



DIAQUICK Strep A test
Strep A test afprøvning i hospitalslaboratorium
rekvireret af
Handelshuset Medic A/S

Afprøvning i regi
af SKUP

SKUP i Danmark, Afdeling BFG, Odense Universitetshospital, 5000 Odense C, tlf. 65412865

The organisation of SKUP

Scandinavian evaluation of laboratory equipment for primary health care, SKUP, is a co-operative commitment of NOKLUS¹ in Norway, “Afdeling BFG”² in Odense, Denmark and EQUALIS³ in Sweden. SKUP was established in 1997 at the initiative of laboratory medicine professionals in the three countries. SKUP is led by a Scandinavian *steering committee* and the secretariat is located at NOKLUS in Bergen, Norway.

The purpose of SKUP is to improve the quality of near patient testing in Scandinavia by providing objective and supplier-independent information on analytical quality and user-friendliness of laboratory equipment. This information is generated by organising SKUP *evaluations*.

SKUP offers manufacturers and suppliers evaluations of equipment for primary healthcare and also of devices for self-monitoring. Provided the equipment is not launched onto the Scandinavian market, it is possible to have a confidential pre-marketing evaluation. The company requesting the evaluation pays the actual testing costs and receives in return an impartial evaluation.

There are *general guidelines* for all SKUP evaluations and for each evaluation a specific *SKUP protocol* is worked out in co-operation with the manufacturer or their representatives. SKUP signs *contracts* with the requesting company and the evaluating laboratories. A *complete evaluation* requires one part performed by experienced laboratory personnel as well as and one part performed by the intended users.

Each evaluation is presented in a *SKUP report* to which a unique *report code* is assigned. The code is composed of the acronym SKUP, the year and a serial number. A report code, followed by an asterisk (*), indicates a special evaluation, not complete according to the guidelines, e.g. the part performed by the intended users was not included in the protocol. If suppliers use the SKUP name in marketing, they have to refer to www.skup.nu and to the report code in question. For this purpose the company can use a logotype available from SKUP containing the report code.

SKUP reports are published at www.skup.nu and www.skup.dk. A detailed list of previous SKUP evaluations is included in this report.

¹ NOKLUS (Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories) is an organisation founded by Kvalitetsforbedringsfond III (Quality Improvement Fund III), which is established by The Norwegian Medical Association and the Norwegian Government. NOKLUS is professionally linked to “Seksjon for Allmenntmedisin” (Section for General Practice) at the University of Bergen, Norway.

² “Afdeling for Biokemi, Farmakologi og Genetik” (Afdeling BFG) is the Department for Clinical Chemistry at the University Hospital in Odense, Denmark. Afdeling BFG in Odense and the national “Fagligt Udvalg vedrørende Almen Praksis” (Professional Committee for General Practice) have through an agreement created “the SKUP-division in Denmark”. “Fagligt Udvalg vedrørende Almen Praksis” is a joint committee for “PLO”, “Praktiserende Lægers Organisation” (General Practitioners Organisation) and “Sygesikringens Forhandlingsudvalg” (Committee for Negotiations within the General Health Insurance System).

³ EQUALIS AB (External quality assurance in laboratory medicine in Sweden) is a limited company in Uppsala, Sweden, owned by “Sveriges Kommuner och Landsting” (Swedish Association of Local Authorities and Regions), “Svenska Läkaresällskapet” (Swedish Society of Medicine) and IBL (Swedish Institute of Biomedical Laboratory Science).

Afprøvning af Diaquick Strep A

INDHOLDSFORTEGNELSE	1
AFPRØVNING I REGI AF SKUP.....	1
THE ORGANISATION OF SKUP	3
SAMMENDRAG	3
PLANLÆGNING AF AFPRØVNING FOR HANDELSHUSET MEDIC	4
KONTAKTADRESSER.....	6
ANALYSEMETODE	7
PRODUKTINFORMATION.....	8
UNDERSØGELSESPERIODE	9
MATERIALE OG METODE.....	9
ANALYTISKE KVALITETSKRAV OG KRAV TIL BRUGERVENLIGHED	12
KRYDSREAKTION	12
KVALITETSSIKRING	14
AFPRØVNING	15
RESULTATER.....	16
EVALUERING AF ANALYSEKVALITET	20
EVALUERING AF BRUGERVENLIGHED	21
KONKLUSION	24
REFERENCER.....	25
BILAG	26

SAMMENDRAG

Baggrund

Handelshuset Medic A/S ønsker at markedsføre Diaquick Strep A test i Skandinavien. Derfor bestilles en laboratorieafprøvning, som foretages på Odense Universitets Hospital (OUH), Danmark. Der er ikke fælles retningslinjer i Norden med hensyn til diagnostik og behandling af hæmolytiske streptokokker Gruppe A.

Testprincip

Diaquick Strep A test er et kvalitativ immunoassay til påvisning af Gruppe A streptokok antigen ved halspodning. Pødepinden dyppes i en blanding af reagens A og B, hvorved Gruppe A streptokok antigen ekstraheres. Prøvefeltet på test strimlen er belagt med antistoffer mod Gruppe A streptokok antigen. Gruppe A streptokokker i prøven medfører et rødt bånd under testens røde kontrol bånd. Et svagt rødt bånd er ensbetydende med positivt resultat. Aflæsningen bør foretages ved 15-30⁰ C.

Analysekvalitet vurderes ved: 1a) Selektivitet, defineret ud fra tilsætning af andre bakterier (sand negativ)/(falsk positiv + sand negativ). 1b) Specificitet, defineret ved (sand negativ)/(falsk positiv + sand negativ). 1c) Den koncentration, hvor 50% af prøverne er positive. 2) Vurdering af aflæselighed: intra-person og inter-person variation. 3) Procentdelen af uanvendelige test. 4) Robusthed: Bliver testen positiv til det angivne tidspunkt? Ændres testens resultat over tid?

Brugervenligheden vurderes på følgende områder: manual, tidsfaktorer, kvalitetssikring og betjening. Mulige udfald ved vurdering: utilfredsstillende, mindre tilfredsstillende. Hvert delområde bør opnå tilfredsstillende.

