

COFFRET DE REACTIFS D'EXTRACTION PROLEX™

(pour usage diagnostique *in vitro*)



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

NOTICE D'UTILISATION

INDICATION

Le Prolex™ Extraction Reagent Set, utilisé en combinaison avec les réactifs Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Reagents offre une plateforme rapide destinée à l'identification sérologique des streptocoques bêta-hémolytiques appartenant aux groupes A, B, C, D, F et G de Lancefield.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Des études cliniques, épidémiologiques et microbiologiques ont démontré irréfutablement qu'en présence d'un diagnostic d'infections streptococciques basé sur les symptômes cliniques, il est nécessaire de procéder systématiquement à une vérification microbiologique⁴. Les streptocoques bêta-hémolytiques sont les pathogènes humains les plus fréquemment isolés parmi les représentants du genre *Streptococcus*. La quasi-totalité des streptocoques bêta-hémolytiques possèdent des antigènes carbohydrates spécifiques (antigènes du groupe streptococcique). Lancefield a prouvé que ces antigènes peuvent être extraits sous forme soluble et identifiés par des réactions de précipitation avec des immun-sérums homologues. À l'heure actuelle, différentes procédures d'extraction des antigènes streptococciques sont utilisées^{1,2,6,7,10,11}. La méthode Prolex™ Streptococcal Grouping est basée sur la libération d'un antigène spécifique des parois cellulaires bactériennes par extraction d'acide nitreux modifié. L'antigène extrait associé à l'agglutination au latex apporte une méthode rapide, sensible et spécifique d'identification des groupes streptococciques A, B, C, D, F et G à partir de plaques de culture primaire.

PRINCIPE DU TEST

La méthode Prolex™ Streptococcal Grouping implique l'extraction chimique d'antigènes carbohydrates spécifiques aux groupes en utilisant des réactifs d'extraction de l'acide nitreux spécialement mis au point. Les réactifs d'extraction 1 et 2 fournis dans le jeu contiennent une substance chimique capable d'extraire à température ambiante les antigènes spécifiques aux groupes streptococciques. Le réactif d'extraction 3 contient une solution de neutralisation. Les extraits neutralisés peuvent être aisément identifiés à l'aide de particules en latex de polystyrène bleu sensibilisées avec des immunoglobulines de lapin purifiées et spécifiques aux groupes. Ces particules en latex bleu s'agglutinent très fortement en présence d'un antigène homologue et ne s'agglutinent pas en l'absence d'un antigène homologue.

MATÉRIELS FOURNIS

Chaque jeu contient suffisamment de réactifs pour 150 extractions adaptés au typage en utilisant les réactifs Prolex™ Streptococcal Latex Reagents PL.031, PL.032, PL.033, PL.034, PL.035 ou PL.036. Les matériels sont fournis prêts à l'emploi.

- Réactif D'xtraction 1 (PL.047): Un flacon compte-gouttes contenant 8.0 ml de réactif d'extraction modifié avec 0.098% d'azoture de sodium comme agent de conservation.
- Réactif D'extraction 2 (PL.048): Un flacon compte-gouttes contenant 8.0 ml de réactif d'extraction modifié.
- Réactif D'extraction 3 (PL.049): Un flacon compte-gouttes contenant 8.0 ml de réactif d'extraction modifié avec 0.098% d'azoture de sodium comme agent de conservation.

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Réactifs Latex (PL.031 - PL.036): Chaque flacon compte-gouttes contient 3.0 ml de particules de latex bleu enrobées d'anticorps de lapin purifiés correspondant aux groupes de Lancefield A, B, C, D, F ou G. Les particules en latex bleu sont suspendues dans un tampon d'un pH de 7.4 contenant 0.098% d'azoture de sodium (agent de conservation).

- Contrôle Positif Polyvalent (PL.040): Flacon compte-gouttes contenant 2.0 ml d'antigènes polyvalents prêts à l'emploi, extraits de streptocoques inactivés des groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G. Les antigènes sont en suspension dans un tampon contenant de l'azoture de sodium à 0.098% comme conservateur.
- Cartes de test
- Bâtonnets mélangeurs
- Aiguille ou anse de repiquage
- Pipettes Pasteur
- Tubes à essai de 12 x 75 mm
- Minuterie

STABILITÉ ET STOCKAGE

Tous les composants du kit doivent être conservés entre 2 et 8°C. **Ne pas congeler.** Les réactifs conservés dans ces conditions sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

