

STREPTOCOCCAL XTRA SELECT KIT (Groups AB)

IMPIEGO PREVISTO

Streptococcal Xtra Select Kit (AB) fornisce un metodo rapido per l'identificazione sierologica degli streptococchi di gruppo A e di gruppo B di Lancefield, cresciuti su terreni agarizzati.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Studi clinici, epidemiologici e microbiologici hanno dimostrato che la diagnosi delle infezioni dovute a streptococchi, basate su sintomi clinici, richiede sempre una verifica di tipo microbiologico (4). I patogeni umani più frequentemente isolati tra i rappresentanti del genere *Streptococcus* sono quelli β -emolitici. Quasi tutti gli streptococchi β -emolitici possiedono antigeni specifici (carboidrati), comunemente riferibili al gruppo. Lancefield dimostrò che questi antigeni possono essere estratti in forma solubile e identificati con una reazione di precipitazione mediante un antisiero omologo. Sono normalmente in uso differenti procedure di estrazione degli antigeni degli streptococchi (1, 2, 6, 7, 10, 11). Il Prolex™ Streptococcal Xtra Select kit-Group AB si basa sulla liberazione degli antigeni dalla parete batterica mediante una estrazione con enzimi litici specifici, attivi a temperatura ambiente. Questo metodo di estrazione combinato con l'agglutinazione con lattice, offre un metodo rapido, sensibile e specifico per l'identificazione del gruppo A e del gruppo B da colture primarie di streptococchi in piastra.

PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo Streptococcal Xtra Select Kit implica una estrazione, a temperatura ambiente, degli antigeni (carboidrati) gruppo specifici mediante selezionati enzimi litici. Gli estratti possono essere facilmente identificati usando le particelle di lattice blu sensibilizzati con immunoglobuline specifiche e purificate di coniglio. Le particelle di lattice agglutinano con decisione in presenza di antigeni omologhi e non agglutinano quando gli antigeni non sono presenti.

REAGENTI

Ogni kit consente l'effettuazione di 120 test per la determinazione del gruppo A (60 test) o del gruppo B (60 tests). Il materiale fornito è pronto per l'uso.

Componenti del kit

Group A Latex Reagent	17PL031
Group B Latex Reagent	17PL032
Polyvalent Positive Control (controllo positivo polivalente)	17PL040
Streptococcal Xtra Extraction Reagent	17PL037
Bastoncini di miscelazione	17PL091
Card di reazione al lattice	17PL092

Group A Latex Reagent, Group B Latex Reagent (sospensioni al lattice blu): 2 fiale, ognuna contenente 3.0 ml di particelle di lattice blu a cui sono legati anticorpi purificati di coniglio per i gruppi A e B degli streptococchi. Le particelle di lattice blu sono sospese in un tampone fosfato a pH 7.4, contenente 0.098% di sodio azide come conservante

Polyvalent Positive Control (controllo positivo polivalente): una fiala contenente 2 ml di antigeni polivalenti pronti all'uso estratti da streptococchi inattivati dei gruppi di Lancefield A, B, C, D, F e G

Streptococcal Xtra Extraction Reagent: due flaconi con contagocce contenenti, ognuna, 3.0 ml del reagente di estrazione con 0.01% di ProClin 300 come conservante.

MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

- Anse da microbiologia, pipette Pasteur, provette di vetro borosilicato 12mm x 75mm, cronometro.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Tutti i componenti del kit devono essere conservati a 2-8 °C. Non congelare. I reagenti conservati in questo modo sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

AVVERTENZE

1. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
2. Alcuni reagenti contengono sodio azide, che può reagire in modo esplosivo con il rame e il piombo se lasciato accumulare. Benché la quantità di sodio azide nei reagenti sia minima, è necessario utilizzare una grande quantità di acqua quando si scaricano nel lavandino i reagenti utilizzati;
3. È opportuno seguire appropriate misure di sicurezza nel maneggiare, processare ed eliminare tutti i campioni clinici in quanto potrebbero essere presenti organismi patogeni.
4. Il kit è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
5. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.
6. I reagenti contengono materiali di origine animale e devono essere maneggiati come potenzialmente infetti.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per le procedure specifiche di raccolta dei campioni e preparazione delle colture primarie fare riferimento ad un manuale di normali tecniche microbiologiche. Utilizzare di norma colonie fresche (di 18-24 ore) di un ceppo Gram positivo, beta-emolitico cresciute su agar sangue (5% di sangue di montone).

