

**Strep A – test cassetta (Ref: TRSTREP20)**

laboratorio si raccomanda in seguito di eseguire il test con il metodo colturale.

- Le infezioni respiratorie, inclusa la faringite, possono essere causate da altri ceppi di streptococco o anche da altri agenti patogeni.
- Come per tutti i test diagnostici, la diagnosi clinica definitiva non può basarsi solamente sul risultato del singolo test ma deve tener conto di tutti i risultati clinici e biologici.

**14. Performance****A. Sensibilità**

Per determinare la sensibilità analitica dello Strep A, batteri streptococco di gruppo A vengono coltivati secondo le tecniche di coltura standard. La soglia di rilevazione di Strep A è stata fissata a  $1,5 \times 10^7$  batteri per test.

**B. Specificità**

Per determinare la specificità dello Strep A rispetto allo streptococco gruppo A, sono state esaminate le seguenti varianti di streptococco gruppo A a diverse concentrazioni di microorganismi per ogni test. I risultati positivi ottenuti alla concentrazione di  $1,5 \times 10^7$  batteri per test per tutte le varianti indicano che lo Strep A è specifico per lo streptococco del gruppo A.

Varianti dello streptococco del gruppo A :

SS-091 SS-410 SS-492 SS-496 SS-633 SS-634  
SS-635 SS-721 SS-754 SS-799 ATCC-19615

**Studi di reattività incrociata**

Sono stati realizzati studi di reattività incrociata per il test Strep A con diversi batteri individuabili nelle vie respiratorie. I seguenti ceppi sono stati testati alla concentrazione di  $1 \times 10^8$  batteri/test e trovati negativi in tutti i casi.

Group B Streptococcus	Group C Streptococcus
Group D Streptococcus	Group F Streptococcus
Group G Streptococcus	Pseudomonas aeruginosa
Streptococcus bovis	Staphylococcus aureus
Proteus vulgaris	Streptococcus faecalis
Staphylococcus epidermidis	Escherichia coli
Streptococcus faecium	Staphylococcus saprophyticus
Corynebacterium diptheriae	Streptococcus mitis
Neisseria gonorrhoeae	Haemophilus parainfluenzae
Streptococcus mutans	Neisseria lactamica
Bordetella pertussis	Streptococcus pneumoniae
Neisseria meningitidis	Moraxella catarrhalis
Streptococcus salivarius	Neisseria sicca
Candida albicans	Streptococcus sanguis
Veisseria sulfiflava	

**Studio di Correlazione**

È stato realizzato uno studio di correlazione tra lo Strep A e la coltura tradizionale, attraverso valutazioni cliniche in diversi centri. Sono stati effettuati prelievi faringei in bambini ed adulti con sintomi di faringite. I tempi sono stati in seguito utilizzati per l'inoculazione di piastre di agar prima di realizzare il test con lo Strep A. Le colonie beta-emo litiche di

piastre di agar sangue sono state confermate come appartenenti al gruppo A, utilizzando il metodo sierologico di raggruppamento degli streptococchi. Di seguito è riportata la presenza o assenza di streptococco A. Non è stata eseguita l'analisi semi-quantitativa dei campioni.

I risultati sono i seguenti :

	+	--	Total
Culture	82	2	84
Total	4	156	160
Total	86	158	244

Sensibilità: 97,6% (95% CI, 93,8% to 99,4%)

Specificità: 97,5% (95% CI, 93,7% to 99,3%)

Valore predittivo positivo (PPV): 95,3%

Valore predittivo negativo (NPV): 98,7%

Precisione: 97,5%

In 5 minuti si ottengono 238 risultati esatti su 244 pazienti senza fare una coltura (97,5%)!

**Studi biologici**

Lo Strep A è stato valutato in due laboratori, utilizzando un panel di campioni codificati contenenti un controllo negativo, campioni leggermente positivi e mediamente positivi. Ogni livello di campione è stato testato a 5 riprese per un periodo di 5 giorni in ciascuno dei laboratori. È stata registrata una correlazione del 100% con i risultati attesi.