- Pour usage diagnostique *in vitro*.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
- Certains réactifs contiennent une petite quantité d'azoture de sodium. L'azoture de sodium peut réagir en explosant avec des tuyauteries en cuivre ou en plomb si on le laisse s'accumuler. Bien que la quantité d'azoture de sodium soit minime dans le réactif, de grandes quantités d'eau doivent être utilisées si les réactifs sont déversés dans l'évier.
- Les précautions universelles devront être observées lors de la manipulation, du traitement et de l'élimination de tous les spécimens cliniques. Tous les matériels de test devront être considérés comme des sources infectieuses potentielles pendant et après leur emploi, et devront ainsi être convenablement manipulés et éliminés en conséquence.
- Les procédures, conditions de conservation, précautions et limites d'utilisation spécifiées dans les présentes instructions doivent être respectées afin d'obtenir des résultats de test valides.
- Pour les dangers et précautions, veuillez vous référer aux pictogrammes figurant sur l'étiquette et aux informations fournies dans le tableau ci-dessous. Veuillez consulter la Fiche de Données de Sécurité sur www.pro-lab.com.

PL.047	 Attention Composant dangereux: Nitrite de Sodium, Méthanol Nocif en cas d'ingestion (H302). Se laver mains et la peau exposée soigneusement après manipulation (P264). Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale (P501).
PL.048	 Danger Composant dangereux: Acide Acétique Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux (H314). Ne pas respirer les vapeurs/brouillards (P260). Porter des un équipement de protection des yeux/gants de protection/des vêtements de protection (P280). EN CAS D'INGESTION: Rincer la bouche. NE PAS faire vomir (P301+P330+P331). EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau (P303+P361+P353). EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. (P305+P351+P338). Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin (P310). Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale (P501).

PRELEVEMENT DES SPECIMENS ET PRÉPARATION DES CULTURES

Pour les procédures spécifiques concernant le prélèvement des spécimens et la préparation des cultures primaires, consulter un manuel de microbiologie standard. Une culture fraîche (18-24 heures) sur gélose au sang devra être utilisée. Entre une et quatre larges colonies suffisent en principe pour le groupage ; cependant, si la taille des colonies est limitée, un nombre supérieur de colonies (portions d'anse) devra être utilisé.

PROCÉDURE DE TEST

Tous les éléments doivent être à température ambiante avant emploi.

1. Remettre les réactifs latex du test en suspension en renversant les flacons compte-gouttes pour veiller à ce que toutes les particules en latex soient bien en suspension avant l'emploi. Ne pas l'utiliser si le latex ne se remet pas correctement en suspension.
2. Étiqueter un tube à essai pour chaque isolat à tester.
3. Ajouter 1 goutte de réactif d'extraction 1 à chaque tube.
4. Sélectionner 1 à 4 colonies bêta-hémolytiques en utilisant une aiguille ou une anse jetable et les mettre en suspension dans le réactif d'extraction 1. Si les colonies sont de taille limitée, choisir plusieurs colonies bien isolées pour le test de manière à ce que la solution de réactif d'extraction 1 devienne trouble. Dans tous les cas, les colonies streptococciques devront être sélectionnées à partir d'une zone présentant le moindre risque de contamination avec un autre organisme.
5. Ajouter 1 goutte de réactif d'extraction 2 à chaque tube.
6. Mélanger la réaction en tapotant doucement le tube du doigt pendant 5-10 secondes.
7. Ajouter 1 goutte de réactif d'extraction 3 à chaque tube et mélanger en tapotant doucement le tube du doigt pendant 5-10 secondes.
8. Distribuer une goutte de chaque groupe de réactif latex sur des cercles distincts de différentes cartes de test étiquetées avec le nom de chaque isolat testé.
9. En utilisant une pipette de Pasteur, pour chaque test, placer une goutte de l'extrait à côté de chaque goutte de réactif latex.
10. Mélanger le latex et l'extrait à l'aide des bâtonnets fournis en étalant bien sur la totalité de la surface des cercles. Utiliser un nouveau bâtonnet pour chaque cercle de test.
11. Secouer délicatement les cartes pour permettre au mélange de s'écouler lentement sur la totalité de la surface du cercle de test.
12. Patienter une minute au maximum pour observer l'agglutination potentielle.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

La procédure de contrôle qualité systématique de chaque lot de Prolex™ nécessite de tester les réactifs latex et réactifs d'extraction avec chaque groupe streptococcique A, B, C, D, F et G en utilisant les souches ATCC ou équivalentes selon les indications de cette section. L'extrait de ces souches s'agglutine avec le réactif latex homologue. Le contrôle positif polyvalent est utilisé pour tester les réactifs latex individuels.