Metode

Til bestemmelse af detektionsgrænserne for Diaquick Strep A test anvendes seriefortyndinger af en kendt mængde *S. pyogenes* i syv forskellige koncentrationer, én blandingskultur af fire andre streptokok-arter og én negativ kontrol. Resultatet aflæses samtidig af 4 forskellige personer.

Resultater, analysekvalitet.

1a) *Selektivitet*: 100 % (80 af 80) negative ved $1,0 \times 10^7$ af fire andre hæmolytiske streptokokker

1b) *Specificitet*: 100 % (400 af 400 test var negative ved koncentrationer fra 0 til $\leq 1,6 \times 10^4$)

160 af 160 test i en koncentration $\geq 1,6 \times 10^6$ β -hemolytic streptococci/mL var positive.

1c) *Koncentrationen, der giver 50% positive resultater*: $1,5 \times 10^5$ CFU/mL

2a) *Intra-person aflæsning*: 100 % overensstemmelse for prøver på hver sin side af omslagspunkt

2b) *Inter-person aflæsning*: 100 % overensstemmelse for prøver på hver sin side af omslagspunkt

3) *Ugyldige*: 0 %

4) *Testen er positiv til tiden 5 min: ja*. Flere testresultater bliver positive over tid.

Resultater, brugervenlighed.

Testpanelet vurderede Manual, Tidsfaktorer, Kvalitetssikring og Betjening som tilfredsstillende.

Konklusion

Diaquick Strep A opfylder under optimale og standardiserede betingelser i laboratorium kravene til analysering og brugervenlighed. Hæmolytiske streptokokker Gruppe F krydsreagerer ikke med Strep A. En koncentration på $1,5 \times 10^5$ CFU/mL gav 50 % positive resultater. Hvordan Diaquick Strep A vil klare sig under mindre standardiserede betingelser i praksis, vides ikke.

PLANLÆGNING AF AFPRØVNING FOR HANDELSHUSET MEDIC

Handelshuset Medic Norge bestilte i 2007 en laboratorieafprøvning af Diaquick Strep A test med henblik på salg i Skandinavien. Afprøvningen skal foretages efter version 1.7 af den fælles nordiske protokol.

Afd. KMA (Klinisk Mikrobiologisk Afdeling), OUH, er ”sammenligningslaboratorium” i Danmark.

Der findes ikke fælles retningslinjer i Norden mht. diagnostik og behandling af hæmolytiske streptokokker. Danmark er homogent i forhold til Norge og Sverige, da man i Danmark har brugt Statens Serum Institut (SSI) som guldstandard i forbindelse med Strep A-diagnostik.

I SKUP-regi findes seks Strep A afprøvninger og tre U-hCG afprøvninger på ordinalskala*.

(Resultaterne af kvalitative og semi-kvalitative målinger f.eks. ‘teststrimler’ afgives ofte som – eller + (og nogle gange ++, +++, og ++++), eller mere korrekt som 0 og 1 (2, 3, og 4), og den almindelige fortolkning er normalt: ‘ingen tilstedeværelse’ eller ‘tilstedeværelse af’ komponenten. Til denne type målinger anvender man ordinalskala, hvis man vil vise hvornår 100 % af testene er positive og hvornår 100 % af testene er negative. Der vil altid være et koncentrationsområde, i hvilket nogle test vil være negative og nogle test vil være positive. Dette område kan ikke anvendes til kvalitets sikring af den enkelte bruger, men koncentrationer i dette område kan anvendes til at karakterisere metoden.

Det har været et ønske fra Almen Praksis i Danmark at analysekvalitet og brugervenlighed ved vurdering vægtes ens.

Laboratorieafprøvninger har til formål at undersøge analysekvalitet og brugervenlighed under standardiserede og optimale betingelser. Dårlige test med f.eks. falsk positive resultater, stor aflæsningsvariation eller højt tidsforbrug ved analysering kan sorteres fra på dette trin.

Laboratorieafprøvningen udføres på afd. KMA og afd. BFG, Odense Universitetshospital.

Esther Jensen har hovedansvaret for afprøvningen. Det praktiske arbejde udføres af Nina Brøgger, Helle Krüger, Marianne Honoré og Esther Jensen, afd. BFG, samt Anette Knudsen og Hanne Holt, afd. KMA.

Esther Jensen og Hanne Holt skriver protokol. Protokol sendes til rekvirent og internt i SKUP. Protokollen skal godkendes af rekvirent og SKUP.

SKUP udformer kontrakt med rekvirent.

Rekvirent stiller nødvendigt udstyr til disposition. Oplæring forventes ikke nødvendig.

Bearbejdning af data foretages af SKUP (Esther Jensen).

Esther Jensen skriver rapport over afprøvningen, rapporten godkendes af afd. KMA og sendes herefter til rekvirent og SKUP, som får mulighed for at diskutere og kommentere rapporten.

Rapporten offentliggøres af SKUP efter endt afprøvning i henhold til protokollen, hvis Strep A-testen markedsføres i Skandinavien.

En god laboratorierapport forventes fulgt op af afprøvning i almen praksis.

KONTAKTADRESSER

Producent

Dialab
Gesellschaft m.b.H.
2351 Wiener Neudorf,
Österreich
IZ-NÖ Süd
Hondastrasse
office@dialab.at

Rekvirent

Handelshuset Medic Norge A/S
Storgata 112, 6 etg
3921 Porsgrunn
Norge
Tlf. +47 35570300
www.medic24.no
E-mail:post@medic24.no

Ansvarlig fra SKUP

Esther Jensen
Tlf. 45 6541 2865
Tlf. 45 6541 1694

Afd. KMA, Klinisk Mikrobiologisk Afd.

Per Søggaard
Hanne Holt
Anette Knudsen
Professor Kolmos

Medarbejdere

Nina Brøgger

Tlf. 45 6541 1955
Fax. 45 6541 1911
E-Mail SKUP-KKA@ouh.fyns-amt.dk

ANALYSEMETODE

Kvalitativ bestemmelse af Gruppe A streptokok antigen. Streptokokkerne kan være døde eller levende.

