

## VERWENDUNGSZWECK

Die Diagnostik Nord Strep A Kassette ist ein immunologischer Ein-Schritt-Membrantest für die schnelle und qualitative Bestimmung von Streptokokken-Antigenen der Gruppe A direkt aus dem Rachenabstrich.

## EINFÜHRUNG

Beta-hämolytische Streptokokken der Gruppe A sind der Hauptgrund für Infektionen des oberen Respirationstraktes, wie Tonsillitis, Pharyngitis und Scharlach. Es hat sich gezeigt, dass eine frühe Diagnose und Behandlung von Streptokokken Gruppe A bedingter Pharyngitis die Schwere der Symptome und weitere Komplikationen, wie rheumatisches Fieber und Poststreptokokken-Glomerulonephritis, zu verringern hilft (1).

Konventionelle Nachweismethoden dieser Erkrankungen basieren auf Isolierung und anschließender Identifikation der Organismen (1,2), was in der Regel 24-48 Stunden dauert. Die Entwicklung neuer immunologischer Techniken (3,4) zum Nachweis von Streptokokken der Gruppe A direkt aus dem Rachenabstrich ermöglicht dem Arzt eine schnelle Diagnose und eine sofortige Behandlung.

## TESTPRINZIP

Die Diagnostik Nord Strep A Testkassette nutzt die immunologische "sandwich-assay" Technologie zum Nachweis von Streptokokken der Gruppe A. Der Test enthält einen Nitrocellulosemembran-Streifen, beschichtet mit Kaninchen anti-Strep A Antikörpern im Bereich der Testlinie und Ziege anti-Kaninchen Antikörpern im Bereich der Kontrolllinie. An einem Ende der Membran befindet sich ein Kissen mit farbigem, polyklonalem Kaninchen anti-StrepA-Antikörper-kolloidal-Gold-Konjugat. Während der Testdurchführung wird StrepA-Antigen unter Benutzung der Extraktionsreagenzien 1 und 2 aus dem Rachenabstrich extrahiert und anschließend auf die Kassette aufgebracht. Hierbei reagiert das Strep A-Antigen mit dem farbigem Antikörper-Gold-Konjugat unter Ausbildung eines StrepA-Antigen-Antikörper-Komplexes. Unter der Einwirkung von Kapillarkräften läuft die Probenmischung auf der Membran zum immobilisierten Kaninchen anti-StrepA-Antikörper im Bereich der Testlinie.

Im Falle von StrepA- Antigen in der Probe bildet sich hier ein farbige Linie des "sandwich" Komplexes in Form eines Festphasen-anti-StrepA-Antikörper/StrepA-Antigen/anti-StrepA-Gold-Konjugat-Komplexes. Bei einem negativen Ergebnis erscheint keine Linie im Bereich der Testlinie.

Unabhängig von der Anwesenheit des Strep A-Antigens reagiert die Probenmischung immer beim Passieren des Bereiches der Kontrolllinie mit dem immobilisierten Ziege anti-Kaninchen Antikörper unter Ausbildung der farbigen Linie. Die Anwesenheit der farbigen Kontrolllinie dient 1) zur Bestätigung, dass genügend Probenvolumen aufgetragen wurde, 2) zur Bestätigung, dass die Probe ordnungsgemäß über die Membran geflossen ist und 3) als Reagenzien-Kontrolle.

## REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- Extraktion Reagenz 1: 1.0 M Natriumnitrit (7 ml):



T Giftig  
R25: Giftig beim Verschlucken

- Extraktion Reagenz 2 (0.4 M Essigsäure, (7 ml))
- 20 Testkassetten mit Kaninchen anti-StrepA-Antikörper beschichteter Membran und Goldkonjugat
- 20 Extraktionsröhrchen
- 20 sterile Abstrichtupfer

## ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE UTENSILIEN

- Stoppuhr/Auf Nachfrage Positive Kontrolle: Hitzeinaktivierte Streptokokken der Gruppe A in Lösung ( $1 \times 10^8$  Keime/ml) mit 0.1 % Natriumazid als Konservierungsmittel (2 ml).

## LAGERUNG

Alle Reagenzien inklusive der Diagnostik Nord Strep A Testkassette können bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank gelagert werden (2°C-30°C).