Organisme	Groupe Lancefield	Référence
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Groupe A	ATCC 19615
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Groupe B	ATCC 12386
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groupe C	ATCC 12388
<i>Enterococcus faecalis</i>	Groupe D	ATCC 19433
<i>Streptococcus sp. type 2</i>	Groupe F	ATCC 12392
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groupe G	ATCC 12394

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat Positif: Une agglutination forte et rapide des particules en latex bleu dans un délai d'une minute avec l'un des réactifs latex indique l'identification spécifique de l'isolat streptococcique. Une réaction faible avec un seul réactif latex nécessitera la répétition du test en utilisant un inoculum plus consistant. Le test répété sera considéré comme positif s'il y a agglutination avec un seul des réactifs en latex. La Figure 1 est l'illustration d'une configuration possible pour le groupage des streptocoques.

Résultat Négatif: Pas d'agglutination des particules en latex. Si des traces de granulation sont visibles dans les cercles de test, le test devra également être considéré comme négatif.

Résultat Non Concluant: En présence d'une faible agglutination ou d'une réaction non-spécifique (filandreuse) dans le cercle de test au bout d'une minute, répéter le test en utilisant une sous-culture fraîche. Si le même résultat est constaté après ce deuxième test, procéder à un test biochimique pour identifier l'isolat.

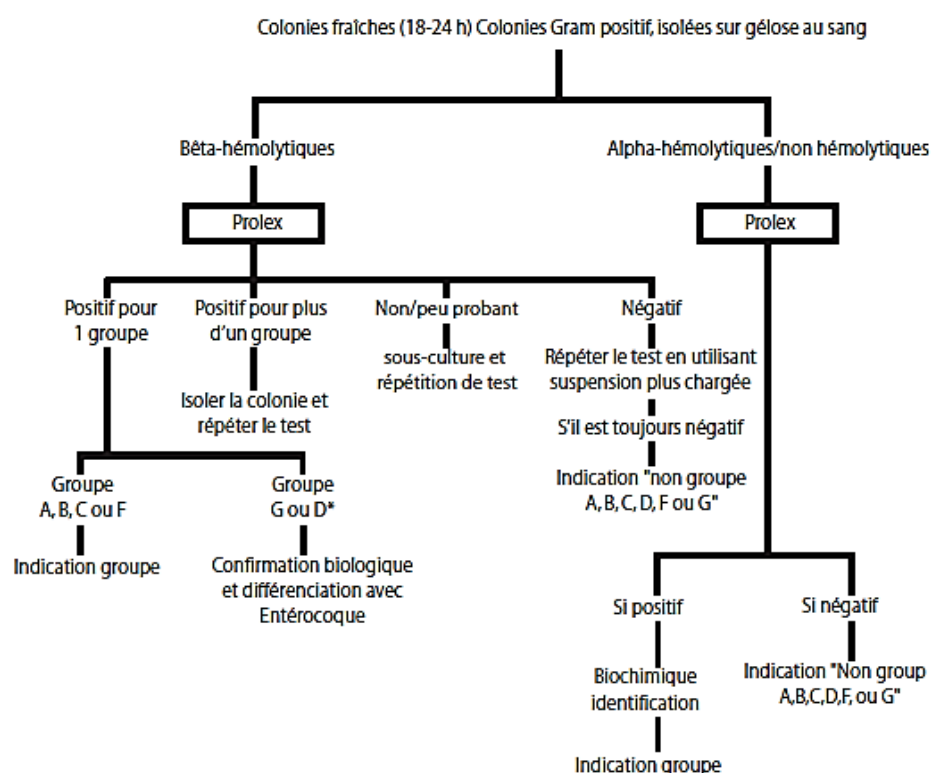
Résultat Non-Spécifique: Dans de rares cas, il se peut qu'une agglutination soit constatée avec plusieurs groupes. Si cela se produit, vérifier la pureté de la culture utilisée pour réaliser le test. Si elle semble pure, répéter le test et contrôler l'identification de l'isolat à l'aide d'un test biochimique.

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

1. De faux résultats positifs ou négatifs risquent d'être obtenus lorsque le kit n'est pas utilisé conformément aux indications ou qu'une quantité de culture inadéquate est utilisée pour l'extraction.

