



Key Code TSMX7829A
www.oxid.com/ifu

Europe + 800 135 79 135
US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539
ROW +31 20 794 7071

Streptex

REF	ZL50/R30950501	▽50	DE
	ZL61/R30164701	▽200	

1. VERWENDUNGSZWECK

Streptex ist ein Latex-Schnelltest zum qualitativen Nachweis und zur Bestimmung von Streptokokken der Lancefield-Gruppe. Es stehen Reagenzien für die Gruppen A, B, C, D, F und G zur Verfügung, die die Mehrheit der klinisch isolierbaren Gruppen abdecken⁶: Die Streptokokken der Gruppe E werden selten isoliert.

2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Die Mehrheit der Spezies Streptococcus besitzt gruppenspezifische Antigene, die in der Regel strukturelle Kohlenhydratbestandteile der Zellwand sind. Lancefield zeigte, dass diese Antigene in löslicher Form extrahiert und durch Präzipitationsreaktionen mit homologen Antiseren identifiziert werden können¹². Zur Extraktion der Antigene wurden verschiedene Verfahren beschrieben^{3,4,10,13,17,18}. Beim Streptex Assay wird ein einfaches Enzymextraktionsverfahren angewandt. Zusätzlich ist ein schnelleres Säure-Extraktionsverfahren erhältlich (Streptex Säure-Extraktionskit, ZL59/R30951301).

Der Test dient hauptsächlich zur Identifizierung von auf Agarplatten gewachsenen Streptokokken. Zufriedenstellende Ergebnisse wurden jedoch auch nach einstündiger Extraktion aus reinen Bouillonkulturen erzielt⁸.

3. GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS

In einem einfachen Inkubationsschritt werden gruppenspezifische Antigene aus Streptokokken extrahiert. Danach werden die Antigene mit Hilfe von mit gruppenspezifischen Antikörpern beschichteten Polystyrollatexpartikeln identifiziert. Diese Latexpartikel agglutinieren bei Vorliegen des homologen Antigens stark. Liegt kein homologes Antigen vor, bleiben sie in homogener Suspension.

4. REAGENZIEN

Streptex	50 Tests (ZL50/R30950501)	200 Tests (ZL61/R30164701)
1. Latex Gruppe A (ZL51/R30950601)	1 Tropffläschchen (hellblauer Verschluss)	4 Tropffläschchen (hellblaue Verschlüsse)
2. Latex Gruppe B (ZL52/R30950701)	1 Tropffläschchen (rosa Verschluss)	4 Tropffläschchen (rosa Verschlüsse)
3. Latex Gruppe C (ZL53/R30950801)	1 Tropffläschchen (brauner Verschluss)	4 Tropffläschchen (braune Verschlüsse)
4. Latex Gruppe D (ZL54/R30950901)	1 Tropffläschchen (dunkelblauer Verschluss)	4 Tropffläschchen (dunkelblaue Verschlüsse)
5. Latex Gruppe F (ZL56/R30951101)	1 Tropffläschchen (grauer Verschluss)	4 Tropffläschchen (graue Verschlüsse)
6. Latex Gruppe G (ZL57/R30951201)	1 Tropffläschchen (gelber Verschluss)	4 Tropffläschchen (gelbe Verschlüsse)
7. Polyvalente Positive Kontrolle (ZL58/R30164601)	1 Tropffläschchen (roter Verschluss)	2 Tropffläschchen (rote Verschlüsse)
8. Extraktionsenzym (ZL55/R30951001)	2 Fläschchen	8 Fläschchen
9. Einweg-Rührstäbchen	3 Bündel	12 Bündel
10. Einweg-Reaktionskarten (RT02/R30368601)	2 Packungen	8 Packungen
11. Packungsbeilage	1	1

BESCHREIBUNG, VORBEREITUNG UND EMPFOHLENE LAGERUNGSBEDINGUNGEN

Siehe auch **Vorsichtsmaßnahmen**



Jeder Kit enthält einen herausnehmbaren Ständer zur Lagerung der Reagenzien, die gekühlt aufbewahrt werden müssen. Mit dem Kit ZL61/R30164701 wird ein großer Ständer zur Lagerung der Reagenzien mitgeliefert. Sofern nicht anders angegeben, müssen alle Reagenzien bei 2 - 8°C gelagert werden. Unter diesen Lagerungsbedingungen bleibt die Reaktivität bis zum Verfallsdatum des Kits erhalten.