## BITTE BEACHTEN

- Nur für den IN VITRO Gebrauch
- Nur für den professionellen Einsatz
- Nur zum Einmal-Gebrauch
- Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen mischen
- Nicht die Verschlüsse der Reagenzienflaschen vertauschen
- Nicht nach Ablauf der Haltbarkeit verwenden
- Nicht in der Umgebung der Testdurchführung Rauchen, Essen oder Trinken.
- Test nicht verwenden, wenn Folienverpackung beschädigt ist
- Tupfer nicht verwenden, wenn seine Folienverpackung beschädigt ist
- Bitte nur Dacron oder Rayon Tupfer mit Plastikstiel benutzen; keine Calciumalginat-Baumwolle Tupfer oder Tupfer mit Holzstiel benutzen.
- Bitte beachten Sie die benötigte Probenmenge

- Extraktion Reagenz 1 ist giftig beim Verschlucken
- Positive and negative Kontrollen enthalten Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer zu potentiell explosiven Metallaziden reagiert
- Bringen Sie die Probe bzw. Kontrollen auf Zimmertemperatur (15-30°C).
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben
- Das Reaktionsfeld nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden
- Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösen Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten
- Alle kontaminierten Abfälle wie Tupfer, Diagnostik Nord Strep A Testkassette und Extrakte sind ordnungsgemäß zu entsorgen
- Bitte beachten Sie die angegebene Auswertungszeit (5 Minuten)
- Test nur unter angegebenen Temperaturen lagern und transportieren

## PROBENNAHME UND LAGERUNG

Der Rachenabstrich erfolgt nach klinischen Standardmethoden wie sie z.B. bei Facklam (1) und Ross (5) beschrieben wurden. Bitte nur Dacron oder Rayon Tupfer mit Plastikstiel benutzen; keine Calciumalginat-Baumwolle Tupfer oder Tupfer mit Holzstiel benutzen.

Es wird empfohlen die Probe möglichst schnell nach dem Abstrich zu untersuchen. Sollte dies nicht möglich sein, ist der Tupfer in einem sterilen, trockenen und gut verschlossenen Gefäß im Kühlschrank zu lagern. Sollte die Probe flüssig transportiert werden, benutzen Sie bitte modifiziertes Stuart's Transportmedium entsprechend der Anweisung des Herstellers. Keine Transportmedien benutzen, die Agar oder Holzkohle enthalten. Tupfer können im Kühlschrank bis zu 3 Tagen gelagert werden.

Soll zusätzlich eine Kultur angesetzt werden, ist der Tupfer vor der Benutzung der Diagnostik Nord Strep A Testkassette leicht über eine 5% Schaffblut-Agarplatte zu streichen. Die Extraktionsreagenzien töten die Bakterien auf dem Tupfer ab und es ist im Nachhinein nicht mehr möglich vom Tupfer eine Kultur anzulegen.

## TESTDURCHFÜHRUNG

### Allgemeine Hinweise

- Alle Proben und Reagenzien sollten zur Durchführung der Diagnostik Nord Strep A Testkassette vor der Testdurchführung Raumtemperatur haben.
- Um Kreuzkontaminationen vorzubeugen ist der Kontakt der Flaschen der Reagenzien mit dem Tupfer oder dem Extraktionsröhrchen zu vermeiden.

### Durchführung der Extraktion

- Im Extraktionsröhrchen 4 Tropfen des Extraktion Reagenz 1 vorlegen.
  - 4 Tropfen Extraktion Reagenz 2 hinzufügen und sofort den Tupfer gegen die Wand des Extraktionsröhrchen drücken.
- Damit er wiederholt ausgedrückt wird und sich wieder voll saugen kann, den Vorgang noch mindestens 1-mal wiederholen.  
Für mindestens 1 Minute stehen lassen, jedoch nicht länger als 15 Minuten.

### Durchführung des Tests

- Die Lösung des Extraktionsröhrchens mit der beiliegenden Pipette in die runde Probenöffnung der Testkassette geben (3 Tropfen, ca. 120 µl).
- Das Ergebnis innerhalb von 5 Minuten ablesen. Abhängig von der Keimzahl kann das positive Ergebnis schon nach 1 Minute sichtbar sein. Zur Bestätigung eines negativen Ergebnisses, ist die Reaktionszeit von 5 Minuten abzuwarten. Keine Auswertung mehr nach 10 Minuten Reaktionszeit durchführen.

