht mit den Labortestergebnissen übereinstimmen, empfiehlt es sich eine nachfolgende Rachenabstrich-Kultur anzulegen.
- In wenigen Fällen können Abstrichproben stark mit *Staphylococcus aureus* besiedelt sein, die ein falsch-positives Ergebnis hervorrufen können.
- Atemwegsinfektionen einschließlich Pharyngitis können durch Streptokokken anderer Serogruppen als Gruppe A sowie durch andere Erreger verursacht werden. Ein negatives Ergebnis mit dem Strep A Test schließt nicht aus, dass eine Infektion durch einen anderen pathogenen Erreger vorliegt. Wie bei allen diagnostischen Tests sollte die endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren, sondern vom Arzt nach der Evaluierung weiterer klinischer und labortechnischer Befunde gestellt werden.

13. Erwartete Werte

Es ist bekannt, dass etwa 19% aller Infektionen des oberen Respirationstraktes durch Streptokokken der Gruppe A hervorgerufen werden. Derartige Infektionen sind überwiegend im Winter und Vorfrühling verbreitet und die meisten Fälle treten bei Patienten auf, die in dicht bevölkerten Gebieten wohnen.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Korrelationsstudie

Tabelle: NADAL® Strep A Test vs. Kultur

Eine Korrelationsstudie wurde zwischen dem NADAL® Strep A Test und einer konventionellen Kultur durchgeführt. Rachenabstrichproben wurden von Kindern und Erwachsenen mit Symptomen einer Pharyngitis entnommen. Die Tupfer wurden für die Inokulation der Kulturen (Blutagarplatten) und für die Testung mit dem NADAL® Strep A Test verwendet.

Beta-hämolisierende Kolonien von den Blutagarplatten wurden unter Verwendung der serologischen Streptokokken-Gruppenbestimmung als Streptokokken der Gruppe A bestimmt. Strep A wurde als anwesend oder nicht anwesend

aufgezeichnet. Quantifizierungen wurden mit den klinischen Proben nicht durchgeführt.

		NADAL® Strep A Test		
		+	--	Insgesamt
Kultur	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Insgesamt	86	158	244

Relative Sensitivität: 97,6% (91,7%-99,7%)*

Relative Spezifität: 97,5% (93,7%-99,3%)*

Gesamtbereinstimmung: 97,5% (94,7%-99,1%)*

*95% Konfidenzintervall

Sensitivitäts-Studie

8 verschiedene Stämme von Strep A (ATCC Nummer: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) wurden bei verschiedenen Konzentrationen unter Verwendung vom NADAL® Strep A Test untersucht.

Die Nachweisgrenze lag bei mindestens $1,5 \times 10^5$ Organismen/Tupfer für alle Stämme. Dies deutet darauf hin, dass der NADAL® Strep A Test verschiedene Strep A Stämme mit verlässlicher Sensitivität erfasst.

Prozoneneffekt-Studie

Für Strep A Konzentrationen von bis zu $1,0 \times 10^9$ Organismen/Tupfer wurde keine Beeinträchtigung der Ausbildung der T-Linie beobachtet.

Spezifitäts-Studie

Kreuzreaktivitäts-Studien mit Organismen, die mit hoher Wahrscheinlichkeit im Respirationstrakt gefunden werden können, wurden unter Verwendung des NADAL® Strep A Tests durchgeführt. Die folgenden Organismen wurden bei der Konzentration von 1×10^7 Organismen/Abstrich getestet und zeigten negative Ergebnisse.

Organismus	ATCC Nr.	Organismus	ATCC Nr.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	Strep B	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	Strep C	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	Strep F	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	Strep G	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903

Organismus	ATCC Nr.	Organismus	ATCC Nr.
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus</i> *	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

* In seltenen Fällen kann eine starke Kolonisierung mit *Staphylococcus aureus* zu falsch-positiven Ergebnissen führen (siehe „12. Grenzen des Tests“).

Arztpraxis-Labor (POL) Studien

Eine Evaluierung des NADAL® Strep A Tests wurde an drei Praxislaboren unter Verwendung von einem Panel kodierter Proben einschließlich einer Negativkontrolle, niedrig positiver und mittel positiver Proben durchgeführt. Jede Probenkonzentration wurde in 20 Replikaten an jedem Standort über einen Zeitraum von 5 Tagen getestet. Die Studie zeigte eine Übereinstimmung von >99,9% mit den erwarteten Ergebnissen.

Interferenz-Studie

Verschiedene Halsschmerzmittel (Hustenbonbons) und Mundwasser wurden bei Konzentrationen von 1% getestet. Keines zeigte einen Einfluss auf die Ausbildung korrekter Testergebnisse.

Inter-Chargen- und Intra-Chargen-Variabilität

Drei verschiedene Chargen wurden mit negativen, niedrigen, mittel und hoch positiven Kontrollen in 10-facher Bestimmung getestet. Keine unerwarteten oder inkonsistenten Ergebnisse wurden erhalten, was darauf hindeutet, dass die Inter-Chargen- und Intra-Chargen-Variabilität niedrig ist.

15. Referenzen

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
- Gupta R, Talwar GP, Gupta SK. Rapid antibody capture assay for detection of group-A streptococci using monoclonal antibody and colloidal gold-mono-specific polyvalent antibody conjugate. J Immunossay. 1992; 13(3): 441-55.
- Ross PV. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 OM/JB

1. Intended Use

The NADAL® Strep A Test is a rapid visual immunoassay for the qualitative, presumptive detection of group A *Streptococcus* antigens (Strep A) in human throat swab specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of Strep A infections in patients showing typical symptoms. The test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Beta-hemolytic group A *Streptococcus* is a major cause of upper respiratory infections such as tonsillitis, pharyngitis and scarlet fever. Early diagnosis and treatment of Strep A pharyngitis has been shown to reduce the severity of symptoms and further complications, such as rheumatic fever and glomerulonephritis.

Conventional methods for detecting Strep A infection are dependent on isolation and subsequent identification of the organism and often require 24-48 hours. Recent developments in immunological techniques to detect Strep A antigens directly from throat swabs support physicians in diagnosing Strep A infections and administering a therapy immediately.

3. Test Principle

The NADAL® Strep A Test enables the detection of group A *Streptococcus* antigens through visual interpretation of colour development on the internal test strip. Anti-Strep A antibodies are immobilised in the test line region of the membrane. During the test, the specimen reacts with the polyclonal anti-Strep A antibodies conjugated to coloured particles and precoated onto the sample pad of the test cassette. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with the reagents on the membrane. If there are sufficient Strep A antigens in the specimen, a coloured line will form in the test line region of the membrane. The presence of this coloured line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. The appearance of a coloured line in the control line region serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® Strep A test cassettes, incl. disposable droppers: Each test cassette contains coloured conjugates and reactive reagents precoated in the corresponding regions of the membrane
- 1 bottle Reagent 1: 1.0 M sodium nitrite (7 ml)
- 1 bottle Reagent 2: 0.4 M acetic acid (7 ml)
- 1 bottle Positive Control +: non-viable Strep A; 0.09% sodium azide (1 ml)
- 20 extraction tubes incl. dropper-caps
- 1 reagent holder
- Provided additional material according to 93/42/EEC: 20 sterile throat swabs CE 0086



Danger

H301: Toxic if swallowed



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer

6. Storage & Stability

The test should be stored at 2-30°C until the expiry date printed on the sealed foil pouch. The test cassette must remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze the test. Care should be taken to protect components of the test kit from contamination. Do not use the test if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to false results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new extraction tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits. Do not mix dropper-caps.
- Do not swap caps between different extraction reagent bottles.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Use only dacron or rayon-tipped sterile swabs with plastic shafts such as those provided. Do not use calcium alginate, cotton-tipped or wooden-shafted swabs.
- Do not use swabs from damaged pouches.
- Reagents 1 & 2 are slightly caustic. Avoid contact with eyes or mucous membranes. In the event of accidental contact, wash thoroughly with water.
- The positive control contains sodium azide, which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of this solution, always flush

with copious amount of water to prevent azide build-up. Avoid contact with eyes or mucous membranes. In the event of accidental contact, wash thoroughly with water.

- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

Collect throat swab specimens using standard clinical methods. Swab the posterior pharynx, tonsil and other inflamed areas. Avoid touching the tongue, cheeks or teeth with the swab.

It is recommended that swab specimens be processed as soon as possible after collection. If swabs are not processed immediately, they should be placed in a sterile, dry, tightly capped tube or bottle and refrigerated. Do not freeze swabs. Swabs can be stored at room temperature (15-30°C) for up to 4 hours or refrigerated (2-8°C) for up to 24 hours. All specimens should be brought to room temperature (15-30°C) prior to testing.

Do not place swabs in any transport device containing liquid transport media or transport media containing agar or charcoal. Transport media may interfere with the assay and viability of organisms. If transport medium is required we recommend using Modified Stuart's Transport Medium as outlined in the manufacturer's instructions.

If a bacterial culture is required, lightly roll the swab on a 5% sheep blood agar plate before using it in the test. The extraction reagents in the test will kill bacteria on the swabs and make them impossible to culture.

9. Test Procedure

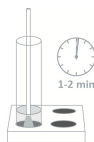
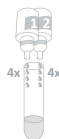
Bring tests, specimens, reagents and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

To avoid cross contamination, do not allow the tips of the reagent bottles to come into contact with sample material.

1. Prepare swab specimens:

- Place a clean extraction tube onto the designated area of the reagent holder. Add 4 drops of reagent 1 to the extraction tube, followed by 4 drops of reagent 2. In order to ensure reliable drop size when adding the reagents, hold the dropper bottles vertically. Mix the solution by gently swirling the extraction tube.
- Immediately immerse the swab into the extraction tube. Using circular motions, roll the swab against the side of the extraction tube so that the liquid is expressed from the swab and can reabsorb. Repeat at least 5 times.
- Let the solution stand for 1-2 minutes at room temperature, then squeeze the swab firmly against the tube to expel as much liquid as possible from the swab. Discard the swab in accordance with the guidelines for handling infectious agents.

2. Remove the test cassette from the sealed foil pouch and place it on a clean and level

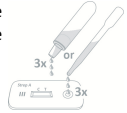
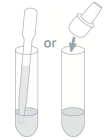


surface. The test cassette should be used immediately or within one hour at the latest after opening the foil pouch. Label the test cassette with the patient or control identification. For the best results, the assay should be performed within one hour.

3. Transfer 3 drops (approximately 120 µL) of the extracted solution, with the included disposable pipette or dropper cap, from the extraction tube to the sample well of the test cassette.

Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the result area.

4. As the test begins to run, you will observe a coloured liquid migrate along the membrane. Wait for the coloured line(s) to appear. The test result should be read after 5 minutes. Do not interpret the result after more than 10 minutes.



10. Result Interpretation

Positive:

Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T). This indicates that Strep A antigen has been detected in the sample.



Negative:

Only one coloured line appears in the control line region (C). No apparent coloured line appears in the test line region (T). No Strep A antigen has been detected.



Invalid:

The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.



Note:

The colour intensity in the test line region (T) may vary depending on the concentration of the analyte present in the specimen. Therefore, any shade of colour in the test line region should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the concentration of the analyte in the specimen.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

After the results have been interpreted, used tests should be discarded immediately in accordance with local regulations for potentially infectious materials.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance. A positive control containing heat-killed group A *Streptococcus* is provided with each test kit.

Operating Procedure for External Quality Control Testing

1. Add 4 drops of reagent 1 and 4 drops of reagent 2 to an extraction tube.
2. Thoroughly mix the positive control by shaking the bottle vigorously. Add 1 drop of the positive control to the tube.
3. Place a clean, sterile swab into the tube and swirl it. Leave the swab in the extraction tube for 1 minute. Then express the liquid from the swab head by rolling the swab against the inside of the extraction tube and squeezing the extraction tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
4. Continue as described in the Step 2 of the "Procedure of the Test".

If the control does not yield a positive result, do not use the tests with samples. Repeat the Quality Control Testing or contact your distributor.

12. Limitations

- The NADAL® Strep A Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only and should only be used for the qualitative detection of group A *Streptococcus*. No meaning should be inferred from the colour intensity or width of any apparent lines.
- The accuracy of the test depends on the quality of the swab specimen. False negative results may occur due to improper specimen collection or storage. A negative result may also be obtained from patients at the onset of the disease due to low antigen concentration.
- The NADAL® Strep A Test does not differentiate asymptomatic carriers of group A *Streptococcus* from those with symptomatic infection. If clinical signs and symptoms are not consistent with laboratory test results, a follow-up throat culture is recommended.
- In few cases, swab specimens heavily colonized with *Staphylococcus aureus* can yield false positive results.
- Respiratory infections, including pharyngitis, can be caused by streptococci of serogroups other than group A as well as other pathogens. A negative Strep A test result does not exclude infection with other pathogenic microorganisms.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

13. Expected values

It is known that approximately 19% of all upper respiratory tract infections are caused by group A streptococci. Such infections are most prevalent in winter and early spring, with most cases arising in patients living in highly populated areas.

14. Performance Characteristics

Correlation Study

Table: NADAL® Strep A Test vs. culture

A correlation study between the NADAL® Strep A Test and conventional culture was performed. Throat swab specimens were taken from children and adults exhibiting symptoms of pharyngitis. The swabs were then used for the inoculation of cultures (blood agar plates) and for testing with the NADAL® Strep A Test.

Beta-hemolytic colonies from the blood agar plates were determined as group A *Streptococcus* using serologic streptococcal grouping methods. Strep A was recorded as present or not present. Quantification was not performed during the testing of clinical samples.

The results are presented in the following table:

		NADAL® Strep A Test		
		+	–	Total
Culture	+	82	2	84
	–	4	156	160
	Total	86	158	244

Relative sensitivity: 97.6% (91.7%-99.7%)*

Relative specificity: 97.5% (93.7%-99.3%)*

Overall agreement: 97.5% (94.7%-99.1%)*

*95% Confidence Interval

Sensitivity Study

8 different strains of Strep A (ATCC Numbers: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) were examined at different levels with the NADAL® Strep A Test. The detection limit of the assay was at least 1.5×10^5 organisms/swab for all strains. This indicates that NADAL® Strep A Test detects multiple Strep A strains with reliable sensitivity.

Prozone Effect Study

No adverse effect on T-line formation was recorded for Strep A concentration up to 1.0×10^9 organisms per swab.

Specificity Study

Cross-reactivity studies with organisms likely to be found in the respiratory tract were performed using the NADAL® Strep A Test. The following organisms were tested at 1×10^7 organisms/swab and showed negative results

Organism	ATCC No.	Organism	ATCC No.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528

Organism	ATCC No.	Organism	ATCC No.
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus</i> *	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

* In rare cases a heavy colonization with *Staphylococcus aureus* might lead to false positive test results (see "12. Limitations").

Physician Office Laboratory (POL) Studies

An evaluation of the NADAL® Strep A Test was conducted at three physicians' office laboratory sites, using a panel of coded samples containing negative control, low positive and medium positive specimens. Each specimen level was tested at each site in replicates of 20 over a period of five days. The study showed >99.9% agreement with the expected results.

Interference Study

A variety of sore throat medication (cough drops) and mouthwashes were tested at concentrations of 1%. None of them interfered with the generation of correct test results.

Inter-lot and intra-lot variability

Three independent lots were tested with negative, low, medium and high positive controls in 10-fold determinations. No unexpected or inconsistent results were obtained, indicating that inter-lot and intra-lot variability is low.