Reaction-Karten und-Sticks Mischen sollte bei Raumtemperatur (15-30° C) gelagert werden

LATEX	Latexsuspensionen
	Plastiktropffläschchen (ZL50/R30950501) oder 4 Sets mit 6 Plastiktropffläschchen (ZL61/R30164701), jedes spezifisch für eine der Gruppen A, B, C, D, F und G, mit einem Mindestvolumen von je 1,2 ml (ausreichend für 50 Tests). Die mit gereinigtem Antikörper (Kaninchen) gegen das entsprechende Gruppenantigen beschichteten Polystyrol-latexpartikel sind bei einer Konzentration von 0,5% in Phosphat-Puffer (pH 7,4) mit 0,1% Natriumazid suspendiert.

Die Latexsuspensionen werden gebrauchts-fertig geliefert und müssen bei 2 - 8°C aufrecht gelagert werden. Unter diesen Lagerungsbedingungen bleibt die Reaktivität mindestens bis zu dem auf den Fläschchen-etiketten angebenen Datum erhalten. Nach längeren Lagerungszeiten kann es zu Aggregations- oder Austrocknungserscheinungen im oberen Bereich des Fläschchens kommen. In diesem Fall sollten die Fläschchen einige Sekunden lang kräftig geschüttelt werden, bis sie vollständig resuspendiert sind. NICHT EINFRIEREN.

EXTRACTION ENZYME	Extraktionsenzym
	2 (ZL50/R30950501) oder 8 (ZL61/R30164701) Fläschchen mit lyophilisierter proteolytischer Fraktion aus Streptomyces griseus-Kulturen mit Kalziumchlorid. Nach dem Auflösen enthält die Lösung in Arbeitsverdünnung 0,01% Bronopol als Konservierungsmittel.

Ein Fläschchen Extraktionsenzym durch Zugabe von 11 ml sterilem destilliertem Wasser auflösen. Einige Minuten stehen lassen und dabei zur besseren Auflösung gelegentlich drehen und über Kopf schwenken.

Das aufgelöste Extraktionsenzym sollte bei 2 - 8°C gelagert werden. Unter diesen Lagerungsbedingungen bleibt die Reaktivität mindestens 3 Monate nach der Auflösung bzw. bis zu dem auf dem Fläschchenetikett angegebenen Datum erhalten, je nachdem, welches das frühere Datum ist. Das Enzym kann auch in Aliquoten bei -15°C bis -25°C tiefgefroren gelagert werden. Unter diesen Lagerungsbedingungen bleibt die Reaktivität mindestens 6 Monate bzw. bis zu dem auf dem ursprünglichen Fläschchenetikett angegebenen Datum erhalten, je nachdem, welches das frühere Datum ist. NICHT MEHR ALS EINMAL EINFRIEREN UND WIEDER AUFTAUEN.

Polyvalente Positive Kontrolle†

1 (ZL50/R30950501) oder 2 (ZL61/R30164701) Plastiktropffläschchen (roter Verschluss) mit polyvalentem Antigen-Extrakt aus jeweils repräsentativen Stämmen der Streptokokken-Gruppen A, B, C, D, F und G. Die Lösung enthält Phosphat-Puffer (pH 7,4) und 0,1% Natriumazid als Konservierungs-mittel.

Die Polyvalente Positive Kontrolle muss bei 2 - 8°C gelagert werden. Unter diesen Lagerungsbedingungen bleibt die Reaktivität mindestens bis zu dem auf dem Fläschchen-etikett angegebenen Datum erhalten.

5. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

In-vitro-Diagnostikum.

Nur zur Verwendung durch Fachpersonal.

Hinweise auf potenziell gesundheitsgefährdende Substanzen entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern des Herstellers und den Produktetiketten.

SICHERHEITSVORKEHRUNGEN

5.1 In Übereinstimmung mit den GLP-Richtlinien gelten Extrakte in jeder Testphase als potenziell infektiös und müssen mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden.

5.2 Wiederverwendbare Geräte müssen nach Gebrauch durch geeignete Verfahren sterilisiert werden, vorzugsweise durch Autoklavieren bei 121°C, 15 Minuten lang. Einwegmaterialien müssen autoklaviert oder verbrannt werden. Verschüttete oder verspritzte potenziell infektiöse Materialien müssen sofort mit saugfähigen Papiertüchern entfernt und die kontaminierte Fläche mit einem herkömmlichen, bakterienabtötenden Desinfektionsmittel oder 70%igem Alkohol gereinigt werden. KEIN Natriumhypochlorit verwenden. Das zum Entfernen von Spritzern verwendete Material (auch Handschuhe) muss als infektiöser Abfall entsorgt werden. Azide können mit Kupfer und Blei in Laborausgüssen reagieren und explosive Salze bilden. In diesem Kit werden nur geringe Mengen verwendet, dennoch sollte bei der Entsorgung azid-haltiger Materialien mit viel Wasser nachgespült werden.

