

## PROLEX™ - STREPTOCOCCAL GROUPING LATEX KIT

(pro in vitro diagnostické použití)

**KATALOGOVÉ ČÍSLO: PL.030 (60 testů)**

### ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit je rychlou metodou pro serologickou identifikaci beta-hemolytických streptokoků skupiny A, B, C, D, F a G dle Lancefielda.

### SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Klinické, epidemiologické a mikrobiologické studie nezvratně ukazují, že diagnostika streptokokových infekcí založená na klinických symptomech vždy vyžaduje mikrobiologické ověření (4). Beta-hemolytické streptokoky jsou nejčastěji izolovanými lidskými patogeny mezi představiteli rodu *Streptococcus*. Téměř všechny beta-hemolytické streptokoky mají sacharidové antigeny (antigeny skupiny streptokoků). Lancefield ukázal, že tyto antigeny lze extrahovat v rozpustné formě a identifikovat precipitační reakcí s homologním antisérem. Aktuálně se využívá různých postupů extrakce streptokokových antigenů (1,2,6,7,10,11). Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit je založen na uvolnění specifických antigenů z bakteriální buněčné stěny pomocí modifikované extrakce kyselinou dusitou. Extrahovaný antigen ve spojení s latexovou aglutinací nabízí rychlou, citlivou a specifickou metodu identifikace streptokokových skupin A, B, C, D, F a G z primárních kultivačních ploten.

### PRINCIP TESTU

Prolex™ metoda streptokokových skupin zahrnuje extrakci skupinově specifických sacharidových antigenů s použitím speciálně vyvinutých reagensů pro extrakci kyselinou dusitou. Extrakční reagentie 1 a 2 dodávané v soupravě obsahují chemické látky schopné extrahovat antigeny specifické pro streptokokové skupiny při pokojové teplotě. Extrakční reagentie 3 obsahuje neutralizační roztok. Neutralizované extrakty lze jednoduše identifikovat s použitím modrých latexových částic senzibilizovaných čistěnými skupinově specifickými králičími imunoglobuliny. Tyto modré latexové částice silně aglutinují v přítomnosti homologního antigenu a neaglutinují v případě, že tento antigen není přítomný.

### DODÁVANÝ MATERIÁL

Každá souprava dostačuje pro 60 test. Materiál je dodávaný již připraven k použití.

Latexové reagentie: Šest lahviček s kapátkem obsahujících 3,0 ml modrých latexových částic potažených purifikovanými králičími protilátkami proti streptokokům skupiny A, skupiny B, skupiny C, skupiny D, skupiny F nebo skupiny G. Modré latexové částice jsou suspendovány v pufru pH 7,4 obsahujícím 0,098% azid sodný jako konzervans.

Polyvalentní pozitivní kontrola: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 2 ml polyvalentních antigenů hotových k použití extrahovaných z inaktivovaných streptokoků skupin A, B, C, D, F a G dle Lancefielda.

Extrakční reagentie 1: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 3,2 ml reagentie s 0,098% azidem sodným jako konzervans.

Extrakční reagentie 2: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 3,2 ml extrakční reagentie 2.

Extrakční reagentie 3: Dvě lahvičky s kapátkem, každá obsahující 8 ml reagentie s 0,098% azidem sodným jako konzervans.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

Testovací kartičky  
Míchadélka  
Návod k požití

**Všechny součásti soupravy jsou dostupné i zvlášť:**

Reagencie nebo složka soupravy	Katalogové číslo
Modrá latexová suspenze skupina A	PL.031
Modrá latexová suspenze skupina B	PL.032
Modrá latexová suspenze skupina C	PL.033
Modrá latexová suspenze skupina D	PL.034
Modrá latexová suspenze skupina F	PL.035
Modrá latexová suspenze skupina G	PL.036
Extrakční reagencie 1	PL.037
Extrakční reagencie 2	PL.038
Extrakční reagencie 3	PL.039
Polyvalentní pozitivní kontrola	PL.040
Míchací tyčinky	PL.091
Kartičky na latexový test	PL.092-48

#### **POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ KITU**

- Inokulační klička nebo jehla
- Pasteurovy pipety
- 12 x 75 mm testovací zkumavky
- Stopky

#### **STABILITA A SKLADOVÁNÍ**

Všechny složky soupravy musí být skladovány při 2-8°C. **Nezamrazujte.** Reagencie skladovány za těchto podmínek jsou stabilní až do data expirace uvedeného na štítku produktu.

