

Dryspot Pneumo

Art.-Nr. DR 420

Latex-Agglutinationstest zur Erkennung von *Streptococcus pneumoniae* von Nährböden und aus Blutkulturen.

Beschreibung

S. pneumoniae ist eine der Hauptursachen einer bakteriellen Pneumonie, Meningitis und Otitis media. Die anti-phagozytären Eigenschaften der Polysaccharidkapsel sind der Schlüssel für die Virulenz dieses Organismus¹. Der Organismus kann harmlos den oberen Respirationstrakt besiedeln, er kann aber auch durch Aspiration Zugang zur Lunge bekommen und dort zu einer akuten Pneumonie führen. Weiterhin gelangt dieser Organismus in die Blutbahn und in die Meningen, wodurch akute, purulent lebensbedrohliche Infektionen hervorgerufen werden².

Der OXOID Dryspot Pneumo-Test verwendet mit Antikörpern sensibilisierte blaue Latexpartikel. Diese sind auf Karten getrocknet und decken die meisten bekannten serologischen Typen von Pneumokokken ab^{3,4}. Bei ausreichender Antigenmenge kommt es zwischen Antigen und dem an Latex gebundenen Antikörper zu einer sichtbaren Agglutination. Dieser Test stellt ein schnelles und einfaches Screeningverfahren für *S. pneumoniae* dar.

| Bestandteile des Tests | Art.-Nr. |
|---|----------|
| Dryspot Pneumo Testreagenz-Karten Die Reaktionsfelder sind mit an blaue Latexpartikel gebundenen Kaninchen-Antikörpern beschichtet, die mit den bekannten serologischen Typen von Pneumokokken reagieren (Testreaktionsbereich). | DR 421 |
| Die Kontrollfelder sind mit an blaue Latexpartikel gebundenen Antikörpern beschichtet. Diese Antikörper reagieren nicht mit Kapselantigenen von <i>S. pneumoniae</i> (Kontrollreaktionsbereich). | |
| Positive Kontrollstreifen Rosa gefärbter, inaktivierter, antigener Extrakt aus <i>S. pneumoniae</i> . | DR 422 |
| Negative Kontrollstreifen Grün gefärbter, inaktivierter Extrakt aus <i>Aerococcus viridans</i> . | DR 423 |

Vorbereitung der Proben

A. Kultur

Bezüglich Details zur Probengewinnung und -Behandlung sollte ein Standard-Referenztext zu Rate gezogen werden.⁵

α -haemolytische, grampositive, Katalase-negative Kolonien können aus folgenden Kulturmedien getestet werden:

Blutagar, CASO-Agar mit 5 % Blut, Columbia-Agar mit Blut, Columbia CNA, Schokoladen-Agar.

Die Verwendung frischer Kulturen, die über Nacht gewachsen sind, wird empfohlen (18 – 36 Stunden Inku-

bationszeit). Die Tendenz der Kolonien zur Autoagglutination nimmt nach einer Inkubationszeit über 36 Stunden zu.

B. Blutkulturen

Blutkulturen können nach 18 – 24 Stunden Inkubation bei 37°C, und/oder sobald Bakterienwachstum sichtbar wird, getestet werden. Das Vorhandensein von *S. pneumoniae* sollte mit Hilfe einer Gramfärbung bestätigt werden.

Durchführung

A. Kultur

1. Jeweils einen Tropfen (50 μ l) PBS-Lösung so auf ein Testfeld mit Latex-Reagenz und ein Testfeld mit Latex-Kontrollreagenz geben, daß die Flüssigkeit zu diesem Zeitpunkt noch nicht mit den getrockneten Latex-Reagenzien in Berührung kommt.
2. Mit einer Impföse (oder einem der beiliegenden Rührstäbchen) mehrere verdächtige Kolonien abnehmen und in dem Tropfen PBS-Lösung emulgieren, bis eine homogene Suspension entstanden ist.
3. Anschließend mit dem getrockneten Latex-Reagenz vermischen bis eine homogene Suspension entstanden ist und mit der Impföse über das gesamte Testfeld verteilen.
4. Mit dem Latex-Kontrollreagenz genauso verfahren. Dazu eine neue Impföse benutzen.
5. Die Reaktionskarte vorsichtig hin- und herbewegen. Die Agglutination tritt innerhalb von 1 Minute auf. Zur Ablesung des Ergebnisses keine Lupe benutzen.
6. Reaktionskarte in einem geeigneten Desinfektionsmittel entsorgen.

B. Blutkulturen

1. 1 – 2 ml der Probe mit etwa 100 g 5 – 10 Minuten zentrifugieren, um die roten Blutzellen zu sedimentieren. Den Latex-Test mit dem Überstand durchführen.
2. Je 1 Tropfen des Überstands so in den kreisförmigen Bereich des Test- und des Kontrollfeldes geben, daß die Flüssigkeit zu diesem Zeitpunkt noch nicht mit den getrockneten Latex-Reagenzien in Berührung kommt.
3. Mit einer Impföse (oder den beiliegenden Rührstäbchen) den Überstand mit dem getrockneten Latex-Reagenz vermischen, bis eine homogene Suspension entstanden ist und mit der Impföse über das gesamte Testfeld verteilen.
4. Mit dem Latex-Kontrollreagenz genauso verfahren. Dazu eine neue Impföse benutzen.
5. Die Reaktionskarte vorsichtig hin- und herbewegen. Die Agglutination tritt innerhalb von 2 Minuten auf. Zur Ablesung des Ergebnisses keine Lupe benutzen.
6. Reaktionskarte in einem geeigneten Desinfektionsmittel entsorgen.
7. Im Falle einer positiven Latex-Agglutination sollte das Vorhandensein von *S. pneumoniae* in einer Blutkultur-Probe mit einer Gramfärbung des Sediments bestätigt werden.

Auswertung der Ergebnisse

Positives Ergebnis

Ein Ergebnis ist positiv, wenn eine Agglutination der Latexpartikel im Testreaktionsbereich innerhalb von 60 Sekun-

den bei der Bestätigung einer Kultur und innerhalb von 2 Minuten bei einer Blutkultur beobachtet wird. Dies zeigt die Präsenz von *S. pneumoniae* an.

Negatives Ergebnis

Ein Ergebnis ist negativ, wenn keine Agglutination im Testreaktionsbereich sichtbar wurde und eine homogene blaue Suspension auch nach 60 Sekunden bei der Bestätigung einer Kultur und nach 2 Minuten bei einer Blutkultur bestehen bleibt.

Reaktionen nach Ablauf dieser Zeiten sollten ignoriert werden.

Nicht interpretierbares Ergebnis

Der Test ist nicht interpretierbar, wenn das Kontrollreagenz Agglutination zeigt. Dieses weist darauf hin, daß die Kultur Autoagglutination verursacht.

Granuläre oder faserige Reaktionen

Gelegentlich können granuläre oder faserige Reaktionen beobachtet werden. Dies ist Folge der körnigen Eigenschaft des Testmaterials. Treten solche Reaktionen auf, sollten sie entsprechend folgender Kriterien interpretiert werden:

Das Ergebnis ist **positiv**, wenn beim Testreagenz die Durchsichtigkeit des blauen Hintergrundes größer ist als beim Kontrollreagenz.

Das Ergebnis ist **negativ**, wenn es beim Test- und beim Kontrollreagenz keinen Unterschied bezüglich der Durchsichtigkeit des blauen Hintergrundes gibt.

Durchführung der Kontrollen

Vor dem routinemäßigen Gebrauch sollte der Test anhand der Kontrollreagenzien überprüft werden.

Die **positive Kontrolle** muß innerhalb von 60 Sekunden eine Agglutination mit dem getrockneten Reagenz zeigen. Die **negative Kontrolle** darf innerhalb von 60 Sekunden keine Agglutination zeigen.

Bei falscher Reaktion der Kontrollreagenzien den Test nicht verwenden.

Zusätzliche Hinweise

1. Der Dryspot Pneumo Test ergibt ein vorläufiges Resultat. Positive Ergebnisse sind durch biochemische Tests zu bestätigen.
2. Der positive Test einer Blutkultur hängt vom Vorhandensein einer detektierbaren Menge des Antigens im Blutkulturmedium ab. Tests, die direkt an klinischen Proben durchgeführt werden, dienen nur zum Screening und sollten Kulturverfahren nicht ersetzen.
3. Falsch negative Reaktionen können ebenfalls auftreten, wenn eine ungenügende Zahl an Kolonien für den Test verwendet wurde. In diesem Fall sollten aus dem Isolat Subkulturen gewonnen und nach ausreichendem Wachstum getestet werden.
4. Falls ein Pneumokokkenstamm kein Kapselantigen besitzt, kann er durch immunologische Techniken nicht identifiziert werden.
5. Falsch positive Reaktionen können bei bestimmten Stämmen von Gruppe C Streptokokken sowie mit *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mitori*, *Streptococcus sanguis* und *Streptococcus oralis*⁶ auftreten.

Weiterhin wurden verschiedene Fälle von serologischer Kreuzreaktion zwischen Pneumokokken und gramnegativen Bakterien beobachtet, z. B. bei *E. coli*, *Klebsiella* spp. und *H. influenzae*^{7,8}.

Lagerung und Haltbarkeit

Lagerung des Testmaterials:

2°–25°C, bei kühler Lagerung das Material vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen, um Kondenswasserbildung zu vermeiden.

Haltbarkeit: siehe Etikett

Literatur

1. Kalin, M. (1998). Thorax 53:159–162.
2. Feldman, C. and Klugman, K. (1997). Current opinions in Infectious Diseases 10:109–115.
3. Henrichsen, J. (1995). J. Clin. Microbiol. 33:2759–2762.
4. Lee, P. and Wetherall, B.L. (1987). J. Clin. Microbiol. 25:152–153.
5. Miller, M.M and Holmes, H.T. (1999). In Manual of Clinical Microbiology. Murray, P.R, Baron, E.J, Pfaller, M.A, Tenover, F.C. and Tenover, R.H. (ed) Seventh Edition. p.33–63 American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Cowan, S.T and Steel, K.J. (1965). Characters of grampositive bacteria. In Manual for the identification of Medical Bacteria. Barrow, G.I and Feltham, R.K.A. (ed) Third Edition, p.50–90. Cambridge University Press. Cambridge, U.K.
7. Kilpper-Bälz, R., Wenzig, P. and Schleifer, K.H. (1985). Int. J. System. Bacteriol. 35: 482–488.
8. Lund, E. and Henrichsen, J. (1978). Chapter XI : 241–262. Methods in Microbiology XII, ed. Bergan and Norris, Academic Press, Orlando.