

BEOOGD GEBRUIK

De Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit biedt 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 is (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). De Prolex™ Streptokokkenclassificatielatexkit is gebaseerd op vrijzetting van specifiek 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 kit 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 groepsspecifieke konijnennimmunoglobulinen. Deze blauwe latexdeeltjes agglutineren zeer sterk in aanwezigheid van homoloog antigeen en zullen bij het ontbreken van homoloog antigeen niet agglutineren.

GELEVERDE MATERIALEN

Elke kit is voldoende voor 60 tests. De materialen worden gebruiksklaar geleverd.

- **Latexreagentia:** 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:** Eén druppelfles met 2 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 conserveringsmiddel.
- **Extractiereagens 1:** Eén druppelfles met 3,2 ml van het reagens met 0,098% natriumazide als conserveringsmiddel.
- **Extractiereagens 2:** Eén druppelfles met 3,2 ml extractiereagens 2.
- **Extractiereagens 3:** Twee druppelflessen, elk met 8 ml van het reagens met 0,098% natriumazide als conserveringsmiddel.
- Testkaarten
- Roerstaafjes
- Gebruiksaanwijzing

Alle componenten van deze kit zijn afzonderlijk te koop:

| Reagens of component | Catalogus-nummer |
|--------------------------------|------------------|
| Groep A Latexreagens | PL.031 |
| Groep B Latexreagens | PL.032 |
| Groep C Latexreagens | PL.033 |
| Groep D Latexreagens | PL.034 |
| Groep F Latexreagens | PL.035 |
| Groep G Latexreagens | PL.036 |
| Extractiereagens 1 | PL.037 |
| Extractiereagens 2 | PL.038 |
| Extractiereagens 3 | PL.039 |
| Polyvalente positieve controle | PL.040 |
| Roerstaafjes | PL.091P |
| Testkaarten | PL.092-48 |

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Entingslus of -naald
- Pasteurpipetten
- 12 x 75 mm reageerbuisen
- Timer

STABILITEIT EN OPSLAG

Alle componenten van de kit dienen bewaard te worden bij 2-8 °C. **Niet invriezen.** Onder deze condities opgeslagen reagentia zullen tot de op het productetiket vermelde uiterste gebruiksdatum stabiel zijn.

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. De extractiereagentia bevatten een mild caustische stof. In geval van huidcontact, de plek onmiddellijk wassen met zeep en grote hoeveelheden water. Wanneer het reagens in contact komt met een oog, gedurende ten minste 15 minuten spoelen met water.
4. Er dienen universele voorzorgsmaatregelen te worden genomen bij het hanteren, verwerken en weggooien van alle klinische specimens. Alle testmaterialen dienen te worden gezien als mogelijk infectieus tijdens en na gebruik en dienen op de juiste wijze te worden gehanteerd en opgeruimd.
5. De kit is uitsluitend bedoeld voor diagnostisch *in vitro* gebruik.
6. Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
7. Deze reagentia bevatten materialen van dierlijke oorsprong en dienen te worden behandeld 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 microbiologietek-

stboek. 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. Hersuspender de testlatexreagentia door de druppelfles een paar keer voorzichtig om te keren. Onderzoek de druppelflessen voorafgaand aan gebruik om te controleren of 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 1 druppel extractiereagens 1 toe.
4. Selecteer 1-4 bèta-hemolytische koloniën met behulp van een wegwerppluim 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 5 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 agglutinaties.

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 herhaaltst 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 gegroepd.
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.

PRESTATIEKENMERKEN

A. Kruis - reactiviteitsonderzoeken:

1. De Prolex™ Streptokokkenclassificatietekstkit 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™ Streptokokkenclassificatietekstkit 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™ Streptokokkenclassificatietekstkit 286 (98,6%) correct. De auteurs concludeerden dat de Prolex™ Streptokokkenclassificatietekstkit 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.