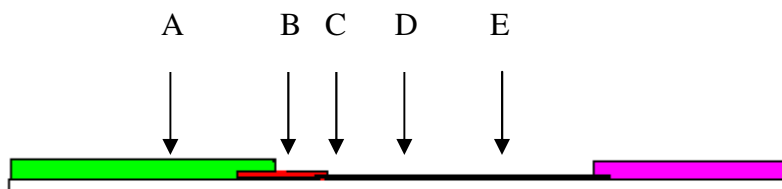
Testprincip

Diaquick Strep A er en immunokromogen metode fra DIALAB, hvor antistofmærkede partikler anvendes. Testfeltet i teststrimlen er beklædt med kaninantistoffer mod Lancefield Gruppe A streptokok antigen.

Gruppe A streptokok antigen ekstraheres fra podedepind af blanding af reagens A og B, ved at podedepinden roteres 10 gange i blandingen af reagens A og B.

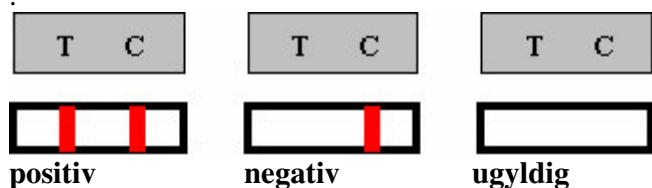
Efter et minuts henstand i blandingen presses podedepinden mod glassets sider og 4 dråber med ekstrakt fra podedepinden dryppes i testkassettsens testbrønd S. Ved hjælp af kapillæreffekt trækker væsken op i testfeltet og kontrolfeltet. Hvis der er Gruppe A streptokokker i prøven, vil der dannes et rødt bånd i testregionen under den røde kontrol linje. Selv et svagt rødt bånd er ensbetydende med positivt resultat. Aflæsningen bør foretages ved 15-30⁰ C. Positive resultater kan ofte aflæses efter 2 minutter, når der er fremkommet to røde bånd. Negativt resultat kan aflæses efter 5 minutter.

Figur 1: Test-princip



Prøvemateriale (A) trænger ved kapillærrørseffekt gennem membranen for at reagere med farvet konjugat (B). Strep A antigen i prøvematerialet binder til konjugatet og danner et farvet antistof-antigen kompleks (C). Strep A antistof der er støbt ind i test linje regionen i membranen binder til komplekset og danner et synligt rødt bånd (D). (Fravær af rødt bånd indikerer et negativt resultat. I Kontrol regionen fanger immobiliseret reagens farvet konjugat uanset prøvesammensætning (E). Det bekræfter at assayet fungerer korrekt.

Figur 2 illustrerer de mulige resultater af testen, T er testfelt, C er kontrolfelt



Produktinformation

Diaquick Strep A

Indhold: 20 forseglede testpakker, der hver indeholder en test.
20-25 sterile polyester podepinde, lot 9627, udløb 2012/03
Ekstraktions Reagens A (10 mL 2 M natriumnitrit), lot 07050033, udløb 2009-05
Ekstraktions Reagens B (10 mL 0,4 M citronsyre), lot 07040040, udløb 2009-04
Positiv kontrol (1 mL, varmeinaktiverede Gruppe A Streptokokker (1×10^9 organismer/mL), 0,1 % Na-Azid), lot 07040061, udløb 2009-04
Negativ kontrol (1 mL, varmeinaktiverede Gruppe C Streptokokker (1×10^8 organismer/mL), 0,1 % Na-Azid). Lot 07040139, udløb 2009-04
Ekstraktionsrør med top, der - når den er monteret - fungerer som pipettespids
Der findes en vejledning på Norsk, og Engelsk. Der er ved at blive skrevet en svensk vejledning

Lot 7070033, udløb 30.04.2009

Lot 7070058, udløb 31.05.2009

Lot 7070059, udløb 31.05.2009

Producenten forventer at testen bliver positiv ved koncentrationer på 10^4 eller 10^5 organismer pr swab afhængig af bakteriestamme

Ikke indeholdt i pakken: Stopur

Producent: Dialab Gesellschaft m.b.H. 2351 Wiener Neudorf, Österreich, IZ-NÖ Süd, Hondastrasse. office@dialab.at

Importør til Norden: Handelshuset Medic.

Forhandler:

Danmark: **Handelshuset Medic**
Tlf: 0045-3692 8300
Fax: 3692 8330
E-mail: info@medic24.se

Norge: **Handelshuset Medic Norge AS**
Storgt. 112, 6 etg
3921 Porsgrunn
Telefon: +47 35 570300
e-mail: post@medic24.no

Sverige: **Handelshuset Medic**
Solvarvsg. 4
SE-50740 Borås
Telefon: +46 33 23 00 99
E-mail: info@medic24.se

Undersøglesperiode: november 2007 til jan 2008

Rapportskrivning: jan-feb 2008

Materiale og metode

Materiale

Til seriefortyndingerne anvendes referencestammen *S. pyogenes* (ATCC 19615). Til fremstilling af blandingskulturen er anvendt følgende kliniske isolater fra svælgpodninger modtaget i rutinelaboratoriet, KMA, OUH: beta-hæmolytisk streptokok gr. C, beta-hæmolytisk streptokok gr. F, beta-hæmolytisk streptokok gr. G og alfa-hæmolytisk streptokok.

Gruppebestemmelse er foretaget med Streptococcal Grouping Kit, Oxoid.