**15. Bibliografia**

- Facklam, R. and Carey, R. B., Streptococci and Aerococci, Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., Tenette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. and Shadomy, H. J. (eds), American Society for Microbiology, 1985, pp154-175.
- Levinson, M. L. and Frank, P. F., Differentiation of Group A from other Beta Hemolytic Streptococci with Bacitracin, J. Bacteriol., 69:284-287(1955).
- Edwards, E. A., Phillips, I. A., and Siller, W. C., Diagnosis of Group A Streptococcal Infections Directly from throat secretions, J. Clin. Micro. 15, 481-483 (1982).
- Gupta, R., Talwar, G. P. and Gupta, S. K., Rapid Antibody Capture Assay for Detection of Group A Streptococci Using Monoclonal Antibody and Colloidal Gold-Monospecific Polyvalent Antibody Conjugate, J. Immunossay, 13, 441-445(1992)
- Ross, P.W., Throat Swabs and Swabbing Technique, The Practitioner, 207:791-796(1971).
- Lauer, B. A., Rellier, L. B. and Mirrett, S., Effect of Atmosphere and Duration of Incubation on Primary Isolation of Group A Streptococci from Throat Cultures, J. Clin. Micro., 17:338-340(1983).

Symbol	Italiano	Symbol	Italiano
	Conformità europea		Non riutilizzare
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Riferimento di Catalogo
	Limiti di temperatura		Fabbricante
	Codice lotto		Sufficiente per "n" saggi

**Futurlab srl**

Via Piero bon, 63 · 35010 Limena (Pd) · Italia  
Tel. +39 049 8843461 · Fax: +39 049 7662235  
info@futurlab.it · www.futurlab.it



Number: 1110008320

Effective date: 2013-9-13

**FUTURLAB**  
TECNOLOGIE PER LA DIAGNOSTICA

**Strep A Test (test cassette)**

REF TRSTREP20



Istruzioni per l'uso



Via Piero bon, 63 – 35010 Limena (Pd)  
Tel. 049/8843461 Fax 049/7662235  
www.futurlab.it e-mail: info@futurlab.it

## Strep A – test cassetta (Ref. TRSTREP20)

## Strep A – test cassetta (Ref. TRSTREP20)

**1. USO PREVISTO**  
La cassetta Strep A è un metodo immuno-cromatografico per la determinazione qualitativa rapida dell'antigene dello streptococco del gruppo A in tamponi faringei. Questo test è per la diagnosi di infezioni da streptococco del gruppo A.

**2. SIGNIFICATO CLINICO**  
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 Strep A per l'individuazione dell'antigene dello streptococco del gruppo A utilizza il metodo dell'immunodosaggio a « sandwich » su membrana (su entrambi i lati). Il test è composto da una cassetta contenente una striscia di membrana di nitrocellulosa precedentemente sensibilizzata con anticorpi di coniglio anti-streptococco A nella zona del test e con anticorpo di capra anti-coniglio nella zona di controllo. All'estremità della striscia si trova un tampone colorato contenente anticorpi policlonali di coniglio anti-streptococco A e coniugato orocoloidale. Durante l'escissione del test l'antigene dello streptococco A viene estratto dal tampone faringeo per mezzo dei reagenti di estrazione 1 e 2. La soluzione di estrazione viene poi aggiunta al pozzetto. L'antigene dello streptococco A reagisce con la miscela colorata anticorpo-oro colloidale per formare un complesso antigene-anticorpo. Successivamente la miscela migra cromatograficamente lungo la membrana verso l'anticorpo immobilizzato anti-streptococco A presente a livello della linea del test. Se l'antigene dello streptococco A è presente nel campione, nella zona del test si formerà una linea rosa del complesso antigene-anticorpo/oro colloidale in fase solida. L'assenza della colorazione rosa a livello della zona del test indica un risultato negativo. Indipendentemente dalla presenza dell'antigene dello streptococco A, mentre la miscela continua a migrare lateralmente lungo la membrana verso la zona dei test dove è presente l'anticorpo di capra anti-coniglio, apparirà sempre una linea di colore rosa nella zona di controllo. La presenza di questa linea colorata serve a 1) verificare che sia stato aggiunto un volume sufficiente di campione, 2) che la migrazione sia avvenuta correttamente e 3) come controllo dei reagenti.

