



ISTRUZIONI PER L'USO

STREP GROUPING B RAPID LATEX TEST KIT

TEST DI AGGLUTINAZIONE AL LATTICE SU CARD PER L'IDENTIFICAZIONE DEGLI STREPTOCOCCI DI GRUPPO B DI LANCEFIELD DA COLTURA

1 – SIGNIFICATO CLINICO E DESTINAZIONE D'USOPer solo uso diagnostico *in Vitro*

La maggior parte degli streptococchi, che sono stati isolati da infezioni umane, possiedono antigeni specifici del gruppo serologico. L'identificazione del microorganismo include estrazione e caratterizzazione di questi antigeni da organismi in coltura. Il sistema per il gruppaggio degli streptococchi fornisce un reagente enzimatico per l'estrazione rapida degli antigeni carboidrati e una serie di reagenti di agglutinazione al lattice, indicati per i gruppi A, B, C, D, F e G, per una rapida rilevazione e l'identificazione degli antigeni estratti.

Strep Grouping B Rapid Latex Test Kit è un test rapido di agglutinazione al lattice per l'identificazione degli Streptococchi di gruppo B di Lancefield da coltura. Questo prodotto è solo per uso professionale.

2 – PRINCIPIO DEL METODO

Le particelle di lattice vengono sensibilizzate individualmente con anticorpi di coniglio specifici per gli antigeni carboidrati di streptococco di gruppo B. Le colonie di streptococco prelevate da piastre di coltura vengono incubate in una soluzione enzimatica per estrarre l'antigene. La preparazione dell'estratto/antigene è testata su un vetrino con la sospensione di particelle di lattice rivestite con anticorpi specifici per il gruppo B. In presenza dell'antigene omologo, le particelle della sospensione cominceranno ad aggregare formando un'agglutinazione visibile.

3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
STREP GROUPING B RAPID LATEX TEST KIT CND: W0104080302 EDMA: 14.02.03.02; RDM: 1572640/R	Test di agglutinazione al lattice	271072 (100 test)	REAGENT TEST GR B: (2x2.5mL) – 2 vial di vetro con particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi di coniglio anti antigeni di Strep Gruppo B. Contiene sodio azide allo 0,098% come conservante. Tappo bianco. CONTROL +: 1.0mL – 1 vial di vetro con Controllo Positivo: preparazione inattivata di antigeni polivalenti di Streptococco gruppo A, B, C, D, F e G. Contiene sodio azide allo 0,098% come conservante. Tappo rosso. ENZ: (2 x 10mL) – 2 vial di vetro contenente enzimi di estrazione liofilizzati Slide a 6 aree test: cartoncino in plastica idrorepellente (17 pezzi) Bacchette (1x25): bacchette in plastica per miscelazione (4 pezzi) Imballo secondario: scatola di cartone.

4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Anse da batteriologia. Tubi di plastica. Pipetta per dispensare 0,4 mL, Bagnomaria a 37°C. Orologio o cronometro.

5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- STREP GROUPING B RAPID LATEX TEST KIT è un kit per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato e adeguatamente addestrato.
- La sensibilità del test potrebbe essere ridotta a basse temperature. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima dell'uso.
- Gli slide sono di materiale plastico, lavabili con acqua distillata. Qualora l'area test dello slide risultasse non più idrorepellente, ripulirla con alcool.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza e non usare il test se la confezione è danneggiata. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.
- Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Prendere le necessarie precauzioni quando si maneggiano o si smaltiscono ceppi potenzialmente patogeni. Per la decontaminazione del materiale infetto utilizzare ipoclorito di sodio a una concentrazione finale del 3% per 30 minuti. Gli scarti liquidi contenenti acido devono essere neutralizzati prima di eliminarli.
- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio ed in conformità alle Istruzioni del kit.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: www.masciabrunelli.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico *in vitro*.