Som fortyndings-middel anvendes phosphate buffered saline (PBS) fra SSI, art nr. 3892

5 % blodagar plader (5 % hesteblood, SSI), art nr. 677

Serumbouillon (oksebouillon med defibrineret hesteblood og hesteserum, SSI) art nr. 1040

SSI transportmedium (Stuarts) art. nr. 944 (transportforsøg)

Metode

1. Fremstilling af prøver til undersøgelsen

En koloni af *S. pyogenes* udsås i 10 mL serumbouillon og inkuberes 18-24 timer ved 35 °C. Denne kultur anvendes herefter til fremstilling af en 10-folds seriefortynding i otte forskellige koncentrationer: 1×10^7 colony forming units (CFU)/mL – 10^0 CFU/mL. Antallet af bakterier i bouillonens bestemmes ved udsåning af 0,1 mL prøve fra hver af 10-fold fortyndingerne på to 5 % blodagar plader (dobbelbestemmelse). Efter 18-24 timers inkubation i 5 % CO₂ tælles kolonierne og kun plader med 30-300 CFU anvendes til beregning af den gennemsnitlige bakterie koncentration.

På samme måde fremstilles seriefortyndinger af henholdsvis β-hæmolytisk streptokok gr. C, G og F samt α-hæmolytisk streptokok. En fortynding, der indeholder 1×10^7 CFU/mL anvendes til fremstilling af en blandingskultur, der indeholder lige dele af hver af de fire streptokok-arter. Alle for-

tyndinger fryses ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 18-24 timer. Efter optøning den følgende dag foretages ny bakterietælling (dobbelbestemmelse) m.h.p. kontrol af antallet af bakterier efter frysning.

Fra hver af de syv koncentrationer af *S. pyogenes*, fra blandingskulturen og fra 100 % PBS, i alt ni forskellige koncentrationer, udtages i vilkårlig rækkefølge 20 prøver, i alt $9 \times 20 = 180$ prøver, til undersøgelse i Strep A testen.

Den positive og negative kontrol fra kittet blev hver testet 18 gange. Den negative kontrol består af gruppe B streptokokker i en koncentration af mindst 1×10^8 organismer/mL og den positive kontrol af Gruppe A streptokokker i en koncentration af mindst 1×10^9 organismer/mL.

To prøver i hver koncentration af prøver og kontroller appliceres ved hjælp af kulpodepind.

2. Undersøgelse af holdbarhed i SSI transportmedium (Stuarts).

Med henblik på en evt. kommende undersøgelse i almen praksis, hvor konventionel dyrkning skal sammenlignes med Strep-A tests, undersøges evt. ændringer i antallet af bakterier efter transport i Stuarts transport medium på følgende måde:

Fra en fortyndingsrække af *S. pyogenes* i koncentrationerne 1×10^6 CFU/mL - 10^0 CFU/mL udsås med kulpodepind direkte på 5 % blodagarplade. Der udsås 5 gange fra hver fortynding, $n = 5$. Herefter gøres samme procedure, blot udsås efter stik af kulpodepinden i SSI's transportmedium ($n = 5$) og efter 24 timers henstand ved stuetemperatur ($n = 5$). Bakterietællingen foretages ved at tælle antallet af kolonier (CFU) på plader med 30 til 300 CFU/mL. Differencen i koloni-antallet tages som udtryk, for i hvor høj grad bakterietallet ændres, blot ved nedstik af podedepinden i transportmedium samt efter 1 døgn transport ved stuetemperatur, som er den transportmåde, der benyttes til de fleste svælgpodninger.

ANALYTISKE KVALITETSKRAV OG KRAV TIL BRUGERVENLIGHED

Der findes ingen international guldstandard for Strep A-test-afprøvning i laboratorium eller almen praksis.

Analysekvalitet og brugervenlighed er lige vigtige i den samlede vurdering. Hvert delområde inden for analysekvalitet og brugervenlighed bør gennemsnitlig opnå 2 point.

Hvert område underinddeles, og hvert emne har følgende mulige udfald:

0 Point	utilfredsstillende
1 Point	mindre tilfredsstillende
2 Point	tilfredsstillende

Analysekvaliteten vurderes i forhold til eksisterende litteratur samt følgende parametre:

- 1a) selektivitet, defineret ud fra tilsætning af andre bakterier
(sand negativ)/(falsk positiv + sand negativ)
- 1b) specificitet, defineret ved (sand negativ)/(falsk positiv + sand negativ)
- 1c) koncentrationen, der giver 50 % positive resultater
- 2) vurdering af aflæselighed: intra-person og inter-person variation: 9 koncentrationer aflæses 20 gange samtidig af 4 forskellige personer.
- 3) uanvendelige test, defineret ved pakningsindlæg (f.eks. manglende kontrolfelt og/eller diffus aflæsningszone)
- 4) robusthed: bliver testen positiv til det angivne tidspunkt? Testkassetterne aflæses til angivet aflæsningstidspunkt samt til 2 og 10 minutter? Bliver testen falsk positiv over tid?

KRYDSREAKTION

Der undersøges for krydsreaktion overfor β -hæmolytisk streptokok gr. C, G og F samt α -hæmolytisk streptokok, (1a). I øvrigt henvises til DIALABS afprøvning⁶

To beta-hæmolytiske streptokokker gr. F har ifølge insert givet positive resultater. Dette har ikke kunnet genfindes af DIALAB i senere afprøvninger. Inkluderet i denne afprøvning er 20 prøver indeholdende β -hæmolytisk streptokok gr. F

Brugervenligheden vurderes på følgende 4 områder, der hver er delt op i 3-13 problemstillinger

- 1) Manual – er vejledningen forståelig og tilstede?
- 2) Kvalitetssikring – er kvalitetssikring mulig? Kan det håndteres ved slutbruger anvendelse?
- 3) Tidsfaktorer – er testen (præanalytisk, analytisk, postanalytisk) egnet for slutbruger?
- 4) Betjening – hvordan er testen at anvende?

