

StrepA Kassettentest

Kat.-Nr. wi-sa-k20

20 Stück, einzeln eingeschiegelt

Zum schnellen Nachweis von Streptokokken Antigenen der Gruppe A aus Rachenabstrichen
Nur für den *In Vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender

VERWENDUNGSZWECK

Der WiduMed StrepA Test ist ein immunologischer Ein-Schritt-Membrantest für die schnelle und qualitative Bestimmung von Streptokokken-Antigenen der Gruppe A direkt aus dem Rachenabstrich.

EINFÜHRUNG

Beta-hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A sind die Hauptursache für Infektionen des oberen Respirationstraktes wie Tonsillitis, Pharyngitis und Scharlach. Eine frühe Diagnose und Behandlung von Streptokokken Gruppe A-bedingter Pharyngitis hilft, die Schwere der Symptome und das Risiko weiterer Komplikationen, wie rheumatisches Fieber und Poststreptokokken-Glomerulonephritis, zu verringern (1).

Konventionelle Nachweismethoden dieser Erkrankungen basieren auf Isolierung und anschließender Identifikation der Organismen (1,2) und dauern in der Regel 24-48 Stunden. 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

Der WiduMed StrepA Test nutzt die immunologische "sandwich-assay" - Technologie zum Nachweis von Streptokokken der Gruppe A. Der Test enthält einen Nitrocellulosemembran-Streifen, beschichtet mit Kaninchen-anti-StrepA-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. Die Extraktionslösung wird anschließend in die Testkassette pipettiert. Dort reagiert das StrepA-Antigen mit dem farbigen 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 entsteht hier durch Ausbildung eines "sandwich"-Komplexes eine farbige Bande. Bei einem negativen Ergebnis erscheint keine Bande im Bereich der Testlinie. Unabhängig von der Anwesenheit des StrepA-Antigens reagiert die Probenmischung immer beim Passieren des Bereiches der Kontrolllinie mit dem dort immobilisierten Ziege-anti-Kaninchen-Antikörper unter Ausbildung einer farbigen Bande. Die Anwesenheit dieser farbigen Kontrolllinie dient zur Bestätigung, dass genügend Probenvolumen aufgetragen wurde und dass die Probe ordnungsgemäß über die Membran geflossen ist, sowie als Reagenzien-Kontrolle.

REAGENZIEN UND MATERIALIEN

- Extraktions-Reagenz 1: 1,0 M Natriumnitrit (5 ml):



T Giftig
R25: Giftig beim Verschlucken

- Extraktions-Reagenz 2: 1,25 M Essigsäure, (5 ml)
- 20 Testkassetten mit Kaninchen-anti-StrepA-Antikörper-beschichteter Membran und Goldkonjugat
- 20 Extraktionsröhrchen mit Tropfkappen
- 1 Ständer für Extraktionsröhrchen
- 20 sterile Abstrichtupfer
- Auf Nachfrage Positivkontrolle erhältlich: Hitzeinaktivierte Streptokokken der Gruppe A in Lösung (1×10^8 Keime/ml) mit 0.1 % Natriumazid als Konservierungsmittel (2 ml)

LAGERUNG

Alle Reagenzien inklusive der WiduMed StrepA Testkassetten können bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank gelagert werden (2 °C-30 °C).

SICHERHEITSHINWEISE

- Nur zur Benutzung als *In Vitro* Diagnostikum durch professionelle Anwender.
- Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen mischen.
- Nicht nach Ablauf der Haltbarkeit verwenden.
- Nicht die Verschlüsse der Reagenzienflaschen vertauschen.
- Extraktion Reagenz 1 ist giftig beim Verschlucken; ggf. sofort Arzt konsultieren.
- Positivkontrollen enthalten Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer zu potentiell explosiven Metallaziden reagiert.

- Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösem Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten. **Tragen Sie Schutzhandschuhe und Schutzkleidung.**
- Alle potentiell kontaminierten Abfälle wie Tupfer, StrepA-Testkassetten und Extrakte sind ordnungsgemäß zu entsorgen.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

Testdurchführung mit Positivkontrolle:

4 Tropfen des Extraktions-Reagenz 1 und 4 Tropfen des Extraktions-Reagenz 2 in das Extraktionsröhrchen geben. Die Positivkontrolle durch Schütteln des Fläschchens gut mischen und 1 Tropfen in das Extraktionsröhrchen hinzugeben. Die Lösung mit einem sterilen Tupfer gut durchmischen. Dann den Test wie gewohnt durchführen.

PROBENNAHME UND LAGERUNG

Der Rachenabstrich erfolgt nach klinischen Standardmethoden, wie sie z. B. bei Facklam (1) und Ross (5) beschrieben wurden. Bitte nur die beigefügten Tupfer mit Plastikstiel 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 des ökonomed® StrepA Tests leicht über eine 5 % Schafblut-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

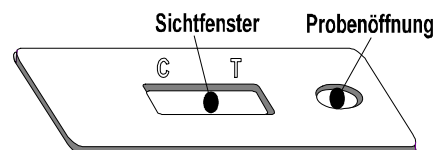
Allgemeine Hinweise

- Alle Proben und Reagenzien zur Durchführung des WiduMed StrepA Tests sollen vor der Testdurchführung Raumtemperatur haben.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen die Flaschenverschlüsse der Reagenzien nicht in Kontakt mit dem Tupfer oder dem Extraktionsröhrchen kommen lassen.

Durchführung der Extraktion und des Tests

(Siehe auch Zeichnung im Kartondeckel)

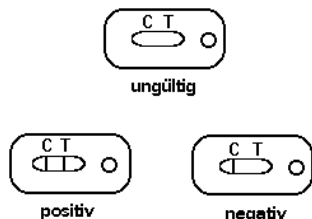
- In das Extraktionsröhrchen **4 Tropfen des Extraktions-Reagenz 1** geben und **4 Tropfen Extraktions-Reagenz 2** hinzufügen.
- Sofort den Tupfer gegen die innere Wand des Extraktionsröhrchen drücken. Vorgang noch mindestens einmal wiederholen, damit der Tupfer wiederholt ausgedrückt wird und sich wieder voll saugen kann. Tupfer dann für **mindestens eine Minute** im Extraktionsröhrchen stehen lassen, jedoch nicht länger als 15 Minuten. Anschließend den Tupfer gut an der Gefäßwand ausdrücken und aus dem Röhrchen entfernen.
- Das Extraktionsröhrchen mit einer Tropfkappe verschließen und 3 Tropfen, der Flüssigkeit (ca. 120 µl) in die runde Probenöffnung der Testkassette geben.



- 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. StrepA 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 StrepA in der Probe vorhanden ist.
- Ungültig** Erscheint weder in der Kontrollregion noch in der Testregion eine Linie, so liegt ein Fehler vor. Die Untersuchung sollte mit einem neuen Test und einem neuen Abstrich wiederholt werden.



GRENZEN DES VERFAHRENS

- Die Genauigkeit des Tests hängt von der Qualität der Abstrichprobe ab. Falsch-negative Ergebnisse können von einer schlechten Probenahme 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 StrepA-Pharyngitis und einem negativem WiduMed StrepA Ergebnis zusätzlich eine Kultur angesetzt werden.
- Der Test unterscheidet nicht zwischen asymptomatischen Trägern von Streptokokken der Gruppe A und solchen mit Symptomen. Wenn die klinischen Zeichen und Symptome nicht mit den Labortests übereinstimmen, sollte ein Abstrich in Kultur genommen werden. In wenigen Fällen kann eine sehr starke Besiedelung mit *Staphylococcus aureus* zu einem falsch-positiven Ergebnis führen.
- 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 hoher Menschendichte.