2. Le kit est uniquement destiné à l'identification des streptocoques bêta-hémolytiques. Si des streptocoques alpha ou non-hémolytiques sont testés, l'identification devra être contrôlée à l'aide d'un test biochimique^{5,9} (Se référer à la configuration suggérée pour le groupage des streptocoques).
3. Des réactions faussement positives ont été constatées avec des organismes issus de genres non apparentés, comme par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella* ou *Pseudomonas*^{3,8}. Ils sont susceptibles de présenter une agglutination non-spécifique avec tous les réactifs latex.
4. Certaines souches des streptocoques du Groupe D se sont avérées présenter une réaction croisée avec les immun-sérums du Groupe G; l'appartenance de ces souches au Groupe D peut être contrôlée par le test bile-esculine. Il peut s'avérer difficile de grouper certaines souches d'*Enterococcus faecium* et de *Streptococcus bovis*.
5. *Listeria monocytogenes* peut présenter une réaction croisée avec les réactifs latex streptococciques des Groupes B et G. Le test catalase pourra être réalisé pour différencier les *Listeria*, qui sont catalase-positifs, et les streptocoques, qui sont eux catalase-négatifs. On pourra également avoir recours à une coloration de Gram et des tests de mobilité pour faciliter encore davantage cette différenciation.
6. Certaines souches typiquement non hémolytiques de *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) possèdent des antigènes A, C, F ou G et peuvent produire des réactions positives avec des réactifs au latex des streptocoques du groupe A, C, F ou G. On aura recours à la morphologie observée sur les tests biochimiques et de gélose au sang pour identifier ces organismes.

Figure 1 SCHEMA SUGGERE POUR LE GROUPAGE DES STREPTOCOQUES



*Certaines souches du groupe D peuvent présenter des réactions croisées avec des anti-sérums du groupe G.

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

A. Études de réactivité croisée:

Le Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit a été soumis à des tests de réactivité croisée en utilisant 33 souches ATCC de référence. Le kit est parvenu à grouper tous les streptocoques correspondant aux groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G (N=16). Aucune réactivité croisée n'a été observée pendant les tests effectués sur d'autres souches streptococciques (n=7) ni sur d'autres organismes non-streptococciques (n=10).

B. Études de performance clinique:

1. Le Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit a été évalué dans le cadre d'une comparaison portant sur cinq kits de groupage streptococcique disponibles dans le commerce. L'étude a été effectuée par S. Davies et coll. au Northern General Hospital de Sheffield en Angleterre. Tous les kits ont été provoqués avec un panel de 302 streptocoques bêta-hémolytiques composés de 64, 67, 44, 55, 56 et 4 souches correspondant respectivement aux groupes de Lancefield A, B, C, D, G et F. Les résultats ont indiqué que 12 des souches n'ont présenté aucun groupage avec l'ensemble des kits testés. Sur les 290 souches restantes, le Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit en a identifié 286 (98.6%) correctement. Les auteurs en ont conclu que le Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit s'est avéré précis et rapide, avec une sensibilité de 99% et une spécificité de 100%. Qui plus est, le délai moyen d'agglutination était considérablement moindre que le délai nécessaire pour trois des quatre autres kits évalués. Les données correspondantes sont disponibles sur demande.
2. Une seconde étude de performance a été réalisée à un centre de soins d'Ontario au Canada. Dans cette étude, 111 cultures primaires ont été utilisées (110 testées, 1 inadéquate). Toutes les souches ont à l'origine été regroupées par réactions de précipitation de Lancefield. La totalité du Groupe D a été en outre soumise à un contrôle biochimique en suivant un protocole de dosage BE (bile esculine) et PYR (pyrrolidonyl aminopeptidase). Les cultures primaires ont été testées parallèlement avec le Prolex™ Streptococcal Grouping Kit et avec un kit de groupage alternatif. Dans cette étude, la concordance globale entre les résultats Prolex™ et ceux de Lancefield a été constatée sur 109 des 110 isolats testés (99%), alors que la concordance globale entre les résultats du kit alternatif et ceux de Lancefield a été constatée sur 106 des 110 isolats testés (96.3%). Les 110 isolats primaires utilisés dans cette étude incluaient 15 souches du groupe A, 40 du groupe B, 13 du groupe C, 4 du groupe D, 11 du groupe F, 12 du groupe G et 15 souches non-groupables.

DISPONIBILITÉ

N° Cat.	Description
PL.031	Réactif Latex du Groupe A
PL.032	Réactif Latex du Groupe B
PL.033	Réactif Latex du Groupe C
PL.034	Réactif Latex du Groupe D
PL.035	Réactif Latex du Groupe E
PL.036	Réactif Latex du Groupe F
PL.040	Contrôle Positif Polyvalent
PL.091P	Bâtonnets Mélangeurs
PL.092-48	Cartes de Test

RÉFÉRENCES

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.

GLOSSAIRE DES SYMBOLES

	Fabricant
	Date de péremption
LOT	Numéro de lot
REF	Référence de catalogue
	Limite de température
	Consultez les instructions d'utilisation électroniques
IVD	Dispositif médical pour diagnostic in vitro
	Contenu suffisant pour <n> tests
CE	Indique la conformité européenne
UK CA	Indique la conformité à la règlement du Royaume-Uni
EU REP	Représentant autorisé européenne
UKRP	Représentant responsable au Royaume-Uni

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



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



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