

BEOOGD GEBRUIK

De Prolex™ Streptokokken-Xtra-selectiekiet biedt een snel platform voor de serologische identificatie van bèta-hemolytische streptokokken die behoren tot de Lancefield-groepen A en B.

SAMENVATTING EN TOELICHTING

Klinische, epidemiologische en microbiologische onderzoeken hebben overtuigend de behoefte aangetoond voor een snellere identificatiemethode voor streptokokken, hoofdzakelijk groepen A en B, als gevolg van de hoge prevalentie en associatie met ziekte bij mensen. Voor de diagnose van streptokokkeninfecties op basis van klinische symptomen is altijd microbiologische verificatie nodig (4). Bèta-hemolytische streptokokken zijn de meest frequent geïsoleerde humane pathogenen onder de vertegenwoordigers van het genus *Streptococcus*. Bijna alle bèta-hemolytische streptokokken bezitten specifieke koolhydraatantigenen (streptokokkengroepantigenen). Lancefield heeft aangetoond dat deze antigenen in oplosbare vorm kunnen worden geëxtraheerd en geïdentificeerd door middel van precipitatie-reacties met homologe antisera. Er zijn thans verschillende procedures voor extractie van streptokokkenantigenen in gebruik (1,2,6,7,10,11,12). De Prolex™ Streptokokken-Xtra-selectiekiet is gebaseerd op vrijzetting van antigenen uit bacteriecellen door middel van de werking van lytische enzymen. Het geëxtraheerde antigenen in combinatie met latexagglutinaties biedt een snelle, gevoelige en specifieke methode voor het identificeren van streptokokkengroepen A en B vanaf primaire kweekplaten.

PRINCIPE VAN DE TEST

De Prolex™ Streptokokken-Xtra-selectiekietclassificatiemethode houdt enzymatische extractie in van groepsspecifieke koolhydraatantigenen met behulp van speciaal geselecteerde lytische enzymen. Het in de kit meegeleverde Streptokokken-Xtra-extractiereagens bevat een eigen formulering van lytische enzymen die streptokokkengroepspecifieke antigenen kunnen extraheren op kamertemperatuur. Extracten kunnen gemakkelijk worden geïdentificeerd met behulp van blauwe polystyreenlatexdeeltjes die gevoelig zijn gemaakt met gezuiverde groepspecifieke konijnenimmunoglobulinen. Deze blauwe latexdeeltjes agglutineren sterk in aanwezigheid van homologe antigeen en zullen bij het ontbreken van homologe antigeen niet agglutineren.

GELEVERDE MATERIALEN

Elke kit is voldoende voor 120 tests. De materialen worden gebruiksklaar geleverd.

- **Latexreagentia:** De klant selecteert welke twee flacons blauwe latexclassificatiereagentia hij/zij in de kit wilt hebben. Elke druppelfles bevat 3,0 ml blauwe latexdeeltjes die zijn gecoat met gezuiverde konijnantilichamen tegen Lancefield-groepen A of B. De blauwe latexdeeltjes worden gesuspenderd in buffer pH 7,4 die 0,098% natriumazide bevat als conserveringsmiddel. De verkrijgbare latexreagentia zijn:

Reagens	Catalogus-nummer
Groep A Latexreagens	PL.1031
Groep B Latexreagens	PL.1032

- **Streptokokken-Xtra-extractiereagens (PL.1037):** Twee druppelflessen die 6,0 ml extractiereagens met conserveringsmiddel bevatten.
- **Polyvalente positieve controle (PL.1040):** Eén druppelfles met 2 ml gebruiksklare polyvalente antigenen die zijn geëxtraheerd uit geïncubeerde streptokokken van Lancefield-groepen A, B, C, D, F en G.
- Kunststof roerstaafjes

- Testkaarten
- Gebruiksaanwijzing

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Entlussen of -naalden
- Pasteurpipetten
- 12 mm x 75 mm reageerbuisen
- Timer

STABILITEIT EN OPSLAG

Alle kitcomponenten moeten worden bewaard bij 2-8 °C. Reagentia die onder deze condities worden opgeslagen, zijn stabiel tot de uiterste gebruiksdatum op het productetiket. Niet in de vriezer bewaren.

VOORZORGSMAATREGELEN

1. Gebruik de reagentia niet na de op het productetiket vermelde uiterste gebruiksdatum.
2. Sommige reagentia bevatten een kleine hoeveelheid natriumazide. Natriumazide kan explosief reageren met koperen of loden leidingen wanneer het de kans krijgt op te hopen. Hoewel de hoeveelheid natriumazide in de reagentia minimaal is, dient men grote hoeveelheden water te gebruiken wanneer de reagentia door de gootsteen worden gespoeld.
3. Er dienen universele voorzorgsmaatregelen te worden genomen bij het hanteren, verwerken en weggooien van alle klinische specimen. Alle testmaterialen dienen te worden gezien als mogelijk infectieus tijdens en na gebruik en dienen op de juiste wijze te worden gehanteerd en opgeruimd.
4. De reagentia zijn uitsluitend bedoeld voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
5. Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
6. Reagentia bevatten materiaal van dierlijke oorsprong en dient behandeld te worden als mogelijke drager en overbrenger van ziekten.

MONSTERAFNAME EN PREPARATIE VAN KWEKEN

Voor specifieke procedures met betrekking tot monsterafname en preparatie van primaire kweken wordt verwezen naar een standaard microbiologie-tekstboek. Er dient een verse (18-24 uur) kweek op bloedagar te worden gebruikt.