KVALITETSSIKRING

Kvalitetskontrol indbygget i test

- 1) Teststrimlen er kun valid, hvis der fremkommer et rødt kontrolbånd
- 2) Baggrundsfarven i aflæsningsfeltet skal være klar

Kontrolmateriale

- 1) Strep A fra agarplade
- 2) Strep A fra fremstillet bouillon
- 3) Firmaets kontrol materiale
- 4) Eksterne kontroller

Det anbefales, at man

- Udfører en positiv og en negativ kontrol, når man åbner pakken
- Udfører en kontrol for hver 25 test
- At nye brugere begynder med den positive og negative kontrol
- Deltager i lokale kvalitetssikringsprogrammer

Afprøvning

(under standardiserede og optimale betingelser i hospitals-laboratorium)

212 Strep A tests fremstilles af to læger/bioanalytikere fra KMA, OUH.

Før afprøvning udføres en positiv (10^5 CFU/mL) og en negativ test (10^0 CFU/mL) for at sikre, at alt er OK efter nattens nedfrysning. Hvis 10^5 CFU/mL er negativ udgår 10^0 CFU/mL, som erstattes af 10^7 CFU/mL.

De fleste Step A test angiver at være positive på 1×10^5 CFU/mL til 1×10^6 CFU/mL. Diaquick angives at være positiv ved 10^4 CFU/mL til 1×10^5 organismer pr svab.

De ni forskellige stamopløsninger fordeles i 20 rør. I alt 20×11 test rør fremstilles i vilkårlig rækkefølge. De 11 forskellige opløsninger udgøres af en nul-prøve, 7 seriefortyndinger af en kendt mængde *S. pyogenes*, én blandingskultur af fire andre streptokok-arter samt en positiv og en negativ kontrol.

Podepinde, dråbevolumen og aflæsningstider er variable, der kan betyde noget for det endelige resultat

12 podepinde fra forskellige testpakker afvejes, dyppes i PBS og vejes på ny. Proceduren gentages med kulpodepinde.

Volumen af dråbestørrelse bestemmes for Reagens A, Reagens B samt ekstrakt fra podepind efter sammenblanding af reagens A og B.

De 220 Strep A test aflæses blindt til angivet tid 5 min og til tiderne 2 og 10 minutter af 4 uafhængige læger/bioanalytikere fra afd. BFG, OUH. Således fås 660 (3×220) aflæsninger pr. person, i alt 2640 (4×660) aflæsninger som indføres i resultatskema.

Aflæsningerne foretages til angivet tid (og ikke mere end 15 sekunder senere).

Aflæsningerne blev foretaget en dag med overskyet vejr i rum med dagslys og elektrisk loft-neonbelysning.

Tp. $22,5^{\circ}\text{C}$ ved afprøvning.

RESULTATER

4 personer aflæser 11 koncentrationer 20 gange i tilfældig rækkefølge til tiderne 2, 5 og 10 minutter.

Tid = 2 min					
	aflæser 1 positive	aflæser 2 positive	aflæser 3 positive	aflæser 4 positive	i alt positive
Koncentration, n=20	n=	n=	n=	n=	n=
PBS	0	0	0	0	0
Andre Streptokokker	0	0	0	1	1
1,6 x10 ¹	0	0	0	1	1
1,6 x10 ²	0	0	0	0	0
1,6 x10 ³	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁴	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁵	1	1	2	1	5
1,6 x10 ⁶	20	20	20	20	80
1,6 x10 ⁷	20	20	20	20	80
negativ kontrol	0	0	0	0	0
positiv kontrol	20	20	20	20	80
Tid = 5 min					
	aflæser 1 positive	aflæser 2 positive	aflæser 3 positive	aflæser 4 positive	i alt positive
Koncentration, n=20	n=	n=	n=	n=	n=
PBS	0	0	0	0	0
Andre Streptokokker	0	0	0	0	0
1,6 x10 ¹	0	0	0	0	0
1,6 x10 ²	0	0	0	0	0
1,6 x10 ³	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁴	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁵	6	16	15	5	42
1,6 x10 ⁶	20	20	20	20	80
1,6 x10 ⁷	20	20	20	20	80
negativ kontrol	0	0	0	0	0
positiv kontrol	20	20	20	20	80
Tid = 10 min					
	aflæser 1 positive	aflæser 2 positive	aflæser 3 positive	aflæser 4 positive	i alt positive
Koncentration, n=20	n=	n=	n=	n=	n=
PBS	0	0	0	0	0
Andre Streptokokker	0	0	0	0	0
1,6 x10 ¹	0	0	0	0	0
1,6 x10 ²	0	0	0	0	0
1,6 x10 ³	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁴	0	0	0	0	0
1,6 x10 ⁵	11	20	20	9	60
1,6 x10 ⁶	20	20	20	20	80
1,6 x10 ⁷	20	20	20	20	80
negativ kontrol	0	0	0	0	0
positiv kontrol	20	20	20	19	79

Kommentar til rådata i bilag A og oversigten i ovenstående tabel.

Der ses bort fra de 3 afvigende aflæsninger af nr. 4, da de ikke er gentaget i højere koncentrationer.

Ved koncentrationen $1,6 \times 10^5$ øgedes antallet af positive resultat fra 2 til 5 til 10 minutter. 100 % af de positive prøver (større end eller lig med $1,6 \times 10^6$ CFU/mL) og positiv kontrol var positive efter 5 og 10 min. Over 99 % var positive efter 2 minutter. Der var farveintensitetsforskel på $1,6 \times 10^5$ og $1,6 \times 10^6$.

Podepindene

Podepindene har varierende størrelse. 12 stk fra 2 testkit (lot 7080059 og 7070033, swab lot 9652 og 9627) sugede i gennemsnit 139 μ L, CV 13%,

Udmåling af dråbestørrelse i reagensflasker og blandinger af reagens

	reagens a, μ L pr dråbe	reagens b, μ L pr dråbe	reagens a+b, μ L pr 3 dråber
flaske 1	61,0	40,0	66
flaske 2	61,0	40,0	65
flaske 3	62,0	40,5	67
flaske 4	61,0	40,0	68
flaske 5	58,5	39,5	68
sd	13,038	3,535	1,303
middel	60,7	40,0	66,8
CV%	2,1	0,9	2,0

Det ses af ovenstående, at 3 dråber Reagens a+b giver 67 μ L, mens vand med den samme spids giver 100 μ L.