15. References

1. Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
2. Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
3. Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
4. Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
5. Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
6. Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 OM/JB

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Strep A est un test rapide à flux latéral pour la détection qualitative et précoce des antigènes des streptocoques du groupe A (Strep A) dans les prélèvements de gorge. Ce test est une aide au diagnostic de l'infection à Strep A chez les patients présentant les symptômes typiques de cette infection. Le test est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique


Les streptocoques bêta-hémolytiques de type A sont l'une des causes principales des infections des voies respiratoires supérieures telles que la rhino-pharyngite, la pharyngite et la scarlatine. Il a été prouvé que le diagnostic et le traitement précoces d'une pharyngite due à des streptocoques de type A aident à réduire la gravité des symptômes et à prévenir d'autres complications comme le rhumatisme articulaire aigu (RAA) et la glomérulonéphrite.

Les méthodes traditionnelles utilisées pour la détection de l'infection à Strep A dépendent de l'isolement et de l'identification de l'organisme. Ces méthodes nécessitent souvent 24 à 48h d'attente avant le développement d'un résultat. Le développement récent des techniques immunologiques (réf. 1,3) de détection des antigènes streptococciques du groupe A directement à partir d'écouvillons pharyngés permet aux médecins de diagnostiquer la maladie et de prescrire un traitement immédiatement.

3. Principe du test

Le test NADAL® Strep A permet de détecter les antigènes streptococciques du groupe A grâce au développement d'une ligne de couleur sur la bandelette interne de la cassette. Des anticorps anti-Strep A sont immobilisés sur la membrane de la ligne de test. Pendant la manipulation, le prélèvement réagit avec les anticorps polyclonaux anti-strep A conjugués à des particules d'or préalablement immobilisés sur le tampon. Le mélange migre le long de la membrane par capillarité et interagit avec les réactifs le long de la membrane. Lorsque le prélèvement contient une quantité suffisante d'antigènes Strep-A, une ligne colorée apparaît à hauteur de la ligne de test de la membrane. La présence de cette ligne colorée indique un résultat positif. L'absence de cette ligne indique un résultat négatif. La ligne de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Matériel fourni

- 20 cassettes NADAL® Strep A
Chaque cassette contient un conjugué coloré et des réactifs préalablement immobilisés sur les zones correspondantes de la membrane.
- 1 flacon de réactif 1 : 1,0 M nitrite de sodium (7ml)
 Danger
H301 : Toxique en cas d'ingestion
- 1 flacon de réactif 2 : 0,4 M acide acétique (7ml)
- 1 flacon de contrôle + positif : Strep A non-viables; 0,09% azoture de sodium (1ml)
- 20 tubes d'extraction avec bouchon compte-goutte
- 1 station de travail

- Matériel fourni selon 93/42/CEE :
20 écouvillons stériles CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC

31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (Représentant UE autorisé EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre

6. Péréemption et conservation des réactifs

Les tests non-utilisés sont à conserver dans leur emballage d'origine entre 2 et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler le test. Il est recommandé de protéger les kits de toute contamination. Ne pas utiliser les tests si des signes de contaminations bactériennes ou de précipités sont observables. Une contamination biologique des doseurs, des contenants ou des réactifs peut entraîner des résultats faussés.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Test uniquement réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Pour chaque prélèvement, utiliser un collecteur différent afin d'éviter tous risques de contaminations croisées.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits. Ne pas mélanger les bouchons compte-goutte.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaires (ne pas avaler ou inhaler).

- Utiliser exclusivement des écouvillons Dacron ou Rayon avec une tige en plastique semblable aux écouvillons livrés avec le kit. Ne pas utiliser d'écouvillons à l'alginate de calcium ou d'écouvillons avec tige en bois.
- Les réactifs 1&2 sont légèrement corrosifs. Éviter tout contact avec les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau.
- Les contrôles positifs contiennent de l'azoture de sodium qui, au contact de canalisations en cuivre ou en plomb, peuvent provoquer des acides explosifs. Au moment de l'élimination des solutions, rincer abondamment avec de l'eau afin d'éviter toute accumulation excessive des acides. Éviter tout contact avec les yeux et les muqueuses. En cas de contact, rincer abondamment avec de l'eau.
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil et conservation des échantillons

Recueillir les prélèvements de gorge selon les méthodes cliniques standards. Poser délicatement l'écouvillon dans le pharynx, les amygdales et les autres régions infectées. Veiller à ce que la langue, les joues et les dents n'entrent pas en contact avec l'écouvillon.

Il est recommandé d'analyser les prélèvements rapidement après le recueil. Au cas où l'écouvillon ne soit pas analysé immédiatement, il est recommandé de le conserver dans un tube ou un flacon stérile, sec et scellé en milieu réfrigéré. Ne pas congeler les écouvillons. Les écouvillons peuvent être conservés à température ambiante (15-30°C) pendant un maximum de 4 heures ou en milieu réfrigéré (2-8°C) pour un maximum de 24h. Amener tous les prélèvements à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.

Ne pas insérer l'écouvillon dans un récipient contenant un milieu aqueux de transport. Un milieu aqueux de transport peut influencer l'immunodosage et la viabilité des organismes. Dans le cas où une culture de bactéries est nécessaire, froter légèrement l'écouvillon sur une plaque de gélose contenant 5% de sang de mouton. Le réactif d'extraction du test tue les bactéries sur l'écouvillon. Une fois cette manipulation effectuée, il est impossible de créer une culture de bactéries à partir de l'écouvillon.

9. Exécution du test

Amener les tests, les réactifs, les prélèvements et/ou les contrôles à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.

L'embout des flacons de réactif ne doit en aucun cas entrer en contact avec le matériel de prélèvement afin d'éviter toute contamination croisée.

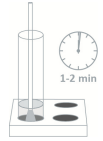
1. Préparation des prélèvements à l'aide des écouvillons :

- Placer un tube d'extraction propre dans la zone prévue pour la manipulation. Ajouter 4 gouttes du réactif 1 dans le tube d'extraction puis ajouter 4 gouttes du réactif 2. Afin que la taille de la goutte soit fiable, tenir le flacon de réactif à la verticale. Mélanger la solution en faisant

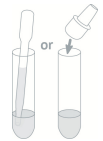


basculer prudemment le tube d'extraction.

- Insérer immédiatement l'écouvillon dans le tube. Faire pivoter l'écouvillon contre les parois du tube afin de garantir un recueil maximal du liquide puis une réabsorption.
- Maintenir la solution à température ambiante 1 à 2 minutes, puis presser l'écouvillon contre les parois du tube afin d'en extraire le plus de liquide possible. Éliminer l'écouvillon selon les directives en vigueur relatives au traitement d'agents infectieux.



- Retirer la cassette NADAL® Strep A de son emballage fermé et déposer la cassette sur une surface propre et plane. Utiliser la cassette immédiatement après l'ouverture de l'emballage ou maximum une heure après. Indiquer sur la cassette les identifiants du patient et du contrôle. Afin de garantir la fiabilité des résultats, il est fortement conseillé de réaliser le test dans l'heure qui suit l'ouverture de l'emballage.



- Déposer 3 gouttes (env. 120 µl) de la solution extraite provenant du tube d'extraction à l'aide du bouchon compte-goutte ou à l'aide la pipette à usage unique dans les puits d'essai de la cassette.



Éviter la formation des bulles d'air dans les puits de dépôt.

- Attendre que les lignes colorées apparaissent. Interpréter les résultats après 5 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 10 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif

Deux lignes colorées apparaissent sur la membrane. Une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît au niveau de la zone de test (T).



Négatif :

Une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (C). Aucune ligne de couleur n'apparaît au niveau de la zone de test (T).



Non-valide :

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans

le temps d'évaluation fixée doivent être jetés. Relire le déroulement de la manipulation et refaire le test. Dans le cas où le problème persiste, ne pas réutiliser le kit et se mettre en contact avec le distributeur.



Remarque :

L'intensité de la couleur de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration des analytes présents dans le prélèvement. C'est pour cela que la moindre apparition d'une ligne de couleur (T) est à considérer comme un résultat positif. Veuillez prendre en compte qu'il s'agit d'un test qualitatif et que la concentration en analytes dans le prélèvement ne peut être déterminée.

Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

Après l'interprétation des résultats des tests, il est conseillé d'éliminer les tests utilisés immédiatement en respectant les directives en vigueur concernant les matériaux potentiellement infectieux.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne rouge apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) recommandent l'utilisation de matériel de contrôle afin de confirmer la fiabilité du test. Des contrôles positifs contenant des streptocoques du groupe A inactivés par la chaleur sont fournis avec le kit.

Exécution des contrôles positifs externes :

- Ajouter 4 gouttes du réactif 1 et 4 gouttes du réactif 2 dans le tube d'extraction.
- Mélanger le contrôle positif en agitant énergiquement le flacon. Ajouter 1 goutte du contrôle positif dans le tube d'extraction.
- Insérer un écouvillon propre et stérile dans le flacon et le faire pivoter. Laisser l'écouvillon 1 minute dans le tube d'extraction. Il est important de recueillir une quantité maximum de liquide en pressant énergiquement l'écouvillon contre les parois internes du flacon en particulier au moment de retirer celui-ci du flacon. Éliminer l'écouvillon.
- Poursuivre la manipulation comme décrite dans le point 2 "Exécution du test".
Si les contrôles ne fournissent pas de résultats positifs, ne plus utiliser les tests pour les prélèvements. Répéter les contrôles positifs ou contacter le distributeur.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Strep A est réservé au diagnostic professionnel *in-vitro* et a été conçu pour la détection qualitative des streptocoques du groupe A. Ne pas prendre en compte l'intensité de la couleur ou la largeur de la ligne de test.

- La précision des tests dépend de la qualité du prélèvement. Une mauvaise manipulation ou une mauvaise conservation des prélèvements peuvent mener à des faux-positifs. Des résultats négatifs peuvent apparaître dans le cas d'une faible concentration en antigènes en particulier chez les patients en début d'infection.
- Le test NADAL® Strep A ne différencie pas les porteurs asymptomatiques du streptocoque du groupe A de ceux porteurs d'infections symptomatiques. Dans le cas où les signes et les symptômes cliniques ne correspondent pas aux résultats de laboratoire, il est conseillé de réitérer une culture de prélèvement de gorge.
- Dans certains cas, les écouvillons peuvent être colonisés par des *Staphylococcus aureus* ce qui peut provoquer un faux-positif.
- Comme pour avec tous les tests diagnostiques, un diagnostic clinique définitif ne devrait être établi sur la base d'un seul test, mais établi par un médecin en corrélation avec des données techniques de laboratoire et cliniques.

13. Valeur attendue

19% des infections des voies respiratoires supérieures sont causées par les streptocoques du groupe A. Ce genre d'infections se retrouve principalement en hiver et au début du printemps. Le plus grand nombre de cas se situe dans les zones fortement peuplées.

Les infections des voies respiratoires telle que la pharyngite peuvent être causées par des streptocoques appartenant à d'autres sérogroupes que le groupe A ainsi que par d'autres agents pathogènes.

14. Performance du test

Étude des corrélations

Tableau : Test NADAL® Strep A vs. Culture

Une étude de corrélation a été menée entre le test NADAL® Strep A et une culture conventionnelle. Des prélèvements de gorge ont été recueillis chez des enfants et des adultes présentant les symptômes de la pharyngite. Ces prélèvements sont utilisés pour l'inoculation des cultures (plaque de gélose au sang) et pour l'analyse avec les tests NADAL® Strep A.

Les colonies bêta-hémolytiques isolées à partir des plaques de gélose au sang ont été confirmées comme étant des streptocoques du groupe A en utilisant des méthodes sérologiques de groupage des streptocoques. Les Strep A ont été marqués comme présents ou non présents. La quantification n'a pas été réalisée avec les prélèvements cliniques.

		Test NADAL® Strep A		
		+	--	Total
Culture	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Total	86	158	244

Sensibilité relative : 97,6% (91,7%-99,7%)*

Spécificité relative : 97,5% (93,7%-99,3%)*

Concordance générale : 97,5% (94,7%-99,1%)*

*95% Intervalle de confiance

Etude sur la sensibilité

8 souches différentes du strep A (Numéro ATCC : 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) ont été analysées à différentes concentrations en utilisant le test NADAL® Strep A.

Les résultats positifs obtenus à une concentration d'au moins $1,5 \times 10^5$ organismes/écouvillon pour toutes les souches indiquent que le test NADAL® Strep A est sensible aux bactéries streptococciques du groupe A.

Etudes sur la spécificité

Les études sur la réaction croisée ont été réalisées avec le test NADAL® Strep A sur des organismes susceptibles d'être présents dans les voies respiratoires. Les organismes suivant ont été testés à une concentration de 1×10^7 organismes / écouvillon et ont indiqué des résultats négatifs.

Organisme	ATCC Nr.	Organisme	ATCC Nr.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus*</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

Dans de très rares cas, il est possible qu'une forte colonisation à *Staphylococcus aureus* puisse provoquer des faux-positifs (voir "12. Limite du test").

Etudes Physician Office Laboratories (POL)

Une évaluation du test NADAL® Strep A a été menée dans les laboratoires de trois cabinets sur un panel de prélèvements codés comprenant des prélèvements de contrôle négatifs, faiblement positifs et moyennement positifs. Chaque concentration de prélèvements a été testée avec 5 reproductions à différents endroits pendant 5 jours. L'étude a indiqué une concordance générale >99,9% avec les résultats attendus.

Etude de l'interférence

Plusieurs médicaments contre le mal de gorge (médicaments contre la toux) et collutoires ont été testés à une concentration de 1%. Aucun n'a influencé les résultats des tests.

Variabilité inter- et intra-lots.

Trois lots différents ont été testés avec des contrôles négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs sur 10 reproductions. Aucun résultat inattendu ou incohérent n'a été obtenu. Ceci indique que la variabilité inter-lot et intra-lot est faible.

15. Bibliographie

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
- Gupta R, Talwar GP, Gupta SK. Rapid antibody capture assay for detection of group-A streptococci using monoclonal antibody and colloidal gold-mono-specific polyvalent antibody conjugate. J Immunoassay. 1992; 13(3): 441-55.
- Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 PF

1. Uso previsto

El test NADAL® Strep A es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de la presencia de antígenos de *Streptococcus* del grupo A (strep A) en muestras humanas de hisopos faríngeos. El test está diseñado para servir como ayuda en el diagnóstico de infecciones por estreptococo del grupo A en pacientes que presentan síntomas típicos. Está diseñado únicamente para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico


El grupo hemolítico *Streptococcus* A causa infecciones respiratorias superiores tales como amigdalitis, faringitis y fiebre escarlata. Se ha demostrado que un diagnóstico temprano y el tratamiento de la faringitis por estreptococo A reducen la severidad de los síntomas y otras complicaciones, como la fiebre reumática y la glomerulonefritis.

Los métodos convencionales para detectar una infección por strep A dependen del aislamiento y la posterior identificación del organismo, y requieren normalmente unas 24-48 horas. El reciente desarrollo de las técnicas inmunológicas para detectar antígenos de strep A, a partir directamente de exudados faríngeos, permite al personal médico diagnosticar infecciones de antígenos de strep A y administrar inmediatamente un tratamiento.

