

PROLEXTM EXTRAKTIONSREAGENZIEN

(für die Verwendung zur *In-vitro*-Diagnostik)



REF PL.046 **REF** PL.047 **REF** PL.048 **REF** PL.049

GEBRAUCHSANWEISUNG

VORGESEHENE VERWENDUNG

Das Prolex™ Extraction Reagent Set, wenn zusammen mit dem Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Reagenzien verwendet, bietet eine schnelle Plattform zur serologischen Identifizierung beta-hämolytischer Streptokokken, die zu den Lancefeldgruppen A, B, C, D, F und G gehören.

ÜBERSICHT UND ERKLÄRUNG

Klinische, epidemiologische und mikrobiologische Studien haben eindeutig bewiesen, dass die Diagnose einer Streptokokkeninfektion basierend auf klinischen Symptomen immer mikrobiologisch verifiziert werden muss⁴. Beta-hämolytische Streptokokken sind die am häufigsten isolierten Humanpathogene in der Gattung *Streptococcus*. Fast alle beta-hämolytischen Streptokokken besitzen spezifische Kohlenhydrat-Antigene (Streptokokkengruppentantigene). Lancefield zeigte, dass diese Antigene durch Ausfällreaktionen mit homologen Antiseren 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}. Die Prolex™ Streptococcal Gruppierungsmethode basiert auf der Freisetzung bestimmter Antigene von Bakterienzellwänden durch Extraktion modifizierter salpetriger Säure. Das extrahierte Antigen in Verbindung mit einer Latexagglutination bietet eine schnelle, sensible und spezifische Methode zur Identifizierung der Streptokokkengruppen A, B, C, D, F und G aus Primärkulturschalen.

TESTPRINZIP

Die Gruppierungsmethode des Prolex™ Streptococcal Kit beinhaltet die chemische Extraktion gruppenspezifischer Kohlenhydratantigene mithilfe speziell entwickelter Extraktionsreagenzien mit salpetriger Säure. Die im Set mitgelieferte Streptococcal Xtra Extraktionsreagenzien 1 und 2 enthalten eine chemische Substanz zur Extraktion streptokokkengruppenspezifischer Antigene bei Raumtemperatur. Extraktionsreagenz 3 enthält eine Neutralisationslösung. Die neutralisierten Extrakte können mithilfe von blauen Polystyrenlatexpartikeln, die mit gereinigtem gruppenspezifischen Kaninchen-Immunglobulin sensibilisiert wurden, einfach identifiziert werden. Diese blauen Latexpartikel agglutinieren sehr stark in Anwesenheit des homologen Antigens und verklumpen nicht, wenn das homologe Antigen fehlt.

GELIEFERTE MATERIALIEN

Jedes Set enthält ausreichend Reagenzien für 150 Extraktionen, geeignet für die Typisierung mit den Prolex™ Streptococcal Latex Reagenzien PL.031, PL.032, PL.033, PL.034, PL.035 und PL.036. Die Materialien werden gebrauchsfertig geliefert.

- Extraktionsreagenz 1 (PL.047): Eine Tropfflasche enthält 8.0 ml des modifizierten Extraktionsreagenz mit 0.098% Natriumazid als Konservierungsmittel.
- Extraktionsreagenz 2 (PL.048): Eine Tropfflasche mit 8.0 ml modifiziertes Extraktionsreagenz.
- Extraktionsreagenz 3 (PL.049): Eine Tropfflasche enthält 8.0 ml des modifizierten Extraktionsreagenz mit 0.098% Natriumazid als Konservierungsmittel.

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

- Latex-Reagenzien (PL.031 - PL.036): Jede Tropfflasche enthält 3.0 ml blaue Latexpartikel, mit dem gereinigten Kaninchenantikörpern gegen die Lancefieldgruppen A, B, C, D, F oder G beschichtet sind. Die blauen Latexpartikel
- Überarbeitung: 2026 03

sind in einer Pufferlösung mit einem pH-Wert von 7.4 suspendiert, die 0.098% Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

- **Polyvalente Positive Kontrollprobe (PL.040):** Tropfflasche enthält 2.0 ml gebrauchsfertiger polyvalenter Antigene, die aus deaktivierten Streptokokken der Lancefieldgruppen A, B, C, D, F und G extrahiert wurden. Die Antigene befinden sich in einem Puffer, dem Natriumazid in einer Konzentration von 0.098% als Konservierungsmittel zugesetzt wurde.
- Testkarten
- Rührstäbchen
- Impföse oder Impfnadel
- Pasteurpipetten
- 12 x 75 mm Reagenzgläser
- Timer

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

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

WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- nur für die Verwendung zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Reagenzien dürfen nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwendet werden.
- 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.
- 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.
- Die in dieser Anweisung genannten Verfahren, Lagerbedingungen, Vorsichtsmaßnahmen und Beschränkungen müssen befolgt werden, um gültige Testergebnisse zu erhalten.
- Informationen zu Gefahren und Vorsichtsmaßnahmen entnehmen Sie bitte den Piktogrammen auf dem Etikett und den Angaben in der folgenden Tabelle. Bitte beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt im Internet unter www.pro-lab.com.