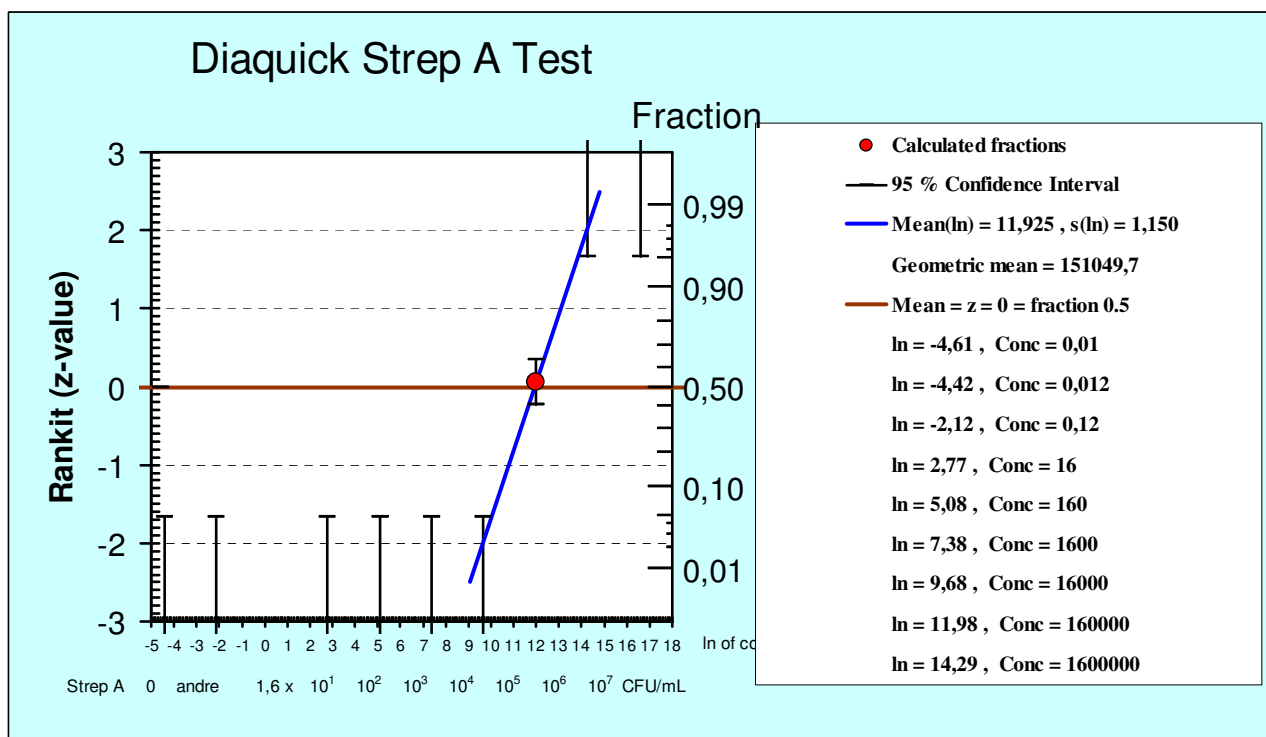
I vejledningen står, at der skal appliceres 100 μ L. Derfor udførtes tillægsgforsøg med femdobbelte bestemmelser af 3-6 dråber af koncentrationerne $1,6 \times 10^5$ og $1,6 \times 10^6$ CFU/mL. Som det fremgår af nedenstående ændrede det ikke afprøvningens resultat.

Tillæggsafprøvning med forskellig volumen, lot 7080059 og lot 7080033

Koncentration CFU/mL	Antal dråber	2 min	2 min	5 min	5 min	10 min	10 min	lot
Pos kontrol	1 dråbe	1	1	1	1	1	1	7080059
$1,6 \times 10^5$	4 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	4 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	4 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	4 dråber	0	0	0	0	0	1	7080059
$1,6 \times 10^5$	4 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	1	0	1	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	6 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	6 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^6$	4 dråber	1	1	1	1	1	1	7080059

$1,6 \times 10^6$	3 dråber	1	1	1	1	1	1	7080059
$1,6 \times 10^6$	4 dråber	1	1	1	1	1	1	7080059
$1,6 \times 10^6$	5 dråber	1	1	1	1	1	1	7080059
$1,6 \times 10^6$	6 dråber	1	1	1	1	1	1	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	1	0	1	7080033
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	1	1	1	7080033
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	1	1	1	1	7080033
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	0	0	0	0	0	7080059
$1,6 \times 10^5$	5 dråber	0	1	1	1	1	1	7080033

Fig. 1



Figur 1 viser de fraktionelle positive resultater af en fortyndingsrække af strep A opløsninger, afbildet i et Rankit-plot (Rankit er en linearisering af gauss/normalfordelingen, hvor z angiver afstanden fra middelværdien i standarddeviationer). De korresponderende fraktioner er indikeret på den højre Y-akse og x-aksen (øverste linje) er naturlige logaritmer ($\ln = \log e$) af koncentrationen, mens nederste linje er strep A fortyndingsrækkens koncentration. For hver fraktion er 95 % konfidensinterval afsat ligesom fraktionen 0,1, 0,5 og 0,9 er indtegnet.

Det ses, at den streptokok A koncentrationen, som giver 50% positive resultater (geometrisk mean) på Diaquick Strep A Dipstick er ca $1,5 \times 10^5$ hæmolytiske streptokokker/ mL ved laboratorieafprøvning med levende bakterier.

Alle koncentrationer i fortyndingsrækken aflæst til tiden 5 min. er negativ for $\leq 1,6 \times 10^4$ hæmolytiske streptokokker/mL og positiv for $\geq 1,6 \times 10^6$ /mL.

HOLDBARHED af *S. pyogenes* i SSI transportmedium (Stuarts)

Ved at anvende middel-CFU tællemaal fra bilag B fås antallet af bakterier til 310 CFU ved direkte udsåning med kulpodepind på blodagar (31 CFU ved fortynding 10^{-6}). Efter at have været mindre end et minut i SSI transportmedium var antallet faldet til 59 CFU (59 CFU ved fortynding 10^{-5}), og efter 24 timer ved stuetemperatur i SSI transportmedium var antallet faldet til 39 CFU (39 CFU ved fortynding 10^{-5}).