3. Principio del test

El test NADAL® Strep A permite la detección de antígenos de *Streptococcus* del grupo A, a través de la interpretación visual de la aparición del color en la tira de test interna. Los anticuerpos anti-strep A se inmovilizan en la región de test de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con anticuerpos policlonales anti-strep A, conjugados con partículas coloreadas, que recubren el pocillo de muestra del casete de test. La mezcla migra entonces a través de la membrana por acción capilar e interactúa con los reactivos. Si hay suficientes antígenos de strep A en la muestra, se formará una línea coloreada en la región de test de la membrana. La presencia de esta línea coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La aparición de una línea coloreada en la región de la línea de control sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Strep A, con pipetas desechables incluidas
Cada casete contiene conjugados coloreados y agentes reactivos recubiertos en las correspondientes regiones de la membrana.
- 1 bote de reactivo 1: 1.0 M nitrato de sodio (7 ml)
 Peligro
H301: Tóxico en caso de ingestión
- 1 bote de reactivo 2: 0,4 M de ácido acético (7 ml)
- 1 bote de control positivo: strep A no viable; 0,09% de azida de sodio (1 ml)
- 20 tubos de extracción con tapones cuentagotas incluidos
- 1 soporte para los reactivos
- Material provisto de acuerdo a 93/42/EEC:
20 hisopos faríngeos estériles CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC

31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 Estados Unidos
(representante EU autorizado EMERGO EUROPE,
La Haya, Holanda)

- 1 manual de instrucciones

5. Otros materiales necesarios

- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a una temperatura entre 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en bolsa sellada. Mantenga el casete de test en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit. Proteja los componentes del test de su posible contaminación. No utilice el test si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo dispensado, los contenedores o reactivos puede conducir a resultados falsos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción, a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits. No mezcle los tapones cuentagotas.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras y ejecute las pruebas.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- Utilice solo puntas de pipeta de rayón o dacrón estériles con mango de plástico como las provistas. No utilice hisopos de alginato de calcio, hisopos de algodón con mango de madera.
- Los reactivos 1 y 2 son ligeramente cáusticos. Evite el contacto con los ojos y las membranas mucosas. En caso de producirse un contacto accidental, lávese con abundante agua.

- El control positivo contiene azida de sodio, que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías, formando azidas de sodio potencialmente explosivas. Al desechar esta solución, deje correr abundante cantidad de agua para prevenir la formación de azida. Evite el contacto con los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto accidental, lávese con abundante agua.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

Recolecte las muestras de exudado faríngeo utilizando los métodos clínicos estándar. Limpie con un algodón la parte posterior de la faringe, amígdalas o áreas inflamadas. Evite tocar con el hisopo la lengua, la cara interna de las mejillas o los dientes.

Se recomienda analizar las muestras de los hisopos lo más pronto posible tras su recolección. Si no se van a procesar inmediatamente, se deben depositar en un tubo o bote seco y estéril, bien tapado y refrigerarlo. No congele los hisopos. Se pueden almacenar a temperatura ambiente (15-30°C) hasta 4 horas, o refrigerados (2-8°C) hasta 24 horas. Lleve todas las muestras a temperatura ambiente antes de la realización de la prueba.

No coloque los hisopos en ningún dispositivo que contenga medio de transporte, ya que interfiere con el ensayo y la viabilidad de los organismos. Si se requiere un cultivo bacteriano, deslice el hisopo ligeramente en una placa de agar sangre de oveja al 5% antes de utilizarlo en el test. Los reactivos de extracción del test matan las bacterias de los hisopos, lo que imposibilita el cultivo.

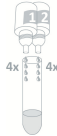
9. Procedimiento del test

Lleve el test, las muestras, los reactivos y/o controles a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

Para evitar una contaminación cruzada, el extremo de los botes de reactivos no debe entrar en contacto con el material del frotis.

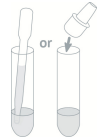
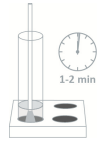
1. Preparación de los hisopos con las muestras.

- Sitúe un tubo de extracción en el área designada de la estación de trabajo. Añada 4 gotas del reactivo 1 al tubo de extracción, seguido de 4 gotas del reactivo 2. Sostenga los botes verticalmente al añadir los reactivos para asegurar, de este modo, que la gota tenga un tamaño adecuado. Mezcle la solución agitando suavemente el tubo de extracción.
- Sumerja inmediatamente el hisopo en el tubo de extracción. Realizando movimientos circulares, ruede el hisopo presionando contra el lateral del tubo, de modo que la presión expulse el líquido del hisopo y se pueda reabsorber.
- Deje reposar la solución 1-2 minutos a temperatura ambiente, a continuación, presione con firmeza el hisopo contra el



tubo, para obtener la mayor cantidad de líquido posible. Elimine el hisopo según las directrices para el tratamiento de agentes infecciosos.

2. Retire el casete de test de su envase sellado y sitúelo sobre una superficie limpia y plana. Una vez abierto el envase, se debería utilizar el test inmediatamente o en un máximo de una hora. Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control. Para mejores resultados, realice la prueba antes de una hora.



3. Transfiera 3 gotas (aproximadamente 120 µL) de la solución extraída, con la pipeta desechable incluida, o el tapón cuentagotas, del tubo de extracción al pocillo de muestra del casete de test.



Evite la formación de burbujas en el pocillo de muestra (S) y no añada ninguna solución al área de resultados.

Cuando el test comienza a trabajar, el color se desplazará a través de la membrana.

4. Espere a que aparezca la línea coloreada. Lea el resultado del test a los 5 minutos. No interprete los resultados después de 10 minutos.



10. Interpretación de los resultados

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana. Una línea aparece en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).



Negativo:

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece la línea coloreada en el área de test (T).



No válido:

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y deben descartarse. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.



Nota:

La intensidad de la línea en el área de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de

la línea de prueba se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito en la muestra.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

Después de interpretar los resultados, se deben eliminar inmediatamente los dispositivos utilizados siguiendo las regulaciones locales para materiales potencialmente infecciosos.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento.

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las buenas prácticas de laboratorio (BPL) recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto. Con cada kit se suministra un control positivo que contiene *Streptococcus* del grupo A inactivado por calor.

Procedimiento operativo para el análisis del control de calidad externo.

- Añada 4 gotas del reactivo 1, y 4 gotas del reactivo 2 en el tubo de extracción.
- Mezcle completamente el control positivo agitando el bote enérgicamente. Añada 1 gota del control positivo en el bote.
- Coloque un hisopo limpio y estéril en el tubo y gírelo. Déjelo en el tubo de extracción durante 1 minuto. Después, expulse el líquido del extremo del hisopo girándolo y realizando cierta presión contra la pared interior del tubo de extracción, presionando el tubo al retirar el hisopo. A continuación, deseche el hisopo.
- Siga las instrucciones indicadas en el paso 2 del apartado "Procedimiento del test".

Si el control no proporciona un resultado positivo, no utilice el test con las muestras. Repita el test de control de calidad o contacte con su proveedor.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Strep A solo es apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y solo se debe utilizar para la detección cualitativa de *Streptococcus* del grupo A. La intensidad del color o la anchura de las líneas formadas no tienen relevancia.
- La precisión del test depende de la calidad de la muestra en el hisopo. Pueden producirse falsos resultados negativos si la recolección o el almacenamiento no se han realizado de forma adecuada. También se puede producir un falso resultado negativo en el comienzo de la enfermedad, ya que la concentración de antígenos en ese momento todavía es muy baja.
- El test NADAL® Strep A no diferencia entre individuos asintomáticos portadores de *Streptococcus* del grupo A, y los que sufren una infección sintomática. Si los signos y síntomas clínicos no coinciden con los resultados de los test

de laboratorio, se recomienda realizar un cultivo de una muestra faríngea.

- En algunos casos, los hisopos con muestras altamente colonizadas por *Staphylococcus aureus* pueden producir resultados positivos falsos.
- Al igual que con otros test, el diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un único test, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

13. Valores esperados

El estreptococo del grupo A es responsable de alrededor del 19% de todas las infecciones del tracto respiratorio superior. Estas infecciones son más prevalentes durante el invierno y el principio de la primavera, y en la mayoría de los casos afecta a pacientes que viven en áreas muy pobladas.

Las infecciones respiratorias, incluidas las faringitis, pueden estar causadas por estreptococos de otros serogrupos diferentes al grupo A, así como por otros patógenos.

14. Características de rendimiento

Estudio de correlación

Tabla: test NADAL® Strep A vs. cultivo

Se realizó un estudio de correlación entre el test NADAL® Strep A y los cultivos convencionales. Se tomaron muestras de hisopos faríngeos de niños y adultos que mostraban síntomas de faringitis. Después, se utilizaron los hisopos para la inoculación de cultivos (placas de agar sangre) y para analizar con el test NADAL® Strep A.

Las colonias beta-hemolíticas de las placas de agar sangre se determinaron como *Streptococcus* del grupo A utilizando métodos serológicos de agrupación estreptocócica. Se valoró el strep A como presente o no presente. No se realizó la cuantificación durante el análisis de muestras clínicas.

En la siguiente tabla se muestran los resultados:

		Test NADAL® Strep A		
		+	--	Total
Cultivo	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Total	86	158	244

Sensibilidad relativa: 97,6% (91,7%-99,7%)*

Especificidad relativa: 97,5% (93,7%-99,3%)*

Concordancia general: 97,5% (94,7%-99,1%)*

*95% intervalo de confianza

Estudio de sensibilidad

Se analizaron 8 cepas diferentes de strep A (ATCC números: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) a diferentes niveles con la ayuda del test NADAL® Strep A. Los resultados positivos obtenidos a niveles de al menos $1,5 \times 10^3$ organismos/hisopo para todas las cepas indica que el test NADAL® Strep A es sensible a la bacteria estreptococo del grupo A.

Estudio de especificidad

Se estudiaron las reacciones cruzadas del test NADAL® Strep A con organismos que se pueden encontrar en el tracto respiratorio. Los siguientes organismos se analizaron a 1×10^7 organismos/hisopo y mostraron resultados negativos.

Organismos	ATCC No.	Organismos	ATCC no.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equismilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equismilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equismilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus</i> *	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
- Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
- Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 MP

* En casos raros, una fuerte colonización por *Staphylococcus aureus* puede inducir a falsos resultados positivos (ver el apartado 12. "Limitaciones").

Estudios en laboratorios de consultas médicas

Se llevó una evaluación del test NADAL® Strep A a tres laboratorios médicos utilizando un panel de muestras codificadas con control negativo, muestras positivas débiles y positivas medias. Se analizó cada muestra, en cada sitio, en réplicas de cinco durante un periodo de cinco días. El estudio mostró una concordancia >99.9% con los resultados esperados.

Estudio de interferencia

Se analizaron también varios medicamentos para el dolor de garganta (pastillas para la tos) y enjuagues bucales a concentraciones del 1%. Ninguno de ellos tuvo influencia en los resultados del test.

Variabilidad inter- e intra-lote

Se analizaron tres lotes independientes con controles negativos, y controles positivos débiles, medios y altos en series de 10. No se obtuvo ningún resultado incoherente o inesperado, lo que indica una baja variabilidad inter- e intra-lote.

15. Referencias

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.

1. Uso Previsto

Il test a cassetta Strep A NADAL® è un immunodosaggio visivo rapido per la determinazione qualitativa dell'antigene dello streptococco del gruppo A (Strep A) in tamponi faringei. Questo test funge da coadiuvante nella diagnosi preventiva di infezioni da streptococco in pazienti che presentano sintomi sospetti. Il test è da intendersi per uso esclusivamente professionale.


2. Introduzione

Lo streptococco beta-emolitico del gruppo A è una delle principali cause di infezioni respiratorie come tonsilliti, faringiti e scarlattina. Una diagnosi precoce e la cura di faringiti dovute allo streptococco del gruppo A permettono di ridurre la gravità dei sintomi e ulteriori complicazioni come la febbre reumatica e la glomerulonefrite. I metodi convenzionali utilizzati per individuare la malattia consistono nell'isolamento e nella successiva identificazione del microorganismo. Questi metodi spesso richiedono dalle 24 a 48 ore. Il recente sviluppo delle tecniche immunologiche, capaci di individuare l'antigene dello streptococco del gruppo A direttamente in tamponi faringei, permette ai medici di effettuare rapidamente la diagnosi e di somministrare quindi i medicinali appropriati.

3. Principio del Test

Il test a cassetta NADAL® Strep A permette l'individuazione dell'antigene dello streptococco del gruppo A attraverso l'interpretazione dello sviluppo di colore osservabile sulla membrana interna del test. Gli anticorpi anti-strep A sono immobilizzati sulla membrana, in corrispondenza della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con gli anticorpi policlonali anti-Strep A coniugati con particelle colorate presenti sulla membrana in corrispondenza del pozzetto di raccolta del campione. Il composto migra poi lungo la membrana per azione capillare interagendo con i reagenti presenti sulla membrana stessa. Se nel campione è presente una quantità sufficiente di antigeni dello Strep A, si formerà una linea colorata in corrispondenza della regione della linea del test. La presenza di questa linea colorata indicherà un risultato positivo, mentre la sua assenza sarà indice di un risultato negativo. La comparsa di una linea colorata in corrispondenza dell'area della linea di controllo, serve da controllo procedurale interno, indicando che è stato utilizzato il giusto volume di campione e che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Strep A inclusi contagocce monouso: ogni cassetta contiene coniugati colorati e reagenti prerivestiti sulle zone corrispondenti della membrana.
- 1 flacone di reagente 1: nitrato di sodio 1,0 M (7 ml):
Tossico
 H301: Tossico se ingerito
- 1 flacone di reagente 2: 0,4 M acido acetico (7 ml).
- 20 provette d'estrazione con tappo contagocce
- 1 flacone di controllo positivo: Streptococchi non vitali del gruppo A; 0,09% azoturo di sodio (1 ml)
- Supporto per provette
- Ulteriori materiali forniti secondo 93/42/EEC:

20 tamponi sterili per il prelievo faringeo CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (rappresentante autorizzato EU EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- Istruzioni d'uso

5. Altri materiali necessari

- Timer

6. Conservazione e stabilità

Conservare i test a 2- 30°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Conservare i test non utilizzati, nella confezione di vendita. Non congelare. Adottare le dovute precauzioni per evitare il rischio di contaminazione. Non utilizzare i test se questi ultimi dovessero risultare contaminati o danneggiati. Contaminazione biologica derivata dall'utilizzo di materiali e contenitori inappropriati potrebbe condurre a falsi risultati.

7. Avvertenze e precauzioni

- Riservato esclusivamente all'utilizzo professionale. Diagnostica *in-vitro*.
- Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il test dopo la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test nel caso in cui la confezione risulti danneggiata.
- Prodotto monouso.
- Non versare i campioni sulla zona di reazione.
- Non toccare la zona di reazione o di immersione per evitare contaminazione.
- Evitare la contaminazione incrociata di campioni utilizzando uno strumento di estrazione e una pipetta diversa per ciascuna operazione.
- Non mischiare o sostituire componenti provenienti da lotti differenti. Non mischiare i tappi dei contagocce.
- Non mischiare i tappi dei flaconi dei reagenti.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono manipolati i campioni e i reagenti.
- Indossare indumenti protettivi come i camici da laboratorio, guanti usa e getta e una protezione per gli occhi quando vengono testati i campioni.
- Rispettare gli standard riguardanti la manipolazione degli agenti infettivi e dei reagenti chimici durante tutte le fasi della procedura. Tutto il materiale contaminato come i tamponi e le strisce del test NADAL® Strep A deve essere eliminato correttamente.
- Il kit di test contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o stato di salute degli animali non garantisce completamente contro il rischio di trasmissione di agenti patogeni. È, pertanto, raccomandabile che questi prodotti vengano considerati potenzialmente infettivi e trattati in accordo con le comuni precauzioni (es. Non ingerire o inalare).
- Utilizzare unicamente tamponi sterili in plastica Dacron o Rayon come quelli forniti. Non utilizzare bastoncini in legno, con estremità in cotone o contenenti alginato di calcio.

- Non utilizzare il tampone in caso di danneggiamento della confezione.
- I reagenti d'estrazione 1 e 2 sono leggermente caustici. Evitare il contatto con gli occhi o le mucose. In caso di contatto accidentale, sciacquare abbondantemente con acqua.
- I controlli positivi contengono un acido che può reagire con le tature in piombo o rame e formare acidi metallici potenzialmente esplosivi. Quando queste soluzioni vengono eliminate, sciacquare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di acido.
- L'umidità e le alte temperature possono alterare i risultati
- Smaltire i materiali utilizzati in accordo con le regolamentazioni locali.

8. Raccolta e preparazione del campione

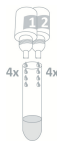
Raccogliere i tamponi faringei secondo i metodi clinici standard. Spingere in basso la lingua del paziente utilizzando una spatola o un cucchiaino. Si raccomanda di prestare attenzione, durante la raccolta di campioni faringei, che la lingua, le pareti interne della bocca e le gengive non entrino in contatto con il tampone per evitare che venga contaminato con la normale flora batterica della bocca. Non sfregare ripetutamente l'estremità del tampone sulla gola, le tonsille o su altre aree infiammate o purulente. Si consiglia di procedere all'analisi dei campioni il prima possibile dopo la raccolta. Se i tamponi non vengono analizzati immediatamente devono essere messi in una provetta o in un flacone sterile, asciutto, ben chiuso e conservati in frigorifero. Non congelare. I tamponi possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30°C) fino a 4 ore o in frigorifero fino a 3 giorni (2-8°C). Non utilizzare recipienti contenenti conservanti. Questi potrebbero interferire con l'analisi e la sopravvivenza degli organismi. Se si desidera procedere ad una coltura di batteri, strisciare leggermente il tampone su una piastra di agar con sangue di pecora al 5% prima di utilizzare il test. I reagenti di estrazione uccidono i batteri presenti sui tamponi e rendono la coltura impossibile. In alternativa, successivamente un secondo tampone di campione può essere utilizzato per la procedura di coltura di batteri.

9. Procedura del Test

Portare i test, i campioni, i reagenti e/ controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test. Per evitare contaminazioni, evitare il contatto tra le estremità dei flaconi contenenti i reagenti, i tamponi di raccolta e i tubi di estrazione

1. Preparazione dei tamponi:

- Posizionare un tubo di estrazione pulito sul piano di lavoro designato. Aggiungere 4 gocce di reagente 1 nel tubo di estrazione e poi 4 gocce di reagente 2. Per assicurarsi che venga dispensata la giusta quantità di gocce, mantenere il flacone contagocce in posizione verticale. Mescolare la soluzione facendo ruotare delicatamente il flacone di estrazione.
- Immergere immediatamente il tampone nel flacone contenente la soluzione. Con un movimento circolare ruotare il



tampone contro le pareti del flacone per fare in modo che il liquido raccolto venga ben estratto e possa riassorirsi.

- Lasciare agire la soluzione per 1-2 minuti a temperatura ambiente poi premere il tampone contro le pareti del flacone in modo che venga espulso quanto più liquido possibile. Smaltire il tampone nel rispetto delle norme per il trattamento di agenti infettivi.
2. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione e posizionarlo su una superficie piana e pulita. Utilizzare il test immediatamente. Etichettare il test a cassetta con l'identificativo del paziente. I migliori risultati saranno ottenuti se il test viene eseguito entro un'ora.
 3. Utilizzando il contagocce fornito, versare 3 gocce della soluzione estratta (circa 120 µL) dal tubo di estrazione nel pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta.

Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto di raccolta del campione (S) e non aggiungere alcuna soluzione all'area di risultato.

Appena il test comincia a funzionare si noterà una migrazione di colore lungo la membrana.

4. Attendere la comparsa di una linea o linee colorate. I risultati vanno letti entro 5 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 10 minuti.

10. Interpretazione dei risultati

Positivo

Compaiono due linee colorate, una in corrispondenza dell'area della linea di controllo (C) ed una in corrispondenza dell'area della linea del test (T).



Negativo

Appare solo una linea colorata nella zona (C) di controllo del test. Nessuna linea colorata risulta visibile nella zona (T) del test.



Invalido

Se la linea (C) di controllo del test non compare, il test non è valido. Eseguire un nuovo test utilizzando un nuovo dispositivo a cassetta. Se il problema persiste contattare il vostro distributore.



Nota bene:

L'intensità di colore della linea del test (T) può variare in base alla concentrazione dell'analita presente nel campione.

Pertanto qualsiasi sfumatura di colore visibile nell'area del test (T) va considerata positiva. Si prega di tenere presente che questo è un test qualitativo e quindi non in grado di determinare la concentrazione di analita nel campione. Un volume di campione insufficiente, tecniche procedurali scorrette o l'utilizzo di test scaduti sono tra le cause più comuni per la mancata comparsa della linea di controllo.

Dopo l'interpretazione dei risultati del test, smaltire i test immediatamente nel rispetto delle norme per il trattamento di agenti potenzialmente infettivi.

11. Controllo di qualità

Un controllo procedurale interno è incluso nel test. La linea colorata che compare in corrispondenza dell'area della linea di controllo (C) funge da controllo procedurale interno a riprova del fatto che è stato utilizzato il corretto volume di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e che sono state impiegate le giuste tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* raccomanda l'uso di strumenti di controllo per assicurare il corretto funzionamento del kit utilizzato. A tale scopo un controllo positivo contenente Streptococco del gruppo A sterilizzato è fornito con ogni kit.

Procedura per l'esecuzione del controllo positivo esterno:

1. Aggiungere 4 gocce di reagente d'estrazione n°1 e 4 gocce di reagente d'estrazione n°2 nella provetta d'estrazione.
2. Mescolare accuratamente il controllo positivo agitando vigorosamente il flacone. Aggiungere una goccia (1) di controllo positivo nella provetta.
3. Inserire un tampone sterile nel flacone e ruotarlo. Lasciare agire il tampone per 1 minuto. Estrarre il liquido dal tampone premendo quest'ultimo contro le pareti interne del flacone di estrazione. Smaltire poi il tampone.
4. Continuare come descritto al punto 2 del paragrafo "Procedura del Test" Se il controllo non produce un risultato positivo, interrompere l'utilizzo dei test. In tal caso si consiglia di ripetere un nuovo controllo o contattare il proprio distributore.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Strep A è pensato esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro* e va utilizzato unicamente per la rilevazione qualitativa dello streptococco del gruppo A. Non è attribuibile alcun significato all'intensità di colore o alla larghezza delle linee comparse.
- L'accuratezza del test dipende dalla qualità del campione. Risultati erroneamente negativi possono essere dovuti a errori nella raccolta e conservazione dei campioni. Si può avere un risultato negativo nella fase iniziale dell'infezione, in ragione della bassa concentrazione di antigeni.
- Il test NADAL® Strep A non fa distinzione fra i portatori asintomatici dello streptococco gruppo A e i soggetti infetti. Se i risultati e i sintomi clinici non concordano con i risultati del test di laboratorio si raccomanda di eseguire il test con metodo culturale.
- In rari casi i tamponi del test fortemente colonizzati dallo *Staphylococcus aureus* possono dare falsi positivi.
- Infezioni respiratorie, incluse faringiti, potrebbero essere causate da streptococchi di altri sierogruppi o da altri

patogeni. Un risultato negativo del test Strep A non esclude infatti, in fezioni causate da altri microrganismi patogeni.

- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi clinica definitiva non può basarsi solamente sui risultati del singolo test ma deve tener conto di tutti i risultati clinici e biologici.

13. Risultati attesi

Si stima che circa il 19% del totale delle infezioni del tratto respiratorio alto sia dovuto allo streptococco di gruppo A. Tali infezioni sono più frequenti in inverno e all'inizio della primavera e il contagio dipende principalmente dal fatto che i pazienti vivono in aree fortemente popolate.

14. Caratteristiche tecniche

Studio Comparativo

Tabella: NADAL® Strep A Test vs. coltura

È stato condotto uno studio comparativo tra il test NADAL® Strep A ed una coltura convenzionale. I campioni faringei sono stati prelevati da bambini ed adulti che presentavano sintomi di faringite. I tamponi sono stati prelevati utilizzando il metodo dell'inoculazione (piastre agar) e per essere testati con il test NADAL® Strep A.

Le colonie beta-emolitiche sulle piastre agar sono state determinate come Streptococcus gruppo A utilizzando il metodo della tipizzazione sierologica dei gruppi di streptococchi. Durante l'analisi dei campioni clinici non è stata effettuata alcuna quantificazione.

I risultati sono presentati nella seguente tabella:

		Test NADAL® Strep A		
		+	--	Totale
Coltura	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Totale	86	158	244

Sensibilità relativa: 97.6% (91.7%-99.7%)*

Specificità relativa: 97.5% (93.7%-99.3%)*

Accordo generale: 97.5% (94.7%-99.1%)*

*95% Intervallo di confidenza

Sensibilità

Sono stati esaminati 8 ceppi differenti di Strep A (Numeri ATCC: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) a livelli differenti utilizzando il test NADAL® Strep A. Sono stati ottenuti risultati positivi per livelli di almeno 1.5×10^5 organismi/tamponi per tutti i ceppi indicando che il test NADAL® Strep A è sensibile ai batteri dello streptococco del gruppo A.

Effetto Prozona

Non è stato rilevato alcun effetto avverso alla formazione della linea del test T per concentrazioni di Strep A fino a 1.0×10^9 organismi per tampone.

Specificità

Sono stati realizzati studi di reattività incrociata per il test a cassetta Strep A NADAL® con diversi batteri individuabili nelle vie respiratorie. I seguenti ceppi sono stati testati alla concentrazione di 1×10^7 batteri/tamponi e trovati negativi in tutti i casi.

Organismo	ATCC No.	Organismo	ATCC No.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus*</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

- Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
- Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 BN

* In rari casi, una forte colonizzazione di *Staphylococcus aureus* potrebbe portare a falsi risultati positivi (vedere il paragrafo "12. Limiti del test").

Physician Office Laboratory (POL)

È stata condotta una valutazione del test NADAL® Strep A in tre diversi laboratori medici utilizzando una serie di campioni codificati contenenti controlli negativi, bassi positivi e medio positivi. Ogni livello del campione è stato testato in ogni laboratorio per cinque volte in cinque giorni. Lo studio ha mostrato più del 99% di accordo (>99.9%) con i risultati attesi.

Interferenza

È stata analizzata una varietà di medicinali per la tosse e colluttori con concentrazioni dell'1%. Nessuno di questi ha mostrato alcuna interferenza con i risultati del test.

Variabilità inter ed intra lotto

Sono stati analizzati tre lotti indipendenti con controlli negativi, bassi, medi ed alti positivi in 10 determinazioni successive. Non sono stati ottenuti risultati inaspettati o inconsistenti indicando che la variabilità inter ed intra lotto è bassa.

15. Bibliografia

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar; 69(3):284-7.
- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.

1. Zastosowanie

Test NADAL® Strep A jest szybkim wizualnym testem immunologicznym do jakościowego, przypuszczalnego oznaczania antygenów grupy A (Strep A) w ludzkich próbkach wymazu z gardła. Test przeznaczony jest jako środek pomocniczy przy diagnozie infekcji Strep A u pacjentów, którzy wykazują typowe objawy. Test przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne


Beta-hemolizujące Streptokoki grupy A są jedną z głównych przyczyn infekcji górnych dróg oddechowych, takich jak zapalenie migdałków, zapalenie gardła i szkarlatyna. Okazało się, że wczesna diagnoza oraz leczenie zapalenia gardła, spowodowanego Strep A, zmniejsza silne objawy oraz inne komplikacje, jak gorączka reumatyczna lub kłębuszkowe zapalenie nerek.

Konwencjonalne metody oznaczania infekcji Strep A zawierają izolację oraz następującą identyfikację organizmów, co przeważnie trwa od 24 do 48 godzin. Najnowsze postępy technik immunologicznych do oznaczania antygenów Strep A bezpośrednio z wymazu z gardła, umożliwiając lekarzowi bezwzględnie diagnozę lub leczenie.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Strep A umożliwia oznaczenie antygenów streptokoków grupy A poprzez wizualną interpretację rozwoju kolorów na wewnętrznym pasku testowym. Przeciwciała przeciwko Strep A unieruchomione są w obszarze linii testowych membrany. Podczas badania próbka reaguje z poliklonalnymi przeciwciałami przeciwko Strep A, które sprzegają się z kolorowymi cząsteczkami i powleczone są na płytce testu kasetowego. Mieszanina wędruje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi w interakcję z odczynnikami znajdującymi się na membranie. Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość antygenów Strep A, to w obszarze linii testowych membrany pojawi się kolorowa linia. Pojawienie się tej kolorowej linii wskazuje na wynik pozytywny, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny. Pojawienie się kolorowych linii w obszarze linii kontrolnych (C) służy, jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dostarczona została wystarczająca ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 testów kasetowych NADAL® Strep A łącznie z jednorazowymi pipetami:
Każdy test kasetowy zawiera kolorowe koniugaty oraz reaktywne odczynniki, które są powleczone w odpowiednich obszarach membrany.
- 1 butelka odczynnika 1: 1,0 azotynu sodowego M (7 ml)
 Niebezpieczeństwo
H301: Działa toksycznie po połyknięciu
- 1 butelka odczynnika 1: 0,4 kwasu octowego M (7 ml)
- 1 butelka pozytywnej kontroli +: niezdołne do życia Streptokoki grupy A; 0,09% azydoku sodu (1 ml)
- 20 próbek ekstrakcyjnych wraz zakraplaczami
- 1 statyw na próbki
- Materiał dodatkowy, dostarczony zgodnie z dyrektywą 93/42/EWG:

20 sterylnych wacików wymazu CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (upoważniony reprezentant w UE EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Test może być przechowywany w zamkniętym opakowaniu foliowym w temperaturze 2-30°C, do podanej daty użyteczności. Kasetka testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Testu nie należy zamrażać. Test i komponenty testu należy chronić przed zanieczyszczeniem. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub próbek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie należy używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie należy pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego.
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych. Nie zamieniać zakraplaczy.
- Nie jeść, nie pić lub nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonego patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane, jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. *nie wdychać i nie połykać*).
- Używać tylko sterylnych wacików Darcon lub Rayon z plaskitowym uchwytem, jak te, które zostały dostarczone. Nie używać wacików z alginianem wapnia lub wacików z drewnianym uchwytem.

- Odczynniki 1 i 2 są lekko żrące. Unikać jakiegokolwiek kontaktu z oczami lub błonami śluzowymi. Podczas przypadkowego kontaktu, dokładnie przemyć dużą ilością wody.
- Kontrola pozytywna zawiera azydek sodu, który reaguje z przewodnikami ołowiu lub miedzi do potencjalnie eksplodujących azydów metalu. W momencie utylizacji roztworów, należy dokładnie przepłukać wodą, aby zapobiec nadmiernemu nagromadzeniu się azydów. Unikać jakiegokolwiek kontaktu z oczami lub błonami śluzowymi. Podczas przypadkowego kontaktu, dokładnie przemyć dużą ilością wody.
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobrać wymaz z gardła zgodnie ze standardowymi metodami klinicznymi. Pocierać wacikiem po tylnej części gardła, migdałkach i innych zapalonych obszarach. Trzeba zwrócić uwagę, aby język, policzki oraz zęby nie miały kontaktu z wacikiem.

Zaleca się przebadanie próbek wymazu, bezpośrednio po jego pobraniu. Jeżeli próbka wymazu nie zostanie bezpośrednio przebadana, to należy pozłożyć ją do sterylnej i dobrze zamkniętej probówki lub butelki, a następnie schłodzić. Nie należy zamrażać wacika wymazu. Waciki wymazu mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-30°C) do 4 godzin lub schłodzone (2-8°C) do 24 godzin. Wszystkie próbki muszą zostać przywrócone do temperatury pokojowej (15-30°C) przed przeprowadzeniem testu.

Nie wkładać wacika wymazu do pojemnika transportowego, który zawiera substancje ciekłe lub podłoża transportowe z agarem lub węglem drzewnym. Jeżeli podłoża transportowe jest wymagane, zaleca się zastosowanie modyfikowanego podłoża transportowego typu Stuart's, zgodnie z zaleceniem producenta. Jeżeli kultura bakterii jest wymagana, to przed użyciem testu, należy potrzeć wacik o 5-cio % płytkę agarową z krwią owczą. Odczynniki ekstrakcyjne w teście zabijają bakterie na waciku, co powoduje, że później nie można już założyć kultury z wacika.

