



## STREPTOCOCCAL GROUPING KIT



Nr katalogowy DR0585

### 1. PRZEZNACZENIE

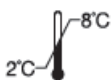
**Test aglutynacji lateksowej do identyfikacji streptokoków z grupy A, B, C, D, F, oraz G.** Lancefield<sup>1</sup> wykazała, że większość patogennych paciorkowców posiada specyficzne antygeny węglowodanowe, które pozwalają zakwalifikować paciorkowce do grup. Te grupowe antygeny mogą być ekstrahowane z komórek, a ich obecność ujawniana jest w reakcji z cząsteczkami lateksu uprzednio opłaszczonymi specyficznymi dla grup przeciwciałami. Cząsteczki lateksu aglutynują w obecności homologicznego antygeny pozostając w gładkiej zawieszynie przy jego braku. Oxoid Streptococcal Grouping Kit jest takim testem aglutynacyjnym do identyfikacji grup paciorkowców zawierającym odczynniki do grup A, B, C, D, F, oraz G. Zastosowanie nowej procedury ekstrakcji istotnie skraca czas potrzebny do ekstrakcji antygenów oraz znacznie poprawia jej wydajność, szczególnie dla grupy D.



DR0586 Latex Grouping Reagent A  
DR0587 Latex Grouping Reagent B  
DR0588 Latex Grouping Reagent C  
DR0589 Latex Grouping Reagent D  
DR0590 Latex Grouping Reagent F  
DR0591 Latex Grouping Reagent G  
DR0592 Poliwalentna kontrola dodatnia  
DR0593 Enzym ekstrakcyjny  
DR0500 Jednorazowe kartoniki testowe

### 2. OPIS, PRZYGOTOWANIE DO UŻYCIA I ZALECANE WARUNKI PRZECHOWYWANIA

**Zobacz także: OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**



Przechowywać w temperaturze 2–8°C, chronić od światła. Zużyć do lub przed datą ważności zaznaczoną na etykiecie. Wszystkie składniki doprowadzić do temperatury pokojowej (15 do 28°C) przed użyciem, wymieszać dokładnie przez odwracanie.

Składniki zestawu są wymienne ze składnikami innych serii o tym samym numerze katalogowym.

### 3. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Odczynniki tylko do diagnostyki *in vitro*.

Nie zamrażać Latex Grouping Reagents.

Odczynniki gotowe do pracy.

Każdy odczynnik lateksowy jest gotowy do użycia po doprowadzeniu go do temperatury pokojowej.

Istotne jest, aby przed użyciem odczynniki lateksowe zostały energicznie wymieszane do uzyskania homogennej zawiesiny.

Odczynnik enzymatyczny przed zastosowaniem należy rozpuścić w wodzie destylowanej do objętości wskazanej na etykiecie opakowania.

Kontrola dodatnia zawiera ekstrakty antygenów ze wszystkich sześciu grup.

#### 4. INFORMACJE NA TEMAT ZDROWIA I BEZPIECZEŃSTWA

4.1. Każdy odczynnik lateksowy i kontrola dodatnia zawiera 0.1% azydku sodu, który jest sklasyfikowany jako szkodliwy w przypadku połknięcia.

4.2. Enzym ekstrakcyjny zawiera 1,7% tiomeraslu i 7,32% achromopeptydazy, które są sklasyfikowane zgodnie z odpowiednimi dyrektywami European Economic Community (EEC) jako toksyczne i uczulające. Poniżej znajdują się odpowiednie zwroty H (zagrożenia) i P (środki ostrożności):

##### ZAGROŻENIE



<b>H332</b>	Działa szkodliwie w następstwie wdychania.
<b>H311</b>	Działa toksycznie w kontakcie ze skórą.
<b>H301</b>	Działa toksycznie po połknięciu.
<b>H373</b>	Może powodować uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub narażenie powtarzane.
<b>H334</b>	Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.
<b>H317</b>	Może powodować reakcję alergiczną skóry.
<b>H412</b>	Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
<b>P301+P310</b>	W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
<b>P280</b>	Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/.
<b>P302+P352</b>	W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.