PROTOCOLLO

Tutti i componenti del kit devono essere portati a temperatura ambiente (20-28°C), prima dell'uso.

1. Ri-sospendere i Latex Reagent A e B per ripetute inversione dei flaconcini con contagocce. Esaminare per assicurarsi che le sospensioni siano omogenee. Non usare i reattivi se le sospensioni non risultassero omogenee
1. Siglare una provetta per ogni campione.
2. Aggiungere due gocce di Streptococcal Xtra Extraction reagent ad ogni provetta.
3. Selezionare una colonia beta-emolitica con l'impiego di un'ansa monosuso ed introdurre nel Streptococcal Xtra Extraction reagent.. In tutti i casi la colonia deve essere prelevata da un'area della piastra che presenta la minima contaminazione da parte di altre colonie batteriche.
4. Mescolare la miscela ed attendere 60 secondi.
5. Porre una goccia di ciascuna delle sospensioni di lattice (Group A Latex Reagent e Group B Latex Reagent) nelle aree circolari della card.
6. Usando una pipetta Pasteur, porre una goccia dell'estratto accanto ad ogni goccia delle sospensioni di lattice.
7. Miscelare il lattice blu e l'estratto con i bastoncini forniti, distribuendo su tutta l'area delimitata dalla circonferenza. Per ogni reagente deve essere utilizzato un nuovo bastoncino.
8. Inclinare delicatamente la Card in modo da consentire alla miscela di fluire lentamente nell'intero cerchio.
9. Dopo 30 secondi osservare la presenza di agglutinazione, in condizioni di luce normale.

PROCEDURE DI CONTROLLO QUALITÀ

Le normali procedure adottate da Pro-Lab Diagnostics per ogni lotto di produzione implicano il controllo di qualità delle sospensioni di lattice e del reattivo d'estrazione mediante estratti di streptococchi di gruppo A e B usando ceppi ATCC o equivalenti: *Streptococcus pyogenes* gruppo A ATCC# 19615, *Streptococcus agalactiae* ATCC# 12386. Il Controllo Positivo è utilizzato per saggiare i singoli reattivi al lattici.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultati positivi: la presenza di una agglutinazione delle particelle di lattice blu entro 30 secondi in uno solo dei reagenti indica una identificazione specifica del ceppo di streptococco (gruppo A o gruppo B).

Risultati negativi: nessuna agglutinazione visibile delle particelle di lattice blu.

LIMITI DEL METODO

1. Si possono ottenere risultati falsi negativi o falsi positivi se il kit non viene usato secondo le indicazioni contenute in questo foglio istruzioni.
2. Il kit è adatto all'identificazione degli streptococchi beta-emolitici. Se vengono identificati streptococchi alfa o non-emolitici, è necessario confermare il risultato mediante test biochimici (5, 9).
3. Sono note reazioni falso-positive con organismi appartenenti a generi non correlati, ad es. *Escherichia coli*, *Klebsiella* o *Pseudomonas* (3,8). Questi ceppi inducono reazioni di agglutinazione aspecifiche con tutti i reagenti al lattice.
4. *Listeria monocytogenes* può cross-reagire con i reagenti al lattice del gruppo B, poiché *L. monocytogenes* esibisce una antigenicità simile al gruppo B degli streptococchi. Il test della catalasi può essere impiegato per distinguere *Listeria* (catalasi positive) dagli streptococchi (catalasi negativi)

BIBLIOGRAFIA

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 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.

PRODUTTORE

Pro-Lab Diagnostic, Canada

CONFEZIONE

17PL1042AB Streptococcal Xtra Select Kit (Group AB) 120 test (2 x 60 test)

Altri kit simili disponibili:

17PL1042A Streptococcal Xtra Select Kit (Group A) 120 test

17PL1042B Streptococcal Xtra Select Kit (Group B) 120 test