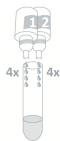
9. Przeprowadzanie testu

Doprowadzić wszystkie testy, próbki, odczynniki i/oraz kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

W celu uniknięcia kontaminacji, należy uważać, by końcówka fiołki z odczynnikiem nie stykała się z wymazem.

1. Przygotowanie próbek wymazu

- Umieścić czystą rurkę ekstrakcyjną na stojaku. Dodać 4 krople odczynnika 1 do rurki ekstrakcyjnej. Następnie dodać 4 krople odczynnika 2. Aby zagwarantować dokładną wielkość kropli, trzymać pionowo podczas zakraplania odczynników butelkę z zakraplaczem. Wymieszać roztwór przez ostrożne pochylanie rurki ekstrakcyjnej.
- Niezwłocznie wprowadzić wacik wymazu do rurki. Obracać wacik okrągłymi



ruchami przeciwko ściance rurki tak, aby wycisnąć jak najwięcej próbki. Powtórzyć proces przynajmniej 5 razy.

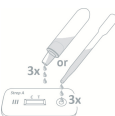
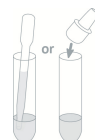
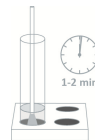
- Pozostawić roztwór na 1-2 minuty, następnie wycisnąć wacik o rurkę tak, aby wydobyć jak najwięcej cieczy z wacika. Zutylizować wacik zgodnie ze standardowymi przepisami dotyczącymi zakaźnych czynników.

2. Wyciągnąć kasetę testową NADAL® Strep A z zamkniętego opakowania foliowego i położyć na czystą i równą powierzchnię. Kasetę testową musi być użyta bezpośrednio lub w przeciągu jednej godziny po otwarciu opakowania foliowego. Oznaczyć kasetę testową z danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną. W celu osiągnięcia najlepszego wyniku, test powinien zostać wykonany w ciągu jednej godziny.

3. Dodać 3 krople (ok. 120 µl) wyekstrahowanego roztworu z rurki ekstrakcyjnej, do zagłębienia na próbkę w kasecie testowej przy pomocy zakraplacza lub pipety jednorazowej.

Unikać przy tym wytwarzania się pęcherzy powietrza w zagłębieniu próbki.

4. Początek na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik należy interpretować po upływie 5 minut. Po upływie 10 minut nie interpretować wyniku.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny

Na membranie pojawiają się w kolorowe linie. Jedna linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawia się w obszarze linii testowej (T).



Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia.



Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone. W takim przypadku ponownie zapoznać się z procedurą przeprowadzania testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowego testu. W momencie, gdy problem będzie



występował ponownie, nie stosować zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Wskazówka:

Intensywność kolorów w obszarze linii testowych (T) może różnić się, w zależności od stężenia analitów, które zawarte są w próbce. Dlatego każdy odcień w obszarze linii testowych (T) powinien być traktowany jako wynik pozytywny. Należy mieć na uwadze, że jest to test jakościowy. Test nie może określać stężenia analitów w próbce.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

Po interpretacji wyników testu, zużyte testy powinny zostać zutilizowane zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi materiałów skażonych.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę:

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna (GLP) zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego. Kontrola pozytywna, zawierająca inaktywowane ciepłem Streptokoki grupy A, została załączona do tego zestawu testowego.

Przeprowadzenie zewnętrznego badania dla kontroli pozytywnej:

- Do rurki ekstrakcyjnej dodać 4 krople odczynnika 1 i 4 krople odczynnika 2.
- Dobrze wymieszać kontrolę pozytywną, mocno potrząsając buteleczką. Dodać 1 kroplę kontroli pozytywnej do próbki ekstrakcyjnej.
- Wprowadzić czysty i sterylny wacik do rurki i obrócić go. Pozostawić wacik na jedną minutę w rurce ekstrakcyjnej. Później wycisnąć ciecz z końcówki wacika, w taki sposób, aby obracać wacik o wnętrze rurki i ścisnąć rurkę podczas wyciągania wacika. Zutilizować wacik.
- Kontynuować, jak jest to opisane w punkcie 2 "Przeprowadzenie testu".

Jeżeli kontrola nie dostarczy pozytywnego wyniku, nie używać testu. Powtórzyć pozytywną kontrolę lub skontaktować się z dystrybutorem.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Strep A przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro* i ma służyć wyłącznie do jakościowego oznaczania Streptokoków grupy A. Żadnego znaczenia nie mają tutaj intensywność linii lub szerokość widocznych linii.
- Dokładność testu zależna jest, od jakości próbki wymazu. Falszywie pozytywne wyniki mogą występować z powodu niewłaściwego pobrania próbki lub niewłaściwego przechowywania próbki. Na początku choroby u chorych pacjentów mogą wystąpić wyniki negatywne, jeżeli nie

występuje jeszcze wystarczające stężenie antygeny w próbce.

- Test NADAL® Strep A nie rozróżnia pomiędzy asymptomatycznymi nosicielami streptokoków grupy A, a osobami z symptomatyczną infekcją. Jeżeli kliniczne oznaki i symptomy nie są zgodne z wynikami laboratorium, zaleca się założyć hodowlę kultury wymazu z gardła.
- W nielicznych przypadkach próbki wymazu mogą być silnie osiedlone *Staphylococcus aureus* i wywoływać fałszywie pozytywny wynik.
- Jak przy wszystkich testach diagnostycznych, ostateczna diagnoza kliniczna, nie może być oparta na wynikach jednego testu, tylko musi być poddana ocenie lekarza, uwzględniając kolejne kliniczne i laboratoryjne wyniki.

13. Oczekiwane wartości

Wiadomo, że ok. 19% wszystkich infekcji górnych dróg oddechowych wywoływane jest przez Streptokoki grupy A. Takie infekcje spotykane są w szczególności zimą oraz w okresie przedwiosennym. Najwięcej przypadków występuje u pacjentów, którzy mieszkają na gęsto zaludnionych terenach.

Infekcje dróg oddechowych, łącznie z zapaleniem gardła, mogą być spowodowane przez Streptokoki innych serogrup niż grupy A, jak również przez inne zarazki.

14. Charakterystyka testu

Badanie korelacji

Tabela: Test NADAL® Strep A vs. kultura

Przeprowadzone zostało badanie korelacji pomiędzy testem NADAL® Strep A, a konwencjonalną kulturą. Pobrane zostały próbki wymazu z gardła od dzieci i dorosłych z objawami zapalenia gardła. Waciki zastosowane zostały do posiewu kultur (agarowych płytek krwi) oraz badania testem NADAL® Strep A.

Beta-hemolizujące kolonie z agarowych płytek krwi zostały oznaczone, przy użyciu serologicznego oznaczania Streptokoków grupy A. Strep A został zapisany, jako obecny lub nieobecny. Kwantyfikacje nie zostały przeprowadzone przy użyciu klinicznych próbek.

		Test NADAL® Strep A		
		+	--	Łącznie
Kultura	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Łącznie	86	158	244

Relatywna czułość: 97,6% (91,7%-99,7%)*

Relatywna swoistość: 97,5% (93,7%-99,3%)*

Ogólna zgodność: 97,5% (94,7%-99,1%)*

*95% przedział ufności

Badania na temat czułości

8 różnych szczepów Strep A (Numer ATCC: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) o różnych koncentracjach zostało przebadanych przy zastosowaniu testu NADAL® Strep A.

Pozytywne wyniki, które przy koncentracji przynajmniej $1,5 \times 10^5$ organizmów/wymaz wynikają dla wszystkich

szczępów, wskazują na to, że test NADAL® Strep A jest czuły na bakterie Streptokoków grupy A.

Badanie swoistości

Badania na temat reakcji krzyżowych z organizmami, które z dużym prawdopodobieństwem mogą zostać znalezione w układzie oddechowym, zostały przeprowadzone przy użyciu testu NADAL® Strep A. Następujące organizmy zostały przebadane przy koncentracji 1×10^7 organizmów/wymaz i wykazały negatywne wyniki.

Organizm	Nr ATCC	Organizm	Nr ATCC
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus*</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

* W nielicznych przypadkach silna kolonizacja *Staphylococcus aureus* może prowadzić do fałszywie pozytywnych wyników (patrz 12 "ograniczenia testu").

Badania w laboratoriach przychodni lekarskich

Ewaluacja testu NADAL® Strep A została przeprowadzona w laboratoriach trzech przychodni lekarskich, przy zastosowaniu panelu zakodowanych próbek wraz z kontrolą negatywną oraz nisko i średnio pozytywnymi próbkami. Każde stężenie próbki zostało zbadane w 5 replikatach w każdej lokalizacji, w okresie 5 dni. Badania wykazały zgodność na poziomie >99,9% z oczekiwanymi wynikami.

Badanie interferencyjne

Różne środki na ból gardła (krople na kaszel) oraz płyn do płukania ust zostały przetestowane przy stężeniu 1%. Żaden z nich nie wpłynął na wyniki testów.

Różnorodność serii śródtestowych i międzetestowych

Trzy różne serie zostały przebadane negatywnymi, niskimi, średnio i wysoko pozytywnymi kontrolami z 10-ciokrotnym oznaczeniem. Nie otrzymano nieoczekiwanych lub niezgodnych wyników, co świadczy o tym, że różnorodność śródtestowa i międzetestowa serii jest niska.

15. Bibliografia

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
- Gupta R, Talwar GP, Gupta SK. Rapid antibody capture assay for detection of group-A streptococci using monoclonal antibody and colloidal gold-mono-specific polyvalent antibody conjugate. J Immunoassay. 1992; 13(3): 441-55.
- Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 971-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 AM

1. Uso Previsto

O teste cassette NADAL® Strep A é um método imunocromatográfico para a determinação qualitativa rápida do antígeno do estreptococo do grupo A em amostras de esfregaço faríngeo. O teste foi desenhado para ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções por estreptococos A em pacientes que apresentem os sintomas típicos. O teste está concebido apenas para uso profissional.


2. Significado Clínico

O estreptococo beta-hemolítico do grupo A é uma das principais causas de infeções respiratórias como amigdalites, faringites e escarlatina. Um diagnóstico precoce e a cura de faringites causadas pelo estreptococo do grupo A permitem reduzir a gravidade dos sintomas e posteriores complicações como a febre reumática e a glomerulonefrite. Os métodos convencionais utilizados para identificar a doença consistem no isolamento e na sucessiva identificação do microrganismo. Estes métodos frequentemente exigem 24 a 48 horas. O recente desenvolvimento das técnicas imunológicas, capazes de detectar o antígeno do estreptococo do grupo A diretamente em esfregaços faríngeos, permite aos médicos efetuarem rapidamente o diagnóstico e administrar, portanto, a medicação apropriada.

3. Princípio do Teste

O teste cassette NADAL® Strep A permite a detecção do antígeno do estreptococo do grupo A através da interpretação visual do desenvolvimento da cor na tira de teste interna. Os anticorpos anti-estreptococo do grupo A estão imobilizados na região da linha de teste da membrana. Durante o teste, a amostra reage com anticorpos anti-estreptococo do grupo A conjugados com partículas coloridas e pré-revestidas na almofada de amostra da cassette de teste. A mistura migra então ao longo da membrana por ação capilar e interage com os reagentes que estão na membrana. Se houverem antígenos anti-estreptococo do grupo A suficientes na amostra, uma linha colorida irá formar-se na região da linha de teste da membrana. A presença desta linha colorida indica um resultado positivo, enquanto que a ausência indica um resultado negativo. O aparecimento de uma linha colorida na região da linha de controlo serve como controlo de procedimento, indicando que foi adicionado um volume de amostra adequado e que ocorreu a absorção na membrana.

4. Material Fornecido

- 20 testes cassette NADAL® Strep A, inclui pipetas descartáveis: cada teste cassette contém conjugados coloridos e reagentes reactivos pré-revestidos nas regiões correspondentes da membrana.
- 1 frasco reagente de 1: 1.0 M Nitrato de Sódio (7 ml)
 -  Tóxico
 - H301: Tóxico se ingerido
- 1 frasco reagente 2: 0.4 M Ácido Acético (7 ml)
- 1 frasco de Controlo Positivo +: Strep A não viável; 0.09% Azida de sódio (1 ml)
- 20 provetas de extração
- 1 suporte de plástico para os reagentes
- Material adicional fornecido de acordo com 93/42/EEC:
 - 20 cotonetes de garganta estéreis CE 0086
 - Puritan Medical Products Company LLC



31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (representante EU autorizado EMERGO EUROPE, Haia, Países Baixos)

- 1 manual de instruções

5. Outros materiais necessários

- Cronómetro

6. Conservação e prazo de validade

O teste deve ser armazenado a 2-30°C até ao fim da data de validade impressa na embalagem. O teste cassette deve ser conservado na embalagem selada até à sua utilização. Não congelar o teste. Devem ser tomadas medidas de precaução para proteger os componentes do kit de contaminações. Não utilizar o teste se houver evidências de contaminação microbiana ou de precipitação. Contaminação biológica por parte do material de pipetagem, recipientes ou reagentes podem originar falsos resultados.

7. Advertências e precauções

- Apenas para diagnóstico *in-vitro* profissional.
- Ler cuidadosamente o procedimento do teste antes de o utilizar.
- Não utilizar o teste após a data de validade impressa na embalagem.
- Não utilizar testes de embalagens danificadas.
- Não reutilizar os testes.
- Não adicionar amostras à zona de reação (área de resultado).
- De forma a evitar contaminação, não toque na área de resultado.
- Evite a contaminação cruzada de amostras utilizando um tubo de extração novo para cada amostra.
- Não substitua ou misture componentes de kits provenientes de lotes diferentes. Não misture pontas de micropipetas.
- Não trocar as tampas de diferentes frascos de reagentes de extração.
- Não coma, beba ou fume na zona onde as amostras e os testes estejam a ser manuseados.
- Utilize equipamento de proteção, tal como bata de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção, aquando do manuseamento de amostras.
- Manusear todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observar as precauções estabelecidas para risco microbiológico ao longo de todos os procedimentos e recomendações para a eliminação apropriada das amostras.
- O kit contém produtos de origem animal. Conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante por completo a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Recomenda-se portanto que esses produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos, e devem ser manuseados em conformidade com as precauções de segurança normais (ex.: não ingerir ou inalar).
- Utilize apenas cotonetes estéreis com ponta de Dacron ou Rayon de eixos plásticos, tal como os que são fornecidos. Não utilizar cotonetes com o cabo em madeira, com ponta de algodão ou de alginato de cálcio.
- Não utilizar cotonetes de embalagens danificadas.

- Os reagentes de extração 1 & 2 são ligeiramente cáusticos. Evitar contacto com os olhos ou membranas mucosas. Na eventualidade de contacto acidental, lavar abundantemente com água.
- Controlo positivo contém Azida de Sódio, a qual pode reagir com o cobre ou o chumbo das canalizações, originando azidas potencialmente explosivas. Aquando da eliminação desta solução, lavar abundantemente com água de forma a evitar a acumulação de azida. Evitar o contacto com os olhos ou mucosas membranares. No caso de contacto acidental, lavar abundantemente com água.
- A humidade e a temperatura podem afectar adversamente os resultados do teste.
- Material de teste utilizado deve ser eliminado de acordo com a regulamentação local.

8. Recolha e preparação da amostra

Recolha os esfregaços faríngeos através de métodos clínicos padrão. Esfregue a faringe posterior, amígdala e outras áreas inflamadas. Evitar tocar com o cotonete na língua, bochechas ou dentes.

Recomenda-se que as amostras recolhidas por esfregaço sejam analisadas o mais cedo possível após a colheita. Se o esfregaço não puder ser analisado imediatamente, o cotonete deve ser armazenado num tubo estéril, seco e bem selado ou numa garrafa e refrigerado. Não congelar os esfregaços. Os cotonetes podem ser armazenados à temperatura ambiente (15-30°C) durante 4 horas ou no frigorífico até 3 dias (2-8°C). Todas as amostras devem ser trazidas à temperatura ambiente (15-30°C) antes de serem utilizadas.

Não colocar as amostras em nenhum dispositivo que contenha um meio de transporte líquido ou que contenha ágar ou carvão. O meio de transporte pode interferir com o ensaio e com a viabilidade dos organismos. Se for necessário um meio de transporte recomenda-se o Meio de Transporte Modificado de Stuart como descrito pelas instruções do fabricante.

Se for necessária uma cultura de bactérias, o cotonete deve ser passado numa placa de ágar com 5 % de sangue ovino antes de o utilizar no teste. Os reagentes de extração irão matar as bactérias nos esfregaços, tornando-as assim inadequadas para cultura.

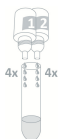
9. Procedimento do teste

Permitir que todos os testes, amostras, reagentes e/ou controlos atinjam a temperatura ambiente (15-30°C) antes da análise.

De modo a evitar contaminação cruzada, não permitir que as pontas das garrafas de reagentes entrem em contacto com os esfregaços das amostras ou com os tubos de extração.

1. Preparação do esfregaço

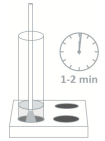
- Ponha um tubo de extração limpo na área destinada do suporte de reagente. Adicionar 4 gotas do reagente 1 ao tubo de extração, seguido de 4 gotas do reagente 2. De forma a garantir um tamanho de gota fiável aquando da adição dos reagentes, mantenha os frascos conta-gotas verticais. Mexa a solução, criando um pequeno vórtice no interior do tubo.



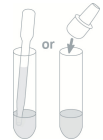
- Colocar o esfregaço, imediatamente após recolha da amostra, dentro do tubo de extração pressionando o cotonete contra a parede do tubo acompanhando com um movimento circular para que o líquido seja espremido e para que possa posteriormente ser reabsorvido. Repita este procedimento pelo menos 5 vezes.



- Mantenha o cotonete no tubo de extração à temperatura ambiente durante 1-2 minutos, em seguida esprema o cotonete com firmeza contra a parede do tubo, para retirar a maior quantidade possível de líquido do cotonete. Deite fora o cotonete de acordo com as recomendações para o manuseamento de agentes infecciosos.



- Retire a cassette de teste da embalagem e posicione-a sobre uma superfície plana. A cassette de teste deve ser utilizada imediatamente ou no máximo dentro de uma hora após a abertura da embalagem. Rotule a cassette de teste com a identificação do paciente ou do controlo. Para obter os melhores resultados, o teste deve ser utilizado dentro de uma hora.



- Transfira 3 gotas (aproximadamente 120 µL) da solução extraída com a pipeta descartável fornecida ou com a tampa conta-gotas para o orifício destinado à amostra na cassette de teste.



Evitar deixar bolhas de ar presas no orifício destinado à amostra (S) e não adicionar qualquer solução à área de resultados.

- À medida que o teste começa a fluir irá observar um líquido colorido a migrar ao longo da membrana. Espere pelo aparecimento da(s) linha(s) colorida(s). O resultado do teste deve ser lido após 5 minutos. Não interprete os resultados após mais de 10 minutos.



10. Interpretação dos resultados

Positivo

Aparecem duas linhas coloridas na membrana. Uma linha aparece na região da linha de controlo (C) e outra linha aparece na região da linha de teste (T). Isto indica que os antígenos *Streptococo A* foram encontrados na amostra.



Negativo

Apenas uma linha aparece na região da linha de controlo (C). Nenhuma linha aparentemente colorida aparece na região da linha de teste (T). Não foram detectados antígenos *Streptococo A*.



Inválido

Nenhuma linha aparece na região de controlo (C). Resultados de qualquer teste no qual não tenha aparecido uma linha de controlo no tempo de leitura, devem ser descartados. Por favor reveja o procedimento e repita o teste com uma nova casete de teste. Se o problema persistir, para imediatamente de utilizar este kit de teste e contacte o seu distribuidor local.



Nota:

A intensidade da cor na região da linha de teste pode variar com a concentração do analito presente na amostra. Portanto qualquer sombra na região da linha de teste deve ser considerada positiva. Note-se que se trata de um teste qualitativo e que não consegue determinar a concentração de analito na amostra.

Volume de amostra insuficiente, procedimento de operação incorreto ou testes fora da validade, são as causas mais comuns para o não aparecimento da linha de controlo.

Após os resultados terem sido interpretados, os testes usados devem ser eliminados imediatamente de acordo com a regulamentação local para materiais potencialmente infecciosos.

11. Controlo de qualidade

Um procedimento de controlo interno está incluído na casete de teste:

Uma linha colorida que aparece na região da linha de controlo (C) é considerada como procedimento de controlo interno. Este confirma se foi utilizado um volume suficiente de amostra, se a membrana foi molhada de forma adequada e se foi utilizado o procedimento correto.

As Boas Práticas de Laboratório (GLP) recomendam o uso de material de controlo de forma a assegurar um desempenho correto do teste. Em cada kit de teste é fornecido um controlo positivo contendo *Streptococcus* do grupo A mortos por aquecimento.

Procedimento de ensaio de controlo positivo

- Adicionar 4 gotas do reagente 1 e 4 gotas do reagente 2 a um tubo de extração.
- Mexer o controlo positivo, agitando vigorosamente o frasco. Adicione 1 gota do controlo positivo ao tubo de extração.
- Ponha um cotonete estéril no tubo e mexa criando um vórtice. Deixe o cotonete no tubo de extração durante 1 minuto. Então esprema o líquido do cotonete rolando-o contra a parede do tubo e espremendo-o à medida que o tira do tubo. Deite fora o cotonete.
- Continue como descrito no passo 2 do "Procedimento de Teste".
Se o controlo não der positivo, não utilize o teste com amostras. Repita o controlo de qualidade do teste ou contacte o seu distribuidor.

12. Limitações do teste

- O teste NADAL® Strep A destina-se apenas para utilização em diagnóstico *in-vitro* profissional e deve ser apenas utilizado na deteção qualitativa do *Streptococcus* do grupo

A. Não devem ser inferidos resultados a partir da intensidade da cor ou de qualquer linha aparente.

- A precisão do teste depende da qualidade do esfregaço. Falsos negativos podem ocorrer devido a colheita ou armazenamento impróprio da amostra. Um resultado negativo pode também ser obtido de pacientes no início da infeção devido à baixa concentração de antígenos.
- O teste NADAL® Strep A não diferencia portadores assintomáticos do *Streptococcus* do grupo A de portadores sintomáticos de infeção. Se os sinais clínicos e os sintomas não forem consistentes com os resultados de laboratório, recomenda-se um acompanhamento por cultura da garganta.
- Em alguns casos, esfregaços altamente colonizados com *Estafilococcus aureus* podem originar um falso positivo.
- Infeções respiratórias, incluindo faringite, podem ser causadas por *Streptococcus* de serogrupos que não o Grupo A, assim como por outros agentes patogénicos.
- Tal como em qualquer diagnóstico, os resultados obtidos neste teste devem ser utilizados juntamente com a restante informação à disposição do médico.

13. Resultados esperados

Estima-se que aproximadamente 19% de todas as infeções do trato respiratório superior são causadas pelo *Streptococcus* do Grupo A. Tais infeções são mais comuns no Inverno e início da Primavera, e a maioria dos casos de contágio são referentes a pacientes que vivem em áreas densamente habitadas.

14. Características de desempenho

Estudo de correlação

Tabela: Teste NADAL® Strep A vs. cultura

Foi realizado um estudo de correlação entre o teste NADAL® Strep A e um teste de cultura convencional. Os esfregaços faríngeos foram retirados de crianças e adultos com sintomas de faringite. Os cotonetes foram, de seguida, utilizados para inocular culturas (placa ágar sangue) antes da execução do teste NADAL® Strep A.

As colónias beta-hemolíticas da placa ágar sangue foram confirmadas como sendo *Streptococcus* do Grupo A através de confirmação serológica estreptocócica. O *Streptococcus* A foi registado como estando presente ou não presente durante a análise de amostras clínicas.

Durante a análise das amostras clínicas, não foram efectuadas quantificações.

Os resultados estão apresentados na tabela seguinte:

		Teste NADAL® Strep A		
		+	--	Total
Cultura	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Total	86	158	244

Sensibilidade relativa: 97.6% (91.7%-99.7%)*

Especificidade relativa: 97.5% (93.7%-99.3%)*

Acordo geral: 97.5% (94.7%-99.1%)*

*Intervalo de confiança de 95%.

Estudo da Sensibilidade

Examinaram-se 8 estirpes diferentes de Strep A (ATCC Números: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) em diferentes níveis com o Teste NADAL® Strep A. O limite de detecção do ensaio foi de pelo menos 1.5×10^5 organismos/esfregaço para todas as estirpes. Isto indica que o Teste NADAL® Strep A detecta múltiplas estirpes de Strep A com sensibilidade de confiança.

Estudo do Efeito Prozona

Não foi detectado nenhum efeito adverso na formação da linha-T para concentrações até to 1.0×10^7 organismos por esfregaço.

Estudo da Especificidade

Foram realizados estudos de reação cruzada para o teste cassete NADAL® Strep A com diversas bactérias individuais nas vias respiratórias. As seguintes estirpes foram testadas à concentração de 1×10^7 organismos/esfregaço e resultaram negativas em todos os casos.

Organismo	ATCC No.	Organismo	ATCC No.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus*</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

*Em casos raros, uma colonização elevada por Estafilococos aureus pode resultar num falso positivo (ver "12. Limitações").

Estudos em Laboratórios Médicos (LM)

Uma avaliação do teste NADAL® Strep A foi levada a cabo em três laboratórios Médicos, utilizando um painel de amostras codificadas contendo controlos negativos, amostras ligeiramente positivas e amostras mediamente positivas. Cada nível de amostra foi testado em réplicas de 20 cada, em cada sítio, durante um período de cinco dias. Houve uma

concordância >99.9% entre os resultados esperados e resultados obtidos.

Estudo de interferência

Um variedade de medicação para garganta inflamada (pastilhas para a tosse) e bochechos foram analisados em concentrações de 1%. Nenhum deles interferiu com a produção de resultados de teste corretos.

Variabilidade inter-lote e intra-lote

Testaram-se três lotes independentes com controlos negativos, amostras ligeiramente positivas e amostras mediamente positivas em 10 determinações seguidas. Não foram obtidos resultados inesperados nem inconsistentes, indicando que a variabilidade inter-lote e intra-lote é baixa.

15. Referências

- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
- Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
- Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
- Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
- Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
- Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 AL

1. Použití

Test NADAL® Strep A je rychlý, vizuální imunotest pro předběžné, kvalitativní stanovení antigenů *Streptokoka* skupiny A (Strep A) ve výtěru z krku u lidí. Test je určen k použití jako pomůcka při diagnostice infekce streptokoka A u pacientů vykazujících typické příznaky. Test je určen pouze pro profesionální použití.

2. Úvod


Beta-hemolotický *streptokok* skupiny A je hlavním příčinou infekcí horního dýchacího traktu, ke kterým patří angína, faryngitida a spála. Ukázalo se, že včasná diagnóza a léčba streptokokové faryngitidy snižuje závažnost symptomů a následných komplikací jako jsou revmatická horečka a glomerulonefritidy.

Konvenční metody detekce infekcí Strep A jsou závislé na izolaci a následné identifikaci tohoto organismu, což často vyžaduje 24 - 48 hodin. Nejnovější vývoj imunologických metod k detekci infekcí Strep A přímo z výtěru z krku umožňuje lékařům okamžitě diagnostikovat infekci Strep A a iniciovat léčbu.

3. Princip testu

Test NADAL® Strep A umožňuje detekci antigenů *streptokoka* skupiny A prostřednictvím vizuální interpretace barevných změn na testovacím proužku uvnitř testovací kazety. Protílátky proti Strep A jsou imobilizovány na membráně v oblasti testovací linie. V průběhu testu reaguje vzorek s polyklonálními protilátkami proti Strep A, které jsou konjugovány s barevnými částicemi a jsou předem naneseny do oblasti pro nanesení vzorku na testovací kazetě. Směs dále putuje membránou působením kapilárních sil a reaguje s reagenty na membráně. Pokud je ve vzorku dostatečné množství antigenů streptokoka A, zobrazí se barevná linie v oblasti testovací linie na membráně. Zobrazení této barevné linie znamená pozitivní výsledek, zatímco její nezobrazení znamená výsledek negativní. Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a potvrzuje správnou funkci membrány.

4. Reagencie a poskytovaný materiál

- 20 NADAL® Strep A testovacích kazet vč. jednorázových kapátek:
Každá testovací kazeta obsahuje barevné konjugáty a reaktivní reagencie, které jsou předem naneseny do odpovídajících oblastí membrány
- 1 lahvička Reagencie 1: 1.0 M dusitan sodný (7 ml)
 Nebezpečí
H301: Toxický při požití
- 1 lahvička Reagencie 2: 0.4 M kyselina octová (7 ml)
- 1 lahvička Pozitivní kontrola +: neživý Strep A; 0.09% azid sodný (1 ml)
- 20 extrakčních trubiček vč. špiček
- 1 pracovní stanice
- Další poskytnutý materiál podle 93/42/EEC:
20 sterilních tamponů pro výtěr z krku CE 0086
Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street



Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 návod k použití

5. Další potřebný materiál

- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Test by měl být skladován při 2-30°C do data expirace, které je uvedeno na ochranné fólii. Testovací kazeta musí zůstat až do použití v uzavřené ochranné fólii. Test nezmrazujte. Je třeba dbát na ochranu součástí sady před kontaminací. Test nepoužívejte pokud existují důkazy o mikrobiální kontaminaci nebo sražení. Biologická kontaminace kapátek, nádob nebo reagií může vést k nesprávným výsledkům.

7. Bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Test nepoužívejte po expirační době uvedené na obalu.
- Test nepoužívejte, je-li ochranná fólie testu poškozená.
- Jen k jednorázovému použití.
- Nenamážte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční zóny (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Zabraňte křížové kontaminaci vzorků použitím nové extrakční trubičky pro každý nový vzorek.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích kitů. Nezaměňujte špičky extrakčních trubiček.
- V místě provádění testu nejezte, nepijte ani nekuřte.
- Používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle v průběhu testování vzorků.
- Se všemi vzorky zacházejte tak, jako by byly infekční. Dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik v průběhu všech kroků testování a předpisy pro likvidaci vzorků.
- Testová sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo sanitárního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je proto doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potenciálně infekčními a zacházet s nimi v souladu s běžnými bezpečnostními opatřeními (např. nepolykat nebo nevdechovat)
- Používejte pouze dakronové či rayonové sterilní tampóny s plastovou tyčinkou, jako v případě přiložených tamponů. Nepoužívejte alginát vápenatý, tampóny s bavlněnou špičkou nebo dřevěnou tyčinkou.
- Reagencie 1 a2 jsou mírně žíravé. Zabraňte kontaktu s očima a sliznicemi. V případě kontaktu důkladně vypláchněte vodou.
- Pozitivní kontrola obsahuje azid sodný, který může reagovat s olověným nebo měděným potrubím a mohou tak vznikat potenciálně výbušné kovové azidy. Při likvidaci roztoku proto potrubí vždy propláchněte velkým množstvím vody, aby se zabránilo tvorbě azidů.
- Vlhkost a teplota může ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr vzorku a příprava

Výtěr z krku proveďte standardní klinickou metodou. Stěr proveďte ze zadní části hltanu, mandlí a ostatních zanícených oblastí. Zabraňte kontaktu tampónu s jazykem, zuby nebo vnitřní stranou tváře.