## TESTAUSWERTUNG

### Negativ

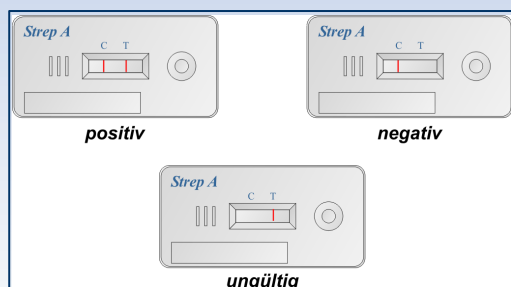
Eine rot gefärbte Linie erscheint in der Kontrollregion (C). In der Testregion (T) ist keine rot gefärbte Linie sichtbar. Strep A Antigen ist nicht nachweisbar.

### Positiv

Zusätzlich zur rot gefärbten Linie in der Kontrollregion (C) erscheint eine rot gefärbte Linie in der Testregion (T). Hierbei kann die Linie in der Testregion je nach Antigenmenge unterschiedlich stark gefärbt sein. Dieses Ergebnis zeigt, dass Strep A in der Probe vorhanden ist.

### Un gültig

Erscheinen weder in der Kontrollregion noch in der Testregion eine Linie, so liegt ein Fehler vor. Die Untersuchung sollte mit einem neuen Test wiederholt werden.



### QUALITÄTSKONTROLLE

Good laboratory practice (GLP) empfiehlt den Einsatz von Kontrollen zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Testbestecks. Diese können auf Nachfrage geliefert werden. Die positive Kontrolle enthält hitzeinaktivierte Streptokokken der Gruppe A.

#### Durchführung der Positivkontrolle:

4 Tropfen des Extraktion Reagenz 1 und 4 Tropfen des Extraktion Reagenz 2 in das Extraktionsröhrchen geben. Die positive Kontrolle durch Schütteln des Fläschchens gut mischen und 1 Tropfen in das Extraktionsröhrchen hinzugeben. Die Lösung mit einem sterilen Tupfer gut durchmischen.

### BEEINTRÄCHTIGUNGEN

Die Genauigkeit des Tests hängt von der Qualität der Abstrichprobe ab. Falsch-negative Ergebnisse können von einer schlechten Probennahme oder Probenlagerung herrühren. Negative Ergebnisse können auch am Anfang einer Erkrankung beobachtet werden, wenn noch eine niedrige Antigenkonzentration vorliegt. In diesem Falle sollte bei Verdacht auf eine Strep A Pharyngitis und einem negativem Diagnostik Nord Strep A Testkassette Ergebnis zusätzlich eine Kultur angesetzt werden.

Der Test unterscheidet nicht zwischen asymptomatischen Trägern von Streptokokken der Gruppe A von solchen mit Infektion. Wenn die klinischen Zeichen und Symptome nicht mit den Labortests übereinstimmen, sollte der Abstrich in Kultur genommen werden. In wenigen Fällen können Abstrichproben stark mit Staphylokokkus aureus besiedelt sein, die ein falsch-positives Ergebnis hervorrufen können.

Infektionen des Respirationstraktes, einschließlich Pharyngitis, können ihre Ursache auch in Streptokokken anderer serologischer Gruppen haben, wie auch durch andere Pathogene hervorgerufen werden. Wie bei allen labordiagnostischen Untersuchungen, sind die Ergebnisse im Zusammenhang mit allen übrigen Informationen des behandelnden Arztes zu betrachten.

### ERWARTETE ERGEBNISSE

Es ist bekannt, dass etwa 19% aller Infektionen des oberen Respirationstraktes durch Streptokokken der Gruppe A hervorgerufen werden (6).

Derartige Infektionen erscheinen vornehmlich im Winter und Vorfrühling speziell in Bereichen mit hohen Menschenansammlungen.

### TESTCHARAKTERISTIK

#### Sensitivitätsstudie

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität der Diagnostik Nord Strep A Testkassette wurden Streptokokken der Gruppe A auf Nährmedium kultiviert. Die Nachweisgrenze des Diagnostik Nord Strep A Testkassette wurde mit  $1,5 \times 10^5$  Keimen pro Test bestimmt.

#### Spezifitätsstudie

Zur Bestimmung der Spezifität der Diagnostik Nord Strep A Testkassette auf Streptokokken der Gruppe A wurden die nachfolgenden Streptokokken Stämme der Gruppe A mit unterschiedlicher Keimzahl pro Test bestimmt. Positive Ergebnisse mit einer Nachweisgrenze von  $1,5 \times 10^5$  Keimen/Test in allen Stämmen zeigt, dass die Diagnostik Nord Strep A Testkassette spezifisch bezüglich Streptokokken der Gruppe A reagiert.