PL.047	 Achtung Gesundheitsgefährdende Inhaltsstoffe: Natriumnitrit, Methanol Gesundheitsschädlich beim Verschlucken (H302). Hände und freiliegende Haut nach der Handhabung gründlich waschen (P264). Inhalt und Behälter sind gemäß den örtlichen Vorschriften zu entsorgen (P501).
PL.048	 Gefahr Gesundheitsgefährdende Inhaltsstoffe: Essigsäure Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden (H314). Dämpfe/Nebel nicht einatmen (P260). Tragen Sie Augenschutz, Schutzhandschuhe und Schutzkleidung (P280). BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen (P301+P330+P331). BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder den Haaren): Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Haut mit Wasser spülen (P303+P361+P353). BEI AUGENKONTAKT: Mehrere Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Falls vorhanden und problemlos möglich, Kontaktlinsen entfernen. Weiter spülen (P305+P351+P338). Rufen Sie umgehend eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an (P310). Inhalt und Behälter sind gemäß den örtlichen Vorschriften zu entsorgen (P501).

PROBENENTNAHME 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. Ein bis vier große Kolonien sollten für die Gruppierung ausreichen; wenn die Kolonien jedoch klein sind, sollten mehr Kolonien (eine Öse) verwendet werden.

TESTVERFAHREN

Alle Bestandteile sollten vor der Verwendung Zimmertemperatur besitzen.

1. Resuspendieren Sie die Latexprüfreagenzien durch vorsichtiges Wenden der Tropfflaschen, 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 1 Tropfen des Extraktionsreagenz hinzu.
4. Wählen Sie 1 - 4 beta-hämolytische Kolonien mit einer Einweg-Öse oder -Nadel und tauchen Sie sie in das Extraktionsreagenz 1. Wenn die Kolonien klein sind, nehmen Sie mehrere gut isolierte Kolonien auf, so dass sich die Lösung des Extraktionsreagenz 1 trübt. Die Streptokokkenkolonien sollten unter allen Umständen aus einem Bereich genommen werden, der die geringste Gefahr einer Kontaminierung mit einem anderen Organismus besitzt.
5. Fügen Sie jedem Reagenzglas 1 Tropfen des Extraktionsreagenz 2 hinzu.
6. Mischen Sie das Reaktionsgemisch durch sanftes Klopfen auf das Reagenzglas für 5 bis 10 Sekunden.
7. Geben Sie 1 Tropfen des Extraktionsreagenz 3 in jedes Reagenzglas und mischen Sie das Reaktionsgemisch durch sanftes Klopfen auf das Reagenzglas für 5 bis 10 Sekunden.
8. Einen Tropfen des Latexreagenz für jede Gruppe auf einem Kreis auf separaten Testkarten, die für jedes zu testende Isolat markiert sind, verteilen.
9. Geben Sie mit einer Pasteurpipette für jeden Test einen Tropfen des Extrakts auf das Latexreagenz.
10. Mischen Sie das Latex und das Extrakt mit den mitgelieferten Stäbchen und verwenden Sie dabei die gesamte Fläche der Kreise. Für jeden Testkreis sollte ein neues Stäbchen verwendet werden.
11. Karten vorsichtig hin und her bewegen, damit das Gemisch langsam über die gesamte Fläche des Teststrings fließt.
12. Bis zu eine Minute auf Verklumpung prüfen.

QUALITÄTSÜBERWACHUNGSVERFAHREN

Das Routinequalitätsüberwachungsverfahren für jede Charge umfasst das Testen der Latex- und Extraktionsreagenzien mit jeder Streptokokkengruppe A, B, C, D, F und G 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
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Gruppe C	ATCC 12388
<i>Enterococcus faecalis</i>	Gruppe D	ATCC 19433
<i>Streptococcus sp. Typ 2</i>	Gruppe F	ATCC 12392
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Gruppe G	ATCC 12394

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis: Schnelles starkes Verklumpen der blauen Latexpartikel binnen einer Minute mit einem der Latexreagenzien weist auf die spezifische Identifizierung des Streptokokkenisolats hin. Eine schwache Reaktion mit einem einzelnen Latexreagenz sollte mit einem schwereren Inokulum wiederholt werden. Der Kontrolltest gilt als positiv, wenn eine Agglutinierung mit nur einem der Latexreagenzien erfolgt. Abbildung 1 zeigt einen Schemavorschlag für die Anordnung der Streptokokken.