Doporučuje se testovat vzorek v co nejkratší době po odebrání. V případě, že stěry nejsou testovány okamžitě, měl by tampón se stěrem být umístěn v chladničce ve sterilní, suché, těsně uzavřené zkumavce nebo lahvi. Stěry nezmrazujte. Tampóny mohou být skladovány při pokojové teplotě (15-30°C) po dobu až 4 hodin, nebo chlazené (2-8°C) po 24 hodin. Všechny vzorky by měly před testováním dosáhnout pokojovou teplotu (15-30°C).

Tampóny nevkládějte do přepravních nádob, které obsahují transportní médium. Transportní médium může ovlivnit test a životaschopnost organismů, a není proto doporučováno. Je-li vyžadována bakteriální kultura, oťřete nejprve tampón o agarovou desku s 5% ovčí krví. Extrakční reagentie testu zabijí bakterie na tampónu a znemožní tak jejich další použití pro kulturu.

9. Provedení testu

Testy, vzorky, reagentie a/nebo kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojovou teplotu (15-30°C).

Abyste předešli křížové reakci, nedovolte, aby špičky lahviček s reagenty přišli do kontaktu se vzorky.

1. Příprava vzorků:

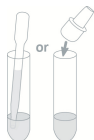
- Umístěte čistou extrakční trubičku na určené místo pracovní stanice. Naneste 4 kapky reagentie 1 do extrakční trubičky a následně naneste 4 kapky reagentie 2. Aby bylo dosaženo dostatečné velikosti kapky při přidávání reagentií, držte lahvičky při nakapávání svisle. Roztok promíchejte lehkým protřepáním extrakční trubičky.

- Okamžitě poté vložte tampón do extrakční trubičky. Tampónem otáčejte a závroveň jej tlačte proti stěně extrakční trubičky tak, aby z něj byla tekutina vytlačena a mohla být znovu absorbována.

- Nechte roztok odstát po dobu 1-2 minut při pokojové teplotě a následně tampón pevně přitlačte proti stěně trubičky, aby z něj bylo vytlačeno co nejvíce tekutiny. Zlikvidujte tampón dle předpisů o nakládání s infekčními prostředky.

- Vyjměte kazetu z ochranné fólie a položte ji na čistou, rovnou plochu. Testovací kazeta by měla být použita okamžitě nebo do jedné hodiny po otevření ochranné fólie. Poznamenejte na testovací kazetu identifikaci pacienta nebo kontroly. Pro získání nejlepších výsledků by test měl být proveden do jedné hodiny.

- Naneste 3 kapky (přibližně 120 µL) extrahovaného roztoku pomocí přiloženého jednorázového kapátka nebo špičky z extrakční trubičky do otvoru pro vzorek na testovací kazetě.



Zamezte utváření bublin v otvoru pro vzorek (S) a nepřidávejte žádný roztok do výsledkové oblasti.

- Výčkejte až se zobrazí barevná/barevné linie. Výsledek testu by měl být odečten po 5 minutách. Po 10 minutách výsledek testu už neodečítejte.



10. Interpretace výsledků

Positivní:

Dvě barevné linie se zobrazí na membráně. Jedna linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá linie se zobrazí v oblasti testovací linie (T).



Negativní:

Zobrazí se pouze jedna barevná linie v oblasti kontrolní linie (C). V oblasti testovací linie (T) se nezobrazí žádná viditelná barevná linie.



Neplatný:

Kontrolní linie se neobjeví. Výsledky z jakéhokoliv testu, na kterém se neutovořila kontrolní linie v určeném čase musí být znehodnoceny. Zrevidujte postup při testování a testování opakujte s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací kit a kontaktujte svého distributora.



Poznámka:

Intenzita barvy v oblasti testovací linie (T) se může lišit v závislosti na koncentraci analytu přítomného ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie by proto měl být považován za pozitivní výsledek. Berte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávný postup při testování nebo prošlý test jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie.

Po interpretaci výsledků by měly být použité testy okamžitě zlikvidovány v souladu s místními předpisy pro potencionálně infekční materiál.

11. Kontrola kvality

Interní procedurální kontrola je zahrnuta v testovací kazetě:

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je považována za interní, procedurální kontrolu. Potvrzuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku, že membrána funguje správně a že byl dodržen správný postup při testování.

Dobrá laboratorní praxe (GLP) doporučuje nasazení kontrol k ověření správné funkce testu. Pozitivní kontrola obsahující teplem inaktivované streptokoky skupiny A je součástí každého testovacího kitu.

Postup při externím testování kvality

- Nakapejte 4 kapky reagentie 1 a 4 kapky reagentie 2 do extrakční trubičky.
- Důkladně protřepejte lahvičku s pozitivní kontrolou. Přidejte 1 kapku pozitivní kontroly do extrakční trubičky.
- Vložte do zkumavky čistý, sterilní tampón a roztok promíchejte. Ponechte tampón v extrakční trubičce 1 minutu. Poté kapalinu z tampónu vymačkejte přitlačením a kruhovými pohyby tampónu proti stěně extrakční trubičky a stisknutím extrakční trubičky během vytahování tampónu. Tampón zlikvidujte.
- Pokračujte dle popsaného postupu v bodu 2 "Provedení testu".

V případě, že kontrola nepřinese pozitivní výsledek, nepoužívejte test se vzorkem. Zopakujte kontrolní testování nebo kontaktujte distributora.

12. Omezení

- Test NADAL® Strep A slouží pouze k profesionální *in-vitro* diagnostice a pouze pro kvalitativní detekci *streptokoka* skupiny A. Intenzita barevné linie ani její šířka nemá žádný vliv na výsledek testu.
- Přesnost testu závisí na kvalitě vzorku z výtěru. Falešně negativní výsledky se mohou objevit kvůli nesprávnému odebrání vzorku nebo nesprávnému skladování vzorku. Negativní výsledek se může objevit také u pacientů na počátku nemoci kvůli nízké koncentraci antigenů.
- Test NADAL® Strep A nerozlišuje mezi asymptomatickými přenašeči *streptokoka* skupiny A od jedinců se symptomatickou infekcí. Neshoduje-li se klinický náález a symptomy s výsledky laboratorního testu, je doporučeno udělat kulturu z výtěru z krku.
- V ojedinělých případech mohou výtěry silně kolonizované prostřednictvím *Staphylococcus aureus* zapříčinit falešně pozitivní výsledek.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po zvážení všech klinických i laboratorních náálezů.

13. Očekávané hodnoty

Je známo, že přibližně 19 % všech infekcí horních cest dýchacích je vyvoláno streptokoky skupiny A. Tyto infekce se vyskytují především v zimě a začátkem jara především v oblastech s vysokou hustotou obyvatelstva.

Infekce dýchacích cest, včetně faryngitidy, mohou být způsobeny streptokoky jiných skupin než A stejně tak jako dalšími patogeny.

14. Výkonnostní charakteristiky

Korelační studie

Tabulka Test NADAL® Strep A vs. kultura

Byla provedena korelační studie mezi testem NADAL® Strep A a konvenční kulturou. Byly provedeny výtěry z krku u dětí a dospělých, kteří vykazovali symptomy faryngitidy. Výtěry poté byly využity pro inokulaci kultur (krevní agar) a pro testování pomocí testu NADAL® Strep A.

Beta-hemolytické kolonie z krevního agaru byly stanoveny za použití serologických metod pro stanovení streptokokové skupiny jako *streptokoka* skupiny A. Streptokok A byl

zaznamenan jako přítomný nebo nepřítomný. Kvantifikace nebyla provedena při testování klinických vzorků.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

		Test NADAL® Strep A		
		+	--	Celkem
Kultura	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Celkem	86	158	244

Relativní senzitivita: 97,6% (91,7%-99,7%)*

Relativní specifita: 97,5% (93,7%-99,3%)*

Kelková shoda: 97,5% (94,7%-99,1%)*

*95% Interval spolehlivosti

Studie senzitivity

8 různých kmenů Strep A (ATCC čísla: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) bylo zkoumáno při různých koncentracích za pomoci testu NADAL® Strep A. Pozitivní výsledky získané při koncentraci alespoň 1.5×10^3 organismů/výtěr v případě všech kmenů prokazují, že test NADAL® Strep A je senzitivní vůči streptokokovým bakteriím skupiny A.

Studie specifity

Studie křížové reaktivity s organismy, které mohou být nalezeny v dýchacích cestách byly provedeny za použití testu NADAL® Strep A. Následující organismy byly testovány při koncentraci 1×10^7 organismů/výtěr a podaly negativní výsledky.

Organismus	ATCC No.	Organismus	ATCC No.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Streptokok B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

* V ojedinělých případech mohou výtěry silně kolonizované prostřednictvím *Staphylococcus aureus* zapříčinit falešně pozitivní výsledek (viz "12. Omezení").

Ordinačně-laboratorní (POL) studie

Test NADAL® Strep A byl prověřen v laboratořích tří různých ordinací za použití panelu zakódovaných vzorků stestávajícího z negativní kontroly, slabě pozitivních a silně pozitivních vzorků. Vzorek o každé koncentraci byl testován v 5 replikacích na každém stanovišti v průběhu pěti dní. Studia ukázala >99.9% shodu s očekávanými výsledky.

Studie interferencí

Byly testovány různé léky na bolesti v krku (kapky proti kašli) a ústní vody při koncentraci 1%. Žádné z nich neměly vliv na výsledky testu.

Inter-lot a intra-lot variabilita

Tři různé šarže byly testovány pomocí negativní, slabě pozitivní, středně pozitivní a silně pozitivní kontroly v 10-ti násobných stanovení. Nebyly získány žádné neočekávané nebo nekonzistentní výsledky, což znamená, že inter-lot a intra-lot variabilita je nízká.

15. Reference

1. Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
2. Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
3. Edwards EA, Phillips IA, Suiter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
4. Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
5. Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
6. Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 TF

1. Käyttötarkoitus

NADAL® Strep A testi on innumologinen pikatesti, joka havaitsee alustavasti ryhmän A *Streptococcus* antigenejä ihmisen nielunäytteestä. Testi on tarkoitettu apuvälineeksi streptokokki A tulehdusten määrittämiseen, erityisesti potilaille, joilla on tyyppisiä taudin aiheuttamia oireita. Testin on suunniteltu ammattilaiskäyttöön.

2. Johdanto ja kliiniset merkitykset


Beetaemolyttinen A-ryhmän *Streptococcus* on yleisin taudinaijettaja ylempien hengitysteiden infektioissa, kuten anginaassa, nielutulehduksessa ja tulirokossa. Varhainen diagnoosi ja hoito on osoittanut vähentävän vakavien oireiden määrää ja lisäsauroksia, kuten reumakuumetta ja munuaisvaurioita.

Perinteiset mentelmät streptokokki A tulehduksen havaitsemiseen perustuvat organismin eristämiseen ja tunnistamiseen, mikä yleensä kestää yhteensä 24-48 tuntia. Viimeaikainen kehitys immunologisissa menetelmissä, jotka havaitsevat streptokokki A-ryhmän antigeenjä suoraan nielunäytteestä, tukee lääkäreitä streptokokki A aiheuttamien tulehdusten diagnosoimisessa ja hoidon pikaisessa aloittamisessa.

3. Testiperiaate

NADAL® Strep A testi mahdollistaa A-ryhmän *Streptococcus* antigenien havaitsemisen testiliuskan testiviivojen kehittymisen avulla visuaalisesti. Anti-Strep A vasta-aineet ovat liikkumattomia kalvon testiviivan alueella. Testin aikana näyte reagoi polyklonaalisiin anti-Strep A vasta-aineisiin, jotka ovat konjugoituneet värillisiin partikkeleihin sekä esipäälystetty testiliuskan näytetyynnyyn. Seos imeytyy kalvoon kapillaarisesti ja se on vuorovaikutuksessa kalvon reagenssien kanssa. Mikäli Strep A antigenejä on tarpeeksi näytteessä, värillinen viiva muodostuu kalvon testialueelle. Värillisen viivan ilmestyminen viittaa positiiviseen tulokseen, kun taas sen puuttuminen viittaa negatiiviseen tulokseen. Kontrolliviivan ilmestyminen kontrollialueelle varmistaa testin oikeanlaisen suorittamisen ja näytetäänään lisäyksen.

4. Reagenssit ja pakkauksen mukana tulevat materiaalit

- 20 NADAL® Strep A testikasettia sis. pipetit:
Jokainen testikasetti sisältää värillisiä konjugaatteja ja reaktiivisia reagenssejä, jotka ovat päälystetty kalvon vastaaville alueelle.
- 1 pullo Reagenssi 1: 1.0 M natriumnitriittiä (7 ml)
Vaara
 H301: Myrkyllistä nieltynä
- 1 pullo Reagenssi 2: 0.4 M etikkahappoa (7 ml)
- 1 pullo positiivista kontrollia +: elotonta Strep A; 0.09% natriumatsidia (1 ml)
- 20 uuttoputkea sis. pipetilliset kannet
- 1 työasema
- Tarjotut lisämateriaalit 93/42/EEC direktiivin mukaan:
20 steriiliä näyteenkerääjää CE 0086
Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street
Guilford, Maine 04443-0149 USA (Valtuutettu EU-edustaja EMERGO EUROPE, Haag, Alankomaat)
- 1 käyttöohjeet

5. Muut tarvittavat lisämateriaalit

- Ajastin

6. Säilytys ja säilyvyys

Testit tulisi säilyttää 2-30°C:ssa merkittyyt eräpäivään asti, joka on merkitty pakkaukseen. Testikasetti tulee säilyttää alkuperäisessä pakkauksessa. Älä jäädytä testiä. Testipakkauksen komponenttejä tulisi suojata saastumiselta. Älä käytä testiä, jos mikrobi saastumisesta tai saostumisesta on todisteita. Annostelulaitteiden, säiliöiden tai reagenssien biologinen saastuminen saattaa johtaa vääriin tulokseen.

7. Varoitus ja varotoimet

- Vain ammattilaiskäyttöön *in-vitro* diagnostiikassa.
- Lue käyttöohjeet huolellisesti ennen testauksen aloittamista.
- Älä käytä testiä eräpäivän jälkeen, mikä on merkitty pakkaukseen.
- Älä käytä testiä, mikäli pakkaus on vahingoittunut.
- Vain kertakäyttöön
- Älä lisää näytettä tulosalueelle.
- Älä kosketa tulosaluetta tai imeytymisaluetta välttääksesi saastumista.
- Vältä näytteiden ristikkäinsekoittumista käyttämällä aina uutta uuttoputkea jokaiselle näytteelle.
- Älä vaihda tai sekoita toisten testikomponenttien kanssa keskenään.
- Älä sekoita reagenssipullojen kansia keskenään.
- Älä syö, juo tai polta alueella, jossa käsitellään näytteitä tai testipakkauksia
- Käytä suojavarusteita, kuten laboratorio vaatteita, kertakäyttöhanskoja ja silmäsuojuksia näytteiden käsittelyssä.
- Käsittele kaikki näytteet mahdollisina tartuntalähteitä. Tutki varotoimet mikrobiologisista riskeistä ja ohjeistukset kuinka hävitetään näytteet oikeaoppisesti.
- Testipakkaus sisältää eläinperäisiä tuotteita. Sertifioitu tiedonalkuperä ja/tai eläinten terveydentila ei täysin takaa tarttuvien patogeneenien poissaoloa. Tämän vuoksi suositellaan, että tuotteita käsitellään mahdollisina tartuntalähteinä ja käsiteltävä turvaohjeiden mukaisesti (esim. Älä syö tai hengitä).
- Käytä ainoastaan tarjottuja steriilejä dacron- tai rayon-kerkisiä näyteenkerääjiä, jotka tulevat materiaalien mukana. Älä käytä kalsiumalginaatti-, puuvilla- tai puukärkisiä näytetikkuja.
- Älä käytä näyteenkerääjiä vahingoittuneesta pakkauksesta.
- Reagenssit 1 & 2 ovat hieman syövyttäviä. Vältä kontaktia silmien ja limakalvojen kanssa. Onnettomuuden sattuessa, huuhtelee huolellisesti vedellä.
- Positiivinen kontrolli sisältää natriumatsidia, joka saattaa saattaa reagoida lyijyn tai kuparin kanssa muodostaen mahdollisesti räjähtäviä metallisideja. Kun näitä liuoksia hävitetään, huuhda aina runsaalla vedellä estääksesi atsidin muodostumista. Onnettomuuden sattuessa, huuhtelee huolellisesti vedellä.
- Kosteus ja lämpötila saattavat vaikuttaa tuloksiin.
- Käytetyt testimateriaalit tulisi hävittää paikallisten säädöksen mukaisesti.