5.3 Nicht mit dem Mund pipettieren. Bei der Handhabung von Proben und während der Testdurchführung Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen. Nach Beendigung des Verfahrens die Hände gründlich waschen.

5.4 Das lyophilisierte Extraktionsenzym enthält Kalziumchlorid, das als reizend (Xi) eingestuft wird. Berührung mit der Haut und den Augen vermeiden. Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit viel Wasser spülen und einen Arzt konsultieren.

5.5 Die Latexsuspensionen und Polyvalente Positive Kontrolle enthalten 0,1% Natriumazid. Azide können mit Kupfer und Blei in Laborausgüssen reagieren und explosive Salze bilden. In diesem Kit werden nur geringe Mengen verwendet, dennoch sollte bei der Entsorgung azid-haltiger Materialien mit viel Wasser nachgespült werden

5.6 Bei Beachtung der GLP-Richtlinien, der Arbeitshygiene-Standards und der Anweisungen in dieser Packungsbeilage gelten die mit diesem Kit gelieferten Reagenzien als nicht gesundheitsgefährdend.

WICHTIGE HINWEISE ZUR HANDHABUNG

5.7 Die Reagenzien nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.

5.8 Eine mikrobiologische Kontamination der Reagenzien ist unbedingt zu vermeiden, da dies andernfalls die Haltbarkeit des Produktes verkürzen und zu falschen Ergebnissen führen kann.

5.9 Vor Gebrauch abwarten, bis alle Reagenzien und Proben Raumtemperatur (18 - 30°C) erreicht haben. Unmittelbar nach dem Gebrauch die Reagenzien wieder bei der empfohlenen Temperatur lagern. Latexreagenzien, die Anzeichen einer Aggregation aufweisen, wenn sie zum ersten Mal getropft werden, können eingefroren gewesen sein und sollten nicht verwendet werden.

5.10 Wurde die Extraktionsenzymlösung kontaminiert, was an zunehmender Trübung während der Lagerung zu erkennen ist, muss sie verworfen werden.

5.11 Die Tropffläschchen müssen senkrecht gehalten werden. Der Tropfen muss sich an der Spitze des Ausgussröhrchens bilden. Wird das Ausgussröhrchen nass, bildet sich der Tropfen nicht an der Spitze, sondern umschließt das ganze Röhrchenende und hat nicht das richtige Volumen. In diesem Fall das Ausgussröhrchen trocknen, bevor mit dem Test fortgefahren wird.

5.12 Die Reaktionsfelder auf den Karten nicht berühren.

6. PROBENTNAHME UND ANLEGEN DER KULTUREN

Detaillierte Informationen zur Probenentnahme und zum Anlegen von Primärkulturen entnehmen Sie bitte einem Standard-Lehrbuch⁶. Da die normalerweise verwendeten Medien Blutagar enthalten, muss die Hämolysereaktion der verdächtigen Streptokokkenkolonien vor einer Gruppenbestimmung stattgefunden haben. Die Gruppen von Streptokokken, die in einer gemischten Kultur auf festen Primärisolationsmedien gewachsen sind, können zuverlässig direkt bestimmt werden, wenn sie nicht von Organismen wie Klebsiella, Escherichia oder Pseudomonas überwuchert sind, wodurch alle Latexreagenzien nicht spezifisch agglutinieren können.

Die Streptex Gruppenbestimmung sollte nicht aus Primärkulturen in Flüssigmedien durchgeführt werden. Bei der Gruppenbestimmung aus Primärkulturen oder unreinen Subkulturen, die anscheinend Streptokokken enthalten (wenn kein eindeutiges Ergebnis erzielt wurde), sollten für eine anschließende Identifikation mit Streptex reine Subkulturen vermuteter Kolonien hergestellt werden.

Die Organismen der Gruppen A, B, C, F und G sind in der Regel beta-hämolisierend. Scheint ein alpha- oder nicht hämolisierender Organismus zu einer dieser Gruppen zu gehören, sollte die Bestimmung der Spezies durch biochemische Tests bestätigt

werden^{7,16}. Da Enterokokken relativ resistent gegen Penicillin sind, sollte eine Differenzierung von Organismen der Gruppe D in Enterokokken-*(Enterococcus spp.)* und Nicht-Enterokokkentypen (Streptokokken der Gruppe D) mittels eines L-Pyrrolidonyl-β-Naphthylamid-(PYR)-Hydrolysetests (Remel, Nr. LP02/R30854301 und LP03/3R0854401) oder einer Kultur in Galle-Äskulin und 6,5%iger NaCl-Bouillon durchgeführt werden (Abb. 3)⁶. Die Antigenproduktion der Gruppe D Streptokokken wird durch Zugabe von 0,5 - 1%iger Glukose zum Medium deutlich verbessert¹⁴, mit Blutagar fällt die Hämolysereaktion jedoch nicht so deutlich aus.

7. TESTVERFAHREN

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Streptex enthält ausreichend Material für die Durchführung von 50 Tests (ZL50/R3090501) oder 200 Tests (ZL61/R30164701) (siehe Abschnitt **Inhalt des Kits**).

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Pipette zum Abmessen und Pipettieren von 0,4 ml.
- Platinöse.
- Pipetten zur Abgabe eines Tropfens von 40 µl.
- Wasserbad, auf 37°C eingestellt.
- Glas- oder Plastikteströhrchen mit einem Innendurchmesser von 8 - 12 mm, ein Röhrchen für jeden Organismus, dessen Gruppe bestimmt werden soll.

TESTDURCHFÜHRUNG

ACHTUNG: Während der Durchführung der Tests sollten entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zur Handhabung lebender Kulturen getroffen werden.

Abbildung 3 zeigt einen Vorschlag für die schematische Darstellung zur Gruppenbestimmung von Organismen aus Primär- bzw. Subkulturen.

Schritt 1 Für jede Kultur, deren Gruppe bestimmt werden soll, 400 µl Extraktionsenzym in ein entsprechend gekennzeichnetes Teströhrchen pipettieren.

Schritt 2 Mit einer Platinöse eine schwache Suspension der Kultur in einem Röhrchen mit Enzymlösung herstellen. Ein einziger Abstrich der Kultur sollte ausreichen. Häufig kann ein Ergebnis erzielt werden, indem nur 5 große Kolonien zum Emulgieren im Enzym entnommen werden, wenn sie genügend an der Öse haften. Ist die Kultur nicht rein, sollten die Streptokokkenkolonien aus einem Bereich entnommen werden, der so wenig Verunreinigungen wie möglich enthält.

Schritt 3 Die Suspension bei 37°C in einem Wasserbad (oder in einem Becherglas mit Wasser, das in einem Inkubator auf 37°C äquilibriert wurde) mindestens 10 Minuten oder bis zu einer Stunde lang inkubieren. Das Röhrchen nach 5-minütiger Inkubation schütteln.

Schritt 4 Jede Latexsuspension resuspendieren, indem Sie sie einige Sekunden lang kräftig schütteln. Das Tropffläschchen senkrecht halten und einen Tropfen (20 µl) jeder Latexsuspension auf einen separaten Kreis auf einer Reaktionskarte pipettieren.

ANMERKUNG: Bei Verwendung von Tropffläschchen müssen diese senkrecht gehalten werden. Der Tropfen muss sich an der Spitze des Ausgussröhrchens bilden. Wird das Ausgussröhrchen nass, bildet sich der Tropfen nicht an der Spitze, sondern umschließt das ganze Röhrchenende und hat nicht das richtige Volumen. In diesem Fall das Ausgussröhrchen trocknen, bevor mit dem Test fortgefahren wird.

Schritt 5 Mit einer Pipette einen Tropfen (40 µl) Extrakt auf jeden der 6 Kreise auf der Reaktionskarte pipettieren.

Schritt 6 Den Inhalt jedes Kreises mit einem Rührstäbchen nacheinander mischen und so verteilen, dass jeweils der ganze Kreis ausgefüllt ist. Für jeden Kreis ein neues Stäbchen verwenden und nach Gebrauch sicher entsorgen.

Schritt 7 Die Karte höchstens 1 Minute lang vorsichtig schwenken. Die Karte sollte im normalen Leseabstand (25 - 35 cm) von den Augen entfernt gehalten werden. Kein Vergrößerungsglas verwenden. Die Agglutinationsmuster sind klar umrissen und bei normalen Lichtverhältnissen leicht zu erkennen.

Schritt 8 Die gebrauchte Reaktionskarte sicher entsorgen.