TESTCHARAKTERISTIK

Sensitivitätsstudie

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des WiduMed StrepA Tests wurden Streptokokken der Gruppe A auf Nährmedium kultiviert. Je 10 Tests aus 3 verschiedenen Test-Lots wurden eingesetzt und die Nachweisgrenze des WiduMed StrepA Tests wurde mit $1,5 \times 10^5$ Keimen pro Test bestimmt.

Spezifitätsstudie

Zur Bestimmung der Spezifität des WiduMed StrepA Tests 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 zeigen, dass der WiduMed StrepA Test 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 dem WiduMed StrepA Test mit Organismen durchgeführt, die ebenfalls im Respirationstrakt zu finden sind. Die nachfolgenden Organismen wurden mit 1×10^8 Keimen/ Test geprüft. Der WiduMed StrepA Test ergab in allen Fällen ein negatives Ergebnis.

Streptococcus Gruppe B	Streptococcus pneumoniae	Neisseria subflava
Streptococcus Gruppe C	Streptococcus salivarius	Bordetella pertussis
Streptococcus Gruppe D	Streptococcus sanguis	Candida albicans
Streptococcus Gruppe F	Staphylococcus aureus	Corynebacterium diphtheriae
Streptococcus Gruppe G	Staphylococcus epidermidis	Escherichia coli
Streptococcus bovis	Staphylococcus saprophyticus	Haemophilus parahaemolyticus
Streptococcus faecalis	Neisseria gonorrhoeae	Moraxella catarrhalis
Streptococcus faecium	Neisseria lactima	Proteus vulgaris
Streptococcus mitis	Neisseria meningitidis	Pseudomonas aeruginosa
Streptococcus mutans	Neisseria sicca	

Vergleichsstudie

Die Vergleichsstudie zwischen dem WiduMed StrepA Test und konventionellen Kulturtests wurde an mehreren klinischen Zentren durchgeführt. Rachenabstriche wurden von Kindern und Erwachsenen mit Pharyngitis-Symptomatik genommen. Die Abstriche wurden für das Animpfen von Kulturen (Blutagarplatten) und zur Durchführung des WiduMed StrepA Tests benutzt. Beta-hämolytische Kolonien von der Blutagarplatte wurden als Streptokokken der Gruppe A bestimmt unter Verwendung der serologischen Streptokokken-Gruppenbestimmung. StrepA wurde als anwesend oder nicht anwesend aufgezeichnet. Quantifizierungen wurden mit den klinischen Proben nicht durchgeführt. Zusammenfassung des Ergebnisses:

WiduMed StrepA				
		+	-	Total
Kultur	+	82	2	84
	-	4	156	160
Gesamt		86	158	244

Sensitivität 97.6%
Spezifität 97.5%

Ringversuch

Der Ringversuch mit dem WiduMed StrepA Test wurde in drei Praxislaboren mit negativer Kontrolle, schwach positiven Proben und mittel positiven Proben 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

- Facklam, R. R. and Carey, R. B.: Streptococci and aerococci. *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed., Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. and Shadomy, H. J. (eds), American Society for Microbiology, 1985, 154-175.
- 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 Suiter, 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. Immunoassay*, **13**, 441-445 (1992).
- Ross, P. W.: Throat Swabs and Swabbling Technique. *The Practitioner*, **207**, 791-796 (1971).
- Lauer, B. A., Rellar, 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).

Rev:22.08.2011

Widufit GmbH
 Dieselstr. 9
 D-32289 Rödinghausen
 Tel.: 05223-65 33 623
 Fax: 05223-65 33 638
 E-Mail: info@widufit.de

SYMBOLERLÄUTERUNGEN

	Nur für den in-vitro diagnostischen Gebrauch
	Chargennummer
	Nur einmal benutzen
	Haltbarkeit
	Lagertemperatur
	Gebrauchsanweisung beachten