6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E DATA DI SCADENZA

Il reattivo e i controlli devono essere conservati a +2°C - +8°C *ben chiusi e prevenendo la loro contaminazione durante il loro utilizzo.*

Non congelare: *i reagenti congelati possono modificare la funzionalità del test.* In queste condizioni i componenti rimangono stabili fino alla data di scadenza indicata nell'etichetta. Gli enzimi per l'estrazione (ENZ) sono stabili 3 mesi dopo ricostituzione se conservati a 2-8°C. Per periodi più lunghi si consiglia di aliquotare in ragione di 0,4 mL e conservare a -20°C o temperature inferiori. In questo modo è stabile 6 mesi. **La soluzione di enzimi non deve essere congelata e scongelata più di una volta.**

Si dovrebbe sospettare deterioramento dei reagenti se:

- c'è presenza di agglomerati nei reagenti al lattice che non scompaiono dopo agitazione per pochi secondi
- Il controllo positivo o gli enzimi diventano torbidi o se si forma un sedimento.
- Il controllo positivo non agglutina nei tempi previsti di reazione con uno o più reagenti al lattice.
- una aliquota di enzimi non inoculata fornisce agglutinazione con ciascun lattice.

Se i reagenti mostrano segni di deterioramento non dovrebbero essere utilizzati.

7 – RACCOLTA DEL CAMPIONE

Tra i normali terreni utilizzati per la preparazione di colture vi sono i terreni a base di sangue: in questo caso, prima del test prendere nota delle caratteristiche delle colonie, dell'emolisi e della morfologia cellulare. Assicurarsi che gli organismi da testare siano Gram-positivi e catalasi negativi. È possibile utilizzare qualsiasi coltura su piastra di agar sangue con 2-6 colonie separate; queste devono essere state inoculate con una coltura pura dell'organismo. Se non si ottiene un risultato definitivo con colture che sembrano contenere streptococchi, si raccomanda di effettuare un'ulteriore sottocoltura delle colonie sospette. Gli organismi dei gruppi A, B, C, D, F e G sono in genere beta emolitici. Eventuali microrganismi alfa o non emolitici che mostrano risultati positivi devono essere confermati eseguendo ulteriori test biochimici. (Alcuni ceppi dei gruppi B e D possono essere alfa-emolitici o non emolitici).





8 – PROCEDIMENTO DEL TEST

Controllo di Qualità

Il controllo positivo dovrebbe essere testato regolarmente per assicurarsi che i reagenti funzionino correttamente.

Il controllo è pronto all'uso e viene utilizzato al posto della coltura estratta nel procedimento del test. Il controllo positivo deve fornire un risultato positivo con il lattice presente nel kit. La mancanza di agglutinazione del controllo positivo potrebbe indicare il deterioramento del reagente al lattice. Se si volesse processare un controllo negativo, è sufficiente testare un'aliquota di enzima non inoculato al posto della coltura estratta. **E' possibile riscontrare reazioni con tracce di granulazione/agglutinazione indistinte; queste dovrebbero essere ignorate e considerate negative.**

Procedura del test

Procedere come segue per ciascun organismo che deve essere classificato.

1. **Portare il lattice ed il controllo positivo a temperatura ambiente.**
2. Poco prima dell'uso, ricostituire un flacone di enzima aggiungendo 10 mL di acqua distillata. Miscelare gentilmente per garantire la completa dissoluzione. Dispensare **0,2 mL di Enz** (soluzione enzimatica) in ogni tubo.
3. Prelevare le colonie di Streptococco dalla superficie dell'agar usando un'ansa da batteriologia. Emulsionare le colonie nella soluzione enzimatica. Per migliori risultati, prelevare **1-2 colonie (2-3 mm di diametro)** o equivalenti per l'estrazione. Un inoculo eccessivo della soluzione enzimatica potrebbe causare agglutinazioni non specifiche. Per ceppi con colonie piccole sarà necessario prelevare una strisciata di colonie.
4. Incubare i tubi in un **bagnomaria a 37°C per 10 minuti**. Agitare il tubo dopo 5 minuti di incubazione e agitarlo vigorosamente prima di effettuare il test.
5. Agitare vigorosamente la sospensione di lattice per alcuni secondi. Dispensare una goccia di **Latex Reagent**, su una o più aree dello slide.
6. Trasferire una goccia di **estratto ben miscelato** (o di controllo positivo) nelle aree dello slide, affianco alle gocce di lattice.
7. Miscelare il contenuto di ciascuna area dello slide usando un bastoncino per miscelazione diverso per ciascuna area. Non usare mai lo stesso bastoncino.
8. Ruotare delicatamente la card per un **massimo di 1 minuto**.
9. Osservare l'agglutinazione. Se presente, l'agglutinazione dovrebbe essere chiaramente visibile ad occhio nudo.