#### Streptokokken Stämme der Gruppe A:

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

Weiter wurden Kreuzreaktionsstudien mit der Diagnostik Nord Strep A Testkassette an Organismen durchgeführt, die ebenfalls im Respirationstrakt zu finden sind. Die nachfolgenden Organismen wurden mit  $1 \times 10^8$  Keimen/ Test geprüft.

Die Diagnostik Nord Strep A Testkassette ergab in allen Fällen ein negatives Ergebnis.

*Streptococcus* Gruppe B  
*Streptococcus* Gruppe G  
*Proteus vulgaris*  
*Streptococcus faecium*  
*Neisseria gonorrhoeae*  
*Streptococcus mutans*  
*Neisseria meningitidis*  
*Streptococcus mitis*  
*Neisseria subflava*  
*Streptococcus* Gruppe F  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Streptococcus faecalis*  
*Neisseria lactima*  
*Moraxella catarrhalis*  
*Streptococcus sanguis*

*Streptococcus* Gruppe D  
*Streptococcus bovis*  
*Staphylococcus epidermidis*  
*Corynebacterium diphtheriae*  
*Staphylococcus saprophyticus*  
*Bordetella pertussis*  
*Streptococcus salivarius*  
*Candida albicans*  
*Streptococcus* Gruppe C  
*Haemophilus parahaemolyticus*  
*Staphylococcus aureus*  
*Escherichia coli*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Neisseria sicca*

#### Vergleichsstudie

Die Vergleichsstudie zwischen der Diagnostik Nord Strep A Testkassette und konventionellen Kulturtests wurde an mehreren klinischen Zentren durchgeführt.

Rachenabstriche wurden von Kindern und Erwachsenen mit Pharyngitis-Symptomatik genommen. Die Abstriche wurden für das Anpflanzen von Kulturen (Blutagarplatten) und zur Durchführung der Diagnostik Nord Strep A Testkassette benutzt. Beta-hämolytische Kolonien von der Blutagarplatte wurden als Streptokokken der Gruppe A bestimmt unter Verwendung der serologischen Streptokokkengruppenbestimmung. Strep A wurde als anwesend oder nicht anwesend aufgezeichnet. Quantifizierungen wurden mit den klinischen Proben nicht durchgeführt.

Zusammenfassung des Ergebnisses:

#### DIAGNOSTIK NORD Strep A

	+	-	Total
Kultur	82	2	84
Total	86	158	244

#### Sensitivität

97.6% (95% CI, 93.8% bis 99.4%)

#### Spezifität

97.5% (95% CI, 93.7% bis 99.3%)

#### Ringversuch

Der Ringversuch mit der Diagnostik Nord Strep A Testkassette wurde in drei Praxislaboren mit negativer Kontrolle, schwach positiver Probe und mittel positiver Probe durchgeführt.

Jede Probe wurde je 5 Mal über einen Zeitraum von 5 Tagen getestet. Die ermittelten Ergebnisse ergaben vollständige Übereinstimmung (100%) mit den erwarteten Ergebnissen.

#### Literatur

1. Facklam, R. R. and Carey, R. B., Streptococci and Aerococci, *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed., Lenette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. and Shadomy, H. J. (eds), **American Society for Microbiology**, 1985, PP154-175.
2. Levinson, M. L. and Frank, P. F., *Differentiation of Group A from other Beta Hemolytic Streptococci with Bacitracin*, **J. Bacteriol.**, 69,284-287(1995).
3. Edwards, E. A., Phillips, I. A., and Suiter, W. C., *Diagnosis of Group A Streptococcal Infections Directly from throat secretions*, **J. Clin. Micro.** 15, 481-483 (1982).
4. 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. Immunoassay**, 13, 441-445(1992)
5. Ross, P.W., *Throat Swabs and Swabbing Technique*, **The Practitioner**, 207,791-796(1971).
6. Lauer, B. A., Rellar, I. 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).

### SYMBOLERLÄUTERUNGEN

			Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Nur für in-Vitro-diagnostische Zwecke		Chargenbezeichnung
	Mursinnlos versenden		Verwendbar bis
	Gebrauchsmessung beachten		Lagertemperatur

Rev.: 25/04/2006 JM