EVALUERING AF ANALYSEKVALITET EFTER 5 MINUTTER

1a) Selektivitet: 100 % (80 af 80) negative ved forekomst af $1,0 \times 10^7$ af blanding af andre streptokokker: beta-hæmolytisk streptokok gr. C, beta-hæmolytisk streptokok gr. F, beta-hæmolytisk streptokok gr. G og alfa-hæmolytisk streptokok.

1b) Specificitet: 100 %

(400 af 400 negative ved koncentrationer mindre end eller lig med $1,6 \times 10^4$ hæmolytiske streptokokker/mL)

(160 af 160 positive ved koncentrationer større end $1,6 \times 10^6$ hæmolytiske streptokokker/mL)

1c) Koncentrationen, der giver 50% positive resultater: $1,5 \times 10^5$ hæmolytiske streptokokker/mL

2a) Intra-person aflæsning:* 100 % overensstemmelse for prøver på hver sin side af omslagspunkt

2b) Inter-person aflæsning: 100 % overensstemmelse for prøver på hver sin side af omslagspunkt

3) Ugyldige: 0 %

4) Testen er positiv til tiden 5 min: ja. Testresultaterne bliver mere positive over tid.

*der ses bort fra 3 aflæsninger af testperson 4. Aflæsningerne var ikke reproducerbare på samme patient prøve

Vurdering af analysekvalitet

Analysekvaliteten er tilfredsstillende. Der findes seks tidligere laboratorieafprøvninger udført efter næsten samme protokol⁷⁻¹¹. Lignende data fra praksisafprøvninger er betydeligt dårligere, men de er udført på døde bakterier og af betydeligt flere forskellige personer¹.

Hvordan Diaquick Strep A vil klare sig under mindre standardiserede betingelser i praksis, vides ikke. Testen blev fundet positiv i 50 % af målingerne ved koncentrationen $1,5 \times 10^5$ hæmolytiske streptokokker/mL

Evaluering af brugervenlighed

Vurdering af brugervenlighed foretages ved at alle personer, der foretager pågældende test, fortæller, hvad de syntes om brugervenligheden. Dette sker ved at afkrydse nedenstående spørgeskema.

Den samlede vurdering fra alle personer vises i samme skema. Hvis der er kommentarer, der ikke kan passes ind i skemaet tilføjes de i fri tekst. En gennemsnitsvurdering gøres for hver af områderne: Brugsvejledning, Tidsfaktorer, Kvalitetskontrol og Betjening. Den samlede brugervenlighed baseres på de 4 undergrupper. 2 points opfylder forventningerne, 0 eller 1 point opfylder ikke forventningerne. Hvis 0 eller 1 gives skal årsagen forklares i teksten.

Information i vejledning om:	0 point	1 point	2 point
Overskuelig, let at finde rundt i	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Prøvetagning	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Forberedelser / præ-analytisk / test-procedure	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Måling / aflæsning	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Måleprincip	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Fejlkilder	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Fejlfinding / fejlkilder	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Indholdsfortegnelse	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Læselighed / klarhed af præsentation	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Dansk, norsk, svensk vejledning	Utilfredsstillende	Engelsk og norsk	Tilfredsstillende
Vurdering af vejledning			Tilfredsstillende

Tids faktorer	0 point	1 point	2 point
Forberedelse / præ-analysetid	>10 min	6 til 10 min.	≤6 min.
Analysetid	>20 min	10 til 20 min.	≤10 min.
Krav til oplæring	Dage	>2 timer	0 — 2 timer
Holdbarhed af test, uåbnet	≤3 måneder	3 — 5 måneder	>6 måneder
Opbevaring af test, uåbnet	<2 °C	2 — 8 °C	15 — 30 °C
Vurdering af tids faktorer	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende

Kvalitetssikring	0 point	1 point	2 point
Indbygget kvalitetskontrol	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Uafhængig kvalitetskontrol	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Holdbarhed af kontrolmateriale	≤3 måneder	3 — 5 måneder	>6 måneder
Opbevaring af kontrolmateriale	<2 °C	2 — 8°C	15 — 30°C
Tolkning af kontrol	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Vurdering af Kvalitetssikring			Tilfredsstillende

Betjening	0 point	1 point	2 point
At forberede testen / instrumentet	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
At forberede prøven	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Prøvepåsætning	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Prøvevolumen	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Antal af proceduretrin	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Tolkning af test	Meget svært	Svært	Let
Fejlkilder	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Rengøring / vedligeholdelse	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Hygiejne	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Miljøkrav, spildhåndtering**	Gift	Specielt arrangement	Alm affald
Uddannelseskrav	Bioanalytiker	Kræver kursus	Praksis personale
Størrelse og vægt af pakning	Utilfredsstillende	Mindre tilfredsstillende	Tilfredsstillende
Vurdering af Betjening			Tilfredsstillende

* der findes ikke vejledning på dansk, der er ved at blive skrevet en svensk vejledning. ** testene skal betragtes som potentielt smittefarlige, ref 11.

Kommentarer

Negativt: pipettespidsen er meget stram at sætte på

Samlet vurdering af Brugervenlighed

Vurderingen af Manual, Tidsfaktorer, Kvalitetssikring og Betjening blev vurderet som tilfredsstillende.

KONKLUSION

Diaquick Strep A test opfylder under optimale og standardiserede betingelser i laboratorium kravene til analysering og brugervenlighed. En koncentration på $1,5 \times 10^5$ CFU/mL gav 50% positive resultater. Testen var altid positiv ved $1,6 \times 10^6$ CFU/mL. Hvordan Diaquick Strep A test vil klare sig under mindre standardiserede betingelser i praksis, vides ikke.