Negatives Ergebnis: Kein Verklumpen der Latexpartikel. Wenn Granulatspuren im Testkreis zu sehen sind, so ist der Test als negativ zu betrachten.

Uneindeutiges Ergebnis: Wenn im Testkreis nach einer Minute schwaches Verklumpen oder eine unspezifische Reaktion (Zähigkeit) auftritt, sollte der Test mit einer frischen Subkultur wiederholt werden. Wenn nach dem Test das selbe Ergebnis eintritt, sollte zur Identifizierung des Isolats eine biochemische Prüfung durchgeführt werden.

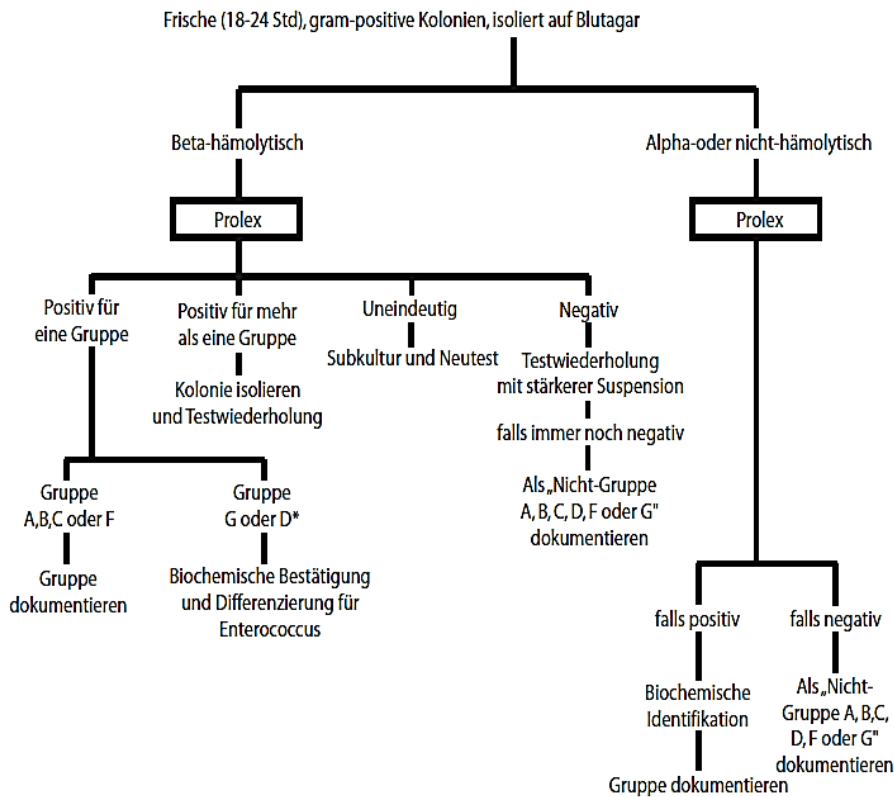
Unspezifisches Ergebnis: In seltenen Fällen kann ein Verklumpen bei mehr als einer Gruppe auftreten. In diesem Fall bitte die Reinheit der für den Test verwendeten Kultur prüfen. Wenn sie rein wirkt, den Test wiederholen und die Identifizierung des Isolats mit einem biochemischen Test wiederholen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Unvorschriftsmäßiger Gebrauch des Kits oder Entnahme einer inadäquaten Menge der Bakterienkultur können zu falschen negativen und falschen positiven Ergebnissen führen.

- 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. (Siehe Schemavorschlag für Gruppierungsstreptokokken).
- 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.
- Einige Stämme der Gruppe D Streptokokken querreagieren mit Antiseren der Gruppe G, diese Stämme werden mithilfe des Galle-Aesculin-Tests als Gruppe D identifiziert. Einige Bakterienstämme von *Enterococcus faecium* und *Streptococcus bovis* können nur schwer gruppiert werden.
- Listeria monocytogenes* können mit Streptokokkenlatexreagenzien der Gruppen B und G querreagieren. 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.
- 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.

Abbildung 1. EMPFOHLENE VORGEHENSWEISE ZUR GRUPPIERUNG VON STREPTOKOKKEN



Einige Stämme der Gruppe D kreuzreagieren mit Gruppe G AntisERen.