8. Näytteen kerääminen ja käsittely

Kerää nielunäytteet kliinisillä standardi menetelmillä. Pyyhi alanelun, nielurisojen ja muilta tulehtuneilta alueilta. Vältä koskemasta kieleen, poskiin tai hampaisiin kerääjällä.

Nielunäytteet tulisi käsitellä mahdollisimman nopeasti keräyksen jälkeen. Mikäli kerääjiä ei käsitellä välittömästi, tulisi ne säilyttää sterilissä, kuivassa, tiiviisti suljetussa putkessa tai pullossa viileässä. Älä jäädytä kerääjiä. Kerääjät voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15-30°C) jopa 4 tuntia tai viileässä (2-8°C) jopa 24 tuntia. Kaikki näytteet tulisi tuoda huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testin suorittamista.

Älä laita näytteenkerääjiä nestemäiseen kuljetuselatusaineeseen, tai -elatusaineeseen, joka sisältää agarita tai puuhiiltä. Kuljetuselatusaine saattaa vaikuttaa määritykseen ja organismien elinkelpoisuuteen. Mikäli kuljetuselatusaine on tarpeellinen, suosittelemme käyttämään muunneltua Stuart-elatusainetta, jota valmistaja suosittelee ohjeistuksissa.

Mikäli bakteeriviljelmää vaaditaan, pyöritä kerääjää hieman 5%:ssa lampaan verimaljassa ennen sen käyttöä. Uuttoreagenssitestini suorittamisen yhteydessä tappaa kerääjän bakteerit ja täten tekee viljelyn mahdottomaksi uuttamisen jälkeen.

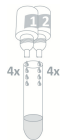
9. Testin suorittaminen

Tuo testit, näytteet, reagenssit ja/tai kontrollit huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testin suorittamista.

Vältä ristikkäiskontaminaatiota välttämällä reagenssipullojen kärkien koskettamista näytemateriaaleihin.

1. Käsittele näytteet:

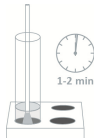
- Aseta puhdas uuttoputki työasemalle. Lisää 4 tippaa Reagenssi 1:stä uuttoputkeen, jonka jälkeen lisää 4 tippaa Reagenssi 2:sta. Varmistaaksesi yhdenmukaisen tipan koon reagenssin lisäyksen aikana, pidä pulloa ylösalaisin. Sekoita liuosta varovaisesti uuttoputkessa.



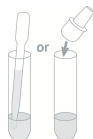
- Aseta näytteenkerääjä välittömästi uuttoputkeen. Sekoita pyörivillä liikkeillä sekä pyöritä kerääjää hieman uuttoputken sivuilla, jotta neste erittyi näytteenkerääjästä ja liukenee uuttoreagenssiin. Toista vähintään 5 kertaa.



- Anna liuoksen seistä 1-2 minuuttia huoneenlämmössä ja paina kerääjää tiukasti putken sisäpuolta vasten, jotta mahdollisimman paljon nestettä on puristettu pois kerääjästä. Hävitä kerääjä paikallisten turvallisuus- ja käsittelyohjeiden mukaisesti mahdollisten tartunta-aineiden välttämiseksi.



2. Poista testikasetti pakkauksesta. Merkitse testikasetti potilas- tai henkilötunnuskella. Varmistaaksesi tarkimman tuloksen, määritys tulisi suorittaa tunnin sisällä.



3. Siirrä 3 tippaa (noin 120 µL) uutetta seosta pipetin tai kannen avulla uuttoputkesta testikasetti näytekäivoön. **Vältä ilmakuplia näytekäivoon. Älä lisää mitään seosta tulosalueelle.**



Testin käynnistyessä, huomaat värillisen nesteen imeytyvän pitkin kalvoa.

4. Odota värillisen/ värillisten viivan/ viivojen ilmestymistä. Testin tulokset ovat luettavissa 5 minuutin jälkeen. Älä tulkitse tuloksia 10 minuutin jälkeen.



10. Tulosten tulkitseminen

Positiivinen:

Kaksi värillistä viivaa ilmestyy kalvolle. Yksi viiva ilmestyy kontrollialueelle (C) ja toinen viiva ilmestyy testialueelle (T). Tämä viittaa, että Streptokokki A antigeeniä on havaittu näytteessä.



Negatiivinen:

Vain yksi värillinen viiva ilmestyy kontrollialueelle (C). Havaittavaa värillistä viivaa ei ilmestyy tulosalueelle (T). Tulos viittaa, että Streptokokki A antigeeniä ei ole havaittu näytteessä.



Mitätön:

Kontrolliviivaa ei ilmestyy. Kaikki tulokset, joissa ei ilmestyy kontrolliviivaa määrätyn ajan kuluessa, tulee hävittää. Tarkista testin suorittaminen ja toista testi uudella liuskalla. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testin käyttö ja ota yhteyttä paikalliseen toimittajaan.



Huomio:

Testiviivan (T) värin voimakkuus saattaa vaihdella, riippuen analyttien pitoisuudesta näytteessä. Tämän vuoksi mikä tahansa testiviivan värin sävy tulisi tulkitä positiiviseksi tulokseksi. Huomioi, että tämä on laadullinen testi, jonka vuoksi analyttien pitoisuutta näytteessä ei voida määrittää.

Epäkelpo näytemäärä, vääränlainen testin suorittaminen tai vanhentuneiden testien käyttö voi johtaa kontrolliviivan puuttumiseen.

Testin tulosten tulkinnan jälkeen, käytetyt testit tulisi hävittää välittömästi mahdollisten tartunta-aineiden vuoksi paikallisten turvallisuus- ja käsittelyohjeiden mukaisesti.

11. Laadunvalvonta

Sisäisen laadunvalvonta sisältyy testiliuskaan. Värillisen viivan ilmestyminen kontrollialueelle (C) on sisäinen laadunvalvonta, joka varmistaa riittävän näytemäärän lisäyksen ja oikeanlaisen testin suorittamisen.

Hyvä laboratorio käytäntö (GLP) suosittelee käyttämään ulkoisia kontrollimateriaaleja oikeanlaisen testin suorituksen varmistamisen. Jokainen testipaketti sisältää positiivisen

kontrollin. Kontrolli sisältää lämpökäsiteltyä ryhmän A Streptococcusta.

Ulkoisen laadunvalvonnan suorittaminen

- Lisää 4 tippaa Reagenssi 1:stä ja 4 tippaa Reagenssi 2:sta uuttoputkeen.
 - Ravista positiivista kontrollipulloa läpikoitaisin. Lisää 1 tippa positiivista kontrollia putkeen.
 - Aseta puhdas ja steriili näyteenkerääjä putkeen ja sekoita. Jätä näyteenkerääjä uuttoputkeen 1 minuutiksi. Sitten purista ylimääräinen neste kerääjän päästä pyörittämällä sitä putken sisäpuolta vasten sekä puristamalla uuttoputkea samalla kun kerääjä nostetaan putkesta pois. Hävitä kerääjä.
 - Jatka testin suoritusta kuten ohjeessa mainitaan kohdassa 2 "Testin suorittaminen".
- Mikäli kontrolli ei tuota positiivista tulosta, älä käytä testejä näytteiden kanssa. Toista ulkoinen laadunvalvonta tai ota yhteyttä paikalliseen toimittajaan.

12. Rajoitukset

- NADAL® Strep A testi on tarkoitettu vain ammattilaiskäyttöön *in-vitro* diagnostiikassa ja sitä tulisi käyttää vain Streptokokki A ryhmän laadulliseen havaitsemiseen. Testiviivan värin voimakkuudella tai leveydellä ei ole merkitystä.
- Testin tarkkuus riippuu nielunäytteen laadusta. Väärä-negatiivinen tulos saattaa johtua vääränlaisen näyteenkeräyksestä tai näytteen säilytyksestä. Negatiivinen tulos saatetaan saada potilailta, joilla on taudin ensioireita, mutta vielä liian alhainen antigeeni pitoisuus
- NADAL® Strep A testi ei erota oireetonta ryhmän A Streptokokki taudinkantajia oireellisesta infektiosta. Mikäli kliiniset merkit ja oireet eivät ole yhteneviä laboratorio tuloksen kanssa, nieluviiljelyn jatkotutkimus on suositeltavaa.
- Muutamat nielunäytteet, jotka sisältävät paljon *Staphylococcus aureus* Stafylokokkia voivat johtaa väärän-positiiviseen tulokseen.
- Hengitystie infektiot, mukaanlukien nielutulehdukset, voivat johtua muiden seroryhmien streptokokeista kuin ryhmän A, kuten myös miuista taudinaiheuttajista. Negatiivinen streptokokki A tulos ei pois lue muita taudinaiheuttajia.
- Kuten muissakin diagnostisissa testeissä, lopullista kliinistä diagnoosia ei tulisi tehdä yhden testituloksen perusteella. Lääkäriin tulisi arvioida ja tulkita kaikki kliiniset sekä laboratorio löydökset lopullisen diagnoosin tekemiseksi.

13. Odotetut tulokset

Noin 19% kaikista ylähengitystien infektiosta tiedetään aiheutuvan ryhmän A streptokokista. Tällaiset infektiot ovat yleisimpiä talvella ja alkukeväästä, varsinkin tiheään asutuilla alueilla.

Ylähengitystien infektiot, kuten nielutulehdus, voi johtua muusta seroryhmän taudinaiheuttajasta kuin ryhmän A streptokokista.

14. Testin ominaisuudet

Vertailututkimus

Taulukko: NADAL® Strep A testi vs. viljely

Vertailututkimus NADAL® Strep A testin ja perinteisen viljelyn välillä suoritettiin. Nielunäytteet kerättiin lapsilta ja aikuisilta, joilla ilmeni nielutulehduksen oireita. Näytteet käytettiin viljelmien inokulaatioon (agar verimalja) ja NADAL® Strep A testin suorittamiseen.

Beetahemolyttiset viljelmat verimaljassa määriteltiin ryhmän A *Streptokokkeihin* käyttämällä serologista ryhmittelymenetelmää. Strep A kirjattiin joko olevan tai ei. Määrällistä tutkimusta ei tehty kliinisten näytteiden määrityksessä.

Tulokset ovat esillä seuraavassa taulukossa:

		NADAL® Strep A testi		
		+	--	Yht
Viljely	+	82	2	84
	--	4	156	160
	Yht	86	158	244

Suhteellinen sensitiivisyys: 97.6% (91.7%-99.7%)*

Suhteellinen tarkkuus: 97.5% (93.7%-99.3%)*

Yleinen yhteneväisyys: 97.5% (94.7%-99.1%)*

*95% luottamusväli

Sensitiivisyys tutkimus

8 eri streptokokki A kantoja (ATCC numerot: 12202, 12203, 12204, 12365, 14289, 19615, 49399, 51399) tutkittiin eri arvoilla NADAL® Strep A testillä. Määrityksen raja-arvo on vähintään 1.5×10^7 organismiä/näyte kaikille kannoille. Tämä viittaa, että NADAL® Strep A testi havaitsee useita Streptokokki A kantoja suhteellisen luotettavasti.

Prozone-efekti tutkimus

Haittavaikutuksia T-viivan muodostumiseen ei havaittu, kun Streptokokki A:n pitoisuus oli jopa 1.0×10^{10} organismiä per näyte.

Spesifisyys tutkimus

NADAL® Strep A testin ristikkäisreaktio tutkimukset suoritettiin organismeilla, joita yleisesti löytyy hengitystien alueelta. Seuraavat organismit tutkittiin pitoisuudella 1×10^7 organismiä/näyte ja ne tuottivat negatiivisia tuloksia.

Organismi	ATCC Nro.	Organismi	ATCC Nro.
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	<i>Strep B</i>	12386
<i>Branhamella catarrhalis</i>	25238	<i>Strep C</i>	12401
<i>Candida albicans</i>	1106	<i>Strep F</i>	12392
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	<i>Strep G</i>	12394
<i>Enterococcus durans</i>	19432	<i>Streptococcus canis</i>	43496
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9528
<i>Haemophilus influenzae</i>	9006	<i>Streptococcus equisimilis</i>	9542
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	<i>Streptococcus equisimilis</i>	12388

Organismi	ATCC Nro.	Organismi	ATCC Nro.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	27633	<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27338
<i>Neisseria sicca</i>	9913	<i>Streptococcus sanguis</i>	10556
<i>Neisseria subflava</i>	14799	<i>Streptococcus oralis</i>	9811
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	<i>Streptococcus mitis</i>	903
<i>Serratia marcescens</i>	8100	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Staphylococcus aureus*</i>	12598	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813

* Harvat tapaukset, jotka sisälsivät paljon *Staphylococcus aureus*ta saattoi johtaa väärään-positiiviseen tulokseen (kts. Kohta 12 "Rajoitukset").

Lääkärin laboratoriotutkimukset (POL)

NADAL® Strep A testin vertailututkimus suoritettiin kolmella eri lääkäriklinikan laboratoriollla. Tutkimuksessa käytettiin koodattujen näytteiden paneeleja, jotka sisälsivät negatiivisen kontrollinäytteen, heikon positiivisen näytteen sekä keskivahvan positiivisen näytteen. Jokainen näytetaso testattiin jokaisella klinikalla 20 tutkimuksen toistoina 5 päivän ajan. Tutkimus osoitti >99,9% yhteneävyyden odotettujen tulosten kanssa.

Tutkimus häiriötekijöistä

Laaja valikoima erilaisia kurkkukipulääkkeitä ja suuvesiä tutkittiin pitoisuudella 1%. Häiriövaikutuksia oikeanlaisen tuloksen muodostumiseen ei havaittu.











Erän sisäinen ja erien välinen vaihtelevaisuus


Kolme erillistä erää tutkittiin negatiivisella, keskivahvalla ja korkeasti positiivisella kontrollilla 10-kertaisilla määrittäyksillä. Odottamattomia tai vaihtelevia tuloksia ei havaittu. Tämä viittaa siihen, että erän sisäinen ja erien välinen vaihtelevuus on matala.

15. Lähteet

1. Facklam RR, Carey RB. Streptococci and Aerococci. In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, editors. Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 1985.
2. Levinson ML, Frank PF. Differentiation of group A from other beta hemolytic streptococci with bacitracin. J Bacteriol. 1955 Mar;69(3):284-7.
3. Edwards EA, Phillips IA, Suter WC. Diagnosis of group A streptococcal infections directly from throat secretions. J Clin Microbiol. 1982 Mar; 15(3): 481-3.
4. Gupta R, Talwar GP, 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(3): 441-55.
5. Ross PW. Throat swabs and swabbing technique. Practitioner. 1971 Dec; 207(242): 791-6.
6. Lauer BA, Reller LB, Mirrett S. Effect of atmosphere and duration of incubation on primary isolation of group A streptococci from throat cultures. J Clin Microbiol. 1983 Feb; 17(2): 338-40.

Rev. 1, 2015-07-24 UR

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consultense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Né pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestilingsnummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel –UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16

Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel. Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

Denmark:

Tel: +31 703075 603

Free Tel: +45 80 88 87 53

Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40

Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1