**4. REAGENTI MATERIALI CONTENUTI**  
• 20 test Strep A cassette contenenti una membrana sensibilizzata con anticorpi anti-streptococco A di coniglio e oro-colloidale (20 ciascuno). Contagocce incluso

- 1 Reagente d'estrazione N°1: nitrato di sodio 1,0 M (7 ml): Tossico



R25: Tossico se inalato

- 1 Reagente d'estrazione n° 2: acido acetico 1,25 M (7 ml).
- 20 provette d'estrazione
- 20 Bastoncini sterili per il prelievo faringeo
- 1 Controllo positivo : Streptococco del gruppo A in soluzione ( $1 \times 10^8$  organismi/ml) con 0,1% azoturo di sodio come conservante
- Supporto per provette
- Istruzioni d'uso

**5. ATTENZIONE! DANGER!**

Cronometro

**6. CONSERVAZIONE E STABILITÀ**  
Tutti i reagenti inclusi nel kit possono essere conservati a temperatura ambiente o nel frigorifero (2-30°C).

**7. AVVERTENZE PRECAUZIONI**

- Riservare all'utilizzo professionale. Solo per uso in vitro
- Monouso
- Non mangiare, bere o fumare nella zona in cui vengono trattati i campioni e i reagenti
- Non mescolare reagenti provenienti da lotti differenti
- Non mescolare i tappi dei flaconi dei reagenti
- Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza riportata
- Non utilizzare il test in caso di danneggiamento della bustina
- Non utilizzare il bastoncino in caso di danneggiamento della bustina
- Non utilizzare più liquido di quello richiesto
- Portare i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'utilizzo.
- Non versare i campioni nella zona di reazione
- Non toccare la zona di reazione per evitare la contaminazione.
- Il dispositivo del test deve rimanere nella bustina sigillata fino a momento dell'utilizzo
- Leggere il risultato dei test dopo 5 minuti
- L'umidità e le alte temperature possono alterare i risultati
- Utilizzare unicamente bastoncini sterili in plastica Dacron o Rayon come quelli forniti. Non utilizzare bastoncini in legno, con estremità in cotone o contenenti alginato di calcio.
- 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 campioni positivi o negativi contengono un acido che può reagire con le tubature in piombo o rame e formare acidi metallici potenzialmente esplosivi. Quando queste soluzioni vengono eliminate, sciagquare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di acido.
- 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 Strep A deve essere eliminato correttamente.

**8. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE**

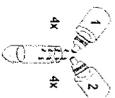
Raccogliere i tamponi faringei secondo i metodi clinici standard come quelli descritti da Facklam (1) e Ross (5). Utilizzare solo tamponi sterili con un'estremità in dacron o in rayon, con il bastoncino in plastica come quelli che vengono forniti. Non utilizzare tamponi con l'estremità in alginato di calcio o in cotone o con il bastoncino in legno. Si raccomanda di utilizzare i campioni il più rapidamente possibile dopo il prelievo. Se i tamponi non vengono analizzati immediatamente devono essere messi in una provetta o un flacone sterile, asciutto, ben chiuso e refrigerato. Se viene scelto un mezzo di trasporto liquido, utilizzare il terreno di trasporto di Stuart, modificato secondo le istruzioni del produttore. Non utilizzare metodi di trasporto con carbone vegetale o agar. Il tampone può essere conservato a temperatura ambiente (15-30°C) fino a 4ore o fino a 24 ore nel frigorifero (2-8°C). Se si desidera ottenere una colonia di batteri, strofinare leggermente il tampone su una piastra di agar con sangue di pecora al 5% prima di utilizzarlo nello Strep A. I reagenti di estrazione uccidono i batteri presenti sui tamponi e rendono impossibile la formazione di una colonia. Successivamente può essere utilizzato un secondo tampone campione per la procedura di coltura di batteri.