TESTPROCEDURE

Alle componenten moeten vóór gebruik op kamertemperatuur (18-22 °C) zijn.

1. Hersuspendeer het latexreagens door de druppelfles een paar keer voorzichtig om te keren. Onderzoek de druppelfles vóór gebruik om zeker te stellen dat de latexdeeltjes goed zijn gesuspenderd. Niet gebruiken als de latex niet opnieuw suspendeert.
2. Voorzie één reageerbuis voor elk te testen isolaat van een etiket.
3. Voeg aan elke buis 2 druppels Streptokokken-Xtra-extractiereagens toe.
4. Selecteer één bèta-hemolytische kolonie met behulp van een wegwerplus of -naald en suspendeer hem in het Streptokokken-Xtra-extractiereagens. In alle gevallen dient de streptokokkenkolonie uit een gebied genomen te worden dat de kleinste waarschijnlijkheid van verontreiniging met een ander organisme bevat.
5. Meng de reactie door tegen het buisje te tikken en ontwikkel gedurende 60 seconden.
6. Doe één druppel van elk groepslatexreagens op afzonderlijke cirkels op de testkaart.

7. Plaats met behulp van een pasteurpipet één druppel extract naast elke druppel latexreagens.
8. Meng de latex en het extract met de meegeleverde staafjes en gebruik het gehele oppervlak van de cirkel. Voor elke test dient een nieuw staafje te worden gebruikt.
9. Schud de kaart voorzichtig en laat het mengsel langzaam over het gehele testringgebied stromen.
10. Wacht maximaal 30 seconden om te zien of er agglutinaties optreedt.

KWALITEITSCONTROLEPROCEDURES

De routinekwaliteitscontroleprocedure voor elke Prolex™-partij houdt het testen van blauwe latexreagentia en Streptokokken-Xtra-extractiereagens in met elke streptokokkengroep A en B met behulp van de ATCC-stammen of equivalent als vermeld in dit deel. Het extract uit deze stammen zal agglutineren met het homologe latexreagens. De Polyvalente positieve controle wordt gebruikt voor het testen van de individuele latexreagentia.

Organisme	Lancefield-groep	Referentie
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Groep A	ATCC #19615
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Groep B	ATCC #12386

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Positieve resultaten: Snelle sterke agglutinatie van de blauwe latexdeeltjes binnen 30 seconden met één van de latexreagentia wijst op de specifieke identificatie van het streptokokkenisolaat.

Negatieve resultaten: Geen agglutinatie van de blauwe latexdeeltjes.

BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE

1. Wanneer de kit niet volgens de richtlijnen wordt gebruikt of wanneer een onvoldoende hoeveelheid kweek is gebruikt voor extractie kan dit leiden tot fout-negatieve en fout-positieve resultaten.
2. De kit is alleen bestemd voor gebruik bij het identificeren van bèta-hemolytische streptokokken. Wanneer alfa- of niet-hemolytische streptokokken worden getest, dient de identificatie te worden bevestigd door middel van biochemische tests (5,9).
3. Het is bekend dat zich vals-positieve reacties hebben voorgedaan met organismen van niet-gerelateerde genera, bijv. *Escherichia coli*, *Klebsiella* of *Pseudomonas* (3,8). Deze zullen waarschijnlijk niet-specifiek alle latexreagentia agglutineren.
4. *Listeria monocytogenes* kan kruisreactie vertonen met de Groep B-streptokokkenlatexreagentia, daar *L. monocytogenes* soortgelijke antigeniteit vertoont tegen Groep B-streptokokken. De katalasetest kan worden gedaan om onderscheid te maken tussen *Listeria*, die katalase-positief en streptokokken die katalase-negatief zijn. Gram-kleuring en motiliteitstesten kunnen worden uitgevoerd als verdere hulpmiddelen voor differentiatie.
5. Sommige typisch niet-hemolytische stammen van *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) bezitten A-, C-, F- of G-antigenen en kunnen positieve reactie met Strep A-, C-, F- of G-latexreagentia geven. Voor het identificeren van deze organismen dienen morfologie op bloedagar en biochemische tests.







PRESTATIEKENMERKEN

De Prolex™ Streptokokken-Xtra-selectiekiet werd getest op prestatie in ziekenhuizen in het Verenigd Koninkrijk met behulp van 293 isolaten van bèta-hemolytische streptokokken. De isolaten omvatten 61 *Streptococcus pyogenes* (Lancefield-groep A Strep), 91 *Streptococcus agalactiae* (Lancefield-

groep B Strep), 19 *Streptococcus* sp. groep C, 65 *Enterococcus faecalis* groep D, 4 *Streptococcus* sp. groep F en 53 Streptokokken groep G . De set toonde 100% gevoeligheid en specificiteit aan voor beide latexreagentia bij tests tegen de isolaten. De gemiddelde tijd voor een positieve reactie met de Groep A- en Groep B-reagentia was respectievelijk 13 seconden en 12 seconden.

REFERENTIES

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-Haemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 23, 285.
2. **EL Kholly, 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.
12. **Slifkin, M., Cumbie, R.** (1987) Serogrouping Single Colonies of Beta-Hemolytic Streptococci with Achromopeptidase Extraction. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1555.

	= Fabrikant
	= Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
	= Bevat voldoende voor (n) testen
	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbeperving
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.