#### **BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**

1. Nepoužívejte reagencie po uplynutí data expirace uvedeného na štítku.
2. Některé reagencie obsahují azid sodný. Pokud se nahromadí, může s mědí nebo olovem reagovat explozivně. Ačkoliv je množství azidu sodného v reagentech minimální, při splachování použitých reagentů do umyvadla je třeba použít velkého množství vody.
3. Extrakční reagencie obsahují žíraviny. V případě potřísnění pokožky ji ihned umyjte mýdlem a velkým množstvím vody. V případě zasažení očí proplachujte hojně vodou, nejméně 15 minut.
4. Při manipulaci, zpracování a likvidaci všech klinických vzorků je třeba užívat univerzálních bezpečnostních opatření. Všechn testovaný materiál musí být během i po užívání považovaný za potenciálně infekční a proto s ním musí být adekvátně zacházeno při manipulaci i likvidaci.
5. Souprava je určena pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
6. Aby výsledky testu byly validní, je třeba dodržovat postup, podmínky skladování, bezpečnostní opatření a omezení specifikovaná v tomto návodu.
7. Tyto reagencie obsahují materiál zvířecího původu a musí být s nimi manipulováno jako s potencionálními zdroji infekce.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

## ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA KULTURY

Specifické postupy týkající se odběru vzorků a přípravě primárních kultivací naleznete ve standardní mikrobiologické příručce. Používá se čerstvá (18-24 hod.) kultura na krevním agaru. Pro zařazení do skupiny je dostačující jedna až čtyři velké kolonie; nicméně pokud jsou kolonie maličké, je třeba použít větší počet kolonií (plná klička).

## PROTOKOL TESTU

Všechny součásti soupravy musí být před použitím vytemperovány na pokojovou teplotu.

1. Latexové reagentie testu resuspendujte několikerým jemným převrácením kapací lahvičky. Lahvičku s kapátkem prohlédněte, abyste se ujistili, že jsou latexové částice správně suspendovány. Nepoužívejte, pokud latex nejde resuspendovat.
2. Pro každý vzorek označte jednu testovací zkumavku.
3. Přidejte 1 kapku Extrakční reagentie 1 do každé zkumavky.
4. Vyberte 1-4 beta-hemolytické kolonie s použitím jednorázové kličky a suspendujte je v Extrakční reagentii 1. Pokud jsou kolonie droboučké, seberte na testování několik dobře izolovaných kolonií, až se roztok Extrakční reagentie 1 zakalí. Ve všech případech by se streptokokové kolonie měly sebrat z oblasti s co nejmenší pravděpodobností kontaminace.
5. Přidejte 1 kapku Extrakční reagentie 2 do každé zkumavky.
6. Zamíchejte reakci poklepáváním na zkumavku prstem po dobu 5-10 sekund.
7. Přidejte 5 kapek Extrakční reagentie 3 do každé zkumavky. Zamíchejte reakci poklepáváním na zkumavku prstem po dobu 5-10 sekund.
8. U každého testovaného izolátu naneste jednu kapku z každé modré latexové suspenze na oddělené kruhy na testovací kartičce.
9. S použitím Pasteurovy pipety naneste jednu kapku extraktu vedle každé kapky latexové suspenze.
10. Promíchejte latex a extrakt dodanou tyčinkou po celé oblasti testovacího kruhu. Pro každou reagentii použijte novou tyčinku.
11. Jemně naklánějte kartičku tak, aby se směs pomalu přelávala přes celou testovací oblast.
12. Za jednu minutu pod normálním osvětlením můžete sledovat aglutinaci.

## POSTUP KONTROLY KVALITY

Rutinní testování kontroly kvality pro každou šarži Prolex<sup>TM</sup> zahrnuje testování latexových a extrakčních reagentií s každou skupinou streptokoků – A, B, C, D, F a G s použitím ATCC nebo ekvivalentních kmenů uvedených v této kapitole. Extrakt z těchto kmenů aglutinuje s homologní latexovou reagentií. Polyvalentní pozitivní kontrola se používá k testování individuálních latexových činidel.

Mikroorganismus	Lancefieldova skupina	Číslo
<i>Streptococcus pyogenes</i>	skupina A	(ATCC 19615)
<i>Streptococcus</i> sp.	skupina B	(ATCC 12386)
<i>Streptococcus</i> sp.	skupina C	(ATCC 12388)
<i>Enterococcus faecalis</i>	skupina D	(ATCC 19433)
<i>Streptococcus</i> sp. typ 2,	skupina F	(ATCC 12392)
<i>Streptococcus</i> sp.	skupina G	(ATCC 12394)

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní výsledky: Významně rychlá silná aglutinace modrých latexových částic do jedné minuty s jedním z latexových činidel signalizuje specifickou identifikaci izolovaného streptokoka. Slabá reakce s jednou latexovou reagensí by se měla opakovat s hustším inokulem. Opakovaný test je sledován pozitivní, pokud se objeví viditelná aglutinace pouze s jednou latexovou reagensí. Obrázek 1 dokumentuje navrhované schéma určení skupiny streptokoků.