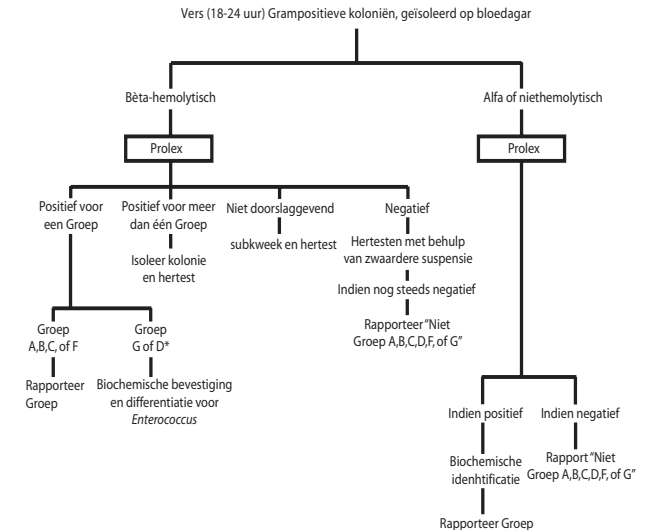
2. Een tweede prestatieonderzoek werd uitgevoerd in een gezondheidscentrum in Ontario, Canada. In dit onderzoek werden 111 primaire kweken opgenomen (110 getest, 1 ontoereikend). Alle stammen werden oorspronkelijk geïdentificeerd door middel van Lancefield-precipitatie-reacties. Alle groep D werden verder 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.

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 Streptomycins albus filtrate in the Preparation of Extracts of Lancefield Grouping. J. Clin. Microbiol., 1, 274




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

Figuur 1: VOORGESTELD SCHEMA VOOR HET CLASSIFICEREN VAN STREPTOKOKKEN



* Er zijn een aantal stammen van groep D gevonden die kruisreactie vertonen met groep G antisera.

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

| | | |
|---------------|---|--|
| PL.037 |  | Waarschuwing Gevaarlijk bestanddeel: natriumnitriet Schadelijk bij doorslikken. Zeer giftig voor waterorganismen. Vermijd vrijkomen in het milieu. Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product. Was de handen grondig na contact met het product. Verzamel gemorst product. INDIEN DOORGESLIKT: Neem contact op met een ANTIGIFCENTRUM of arts als u zich onwel voelt. Gooi de inhoud en verpakking weg in overeenstemming met alle lokale, regionale en internationale voorschriften. |
| PL.038 |  | Gevaar Gevaarlijk bestanddeel: Azijnzuur Kan corrosief zijn voor metalen. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Draag beschermende handschoenen. Draag oog- of gezichtsbescherming. Aanbeveling: Veiligheidsbril met zijschermen. Draag beschermende kleding: Aanbeveling: Laboratoriumjas. Alleen bewaren in de originele verpakking. INDIEN GEÏNHALEERD: Breng het slachtoffer in de frisse lucht en houd hem/haar rustig in een houding waarin hij/zij comfortabel kan ademen. Neem onmiddellijk contact op met een ANTIGIFCENTRUM of arts. INDIEN DOORGESLIKT: Neem onmiddellijk contact op met een ANTIGIFCENTRUM of arts. NIET laten braken. INDIEN OP DE HUID (of het haar): Doe onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid met water of neem een douche. Neem onmiddellijk contact op met een ANTIGIFCENTRUM of arts. INDIEN IN DE OGEN: Neem onmiddellijk contact op met een ANTIGIFCENTRUM of arts. Gooi de inhoud en verpakking weg in overeenstemming met alle lokale, regionale en internationale voorschriften. |
| PL.039 |  | Waarschuwing Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Veroorzaakt huidirritatie. Draag beschermende handschoenen. Draag oog- of gezichtsbescherming. Aanbeveling: Veiligheidsbril met zijschermen. Was de handen grondig na contact met het product. INDIEN IN DE OGEN: Gedurende een aantal minuten voorzichtig spoelen met water. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te verwijderen. Ga door met spoelen. |

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.