REFERENCER

- 1) A Model for setting Analytical Quality Specifications and Design of Control for Measurements on the Ordinal Scale. Per Hyldtoft Petersen, Sverre Sandberg, Callum Fraser and Henk Goldschmidt. Clin Chem Lab Med 2000; 38 (6): 545-551.
- 2) Diagnosis of Group A Streptococcal Pharyngotonsillitis in general Practice with Five Antigen Detection Test Kits and a rapid Kit for C-Reactive Protein. Steen Hofmann og Klaus Witt. Poster c22 ASM 99th General Meeting 1999 (ingen artikel, n=2078, GP's=230)
- 3) Diagnostik af halsbetændelse. En multipraksisundersøgelse af tre antigen-detektionssæt til påvisning af gruppe A-streptokokker i svælgpodninger. Jørgen Steen Andersen, Niels Jerne Borrild og Steen Hoffmann. Ugeskrift for Læger 1994; 156:46, 6869-6872
- 4) Detection of group A streptococcal antigen from throat swabs with five diagnostic kits in general practice. Hoffmann S. Streptococcus Department, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark. Diagn Microbiol Infect Dis. 1990 May-Jun;13(3):209-15.
- 5) Detection of group A streptococcal antigen from throat swabs by use of a latex agglutination test kit in general practice. Hoffmann S, Henrichsen J. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [B]. 1987 Apr;95(2):89-94
- 6) Brugervejledning "Diaquick" kassetter Strep A Test, (sprog, Norsk, og Engelsk)
- 7) SKUP rapport nr 24. OSOM Strep A test
- 8) SKUP rapport nr 27. Dipstick Strep A test
- 9) SKUP rapport nr 28. In-Line Strep A test
- 10) SKUP rapport nr 32. In-Line Strep A test
- 11) DIALAB Material Safety Data Sheet

BILAG A Rådata

Koncentration CFU/mL	2 min	2 min	2 min	2 min	5 min	5 min	5 min	5 min	10 min	10 min	10 min	10 min
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0 (pbs)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,6 x 10 ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,6 x 10 ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

pos k	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
pos k	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0

* uoverensstemmelse om identifikation (konc. 10⁰ eller pos kontrol)

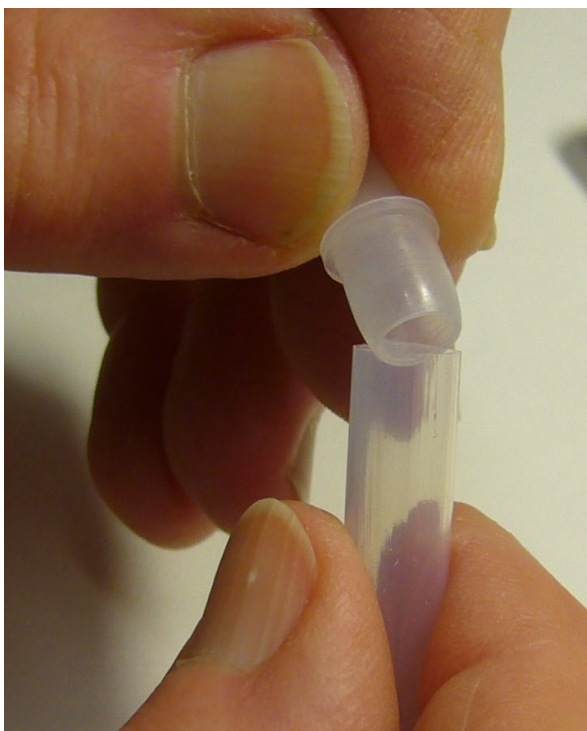
Signaturforklaring: 1 = positiv, 0 = negativ, B = Ugyldig

B	Ugyldig
0	Negativ
1	Positiv
Uventet resultat	

Holdbarheds forsøg BILAG B

Strep A			
	antal	CFU	applicering
Anvendt bakteriesuspension	N = 2	560	Pipette 0,1 mL
Direkte udsåning	N = 5	310	Kulpodepind
< 1 minut i Stuarts medium	N = 5	59	Kulpodepind
24 timer i Stuarts medium	N = 5	39	Kulpodepind

Det ses, at antallet af streptokokker falder, både ved udsåning med kulpodepind direkte på dyrkningsmediet og efter sekunders nedstik i Stuarts Transportmedium. Antallet falder yderligere efter opbevaring af Stuarts Transport medium i 24 timer.

Bilag C**1) Påsætning af pipettespids****2) Billede af 4 positive test:**

Bilag D)

Krydsreaktion undersøgt af producent:Følgende bakteriestammer krydsreagerer ikke i koncentrationen $1,0 \times 10^7$ organismer per test

Organisms	ATCC No.	Visual Call
<i>Bordetella pertussis</i>	8467	Neg
<i>Branham ella catarrhalis</i>	25238	Neg
<i>Candida albicans</i>	1106	Neg
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	13812	Neg
<i>Enterococcus durans</i>	19432	Neg
<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	Neg
<i>Hem ophilus influ enzae</i>	9006	Neg
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9987	Neg
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	27633	Neg
<i>Neisseria mening itidis</i>	13077	Neg
<i>Neisseria sicca</i>	9913	Neg
<i>Nesseria subflava</i>	14799	Neg
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	Neg
<i>Serratia marcescens</i>	8100	Neg
<i>Staphylococcus aureus</i>	12598	Neg
<i>Stapylococcus epidermidis</i>	1228	Neg
<i>Strep B</i>	12386	Neg
<i>Strep B</i>	12401	Neg
<i>Strep F</i>	12392	Neg
<i>Strep G</i>	12394	Neg
<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813	Neg
<i>Streptococcus canis</i>	43496	Neg
<i>Streptococcus equisim ilis</i>	9528	Neg
<i>Streptococcus equisim ilis</i>	9542	Neg
<i>Streptococcus equisim ilis</i>	12388	Neg
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	Neg
<i>Streptococcus pneumonie</i>	27338	Neg
<i>Streptococcus sanguis</i>	10556	Neg
<i>Streptococcus oralis</i>	9811	Neg
<i>Streptococcus mitis</i>	903	Neg
<i>Streptococcus anginosus</i>	33397	Neg
<i>Streptococcus intermedius</i>	27335	Neg