Negativní výsledky: Žádná aglutinace latexových částic. Pokud jsou náznaky granulace viditelné v testovacím kruhu, test by měl být také považovaný za negativní.

Neprůkazné výsledky: Pokud je v testovaném kruhu přítomno slabé shlukování nebo nespecifická reakce (vláknitost) po jedné minutě, musí být test opakován za použití čerstvé subkultury. Pokud při opětovném testování bude pozorován stejný výsledek, musí být provedeno biochemické testování pro identifikaci izolátu.

Nespecifické výsledky: Ve vzácných případech můžete pozorovat aglutinaci s více než jednou skupinou. Pokud toto nastane, zkontrolujte prosím čistotu kultury, kterou jste použili k testování. Pokud se zdá být čistá, znovu opakujte test a potvrďte identifikaci izolátu pomocí biochemického testu,

## LIMITACE PROCEDURY

1. V případě použití testu jinak než je nařízeno, se mohou objevit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky.
2. Souprava je určena pro použití při identifikaci beta-hemolytických streptokoků. Pokud jsou identifikovány alfa nebo non-hemolytické streptokoky, identifikaci je třeba potvrdit biochemickými testy (5,9). (Nahlédněte do navrhovaného schématu určení skupiny streptokoků).
3. Jsou známy falešně pozitivní reakce u organismů z nepříbuzných rodů, např. *Escherichia coli*, *Klebsiella* nebo *Pseudomonas* (3,8). Ty mohou nespecificky aglutinovat všechny latexové reagensie.
4. Některé kmeny streptokoků skupiny D mohou zkříženě reagovat s antisérem skupiny G; tyto kmeny mohou být potvrzeny jako skupina D pomocí žluč-eskulinového testu.
6. *Listeria monocytogenes* může zkříženě reagovat s latexovou reagensí pro streptokoky skupiny B a/nebo skupiny G, jelikož *L. monocytogenes* projevuje stejnou antigenicitu jako streptokoky skupiny B a G. Pro rozlišení mezi *Listeria*, které jsou kataláza pozitivní a streptokoky, které jsou kataláza negativní, lze použít katalázový test. Gramovo barvení a test motility se provádí jako další pomůcka při diferenciaci.

## CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

### A. Studie zkřížené reaktivity:

Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit byl testován na zkříženou reaktivitu s použitím 33 ATCC kontrolních kmenů. Souprava úspěšně zařadila do skupin všechny streptokoky skupin A, B, C, D, F a G dle Lancefielda (N=16). Během testování se neobjevila žádná zkřížená reakce s dalšími streptokokovými kmeny (n=7) ani s dalšími non-streptokokovými organismy (n=10).

### B. Studie klinické funkčnosti:

1. Souprava Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit byla hodnocena ve srovnání pěti komerčně dostupných souprav. Studii provedl S. Davies a další v Severní Všeobecné nemocnici v Sheffieldu v Anglii. Pomocí všech souprav byl testován panel 302 beta-hemolytických streptokoků složených z 64 kmenů streptokoků skupiny A, 67 kmenů streptokoků skupiny B, 44 kmenů streptokoků skupiny C, 55 kmenů streptokoků skupiny D, 56 kmenů streptokoků skupiny G a 4 kmenů streptokoků skupiny F dle Lancefielda. Výsledky ukázaly, že 12 kmenů bylo špatně zařazených do skupin pomocí

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

všech souprav. Ze zbývajících 290 kmenů bylo soupravou Prolex<sup>TM</sup> Streptococcal Grouping Latex Kit správně identifikováno 286 kmenů (98,6%). Autoři uzavřeli studii s tím, že se souprava Prolex<sup>TM</sup> Streptococcal Grouping Latex Kit osvědčila jako přesná a rychlá, s citlivostí 99% a specifičností 100%. Navíc průměrný čas aglutinace byl podstatně kratší, než kterého bylo dosaženo pomocí třech ze čtyř dalších hodnocených souprav. Data jsou dostupná na vyžádání.

