

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Formato	Codice	Reagente	Composizione
Kit 6 x 50 det.	CSI087315	Complete kit	-
Kit 1 x 50 det.	CSI087331	Latex A	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087332	Latex B	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087333	Latex C	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087334	Latex D	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087335	Latex F	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087336	Latex G	n° 1 flacone x 1,5 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087337	Estraente E	n° 1 flacone x 2 ml
-	CSI087338	Controllo Positivo	n° 1 flacone x 1 ml
Kit 1 x 50 det.	CSI087339	Estraente Chimici	n° 2 flaconi x 1,5 ml n° 2 flaconi x 2,5 ml

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico Diagnostico in vitro per l'esecuzione del test rapido di agglutinazione al lattice per l'identificazione dei gruppi A, B, C, D, F e G di Streptococco da colture primarie ottenute da campioni di origine umana. I risultati del test devono sempre essere interpretati in relazione al contesto clinico. Solo per uso professionale.

SIGNIFICATO CLINICO

Il metodo classico per il gruppaggio degli streptococchi, secondo Lancefield, si basa sulla estrazione degli antigeni solubili e la loro identificazione mediante anticorpi specifici. Tale classificazione sierologica è comunemente adottata anche se possono manifestarsi patologie nell'uomo attribuibili a streptococchi non classificabili con il metodo sierologico proposto da Lancefield, in quanto non provvisti di antigeni gruppo-specifici. Oltre alla procedura di estrazione con acido a caldo citata, sono descritte altre metodiche tra cui quella di Fuller con formamide a caldo ed anche altre, più semplici e rapide. Il metodo Sclavo diagnostics utilizza una procedura chimica semplice che consente di identificare i gruppi A, B, C, F e G senza reazioni crociate. Inoltre i ceppi che mostrano risultati negativi vengono analizzati di nuovo usando una tecnica diretta o una estrazione enzimatica dedicate all'antigene di gruppo D. La reazione sierologica è rivelata tramite l'uso di particelle di lattice sensibilizzate con l'anticorpo specifico, una sospensione per gruppo.

PRINCIPIO DEL METODO

Alcune colonie isolate sono stemperate nei reattivi chimici al fine di liberare l'antigene di gruppo. L'antigene così ottenuto viene distribuito sulla superficie delle cellette del cartoncino. Si aggiunge il lattice sensibilizzato con gli anticorpi specifici per i singoli gruppi. Se l'antigene corrispondente è presente nel campione, la reazione antigene-anticorpo causerà una agglutinazione visibile. Se il campione mostra una reazione negativa con il lattice dei gruppi A, B, C, F e G, selezionare altre colonie morfologicamente simili alle precedenti e trattarle con il reattivo per l'estrazione enzimatica. Analizzare l'antigene ottenuto con il lattice per il gruppo D. Un estratto polivalente di streptococchi dei sopra menzionati gruppi è fornito come controllo della funzionalità dei lattici.

Conservazione e stabilità

= Temperatura di conservazione 2-8 °C

Conservati a 2-8°C, evitando la luce diretta, i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla etichetta. Non congelare. Evitare contaminazione microbica. (potrebbe ridurre la validità del kit e/o portare a risultati errati)

Verifiche di stabilità ripetute su tre lotti diversi di reattivo hanno confermato una validità totale del reattivo di 36 mesi a 2°-8° C. Una leggera variazione nella composizione dei reattivi può verificarsi da lotto a lotto, senza interferire sui risultati del test.

COMPONENTI

Le concentrazioni indicate si riferiscono ai reattivi pronti per l'uso

Reattivo Estraente 1 GHS03 GHS06 GHS09

1 x 1,5 mL, soluzione di sodio nitrito, pronta per l'uso.

Avvertenza: PERICOLO (H272; H301; H400; P220; P301+P310; P321; P330; P405; P501)
Contiene Sodio Nitrito (CAS 7632-00-0)

Reattivo Estraente 2 GHS02 GHS05

1 x 1,5 mL, soluzione di acido acetico, pronta per l'uso.

Avvertenza: ATTENZIONE (H226; H314; P303+P361+P353; P305+P351+P338; P310; P321).

Contiene Acido Acetico (CAS 64-19-7)

Reattivo Estraente 3

2 x 2,5 mL, soluzione di ammonio carbonato, pronta per l'uso.

Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Reattivo Estraente E

1 x 2,0 mL, liofilizzato. Lisozima in tampone tris pH 8,2 ± 0,2.

Contiene stabilizzante non reattivo e sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Sciogliere prima dell'uso con 2,0 mL di acqua distillata sterile.

Lattice A 1 x 1,5 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo A. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Lattice B 1 x 1,5 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo B. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Lattice C 1 x 1,5 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo C. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Lattice D 1 x 3 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo D. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Lattice F 1 x 1,5 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo F. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Lattice G 1 x 1,5 mL

Sensibilizzato con anticorpi (da coniglio) anti streptococchi di gruppo G. Contiene sodio azide 0,9 g/L come conservante.

Controllo Positivo

1 x 1,0 mL, liofilizzato. Antigeni di streptococchi di gruppo A, B, C, D, F e G in soluzione fisiologica. Contiene stabilizzante non reattivo e sodio azide 0,9 g/L come conservante. Sciogliere prima dell'uso con 1,0 mL di acqua distillata sterile.

Bastoncini in legno numero 300.

Cartoncini monouso a fondo nero numero 50.

Legenda:

Dichiarazioni di avvertenza H: H272 Può aggravare un incendio; comburente; H301 Tossico se ingerito; H400 Molto tossico per gli organismi acquatici; H226 Liquido e vapori infiammabili; H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

Dichiarazioni precauzionali P: P220 Tenere lontano da indumenti e altri materiali combustibili;

P301+P310 IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTROANTIVELENI/un medico; **P321** Trattamento specifico (vedere su questa etichetta); **P330** Sciacquare la bocca; **P405** Conservare sotto chiave; **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali. **P303+P361+P353** IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia]; **P305+P351+P338** IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare; **P310** Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico; **P321** Trattamento specifico (vedere su questa etichetta).

REAGENTI e APPARECCHIATURE NECESSARI MA NON FORNITI

Anse per la raccolta delle colonie; Tubi per l'estrazione degli antigeni; Pipette da 15 µl; Contenitori adeguati allo smaltimento di materiale infetto

PRECAUZIONI e AVVERTENZE

- Oltre alle indicazioni di rischio relative a componenti attivi, i reagenti possono contenere componenti non attivi quali conservanti e detergenti. La concentrazione totale di tali componenti è inferiore ai limiti riportati nel Regolamento 1272/2008 CE e successive modifiche e integrazioni. Si raccomanda comunque di manipolare i reagenti secondo le norme di buona pratica di Laboratorio.
- I risultati devono essere interpretati nel contesto di tutte le informazioni disponibili, cliniche e di laboratorio.
- Il test non può essere utilizzato direttamente su campione clinico né su colture primarie in terreno liquido. Se non si ottiene un risultato chiaro da colture primarie o da sottocolture miste su terreno solido, e si sospetti la presenza di streptococchi, si consiglia di allestire sottocolture pure sulle colonie sospette e poi ripetere il test di identificazione con Streptogroup test.
- Da letteratura sono noti possibili reazioni false positive con microrganismi di generi non correlati e.g. Escherichia coli, Klebsiella or Pseudomonas (3,8). Questi generi possono agglutinare in maniera aspecifica con tutti i lattici. Per evitare la refertazione di risultati errati l'operatore può escludere questi microrganismi grazie ad un attento esame delle colture sviluppate su piastra con terreno di crescita selettivo. In alcuni streptococchi è stata dimostrata l'esistenza di antigeni in comune con altri microrganismi: in questi casi l'eventualità della presenza di reazioni crociate non può essere eliminata. Nei casi in cui ci siano ceppi per i quali non è possibile una classificazione univoca questi devono essere inviati ad un laboratorio di riferimento per l'identificazione.
- L'identificazione con il STREPTOGROUP TEST è di tipo presuntivo e tutti i risultati positivi devono essere confermati da ulteriori test di identificazione e dalla sierotipizzazione delle colture pure.
- Se nella fase di estrazione viene utilizzata una quantità di coltura non adeguata possono essere ottenuti risultati falsi positivi o negativi.
- Listeria monocytogenes può cross-reagire con il lattice anti streptococco B e G. Per distinguere la listeria dagli streptococchi eseguire il test della Catalasi: la Listeria è catalasi positiva mentre gli streptococchi sono catalasi negativi. Come ulteriore aiuto nell'identificazione procedere con la colorazione di Gram.
- I reattivi al lattice e i reattivi estraenti 1, 2, e 3, sono pronti per l'uso. Portare a temperatura ambiente ed agitare dolcemente i reattivi al lattice per ottenere una sospensione omogenea delle particelle. Il Reattivo Estraente E ed il Controllo Positivo sono in forma liofila e devono essere risospesi in acqua distillata sterile



- prima dell'uso. Se conservati a 2-8° C e preservati da contaminazioni, i reattivi ricostituiti sono stabili per 3 mesi.
- È importante che il flacone contagocce sia mantenuto in posizione verticale durante l'utilizzo e che la goccia si formi all'estremità del beccuccio. Se il beccuccio è bagnato potrebbe formarsi una goccia di volume errato che potrebbe falsare il risultato del test. In questo caso asciugare il beccuccio prima di procedere.
 - Non pipettare a bocca, Utilizzare guanti monouso e occhiali protettivi mentre si trattano i campioni e si esegue il test. Al termine lavarsi le mani accuratamente.
 - Se utilizzati in conformità ai principi delle buone pratiche di laboratorio (GLP), con gli standard operativi di igiene sul lavoro, i reagenti forniti non rappresentano alcun rischio per la salute.
 - Lo smaltimento dei reagenti deve avvenire in accordo con le disposizioni comunitarie in materia di rifiuti o con le disposizioni nazionali o regionali vigenti.

Segnalazione di incidenti gravi

Nel caso si verifichi un incidente grave in relazione all'utilizzo del dispositivo si prega di informare il produttore (tramite il proprio distributore) e l'autorità competente dello stato membro dell'Unione Europea in cui si è verificato l'incidente. Per altre giurisdizioni, le segnalazioni devono essere effettuate in conformità con i requisiti normativi. La segnalazione di incidenti gravi aiuta a fornire maggiori informazioni relativamente alla sicurezza del dispositivo medico diagnostico.

PROCEDURA

Controllo qualità

Usare il controllo positivo e soluzione fisiologica come se fossero estratti di un campione. L'assenza di reazioni rispettivamente positive o negative è indice di alterazione dei reattivi e/o dei controlli.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reattivi al lattice e i reattivi estraenti 1, 2, e 3, sono pronti per l'uso. Portare a temperatura ambiente ed agitare dolcemente i reattivi al lattice per ottenere una sospensione omogenea delle particelle. Dopo l'apertura il reagente è stabile fino a data di scadenza se mantenuto nelle condizioni indicate in "Conservazione e stabilità". Il Reattivo Estraente E ed il Controllo Positivo sono in forma liofila e devono essere risospesi in acqua distillata sterile prima dell'uso. Se conservati a 2-8° C e preservati da contaminazioni, i reattivi ricostituiti sono stabili per 3 mesi.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE CAMPIONI

Per maggiori informazioni sul prelievo e trattamento dei campioni rifarsi a quanto riportato su bibliografia specializzata. Per l'esecuzione del test selezionare colonie ben isolate da colture di isolamento primarie o secondarie. Per una corretta identificazione è importante che le colonie (che devono essere bene isolate su Agar Sangue) siano prelevate fresche. Prima dell'analisi sierologica, è consigliabile osservare l'attività emolitica ed allestire un vetrino con la colorazione di Gram per assicurarsi della purezza del ceppo da esaminare.

PROCEDIMENTO

Tecnica con Estrazione chimica

- Trasferire 30 µL (una goccia) di Reattivo Estraente 1 in una provetta.
- Prelevare 5-6 colonie con bastoncino sterile, prestando attenzione a non raccogliere parte del terreno di coltura, e stemperarle sul fondo della provetta.
- Aggiungere 30 µL (una goccia) di Reattivo Estraente 2.
- Lasciare a temperatura ambiente per almeno 5 minuti ma non per più di 10 minuti. Un tempo di estrazione prolungato diminuisce la sensibilità del test.
- Aggiungere 60 µL (due gocce) di Reattivo Estraente 3 e miscelare. Utilizzare entro 15 minuti.
- Risospesare il reattivo al lattice da usare (es. A, B, C, F e/o G) agitando il flacone.
- Tenendo il contagocce verticalmente, trasferire una goccia di lattice in una celletta del cartoncino. Ripetere su cellette diverse per gli altri eventuali lattici da usare.
- Aggiungere 15 µL di estratto antigenico in ogni celletta.
- Usando un bastoncino pulito per ogni celletta, miscelare la reazione accuratamente. Scartare le bacchette usate.
- Roteare il cartoncino. Al termine di un minuto, osservare ciascuna celletta per accertare la presenza o meno di agglutinazione. Agglutinazioni successive sono da considerarsi aspecifiche.

In caso di risultati negativi, procedere con la tecnica per l'identificazione degli streptococchi di gruppo D.

Tecnica Diretta

(Procedura che permette di identificare circa il 70% dei ceppi di gruppo D)

- Trasferire 30 µL (una goccia) di Reattivo Estraente 3 in una celletta del cartoncino.
- Prelevare 2-3 colonie con un bastoncino sterile, prestando attenzione a non raccogliere parte del terreno di coltura, e stemperarle accuratamente sulla stessa celletta del cartoncino.
- Aggiungere una goccia di Lattice D.
- Roteare il cartoncino. Al termine di un minuto, osservare la celletta per accertare la presenza o meno di agglutinazione. Agglutinazioni successive sono da considerarsi aspecifiche.

In caso di risultati negativi, procedere con la tecnica di estrazione enzimatica.

Tecnica con Estrazione Enzimatica

(Procedura che permette di identificare più del 95% dei ceppi di gruppo D)

- Trasferire, dopo ricostituzione, 60 µL di Reattivo Estraente E in una provetta.

- Prelevare 4-5 colonie con un bastoncino sterile, prestando attenzione a non raccogliere parte del terreno di coltura, e stemperarle sul fondo della provetta.
- Incubare a 37°C per 10 minuti.
- Tenendo il contagocce verticalmente, aggiungere una goccia di lattice D in una celletta del cartoncino.
- Aggiungere 15 µL di estratto antigenico alla celletta.
- Usando un bastoncino pulito, miscelare la reazione accuratamente. Scartare le bacchette usate.
- Roteare il cartoncino. Al termine di un minuto, accertare la presenza di agglutinazione. Agglutinazioni successive sono da considerarsi aspecifiche.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Tecnica con estrazione chimica

Positivo (per la presenza di antigeni dei Gruppi A, B, C, F o G): agglutinazione nella celletta del campione in esame rispettivamente con i lattici A, B, C, F o G.

Negativo (per la presenza di antigeni dei Gruppi A, B, C, F o G): nessuna agglutinazione nella celletta del campione in esame rispettivamente con i lattici A, B, C, F o G.

Tecnica diretta o Tecnica con estrazione enzimatica

Positivo (per la presenza di antigeni del Gruppo D): agglutinazione nella celletta del campione in esame con il lattice D.

Negativo (per la presenza di antigeni del Gruppo D): nessuna agglutinazione nella celletta del campione in esame con il lattice D.

N.B. Un insufficiente quantitativo di coltura batterica utilizzata può causare risultati falsamente negativi.

PRESTAZIONI ANALITICHE

Sensibilità: L'identificazione con la tecnica di estrazione chimica dei gruppi A, B, C, F e G degli streptococchi, eseguita sia su ceppi liofili di collezione sia su isolati clinici, ha dato una sensibilità del 98%. L'identificazione del gruppo D con la tecnica diretta ha dato una sensibilità del 74,3%. L'identificazione del gruppo D con estrazione enzimatica ha dato una sensibilità del 92%.

Bibliografia

- Arcuri F., Molina A.M., Calegari L., Fontana G. (1963). L'igiene moderna. 56, 147.
- Fanini A., Vignola D., Strapparava E., Zanini (1969) Quad Scavo Diagn • 5, 419
- Lancefield R.C. (1928). *Haemolyticus*. *J Exp Med* • 47, 91-103.
- Molina A.M., Saletti M. (1961) Ann Scavo • 3, 755.
- Romanzi C.A. (1966). *Giorn Mal Infett Parass*, 18, 375-411.
- Rossolini A., Lecchini L., Forte D., Benedetti P.A. (1963). *Riv Clin Ped*, 72, 268-291.
- Facklam R.F., Martin D.R., Lovgren M., Johnson D.R., Efstratiou A., Thompson T.A., Gowan S., Kriz P., Tyrrell G.J. Kaplan E. and Beall B. (2002) *Clin. Infect Dis*. 34 (1):28-38.
- Kloos, W.E., and T. L. Bannerman. 1995. *Staphylococcus and Micrococcus*, p. 282- 298. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Essers, L., and K. Radebold. 1980. *J. Clin. Microbiol.* 12:641-643.
- Taussig, M.J. 1984. 2nd ed. Oxford; Boston: Blackwell Scientific Publ., St. Louis, Mo., Blackwell Mosby Book Distr. 520-530.
- Roberts, J.I.S., and M.A. Gaston. 1987. *J. Clin. Pathol.* 40:837-840.
- Philips, W.E., and W.E. Kloos. 1981. *J. Clin. Microbiol.* 14:671-673.
- Mhyre, E.B., and P. Kuusela. 1983. *Infect. Immun.* 40:29-34.
- Runehagen, A., C. Schonbeck, U. Hedner, B. Hessel, and G. Kronvall 1981. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect B*. 89:49-55.
- EL Kholly, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M. (1974). *Appl. Microbiol.*, 28, 836.
- Elliot, S.D. and Tai, J.Y. (1978). *J. Exp. Med.*, 148, 1699.
- Facklam, R.R. (1980). 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.
- Facklam R.R. (1977). *J. Clin. Microbiol.*, 5, 184.
- Fuller, A.T. (1938). *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130.
- Maxted, W.R. (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet*, ii, 255.
- Nowlan, S.S. and Deibel, R.H. (1967). *J. Bact.*, 94, 291.
- Petts, D.N. (1984). *J. Clin. Microbiol.*, 19, 432.
- Rantz, L.A. and Randall, E. (1955). *Stanford Med. Bull.*, 13, 290.
- Watson, B.K., Moellering, R.C. and Kunz, L.J. (1975). *J. Clin. Microbiol.*, 1, 274.

Simboli utilizzati in IFU e Packaging

IVD	Dispositivo medico diagnostico in vitro	Fabbricante
REF	Numero di catalogo	Istruzioni per l'uso
LOT	Numero del lotto	Temperatura di conservazione
Calendar	Data di scadenza	Rischio Biologico

REVISIONE	DATA	MODIFICHE
E	05/2023	Aggiornamento simboli MSDS

