

VORGESEHENE VERWENDUNG

Das Prolex™ Streptococcal Xtra Select Kit bietet eine schnelle Plattform zur serologischen Identifizierung beta-hämolytischer Streptokokken, die zu den Lancefield Gruppen A und B gehören.

ÜBERSICHT UND ERKLÄRUNG

Klinische, epidemiologische und mikrobiologische Studien haben eindeutig gezeigt, dass ein Bedarf besteht für eine schnellere Identifizierung von Streptokokken, hauptsächlich der Gruppen A und B aufgrund deren hoher Prävalenz und Verknüpfung mit menschlichen Erkrankungen. Die Diagnose einer Streptokokkeninfektion basierend auf klinischen Symptomen muss immer mikrobiologisch verifiziert werden (4). Beta-hämolytische Streptokokken sind die am häufigsten isolierten Humanpathogene in der Gattung *Streptococcus*. Fast alle beta-hämolytischen Streptokokken besitzen spezifische Kohlenhydrat-Antigene (Streptokokkengruppenantigene) Lancefield zeigte, dass diese Antigene durch Ausfällreaktionen mit homologen Antisera in löslicher Form gewonnen und identifiziert werden können. Es werden aktuell verschiedene Verfahren zum Extrahieren von Streptokokkenantigenen verwendet (1,2,6,7,10,11,12). Das Prolex™ Streptococcal Xtra Select Kit basiert auf der Freisetzung bestimmter Antigene von Bakterienzellwänden durch lytische Enzyme. Das extrahierte Antigen in Verbindung mit einer Latexagglutination bietet eine schnelle, sensible und spezifische Methode zur Identifizierung der Streptokokkengruppen A und B aus Primärkulturproben.

TESTPRINZIP

Die Gruppierungsmethode des Prolex™ Streptococcal Xtra Select Kit beinhaltet die Enzymextraktion gruppenspezifischer Kohlehydratantigene mithilfe speziell ausgewählter lytischer Enzyme. Das im Kit mitgelieferte Streptococcal Xtra Extraktionsreagenz enthält eine geschützte Formulierung lytischer Enzyme, die in der Lage sind, streptokokkengruppenspezifische Antigene bei Raumtemperatur zu extrahieren. Die Extrakte können mithilfe von blauen Polystyrenlatexpartikeln, die mit gereinigtem gruppenspezifischen Kaninchen-Immunglobulin sensibilisiert wurden, einfach identifiziert werden. Diese blauen Latexpartikel agglutinieren stark in Anwesenheit des homologen Antigens und verklumpen nicht, wenn das homologe Antigen fehlt.

GELIEFERTER MATERIALIEN

Jedes Kit reicht für 120 Tests. Die Materialien werden gebrauchsfertig geliefert.

- **Latex-Reagenzien:** Der Kunde kann wählen, welche beiden Ampullen der blauen Latex-Gruppierungsreagenzien er im Kit haben will. Jede Tropfflasche enthält 3,0 ml blaue Latexpartikel, die mit gereinigten Kaninchenantikörpern gegen die Lancefieldgruppen A oder B beschichtet sind. Die blauen Latexpartikel sind in einer Pufferlösung mit einem pH-Wert von 7,4 suspendiert, die 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel enthält. Als Latexreagenzien verfügbar sind:

Reagenz	Katalog-Nr.
Gruppe A Latexreagenz	PL.1031
Gruppe B Latexreagenz	PL.1032

- **Streptococcal Xtra Extraktionsreagenz (PL.1037):** Zwei Tropfflaschen mit 6,0 ml Extraktionsreagenz mit Konservierungsmittel.
- **Polyvalente positive Kontrollprobe (PL.1040):** Eine Tropfflasche enthält 2 ml gebrauchsfertiger polyvalenter Antigene, die aus deaktivierten Streptokokken der Lancefieldgruppen A, B, C, D, F und G extrahiert wurden.

- Plastikrührstäbchen
- Testkarten
- Gebrauchsanweisung

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTER MATERIALIEN

- Impfösen oder Impfnadeln
- Pasteurpipetten
- 12 x 75 mm Reagenzgläser
- Timer

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Alle Bestandteile des Sets sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Die unter solchen Bedingungen gelagerten Reagenzien werden bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar sein. Nicht einfrieren.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Die Reagenzien dürfen nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwendet werden.
2. Einige Reagenzien enthalten geringe Mengen Natriumazid. Natriumazid kann mit Rohrleitungen aus Kupfer oder Blei explosionsartig reagieren, wenn es sich ansammelt. Obwohl die Natriumazid-Menge in den Reagenzien minimal ist, sollten große Wassermengen verwendet werden, wenn die Reagenzien den Abfluss hinuntergespült werden.
3. Bei der Handhabung, Verarbeitung und Entsorgung aller klinischen Proben sollten allgemeingültige Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Alle Testmaterialien sollten während und nach der Verwendung als potentiell infektiös betrachtet und dementsprechend behandelt und entsorgt werden.
4. Die Reagenzien sind nur für die Verwendung zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
5. Die in dieser Anweisung genannten Verfahren, Lagerbedingungen, Vorsichtsmaßnahmen und Beschränkungen müssen befolgt werden, um gültige Testergebnisse zu erhalten.
6. Reagenzien enthalten von Tieren stammende Materialien und sollten als potentielle Träger und Überträger von Krankheiten behandelt werden.

PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG DER KULTUREN

Konkrete Verfahren zur Probensammlung und Vorbereitung der Primärkulturen finden sich in handelsüblichen Mikrobiologiefachbüchern. Es sollte eine frische (18 - 24 Stunden) Kultur auf Blutagar verwendet werden.

TESTVERFAHREN

Alle Bestandteile sollten vor der Verwendung Zimmertemperatur (18 - 22 °C) besitzen.

1. Latexreagenz durch vorsichtiges wiederholtes Drehen der Tropfflasche resuspendieren. Untersuchen Sie vor der Verwendung die Tropfflasche, um sicherzustellen, dass die Latexpartikel ordnungsgemäß suspendiert wurden. Nicht verwenden, wenn sich das Latex nicht resuspendiert.
2. Für jedes zu testende Isolat ein Reagenzglas beschriften.
3. Fügen Sie jedem Reagenzglas 2 Tropfen des Streptococcal Xtra Extraktionsreagenz hinzu.
4. Wählen Sie eine beta-hämolytische Kolonie mittels einer Einweg-Öse oder -Nadel und suspendieren Sie sie im Streptococcal Xtra Extraktionsreagenz. Die Streptokokkenkolonie sollte unter allen Umständen aus einem Bereich genommen werden, der die geringste Gefahr einer Kontamination mit einem anderen Organismus besitzt.
5. Mischen Sie das Reagenzgemisch durch Klopfen auf das Reagenzglas und lassen Sie es 60 Sekunden lang entwickeln.
6. Einen Tropfen des Staphylokokkentest Latexreagenz auf einem Kreis auf

der Testkarte verteilen.

7. Geben Sie mit einer Pasteurpipette einen Tropfen des Extrakts auf das Latexreagenz.
8. Mischen Sie das Latex und das Extrakt mit den mitgelieferten Stäbchen und verwenden Sie dabei die gesamte Fläche des Kreises. Für jeden Test sollte ein neues Stäbchen verwendet werden.
9. Karte vorsichtig hin und her bewegen, damit das Gemisch langsam über die gesamte Fläche des Testrings fließt.
10. Bis zu 30 Sekunden auf Verklumpung prüfen.

QUALITÄTSÜBERWACHUNGSVERFAHREN

Das Routinequalitätsüberwachungsverfahren für jede Charge umfasst das Testen blauer Latexreagenzien und Streptococcal Xtra Extraktionsreagenz mit jeder Streptokokkengruppe A und B unter Verwendung der ATCC Stämme oder deren Äquivalent, wie in diesem Abschnitt aufgeführt. Das Extrakt dieser Stämme verklumpt mit dem homologen Latexreagenz. Die polyvalente positive Kontrollprobe wird verwendet, um die einzelnen Latexreagenzien zu prüfen.

Organismus	Lancefield Gruppe	Referenz
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Gruppe A	ATCC #19615
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Gruppe B	ATCC #12386

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis: Schnelles starkes Verklumpen der blauen Latexpartikel binnen 30 Sekunden mit einem der Latexreagenzien weist auf die spezifische Identifizierung des Streptokokkenisolats hin.

Negatives Ergebnis: Kein Verklumpen der blauen Latexpartikel.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Unvorschriftsmäßiger Gebrauch des Kits oder Entnahme einer inadäquaten Menge der Bakterienkultur können zu falschen negativen und falschen positiven Ergebnissen führen.
2. Der Satz ist nur für die Verwendung zur Identifizierung beta-hämolytischer Streptokokken bestimmt. Werden alpha- oder nicht-hämolytische Streptokokken getestet, sollte die Identifizierung durch biochemische Tests (5,9) bestätigt werden.
3. Es sind falsche positive Reaktionen bei Organismen nicht verwandter Gattungen aufgetreten, z. B. *Escherichia coli*, *Klebsiella* oder *Pseudomonas* (3,8). Bei diesen ist es wahrscheinlich, dass sie alle Latexreagenzien unspezifisch verklumpen.
4. *Listeria monocytogenes* können mit Streptokokken-Latexreagenzien der Gruppe B quereagieren, da *L. monocytogenes* eine ähnliche Antigenität aufweisen wie Streptokokken der Gruppe B. Ein Katalasetest kann durchgeführt werden, um zwischen *Listerien*, die katalasepositiv sind, und Streptokokken, die katalasenegativ sind, zu unterscheiden. Es kann eine Gram-Färbung und Motilitätsprüfung durchgeführt werden, die der weiteren Differenzierung dient.
5. Einige, typischerweise nicht-hämolytischen Bakterienstämme von *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) besitzen A-, C-, F- oder G-Antigene und können mit Strep A, C, F oder G-Latex-Reaktionsmitteln zu einer positiven Reaktion führen. Um diese Organismen zu identifizieren, sollten Sie mit Hilfe von Blutagar die Morphologie erstellen und biochemische Tests durchführen.

GEBRAUCHSEIGENSCHAFTEN







Das Prolex™ Streptococcal Xtra Select Kit wurde in britischen Krankenhäusern unter Verwendung von 293 Isolaten beta-hämolytischer Streptokokken leistungstestet. Zu den Isolaten gehören 61 *Streptococcus*



pyogenes (Lancefield Gruppe A Strep) 91 *Streptococcus agalactiae* (Lancefield Gruppe B Strep), 19 *Streptococcus sp.* Gruppe C, 65 *Enterococcus faecalis* Gruppe D, 4 *Streptococcus sp.* Gruppe F und 53 *Streptococcus* Gruppe G. Der Satz hat eine hundertprozentige Sensibilität und Spezifität bei beiden Latexreagenzien beim Testen gegen die Isolate gezeigt. Die durchschnittliche Zeit für eine positive Reaktion bei den Reagenzien der Gruppe A und der Gruppe B war 13 bzw. 12 Sekunden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. **Ederer, G.M., Herrmann, M.M., Bruce, R. Matsen, J.M. and Chapman, S.S.** (1972). Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Haemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 23, 285.
2. **EL Kholly, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M.** (1974). Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 28, 836.
3. **Elliot, S.D. and Tai, J.Y.** (1978). The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.*, 148, 1699.
4. **Facklam, R.R.** (1980). Streptococci and Aerococci, Ch. 8 in *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd Ed., Edited by Lennette, E.H. Balows, A., Hausler, W.J., and Truant, J.P. American Society for Microbiology, Washington, D.C. page 88-110.
5. **Facklam R.R.** (1977). Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 184.
6. **Fuller, A.T.** (1938). The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130.
7. **Maxted, W.R.** (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet*, ii, 255.
8. **Nowlan, S.S. and Deibel, R.H.** (1967). Group Q Streptococci. I. Ecology, Serology, Physiology and Relationships to Established Enterococci. *J. Bact.*, 94, 291.
9. **Petts, D.N.** (1984). Early Detection of Streptococci in Swabs by Latex Agglutination Before Culture. *J. Clin. Microbiol.*, 19, 432.
10. **Rantz, L.A. and Randall, E.** (1955). Use of Autoclaved Extracts of Haemolytic Streptococci for Serological Grouping. *Stanford Med. Bull.*, 13, 290.
11. **Watson, B.K., Moellering, R.C. and Kunz, L.J.** (1975). Identification of Streptococci. Use of Lysozyme and *Streptomyces albus* filtrate in the Preparation of Extracts of Lancefield Grouping. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 274.
12. **Slifkin, M., Cumbie, R.** (1987) Serogrouping Single Colonies of Beta-Hemolytic Streptococci with Achromopeptidase Extraction. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1555.

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.