2. Druhá studie funkčnosti byla provedena v Health Centre, Ontario, Canada. V této studii bylo zahrnuto 111 primárních kultur (110 testovaných, 1 nevhodný). Všechny kmeny byly původně zařazeny do skupiny pomocí Lancefieldovy precipitační reakce. Všechny skupiny D byly dále biochemicky potvrzeny pomocí BE (žluč-eskulin) a PYR (pyrrolidonylaminopeptidáza) analyzačního protokolu. Primární kultivace byly testovány paralelně s použitím Prolex<sup>TM</sup> Streptococcal Grouping Kit a alternativní soupravou na určení skupin. V této studii byla celková shoda mezi Prolex<sup>TM</sup> a Lancefieldovými výsledky ukázána u 109 ze 110 testovaných izolátů (99%), zatímco celková shoda mezi alternativní soupravou a Lancefieldovými výsledky byla u 106 ze 110 testovaných izolátů (96,3%). 110 primárních izolátů použitých v této studii zahrnovalo 15 kmenů skupiny A, 40 kmenů skupiny B, 13 skupiny C, 4 skupiny D, 11 skupiny F, 12 skupiny G a 15 nezařaditelných kmenů.

## LITERATURA

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.

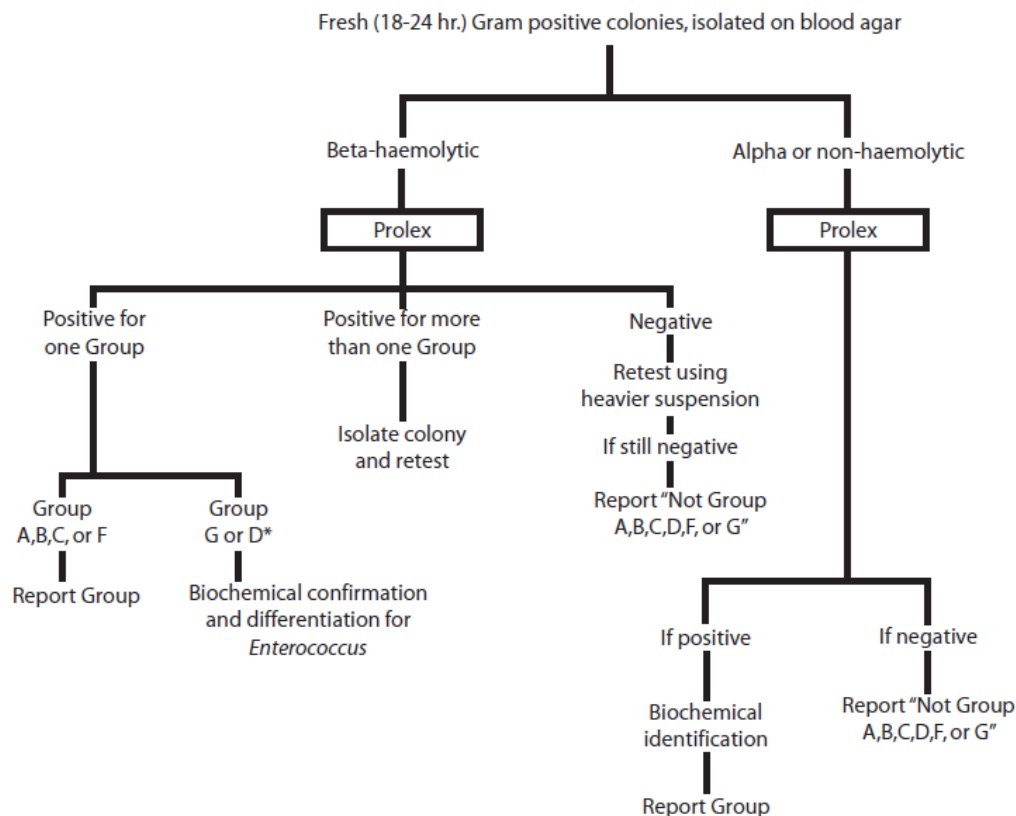
Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**







Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

Obrázek 1 NAVRŽENÉ SCHÉMA PRO URČENÍ SKUPINY STREPTOKOKŮ



\* Některé kmeny skupiny D zkříženě reagují s antisérem pro skupinu G.  
 [Harvey, C. L. and McIlmurray, M.B (1984) Eur. J. Clinical Microbiol,10,641].

	Použitelné do		Obsah dostačuje pro <n> testů
<b>LOT</b>	Číslo šarže	<b>IVD</b>	Pro použití in vitro
	Varování		Rozmezí teplot
<b>REF</b>	Katalogové číslo		Viz návod k použití
<b>EC REP</b>	Zplnomocněný zástupce		Výrobce

Poslední revize: 2012/02

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: [info@biovendor.cz](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)