**9. PROCEDURA DEL TEST****Osservazioni**

Fare riferimento alle istruzioni riguardanti il campionamento dei tamponi. Il dispositivo del test e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 a 30°C) prima del test. Non aprire le bustine prima di essere pronti ad effettuare il test (portare il test a temperatura ambiente prima di aprire la bustina) per evitare la formazione di condensa sulla membrana). Per evitare contaminazioni, non far entrare in contatto i bastoncini dei tamponi e le provette di estrazione.

**Procedura d'estrazione**

1. Posizionare la provetta di estrazione nell'area designata della postazione di lavoro.  
Aggiungere 4 gocce di reagente d'estrazione n°1 nella provetta. Aggiungere 4 gocce di reagente d'estrazione n°2 alla provetta d'estrazione.



2. Dispensare immediatamente il campione del tampone faringeo nella provetta d'estrazione. Premere il tampone contro la superficie interna della provetta con un leggero movimento rotatorio in modo tale che il liquido sia riasciato e riassorbito (ripetere 5 volte).



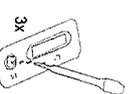
3. Lasciare agire almeno un minuto a temperatura ambiente e al massimo 15 minuti. Premere delicatamente il tampone a partire dal centro della provetta d'estrazione per espellere più liquido possibile. Gettare il tampone.

**Procedura del test**

4. Rimuovere la cassetta del test Strep A e la pipetta dalla confezione e posizionarla su una superficie piana. Prendere la pipetta tra pollice e indice e premere il palloncino. Immergere la pipetta nella provetta di estrazione e prelevare la soluzione di estrazione allentando lentamente la pressione sul palloncino.



5. Aggiungere la soluzione estratta al pozzetto per il campione nel dispositivo del test (3 gocce, circa 120µl).



6. Leggere il risultato entro 5 minuti. A seconda della concentrazione degli organismi presenti sul tampone, è possibile che appaia una linea già dopo 1 minuto. Tuttavia, per confermare un risultato negativo, è necessario un tempo di reazione completo di 5 minuti. Non leggere il risultato dopo 10 minuti.

**10. Interpretazione del risultato****Negativo:**

Appare solo una linea colorata nella zona di controllo.

**Positivo:**

Oltre alla linea di controllo, appare una linea colorata distinta nella zona del test.

**Invalido:**

Se non appare la linea colorata nella zona di controllo il test non è valido.

**11. Controlli di qualità**

Ogni laboratorio deve rispettare le regole locali e quelle fissate dal proprio stato. A questo proposito un controllo positivo contenente streptococco del gruppo A è incluso nel kit.

**Controllo positivo:**

Aggiungere 4 gocce di reagente d'estrazione n° 1 e 4 gocce di reagente d'estrazione n°2 nella provetta d'estrazione. Mescolare accuratamente il controllo positivo agitando energicamente il flacone. Aggiungere due gocce di controllo positivo al tubo. Inserire un tampone sterile nella provetta e farlo girare. Procedere come descritto nelle procedure del test per campioni regolari.

**12. Affidabilità**

Si stima che circa il 19% del totale delle infezioni del tratto respiratorio alto sia dovuto allo streptococco di gruppo A (6). Le 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.

**13. Affidabilità**

- L'accuratezza del test dipende dalla qualità del tampone campione. Si possono avere risultati erroneamente negativi in seguito ad una raccolta e conservazione errate dei tamponi campione.

- Si può avere un risultato negativo nella fase iniziale dell'infezione, in ragione della bassa concentrazione di antigeni. Pertanto, quando un paziente sospetto di avere una faringite Strep A risulta negativo al test, è necessario effettuare un ulteriore test utilizzando il metodo colturale.

- Il test non distingue fra i portatori asintomatici dello streptococco del 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 il metodo colturale.
- In rari casi i tamponi del test fortemente colonizzati dallo streptococco aureus possono dare falsi positivi. Se i risultati e i sintomi clinici non concordano con i risultati del test di