9 – LETTURA, INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato Positivo: indicato dalla marcata e rapida aggregazione delle particelle di lattice con un gruppo reagente (Figura 1). Le reazioni successive in altre aree con lo stesso estratto dovrebbero essere ignorate. Deve essere considerata significativa solo una marcata agglutinazione. In genere questa avviene dopo pochi secondi dalla miscelazione, tuttavia, il tempo dipende dalla concentrazione dell'estratto.

Risultato Negativo: indicato da un aspetto lattiginoso originale, senza aggregazione significativa delle particelle di lattice (Figura 2). Tracce di aggregazione non ben distinta dovrebbero essere ignorate e considerate negative.

Risultato Inconcludente: con gli estratti meno concentrati, l'agglutinazione potrebbe risultare visibile, con la formazione di piccoli grumi, dopo oltre 1 minuto. In questo caso è necessario ripetere i test con una nuova sottocoltura. Se alla ripetizione del test si osserva lo stesso risultato, per identificare l'isolato è necessario utilizzare test biochimici alternativi.

Risultato Aspecifico: occasionalmente, i ceppi di streptococchi possono dare origini a reazioni deboli con più di un gruppo. In questo caso, è necessario ripetere i test. Se l'agglutinazione si verifica con tutti i gruppi significa che l'inoculo dell'enzima per estrazione è stata eccessiva (ripetere il test con un inoculo maggiormente diluito) oppure che è stata testata una coltura mista, nel qual caso occorre effettuare una sottocoltura e ripetere il test. Per ottenere risultati più chiari si può provare a fare bollire l'estratto restante per due o tre minuti, lasciare raffreddare e quindi ripetere il test.

Figura 1

Figura 2

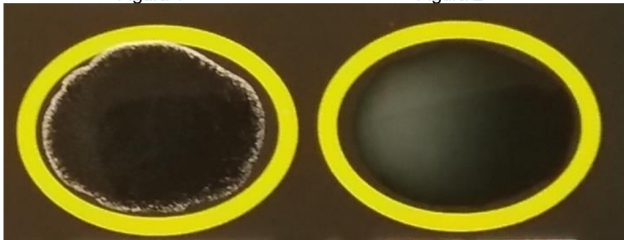


Figura 1: un risultato positivo è indicato dall'aggregazione visibile delle particelle di lattice.

Figura 2: un risultato negativo è indicato dall'aspetto lattiginoso in assenza di aggregazione visibile delle particelle di lattice.

10 – NOTE

Colonie associate alla beta-emolisi:

1. Nessuna agglutinazione significativa con il reagente al lattice indica che non sono presenti Streptococchi del gruppo B, oppure che sono presenti ad una concentrazione inferiore al limite di sensibilità del test.

Sono da considerare ulteriori procedure:

- ripetere il test usando una quantità di colonie maggiore per l'inoculo.
- potrebbero essere streptococchi beta-emolitici che non agglutinano da identificare con test biochimici.

Colonie non associate alla beta-emolisi:

L'agglutinazione di un singolo reagente al lattice per gruppo B dà una identificazione certa del ceppo.

11 – CARATTERISTICHE DEL TEST

Il kit **Strep Grouping B Rapid Latex Test Kit** è stato valutato nei confronti di uno dei test al lattice più diffusi in commercio come riferimento per l'attribuzione degli Streptococchi al gruppo di appartenenza, utilizzando campioni clinici presso diversi centri indipendenti. I risultati complessivi sono riportati nella Tabella.