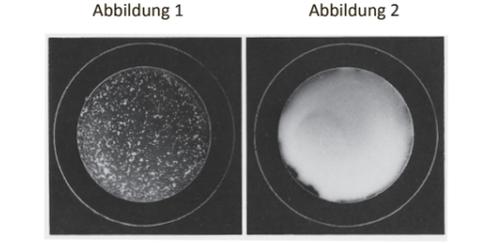
Schritt 9 Stellen Sie bitte sicher, dass die Reagenzien in dem mitgelieferten Aufbewahrungständer wieder in den Kühlschrank (2 - 8°C) gestellt werden.

8. ERGEBNISSE

ABLESEN DER ERGEBNISSE

Ein positives Ergebnis wird durch die Entstehung eines Agglutinationsmusters angezeigt, das eine deutlich sichtbare Verklumpung der Latexpartikel aufweist (Abb. 1).

Die Schnelligkeit und die Qualität der Agglutination hängen von der Konzentration des Antigenextraktes ab. Bei einer hohen Extrakt-Konzentration kann es beim Mischen innerhalb weniger Sekunden zu einer starken Verklumpung der Latexpartikel kommen. Bei niedriger Extrakt-Konzentration hingegen verzögert sich die Reaktion deutlich, und es entsteht nur eine schwache Verklumpung der Latexpartikel.



Bei einem negativen Ergebnis agglutiniert der Latex nicht, und das milchige Aussehen bleibt während des einminütigen Tests im Wesentlichen unverändert (Abb. 2). In den negativen Mustern können jedoch leichte Spuren einer Granulierung erkennbar sein, was von der Sehschärfe des Beobachters abhängt.

QUALITÄTSKONTROLLE

Tests zur Qualitätskontrolle sollten für jede Lieferung und jede neu erhaltene Kit-Chargennummer durchgeführt werden. Jedes Labor muss die staatlichen und lokalen Vorschriften befolgen.

Bei normalem Gebrauch ist die Leistungsfähigkeit des Tests durch eine eindeutige Agglutination in nur einer Latexsuspension gewährleistet, während die anderen fünf Suspensionen keine Agglutination aufweisen. Dieses Reaktionsmuster gilt in den meisten Fällen als ausreichend, um die Spezifität der Reagenzien und die Effizienz des Enzym-extraktionsverfahrens nachzuweisen. Ergibt sich ein anderes Reaktionsmuster, sollten folgende Verfahren durchgeführt werden:

a) **Test zur Reaktivität der Latexsuspensionen (Verfahren der Positiven Kontrolle)**

1 Tropfen (40 µl) Polyvalente Positive Kontrolle entweder anstelle der Probe oder zusätzlich zur Probe pipettieren, wenn nach einer Minute keine Reaktion stattgefunden hat. Den Inhalt jedes Kreises mit einem frischen Rührstäbchen mischen und so verteilen, dass der ganze Kreis ausgefüllt ist. Nach vorsichtigem, einminütigem Schwenken der Karte sollte bei allen Testlatizes eine eindeutige Agglutination auftreten.

*Zusätzliche Polyvalente Positive Kontrolle kann bezogen werden (ZL58/R30164601).

b) **Test zur Spezifität der Agglutination (Verfahren der Negativen Kontrolle)**

Um sicherzustellen, dass die Agglutination einer Latexuspension spezifisch ist, insbesondere bei einer sehr schwachen Agglutination oder wenn mehr als eine Suspension von einem einzigen Extrakt agglutiniert wird, muss der positive Test (bzw. die Tests) gleichzeitig mit parallelen Test(s) mit einem Tropfen Extraktionsenzym anstelle des Bakterienextrakts wiederholt werden. Die Latexuspension sollte bei Vorliegen des Extraktionsenzyms allein keine deutliche Agglutination aufweisen. Das Ergebnis dient als Kontrolle zum direkten Vergleich mit dem Muster, das mit dem Bakterienextrakt erzielt wurde.

c) **Test zum Enzymextraktionsverfahren**

Führen Sie das gesamte Testverfahren auf einer Stammkultur einer bekannten Gruppe durch. Gelegentlich sollten Tests mit unterschiedlichen bekannten Gruppen durchgeführt werden, um die Genauigkeit und die Effizienz des gesamten Testsystems sowie die Arbeitsweise des Fachpersonals zu beurteilen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

In der Regel liefern nur beta-hämolisierende Streptokokken zuverlässige Ergebnisse bei der Gruppenbestimmung^{6,8}. Es gibt jedoch auch Ausnahmen, da die Mehrheit der Streptokokkenstämme der Gruppe D entweder alpha-hämolisierend oder nicht hämolisierend ist und einige Stämme der Gruppe B nicht hämolisierend sind. Die Organismen der Gruppe D sollten durch Kultur in Galle-Äskulin und 6,5%iger NaCl-Bouillon oder durch den PYR-Test⁹ (Remel, Nr. LP02/R30854301 und LP03/R30854401) zudem als Enterokokken bzw. Streptokokken der Gruppe D klassifiziert werden. Jene Organismen, die mit den Gruppen A, C, F oder G reagieren, können, falls erforderlich, durch geeignete biochemische Verfahren identifiziert werden¹⁶.

Eine starke, schnelle Agglutination in nur einer der 6 Latexsuspensionen zeigt die Identität des getesteten Stammes an. Schwache, verzögerte Reaktionen mit demselben Extrakt sollten nicht beachtet werden. Eine etwa gleich starke Agglutination von mehr als einer Latexuspension (aber nicht aller) zeigt an, dass das Extrakt eventuell eine Mischung aus Streptokokkengruppen oder anderen Bakterien mit kreuzreagierenden Antigenen enthält, und dass weitere Isolationsverfahren und/oder biochemische Tests durchgeführt werden sollten. Einige Stämme von Streptokokken der Gruppe D konnten nachgewiesen werden, die anscheinend auch Antigen der Gruppe G besitzen^{1,11}. Diese Stämme reagieren sowohl mit Latexreagenzien der Gruppe D als auch der Gruppe G und können, falls erforderlich, im Galle-Äskulin-Test als Gruppe D bestätigt werden⁶. Aus epidemiologischen Gründen und da einige dieser Stämme eine ungewöhnlich hohe antibiotische Resistenz besitzen⁹, müssen diese Stämme korrekt identifiziert werden.

Eine verzögerte, schwache Reaktion in einer einzigen Latexsuspension zeigt gewöhnlich die Identität des getesteten Stammes an. Wenn möglich, sollte der Test mit einer stärker konzentrierten Zellsuspension wiederholt werden. Ist die Agglutination so schwach, dass bei der Interpretation Zweifel aufkommen, sollte der Test zur Spezifität des Assays, wie im Abschnitt **Qualitätskontrolle** unter (b) beschrieben, durchgeführt werden. Ein Vergleich mit den beiden Mustern liefert dann das korrekte Ergebnis.

Eine Agglutination aller Latexreagenzien, die als charakteristisches Merkmal eine faserige oder fadenartige Struktur aufweist, kann (a) auf eine Überimpfung des Extraktionsenzymes hindeuten, in diesem Fall kann die Extraktion mit einer weniger konzentrierten Suspension wiederholt werden, oder (b) es liegt eine Kontamination mit einem interferierenden Organismus (siehe **Grenzen des Verfahrens**) vor, die durch Anlegen einer weiteren Subkultur ausgeschlossen werden sollte. Eine falsche Agglutination, die auf einen dieser beiden Gründe zurückzuführen ist, kann in der Regel durch dreiminütiges Erhitzen des Extrakts in kochendem Wasser ausgeschlossen werden. Tritt bei keiner der Latexsuspensionen eine Agglutination auf, gehört die Kultur wahrscheinlich zu keiner der Gruppen, die mit diesem Test nachgewiesen werden können. Negative Ergebnisse können auch darauf zurückgeführt werden, dass für die Extraktion zu wenige Organismen verwendet wurden. Dies gilt insbesondere für Stämme der Gruppe D, von denen einige weniger Antigen besitzen als andere Gruppen, sowie für Stämme der Gruppe F, die nur sehr kleine Kolonien bilden, von denen einige stark an der Agaroberfläche haften. Ergibt sich bei einem Streptokokkus, dessen Kultur bestimmt wurde, mit keiner der Latexsuspensionen eine eindeutige Agglutination, kann die Extraktion eventuell mit einer größeren Menge an Kultur wiederholt werden.

9. GRENZEN DES VERFAHRENS

Falsch negative Ergebnisse können erzielt werden, wenn für die Extraktion nicht die korrekte Menge an Kultur verwendet wurde (siehe Abschnitt **Interpretation der Ergebnisse**). Bei einigen Stämmen des *Streptococcus bovis* und *Enterococcus faecium* (Gruppe D) können bei der Gruppenbestimmung Schwierigkeiten auftreten.

Gelegentlich kann es bei Organismen nicht verwandter Gattungen, wie z. B. Klebsiella, Escherichia oder Pseudomonas, die alle Latexreagenzien eventuell nicht spezifisch agglutinieren, zu falsch positiven Ergebnissen kommen. In der Regel können diese Organismen jedoch durch Untersuchung der Kultureigenschaften auf Wachstumsmedien von dem Test ausgeschlossen werden. Das Vorliegen von Antigenen, die Organismen heterologer Spezies oder Gattungen besitzen, wurde bei einigen Streptokokken nachgewiesen^{2,5,15}.

Folglich können Kreuzreaktionen dieses in Systemen zur Gruppenbestimmung von Streptokokken vorkommenden Typs nicht ausgeschlossen werden. Die Organismen der Streptokokkengruppen Q, R und S besitzen alle das Antigen der Gruppe D^{5,15}.

Enterokokken sind relativ resistent gegen Penicillin. Serologische Verfahren können jedoch nicht zwischen diesen und Streptokokken der Gruppe D unterscheiden. Für diesen Zweck können biochemische Tests verwendet werden, wie die PYR-Hydrolyse (Remel, Nr. LP02/R30854301 und LP03/R30854401) oder Kultur in einer 6,5%igen NaCl-Bouillon. Detaillierte Informationen zur biochemischen Differenzierung von Streptokokken entnehmen Sie bitte einem Standard-Lehrbuch⁶.

10. ERWARTETES ERGEBNIS

Bei Extrakten der Streptokokken, die den Serengruppen A, B, C, D, F oder G angehören, tritt eine starke und schnelle Agglutinationmit der entsprechenden Latexsuspension auf.

11. SPEZIFISCHE LEISTUNGSDATEN¹⁹

Klinische Studien wurden in 4 Labors in Großbritannien und in 2 Labors in Kanada mit insgesamt 743 Streptokokkenkulturen (663 beta-hämolyisierende und 80 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Kulturen) durchgeführt. 290 Primärkulturen, 451 Subkulturen und 2 Bouillonkulturen wurden getestet. Die mit dem Streptex Test nach der 10-minütigen und der 60-minütigen Extraktion ermittelten Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen aus einem anerkannten Referenzverfahren verglichen.

Die mit den 703 Streptokokkenkulturen der Gruppen A, B, C, D, F und G (638 beta- und 65 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Kulturen) ermittelten Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt. 698 Kulturen (99%) wurden mit dem Streptex Test nach 10-minütiger Extraktion und alle 703 Kulturen nach 60-minütiger Extraktion korrekt identifiziert. Nach der 10-minütigen Extraktion mit dem Streptex Test fehlten 4 beta-hämolyisierende Kulturen (1 der Gruppe B, 1 der Gruppe D, 1 der Gruppe F und 1 der Gruppe G), sie wurden jedoch nach der 60-minütigen Extraktion korrekt identifiziert. 1 beta-hämolyisierende Kultur wurde nach 10-minütiger Extraktion der Gruppe G, nach 60-minütiger Extraktion jedoch der Gruppe B zugeordnet. Die stark mit *Corynebacterium* spp. kontaminierte Kultur stand für weitere Untersuchungen nicht zur Verfügung. Das *Corynebacterium* spp. aus dieser Kultur reagierte im Streptex Test nicht.

Weitere 13 beta- und 3 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Kulturen reagierten positiv mit mehr als einer Streptokokkengruppe sowohl beim Test mit dem Referenzverfahren als auch mit dem Streptex Test bzw. mit beiden Verfahren. Es handelte sich dabei wahrscheinlich um Mischkulturen, die jedoch zur Bestätigung nicht zur Verfügung standen.

24 Streptokokkenkulturen, die mit dem Referenzverfahren nicht den Gruppen A, B, C, D, F oder G zugeordnet wurden, reagierten beim Test mit Streptex nicht.

Tabelle 1							
Identifizierung der Kultur (10-minütige Extraktion)							
Ergebnis des Streptex Tests							
	A	B	C	D	F	G	Keine Reaktion
Anerkanntes Verfahren	A	149					
	B	214a				1	1
	C		64				
	D			120b			1
	F				14		1
	G					137	1

^a = 197 beta- + 17 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Streptokokken

^b = 72 beta- + 48 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Streptokokken

Tabelle 2							
Identifizierung der Kultur (60-minütige Extraktion)							
Ergebnis des Streptex Tests							
	A	B	C	D	F	G	
Anerkanntes Verfahren	A	149					
	B	216a					
	C		64				
	D			121b			
	F				15		
	G					138	

^a = 199 beta- + 17 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Streptokokken

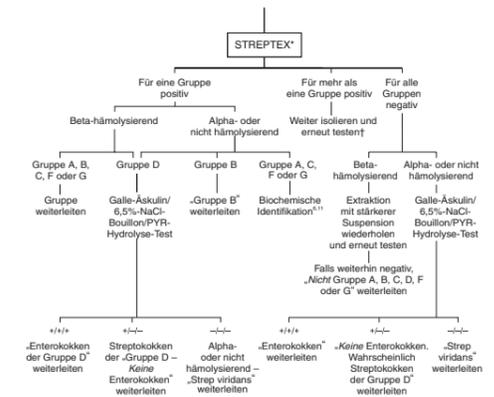
^b = 73 beta- + 48 alpha- bzw. nicht hämolyisierende Streptokokken

Abbildung 3

Vorschlag für die schematische Darstellung zur Gruppenbestimmung von Streptokokken^{*2,9}

Untersuchen Sie die Streptokokkenkultur bezüglich der Art der Hämolyse und der Kultureigenschaften (Ist die Kultur alpha-hämolyisierend, muss *Streptococcus pneumoniae* ausgeschlossen werden).

Falls der vermutete Organismus sehr klein oder überwuchert ist, muss eine Subkultur angelegt werden.



*Es wurden seltene Stämme nachgewiesen, die anscheinend mehr als eine Antigengruppe besitzen. Wenn sichergestellt wurde, dass die Reagenzien korrekt getestet wurden (siehe **Qualitätskontrolle**), sollten problematische Stämme von einem Referenzlabor identifiziert werden.

12. LEGENDE

	Bestellnummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbeschränkung (Lagertemp.)
	Inhalt ausreichend für „n“ Tests
	Chargennummer (Losnummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Hersteller

13. LITERATUR

- Birch, B.R., Keaney, M.G.L., et al (1984).** Antibiotic susceptibility and biochemical properties of *Streptococcus faecalis* strains reacting with both D and G antisera. *J. Clin. Path.*, 37, 1289.
- Chorpenning, F.W., Cooper, H.R., et al (1975).** Cross-Reactions of *Streptococcus mutans* Due to Cell Wall Teichoic Acid. *Infect. Immun.*, 12, 586.
- Ederer, G.M., Herrmann, M.M., et al (1972).** Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 23, 285.
- El Kholly, A., Wannamaker, L.W., et al (1975).** Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 28, 836.

- Elliot, S.D. and Taj, J.Y. (1978).** The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.*, 148, 1699.
- Facklam, R.R. and Carey, R.B. (1991).** Streptococci and Aerococci. *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Ed., Edited by Balows, A., Hausler, W.J., Herrman, K.L., Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J. American Society for Microbiology, Washington D.C. Pages 238-257.
- Facklam, R.R. (1977).** Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 184.
- Facklam, R.R., Cooksey, R.C., et al (1979).** Evaluation of Commercial Latex Agglutination Reagents for Grouping Streptococci. *J. Clin. Microbiol.*, 10, 641.
- Facklam, R.R. and Smith, P.B. (1976).** The Gram Positive Cocci. *Human Pathology*, 7, 187.
- Fuller, A.T. (1938).** The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130.
- Harvey, C.L. and McIlmurray, M.B. (1984).** Streptococci with dual antigen specificity for Lancefield groups D and G. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 3, 526.
- Lancefield, R.C. (1938).** A Micro Precipitin-Technic for Classifying Hemolytic Streptococci, and Improved Methods for Producing Antisera. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.Y., 38, 473.
- Maxted, W.R. (1948).** Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet*, ii, 255.
- Medrek, T.F. and Barns, E.M. (1962).** The Influence of the Growth Medium on the Demonstration of a Group D Antigen in Faecal Streptococci. *J. gen. Microbiol.*, 28, 701.
- Nowlan, S.S. and Deibel, R.H. (1967).** Group Q Streptococci. 1. Ecology, Serology, Physiology, and Relationship to Established Enterococci. *J. Bact.*, 94, 291.
- Parker, M.T. and Ball, L.C. (1976).** Streptococci and Aerococci Associated with Systemic Infection in Man. *J. Med. Microbiol.*, 9, 275.
- Rantz, L.A. and Randall, E. (1955).** Use of Autoclaved Extracts of Hemolytic Streptococci for Serological Grouping. *Stanford Med. Bull.*, 13, 290.
- Watson, B.K., Moellering, R.C., et al (1975).** Identification of Streptococci: Use of Lysozyme and *Streptomyces albus* Filtrate in the Preparation of Extracts for Lancefield Grouping. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 274.

19. Data on file



IFU X7829A, überarbeitet November 2014



Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.