<b>P333+P313</b>	W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza.
<b>P285</b>	W przypadku niedostatecznej wentylacji stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych.
<b>P260</b>	Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.
<b>P312</b>	W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
<b>P304+P340</b>	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.

## 5. PRZECHOWYWANIE

### A. Odczynniki Lateksowe

Buteleczki z odczynnikami lateksowymi należy przechowywać w pozycji pionowej w temperaturze 2–8°C. W tych warunkach zachowują aktywność do daty ważności umieszczonej na etykiecie buteleczki

### B. Enzym ekstrakcyjny

Liofilizowany enzym ekstrakcyjny przechowywać w temperaturze 2–25°C. W tych warunkach zachowuje aktywność do daty ważności umieszczonej na etykiecie butelki. Po rozpuszczeniu w wodzie destylowanej przechowywać w temperaturze 2–8°C. W tych warunkach zachowuje aktywność przez 4 miesiące.

### C. Kontrola dodatnia

Przechowywać poliwalentną kontrolę dodatnią w temperaturze 2–8°C. W tych warunkach zachowuje aktywność do daty ważności umieszczonej na etykiecie butelki.

## 6. PRZYGOTOWANIE

## HODOWLI

Próbki przeznaczone do identyfikacji powinny być posiane na płytki z agarem krwawym i inkubowane przez noc w temperaturze 37°C. Obserwować reakcje hemolizy badanych kolonii. Pomocne jest wykonanie testu na katalazę i barwienie Grama, aby potwierdzić obecność ziarenkowców Gram-dodatnich, katalazo-ujemnych. Więcej informacji można uzyskać w odpowiednich standardach<sup>2</sup>. Wykonać grupowanie każdej hodowli:

6.1. Rozpuścić enzym Oxoid Streptococcus Extraction Enzyme (DR0593) w sterylnej wodzie destylowanej do objętości pokazanej na etykiecie butelki. Odpowiednio oznaczyć próbki testowe i przenieść do każdej po 0,4ml enzymu.

- 6.2. Wybrać 2-5 badanych kolonii o średnicy 2-3 mm za pomocą ezy mikrobiologicznej i sporządzić emulsję w enzymie. Przy mieszaniu unikać ewentualnego zanieczyszczenia.
- 6.3. Inkubować przez 10 minut w 37°C w łaźni wodnej. Po 5 minutach inkubacji wyjąć każdą probówkę i energicznie wytrząsnąć przez 2-3 sekundy, następnie kontynuować inkubację. Wyjąć probówki i pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej. Ekstrakt jest gotowy do użycia.

## **7. PROCEDURA BADANIA**

- 7.1. Doprowadzić odczynniki lateksowe do temperatury pokojowej przez ogrzanie buteleczek w rękach. Wymieszać zawiesinę lateksu przez energicznie potrząsanie buteleczką. Usunąć pozostałości lateksu z zakraplacza tak, aby całkowicie wymieszać zawiesinę.
- 7.2. Nanieść 1 kroplę każdego odczynnika lateksowego na pole testowe na kartoniku reakcyjnym (DR0500).
- 7.3. Używając pipety pasterowskiej dodać 1 kroplę każdego ekstraktu do każdego z 6 pól.
- 7.4. Za pomocą dołączonego patyczka rozprowadzić mieszaninę po całej powierzchni pola stosując osobny patyczek dla każdego pola.
- 7.5. Delikatnie poruszać kartonikiem. Aglutynacja w 1 lub więcej pól zachodzi w ciągu 30 sekund. Nie poruszać kartonikiem dłużej niż 1 minutę. Nie używać szkła powiększającego do odczytu wyniku.
- 7.6. Kontrola dodatnia może być wykonywana w ten sam sposób w celu sprawdzenia działania odczynników lateksowych.
- 7.7. Umieścić kartoniki reakcyjne w odpowiednim dezynfektancie
- 7.8. Jeżeli wykonywana jest mniejsza liczba testów, kartoniki mogą być ucięte nożyczkami, a nieużyta część zachowana do następnego badania.

## **8. INTERPRETACJA**

### Interpretacja wyników

Test należy uważać za dodatni, jeśli aglutynacja występuje z jednym z odczynników grupowych lub gdy jeden z odczynników daje istotnie mocniejszą reakcję niż pięć pozostałych. Test należy uważać za ujemny, jeśli nie zachodzi aglutynacja.

W reakcjach ujemnych mogą być widoczne słabe ślady granulacji materiału, które nie powinny być brane pod uwagę.

## **9. OGRANICZENIA**

### Ograniczenia testu

Fałszywie ujemne wyniki mogą pojawić się w przypadku nieodpowiedniej ilości materiału pobranej do ekstrakcji.

Prawie wszystkie beta-hemolizujące paciorkowce izolowane z materiału ludzkiego posiadają specyficzny węglowodanowy antygen, który może być wykrywany w reakcjach serologicznych.

Próby rozszerzenia tej procedury na paciorkowce nie beta-hemolizujące, nie dały zadowalających rezultatów z wyjątkiem grup B, D i N.

Grupa N streptokoków nie była izolowana z zakażeń ludzkich<sup>5</sup>.

Można zaobserwować pojawianie się fałszywych reakcji odczynnika z grupy D z niektórymi szczepami *Streptococcus bovis*, a szczepy takie wymagają dodatkowej identyfikacji.

W podanych poniżej schematach opisana jest polecana procedura identyfikacji paciorkowców z zastosowaniem testu aglutynacyjnego firmy Oxoid.

Przed rozpoczęciem procedury serologicznej identyfikacji streptokoków powinny być przeprowadzone następujące obserwacje (i) odnotowana hemoliza <sup>a,c</sup>, (ii) określona morfologia komórek <sup>b,c</sup>, (iii) oceniona czystość i obfitość wzrostu kolonii na pożywkach <sup>d</sup>.

Ujemna reakcja w teście			
Beta-hemolityczne		Alpha lub nie-hemolityczne	
Powtórzyć ekstrakcję z gęstszą zawiesiną		Żółć-eskulina/6.5% NaCl Bulion	
.			
Powtórzyć test	+/- Grupa D <i>enterococcus</i> <sup>b</sup>	+/- Grupa D inne niż <i>enterococcus</i>	-/- zieleniejące <i>streptococci</i>
Jeśli ujemne, zapisać 'Inne niż grupa A, B, C, D, F lub G'			

Dodatnia reakcja w teście						
Beta-hemolizujące			Alpha lub nie-hemolizujące			
Reakcja z jedną z grup A, B, C, F lub G	Reakcja z Grupą D	Dodatnia z więcej niż jedną grupą		Reakcja z Grupą B	Reakcja z grupą D	Reakcja z A, C, F lub G
Wynik: odpowiednia grupa	Test z 6.5% NaCl bulionem	Przesiew i ponowny test		Wynik: nie-hemolizująca grupa B	żółć-eskulina/ 6.5% NaCl bulion	Wymagana identyfikacja biochemiczna
		.				
+ wzrost Wynik:  Grupa D <i>enterococcus</i>	- wzrost wynik:  Grupa D inne niż <i>enterococcus</i>	Biochemiczna identyfikacja, jeśli problem nie został rozwiązany		+/+ Grupa D <i>enterococcus</i> <sup>b</sup>	+/- Grupa D inne niż- <i>enterococcus</i>	-/- zieleniejące <i>streptococci</i>

- (a) Wykluczenie *Streptococcus pneumoniae*. Ten paciorkowiec jest  $\alpha$ -hemolityczny, wrażliwy na roztwór żółci i optochinę. Inne *streptococci* są odporne na działanie soli żółci i optochinę<sup>5</sup>.
- (b) *Aerococci* nie są  $\beta$ -hemolityczne, rosną w bulionie z 6.5% NaCl i dają zmienne reakcje w teście z żółcią i eskuliną. Mogą być różnicowane za pomocą morfologii komórek: tworzenie tetrad lub pojedyncze komórki, podczas gdy enterokoki występują jako diplokokki lub krótkie łańcuszki<sup>5</sup>.
- (c) *Staphylococci* oraz *Listeria monocytogenes* są  $\beta$ -hemolityczne i mogą być rozróżnione od paciorkowców poprzez morfologię komórek i reakcje z katalazą<sup>6,7</sup>.
- (d) Przesiać, jeśli podejrzany organizm przerasta lub jest go niewystarczająco.
- (e) Znane są szczepy posiadające zarówno antygen D i G<sup>3,4</sup>.

## CHARAKTERYSTYKA PRACY TESTU

Ulepszono skład enzymu ekstrakcyjnego. Działanie Oxoid Streptococcal Grouping Kit z nowym enzymem sprawdzano w jednym z centrów medycznych w południowej Australii. W tabeli zamieszczonej poniżej zawarte są wyniki kontroli.

### Czułość i specyficzność Streptococcal Grouping Kits

Badane szczepy*		Oxoid Streptococcal Grouping Kit wraz z oryginalnym Enzymem Extraction Reagent		Oxoid Streptococcal Grouping Kit wraz z ulepszonym Enzymem Extraction Reagent		Zestaw konkurencyjny	
Lancefield groupa	Liczba.	czułość %	specyficzność %	czułość %	specyficzność %	czułość %	specyficzność %
żadna	56	NA	99.4	NA	99.1	NA	99.4
A	30	100	100	100	100	100	100
B	29	100	100	100	100	100	100
C	30	96.6	99.5	96.6	99.5	96.6	99.5
<sup>1</sup> D(Streptococi) <sup>1</sup> D inne niż Streptococci	2 47	83.7	100	92.0	99.7	63.3	100
F	25	92.0	99.4	92.0	99.4	92.0	99.4
G	32	100	94.7	100	95.2	100	96.0
<b>ogółem</b>	<b>251</b>	<b>94.3</b>	<b>98.9</b>	<b>96.4</b>	<b>98.9</b>	<b>89.2</b>	<b>99.2</b>

\* Wszystkie szczepy badane były z sześcioma odczynnikami grupowymi.








1 Liczba organizmów z Lancefield Group D dające wynik w reakcji D/G . Te wyniki zostały włączone do obliczeń jako prawdziwie dodatnia Grupa Ds i fałszywie dodatnia Grupa Gs. W literaturze znane są przypadki, że szczepy z grupy D posiadają również antygen grupy G po ekstrakcji enzymatycznej.

## 10. LITERATURA

1. Lancefield R.C. (1938) Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 38, 473.
2. Facklam R.R. (1980) in 'Manual of Clinical Microbiology', 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 88-110.
3. McIlmurray M.B. (1984) Lancet, I, 1353.
4. Birch B.R., Keaney M.G.L. and Ganguli L.A. (1984) Lancet, I, 856-857.
5. Facklam R.R. and Carey R.B. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition. Eds. Lennette

E.H., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J., Amer. Soc. for Microbiol., Washington, D.C., pp. 154-175.  
6. Kloos W.E. and Jorgensen J.H. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 143-153.  
7. Bortolussi R., Schlech W.F. and Albritton W.L. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 205-208.

#### LEGENDA SYMBOLI

	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zapoznać się z instrukcją użytkownika
	Temperatura przechowywania
	Nr serii
	Data ważności
	Producent



Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke  
Hants RG24 8PW, UK

IFU 3981E Aktualizacja Lipiec 2015