Sensibilità = 92% (607/662)
Specificità = 100% (24/24)

		Strep Grouping Rapid Latex Test Kit		Totale
		+ve	-ve	
Test al Lattice in commercio	+ve	607	55	662
	-ve	0	24	24
Totale		607	79	686

RIPRODUCIBILITA'

La **riproducibilità intra-lotto** è stata valutata analizzando la sensibilità di un lotto di ciascuno dei lattici del test in dieci occasioni diverse con tre differenti operatori nei confronti di diluizioni seriate di antigeni di riferimento. Il punto finale delle titolazioni raggiunte variava al massimo di una diluizione tra una prova e l'altra.





La **riproducibilità inter-lotti** è stata esaminata analizzando la sensibilità e la specificità di 10 lotti di prodotto nei confronti di diluizioni seriate di antigeni di riferimento. Tra i lotti le variazioni dei titoli sono state al massimo di una diluizione dell'antigene e la correlazione dei risultati qualitativi è stata del 100%.

12 – LIMITI DEL METODO

- Come per tutti i test diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test, ma i risultati devono essere interpretati nel contesto di tutte le informazioni disponibili, cliniche e di laboratorio.
- La correttezza dei risultati dipende dall'analisi di una quantità adeguata di crescita.
- La crescita di ceppi a colonie minute può essere migliorata ponendo la coltura in atmosfera arricchita di anidride carbonica.
- La formazione di agglomerati filamentosi potrebbe non essere necessariamente una reazione positiva. Pertanto in questi casi si consiglia di eseguire altri test biochimici.
- In diverse specie non correlate sono stati descritti antigeni comuni agli antigeni di gruppo degli streptococchi. Per esempio si possono avere reazioni falsamente positive con *Escherichia*, *Klebsiella* o *Pseudomonas*. Questi vengono di solito differenziati con facilità in base alle caratteristiche colturali e non provocano errori nell'identificazione degli streptococchi.
- I componenti di questo I.v.D. sono sempre stati testati tra loro senza verificarne la compatibilità con componenti prodotti da altri fabbricanti. Pur non escludendo la possibilità che i componenti possano essere usati con componenti di medesima formulazione ma prodotti da altre Aziende, non si ha un'evidenza sperimentale di tale compatibilità.

13 – BIBLIOGRAFIA

1. Birch, B.R. et al (1984). Antibiotic susceptibility and biochemical properties of *Streptococcus faecalis* strains reacting with both D and G antisera. *J. Clin Pathol* 37, 1289-1292.
2. Elliot, S.D. and Tai, J.Y. (1978). The type-specific polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J Exp Med* 148, 1699-1704.
3. Facklam, R.R. (1977). Physiological differentiation of viridans streptococci. *J Clin Microbiol* 5, 184-201.
4. Facklam, R.R. (1985). Serologic identification of streptococci : how useful is serologic grouping? *Clin Microbiol Newsletter* 7, 91-94.
5. Facklam, R.R. and Smith, P.B. (1976). The Gram positive cocci. *Human Pathology* 7, 187-194.
6. Facklam, R.R. and Washington, J.A. (1991). Streptococcus and related catalase-negative Gram-positive cocci. In manual of Clinical Microbiology 5th Ed, Edited by Balows, A et al American Society for Microbiology, Washington D.C. Pages 238-257.
7. Harvey, C.L. and McIlmurray, M.B. (1984). Streptococci with dual antigen specificity for Lancefield groups D and G. *Eur j Clin Microbiol* 3, 526-530.
8. Lancefield, R.C. (1933). A serological differentiation of human and other groups of haemolytic streptococci. *J. Exp med* 57, 571-595.
9. Medrek, T.F. and Barnes, E.M. (1962). The influence of the growth medium on the demonstration of a group D antigen in faecal streptococci. *J Gen microbial* 28, 701-709.
10. Nowlan, S.S. and Deibel, R.H. (1967). Group Q streptococci 1. Ecology, serology, physiology and relationship to established enterococci. *J. Bacteriol* 94, 291-296.
11. Parker, M.T. and Ball, L.C. (1976). Streptococci and Aerococci associated with infection in man. *J. Med Microbiol* 9, 275-302.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (AXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Tenere lontano dal calore		Fragile, maneggiare con cura

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout	2022/09

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