[Harvey, C. L. and McIlmurray, M.B (1984) Eur. J. Clinical Microbiol,10,641

GEBRAUCHSEIGENSCHAFTEN

A. Querreaktivitätsstudien:

Das Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit wurde mit 33 ATCC Referenz-Stämmen auf Querreaktivität geprüft. Das Kit konnte erfolgreich alle Streptokokken mit den Lancefield Gruppen A, B, C, D, F und G (N=16) gruppieren. Beim Prüfen anderer Streptokokkenstämme (n=7) oder anderer nicht-Streptokokken-Organismen (n=10) konnte keine Querreaktivität festgestellt werden.

B. Klinische Leistungsstudien:

1. Das Prolex™ Streptococcal Grouping Latex wurde im Rahmen eines Vergleichs von fünf handelsüblichen Streptokokkengruppierungssätzen geprüft. Die Studie wurde von S. Davies und anderen im Northern General Hospital in Sheffield, England, durchgeführt. Alle Sätze wurden mit einer Tafel aus 302 beta-hämolytischer Streptokokken, die aus 64, 67, 44, 55, 56 und 4 Stämmen der Lancefield Gruppen A, B, C, D, G bzw. F bestehen. Das Ergebnis zeigte, dass 12 der Stämme mit keinem der Sätze gruppiert werden konnten. Von den verbliebenen 290 Stämmen wurden 286 vom Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit korrekt identifiziert (98.6%). Die Autoren schließen, dass das Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit sich als akkurat und schnell erwiesen hat, mit einer Sensibilität und Spezifität von 99% bzw. 100%. Außerdem war die durchschnittliche Agglutinationszeit bedeutend niedriger als die von drei der anderen vier bewerteten Sätze. Daten auf Anfrage erhältlich.
2. Eine zweite Leistungsstudie wurde im Health Centre in Ontario, Kanada, durchgeführt. In dieser Studie waren 111 Primärkulturen enthalten (110 getestet, eine mangelhaft). Alle Stämme wurden ursprünglich durch Lancefield Ausfällreaktionen gruppiert. Die gesamte Gruppe D wurde weiter biochemisch nach dem Galle-Aesculin und Pyrrolidonyl-Aminopeptidase Prüfungsprotokoll biochemisch bestätigt. Die Primärkulturen wurden parallel mit dem Prolex™ Streptococcal Grouping Kit und einem alternativen Gruppierungssatz geprüft. In dieser Studie stimmten die Ergebnisse von Prolex™ und Lancefield bei 109 der 110 geprüften Isolate überein (99.9%), beim alternativen Satz betrug die Übereinstimmung mit den Lancefield Ergebnissen 106 von 110 Isolaten (96.3%). Die 110 in der Studie verwendeten Primärisolate beinhalteten 15 der Gruppe A, 40 der Gruppe B, 13 der Gruppe C, 4 der Gruppe D, 11 der Gruppe F, 12 der Gruppe G und 15 nicht gruppierbare Stämme.

VERFÜGBARKEIT

Kat-Nr.	Beschreibung
PL.031	Gruppe A Latexreagenz
PL.032	Gruppe B Latexreagenz
PL.033	Gruppe C Latexreagenz
PL.034	Gruppe D Latexreagenz
PL.035	Gruppe F Latexreagenz
PL.036	Gruppe G Latexreagenz
PL.040	Polyvalente positive Kontrollprobe
PL.091P	Rührstäbchen
PL.092-48	Testkarten

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-Hemolytic Streptococci. Appl. Microbiol., 23, 285.
2. **EL Kholy, 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.

SYMBOLVERZEICHNIS

	Hersteller
	Haltbarkeitsdatum
	Chargennummer
	Artikelnummer
	Temperaturbegrenzung
	Elektronische Gebrauchsanweisung beachten
	In-vitro-Diagnostikum
	Ausreichend für <n> Tests
	Kennzeichnet die Europäische Konformität
	Kennzeichnet die Britische Konformität
	Bevollmächtigter Vertreter
	Verantwortliche Person (Großbritannien)

UKRP Pro-Lab Diagnostics U.K.
 3 Bassendale Road,
 Bromborough, Wirral,
 Merseyside CH62 3QL
 United Kingdom
 Tel.: 0151 353 1613
www.pro-lab.co.uk
 E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk

 **Pro-Lab Diagnostics Canada**
 20 Mural Street, Unit #4
 Richmond Hill, Ontario
 L4B 1K3
 Canada
 Tel.: 905-731-0300
www.pro-lab.com
 E-mail: support@pro-lab.com

Pro-Lab Diagnostics U.S.A.
 1301 Blue Ridge Drive, Suite
 #101
 Georgetown, Texas 78626-3269
 United States
 Tel.: 512-832-9145
www.pro-lab-direct.com
 E-mail: support@pro-lab.us

 Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta