

PROLEX™ EXTRACTIEREAGENSSET

(voor diagnostisch gebruik *in vitro*)



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

GEBRUIKSAANWIJZING

BEOOGD GEBRUIK

De Prolex™ Extractiereagensset biedt bij gebruik in combinatie met Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexreagentia een snel platform voor de serologische identificatie van bèta-hemolytische streptokokken die behoren tot de Lancefield-groepen A, B, C, D, F en G.

SAMENVATTING EN TOELICHTING

Klinische, epidemiologische en microbiologische onderzoeken hebben op overtuigende wijze aangetoond dat voor de diagnose van streptokokkeninfecties op basis van klinische symptomen microbiologische verificatie altijd noodzakelijk is⁴. 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-acties met homologe antisera. Er zijn thans verschillende procedures voor extractie van streptokokkenantigenen in gebruik^{1,2,6,7,10,11}. De Prolex™ Streptokokkenclassificatiemethode is gebaseerd op het vrijzetten van antigeen uit bacteriecelwanden door middel van extractie met gemodificeerd salpeterigzuur. Het geëxtraheerde antigeen in combinatie met latexagglutinatie biedt een snelle, gevoelige en specifieke methode voor het identificeren van streptokokkengroepen A, B, C, D, F en G vanaf primaire kweekplaten.

PRINCIPE VAN DE TEST

De Prolex™ streptokokkenclassificatiemethode houdt chemische extractie in van groepsspecifieke koolhydraatantigenen met behulp van speciaal ontwikkelde salpeterigzuurextractiereagentia. De extractiereagentia 1 en 2 in de set bevatten een chemische substantie die de voor de streptokokkengroep specifieke antigenen bij kamertemperatuur kunnen extraheren. Extractiereagens 3 bevat een neutraliserende oplossing. De geneutraliseerde extracten kunnen gemakkelijk worden geïdentificeerd met behulp van blauwe polystyreenlatexdeeltjes die gevoelig zijn gemaakt met gezuiverde groepspecifieke konijnenimmunoglobulinen. Deze blauwe latexdeeltjes agglutineren zeer sterk in aanwezigheid van homologe antigeen en zullen bij het ontbreken van homologe antigeen niet agglutineren.

GELEVERDE MATERIALEN

Elke set bevat voldoende reagentia voor 150 extracties geschikt voor typering met behulp van Prolex™ streptokokkenlatexreagentia PL.031, PL.032, PL.033, PL.034, PL.035 of PL.036. De materialen worden gebruiksklaar geleverd.

- Extractiereagens 1 (PL.047): Eén druppelfles met 8.0 ml van het gemodificeerde extractiereagens met 0.098% natriumazide als conserveringsmiddel.
- Extractiereagens 2 (PL.048): Eén druppelfles met 8.0 ml van het gemodificeerde extractiereagens.
- Extractiereagens 3 (PL.049): Eén druppelfles met 8.0 ml van het gemodificeerde extractiereagens met 0.098% natriumazide als conserveringsmiddel.

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Latexreagentia (PL.031 - PL.036): Elke druppelfles bevat 3.0 ml blauwe latexdeeltjes die zijn gecoat met gezuiverde konijnantilichamen tegen Lancefield-groepen A, B, C, D, F of G. De blauwe latexdeeltjes worden gesuspenderd in een pH 7.4 buffer die 0.098% natriumazide bevat als conserveringsmiddel.
- Polyvalente positieve controle (PL.040): Eén druppelfles met 2.0 ml gebruiksklare polyvalente antigenen die zijn geëxtraheerd uit geïnactiveerde streptokokken van Lancefield-groepen A, B, C, D, F en G. De antigenen worden gesuspenderd in een buffer met 0.098% natriumazide als conserveermiddel
- Testkaarten
- Roerstaafjes
- Entingslus of -naald
- Pasteurpipetten
- 12 x 75 mm reageerbuizen
- Timer

STABILITEIT EN OPSLAG

Alle componenten van de kit dienen bewaard te worden bij 2-8°C. **Niet invriezen.** Reagentia die onder deze condities worden opgeslagen, zijn stabiel tot de vervaldatum op het productetiket.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMATREGELEN

- Uitsluitend voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
- Gebruik de reagentia niet na de op het productetiket vermelde uiterste gebruiksdatum.
- 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.
- 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.
- Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
- Voor gevaren en voorzorgsmaatregelen, raadpleeg de pictogrammen op het label en de informatie die wordt gegeven in onderstaande tabel. Raadpleeg a.u.b. het veiligheidsblad (Safety Data Sheet) op www.pro-lab.com.

PL.047	 Waarschuwing Gevaarlijk ingrediënt: Natriumnitraat, Methanol Schadelijk bij inslikken (H302). Na het werken met dit product blootgestelde huid grondig wassen (P264). Inhoud/verpakking afvoeren volgens plaatselijke voorschriften (P501).
PL.048	 Gevaar Gevaarlijk ingrediënt: Azijnzuur Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel (H314). Nevel/damp niet inademen (P260). Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming dragen (P280). NA INSLIKKEN: De mond spoelen. GEEN braken opwekken (P301+P330+P331). BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen (P303+P361+P353). BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen (P305+P351+P338). Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts raadplegen (P310). Inhoud/verpakking afvoeren volgens plaatselijke voorschriften (P501).

MONSTERAFNAME EN PREPARATIE VAN KEKEN

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

vier grote koloniën dient voldoende te zijn voor classificatie; wanneer de koloniën echter klein zijn, dient men een groter aantal koloniën (lusvol) te gebruiken.

TESTPROCEDURE

Alle componenten moeten vóór gebruik op kamertemperatuur zijn.

1. Hersuspendeer de testlatexreagentia door de druppelflessen voorzichtig om te keren om zeker te stellen dat de latexdeeltjes vóór gebruik goed worden gesuspendeerd. 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 1 druppel extractiereagens 1 toe.
4. Selecteer 1-4 bèta-hemolytische koloniën met behulp van een wegwerplus of naald en suspendeer ze in het extractiereagens 1. Wanneer de koloniën klein zijn, neem dan een aantal zodanig goedgeïsoleerde koloniën om te testen dat de extractiereagens 1-oplossing troebel wordt. In alle gevallen dienen de streptokokkenkoloniën uit een gebied genomen te worden dat de kleinste waarschijnlijkheid van verontreiniging met een ander organisme bevat.
5. Voeg aan elke buis 1 druppel extractiereagens 2 toe.
6. Meng de reactie door gedurende 5-10 seconden voorzichtig met de vinger tegen de buis te tikken.
7. Voeg 1 druppels extractiereagens 3 toe aan elk buisje en meng door gedurende 5-10 seconden voorzichtig met een vinger tegen het buisje te tikken.
8. Doe één druppel van elke groep latexreagens op verschillende cirkels op afzonderlijke testkaarten met etiket voor elk te testen isolaat.
9. Plaats met behulp van een pasteurpipet voor elke testplek één druppel extract naast elke druppel latexreagens.
10. Meng de latex en het extract met de meegeleverde staafjes en gebruik het gehele oppervlak van de cirkel. Met elke testcirkel dient een nieuw staafje te worden gebruikt.
11. Schud de kaarten voorzichtig en laat het mengsel langzaam over het gehele testringgebied stromen.
12. Let gedurende één minuut op agglutinatie.

KWALITEITSCONTROLEPROCEDURES

De routinekwaliteitscontroleprocedure voor elke Prolex™-partij houdt het testen van de latex- en extractiereagentia in met elke streptokokkengroep A, B, C, D, F en G 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
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groep C	ATCC 12388
<i>Enterococcus faecalis</i>	Groep D	ATCC 19433
<i>Streptococcus sp. type 2</i>	Groep F	ATCC 12392
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groep G	ATCC 12394

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Positief resultaat: Snelle sterke agglutinatie van de blauwe latexdeeltjes binnen één minuut met één van de latexreagentia wijst op de specifieke identificatie van het streptokokkenisolaat. Een zwakke reactie met een enkel latexreagens dient herhaald te worden met behulp van een zwaarder inoculum. De herhaalttest wordt gezien als positief wanneer agglutinatie optreedt met slechts één van de latexreagentia. Figuur 1 illustreert een voorgesteld schema voor het classificeren van streptokokken.

Negatief resultaat: Geen agglutinatie van de latexdeeltjes. Bij het zien van granulatiesporen in de testcirkel, dient de test ook te worden gezien als negatief.

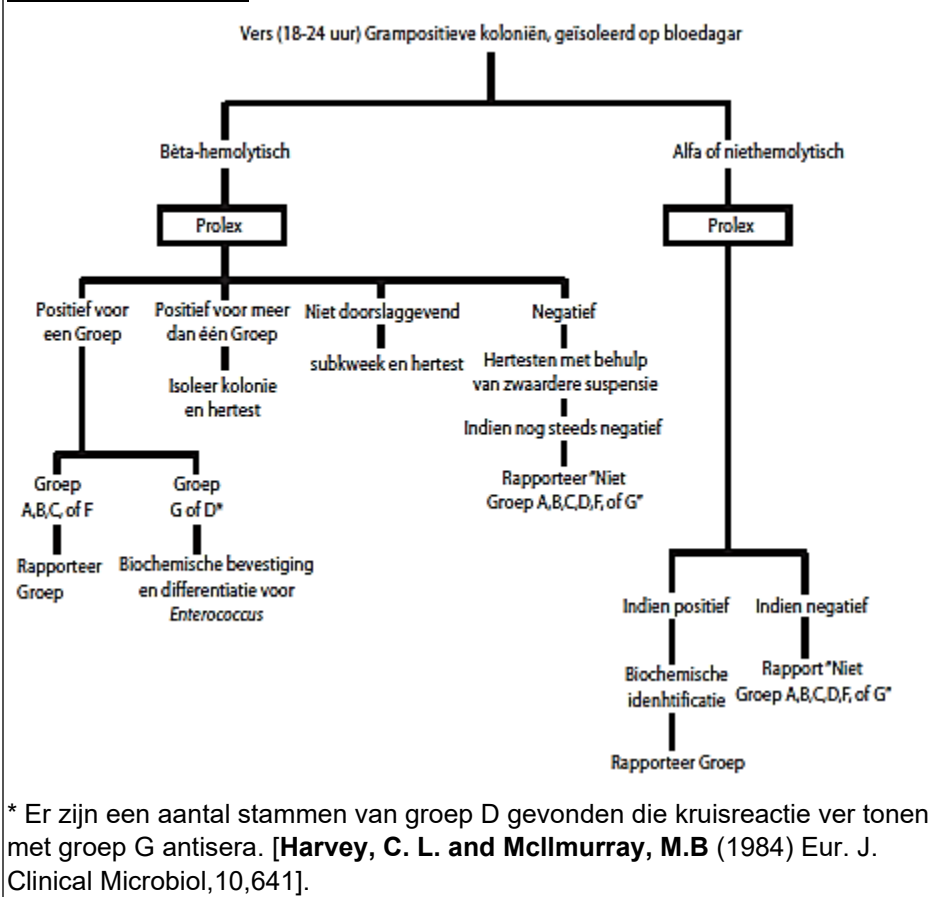
Niet-overtuigend resultaat: Bij zwakke klontering of een niet-specifieke reactie (draderigheid) in de testcirkel na één minuut, dient de test te worden herhaald met behulp van een verse subkweek. Wanneer na de hertest hetzelfde resultaat wordt gezien, dient een biochemische test te worden uitgevoerd voor het identificeren van het isolaat.

Niet-specifiek resultaat: In een zeldzaam geval kunt u bij meer dan één groep agglutinatie zien. Controleer wanneer dit gebeurt de zuiverheid van de kweek die is gebruikt voor de uitvoering van de test. Herhaal de test wanneer het zuiver lijkt en bevestig de identificatie van het isolaat met biochemisch testen.

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. Bij het testen van alfa- of niet-hemolytische streptokokken dient de identificatie te worden bevestigd door middel van biochemische tests^{5,9} (Raadpleeg het voorgestelde schema voor het classificeren van streptokokken).
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. Sommige stammen van Groep D streptokokken bleken kruisreactie te vertonen met Groep G antisera; deze stammen kunnen worden bevestigd als Groep D door middel van de gal-esculinetest. Sommige stammen van *Enterococcus faecium* en *Streptococcus bovis* kunnen mogelijk moeilijk worden gegroepeerd.
5. *Listeria monocytogenes* kan kruisreactie geven op de Groep B- en G-streptokokkenlatexreagentia. 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.
6. 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.

Figure 1 VOORGESTELD SCHEMA VOOR HET CLASSIFICEREN VAN STREPTOKOKKEN



PRESTATIEKENMERKEN

A. Kruis - reactiviteitsonderzoeken:

De Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit werd getest op kruisreactiviteit met behulp van 33 ATCC-referentiestammen. De kit classificeerde met succes alle streptokokken die Lancefield-groepen A, B, C, D, F en G (N

= 16) bevatten. Tijdens het testen van andere streptokokkenstammen (n = 7) werd geen kruisreactiviteit opgemerkt, noch van andere niet-streptokokkenorganismen (n = 10).

B. Klinische prestatieonderzoeken:

1. De Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit werd geëvalueerd als onderdeel van een vergelijking van vijf in de handel verkrijgbare streptokokkenclassificatiekits. Het onderzoek werd uitgevoerd door S. Davies et. al. in het Northern General Hospital in Sheffield, Engeland. Alle kits werden geïnfecteerd met een paneel van 302 bèta-hemolytische streptokokken, samengesteld uit respectievelijk 64, 67, 44, 55, 56 en 4 stammen van Lancefield-groepen A, B, C, D, G en F. De resultaten toonden aan dat 12 van de stammen er niet in slaagden te classificeren met elk van de geteste kits. Van de resterende 290 stammen identificeerde de Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit 286 (98.6%) correct. De auteurs concludeerden dat de Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit bewees zowel nauwkeurig als snel te zijn, met gevoeligheid en specificiteit van respectievelijk 99% en 100%. Bovendien was de gemiddelde tijd tot agglutinatie aanzienlijk minder dan werd bereikt door drie van de andere vier geëvalueerde kits. Gegevens op verzoek verkrijgbaar.
2. Een tweede prestatieonderzoek werd uitgevoerd in een gezondheidscentrum in Ontario, Canada. In dit onderzoek werden 111 primaire kweken opgenomen (110 getest, 1 ontoereikend). Alle stammen werden oorspronkelijk geclassificeerd door middel van Lancefield-precipitatiereacties. Alle groep D werden verder biochemisch bevestigd met behulp van een BE (gal-esculine) en PYR (pyrrolidonylaminopeptidase) testprotocol. De primaire kweken werden in parallel getest met behulp van de Prolex™- streptokokkenclassificatiekit en een alternatieve classificatiekit. In dit onderzoek trad de algemene overeenkomst tussen Prolex™ en Lancefield-resultaten op met 109 van 110 geteste isolaten (99%), terwijl algemene overeenstemming tussen de alternatieve kit en Lancefield-resultaten optrad bij 106 van 110 geteste isolaten (96.3%). De 110 in dit onderzoek gebruikte primaire isolaten omvatten 15 groep A, 40 groep B, 13 groep C, 4 groep D, 11 groep F, 12 groep G en 15 niet-classificeerbare stammen.

BESCHIKBAARHEID

Cat-Nr.	Beschrijving
PL.031	Groep A Latexreagens
PL.032	Groep B Latexreagens
PL.033	Groep C Latexreagens
PL.034	Groep D Latexreagens
PL.035	Groep F Latexreagens
PL.036	Groep G Latexreagens
PL.040	Polyvalente Positieve Controle
PL.091P	Roerstaafjes
PL.092-48	Testkaarten

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-Hemolytic Streptococci. Appl. Microbiol., 23, 285.
2. EL Kholi, 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.

SYMBOLENLIJST

	Fabrikant
	Houdbaarheidsdatum
	Lotnummer
	Referentienummer
	Temperatuurbegrenzing
	Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing
	In-vitro diagnosticum
	Bevat genoeg for <n> tests
	Voldoet aan eisen Europa
	Voldoet aan Eisen Verenigd Koninkrijk
	Bevoegde vertegenwoordiger
	Bevoegde persoon VK

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