Key Code TSMX7829A
www.oxoid.com/ifu

Europe + 800 135 79 135 | US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 | ROW +31 20 794 7071

Streptex

REF ZL50/R30950501 ..... Σ 50 IT
ZL61/R30164701 ..... Σ 200

1. FINALITÀ D'USO

Streptex* è un test rapido al lattice per la rilevazione qualitativa e l'identificazione di gruppo degli streptococchi secondo Lancefield. I reagenti forniti per i gruppi A, B, C, D, F e G comprendono la maggioranza degli isolamenti clinici[6]; gli streptococchi di gruppo E sono isolati raramente.

2. RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La maggior parte delle specie streptococciche possiede antigeni gruppo-specifici che sono normali componenti strutturali di natura polisaccaridica della parete cellulare. Lancefield ha dimostrato che questi antigeni possono essere estratti in forma solubile ed identificati mediante reazioni di precipitazione con antisieri omologhi[12]. Sono stati descritti numerosi procedimenti per l'estrazione degli antigeni[3,4,10,13,17,18]. Il sistema Streptex* si avvale di una semplice tecnica di estrazione enzimatica. È inoltre disponibile un metodo più rapido di estrazione acida (Streptex* Acid Extraction Kit, ZL59/R30951301).

L'impiego principale del test consiste nell'identificazione di streptococchi cresciuti su terreni agarizzati, tuttavia si sono riportati risultati soddisfacenti anche con colture in brodo pure, mediante estrazione di un'ora[8].

3. PRINCIPIO DEL METODO

Gli antigeni gruppo-specifici sono estratti dagli streptococchi mediante una semplice fase di incubazione. Gli antigeni sono quindi identificati grazie all'utilizzo di particelle al lattice di polistirene rivestite con anticorpi gruppo-specifici. Le particelle al lattice mostrano una forte agglutinazione in presenza dell'antigene omologo, mentre rimangono in sospensione omogenea in assenza dell'antigene omologo.

4. REAGENTI

COMPONENTI DEL KIT

Streptex*	50 test (ZL50/R30950501)	200 test (ZL61/R30164701)
1. Lattice di gruppo A (ZL51/R30950601)	1 contagocce (tappo celeste)	4 contagocce (tappo celeste)
2. Lattice di gruppo B (ZL52/R30950701)	1 contagocce (tappo rosa)	4 contagocce (tappo rosa)
3. Lattice di gruppo C (ZL53/R30950801)	1 contagocce (tappo marrone)	4 contagocce (tappo marrone)
4. Lattice di gruppo D (ZL54/R30950901)	1 contagocce (tappo blu scuro)	4 contagocce (tappo blu scuro)
5. Lattice di gruppo F (ZL56/R30951101)	1 contagocce (tappo grigio)	4 contagocce (tappo grigio)
6. Lattice di gruppo G (ZL57/R30951201)	1 contagocce (tappo giallo)	4 contagocce (tappo giallo)
7. Controllo positivo polivalente (ZL58/R30164601)	1 contagocce (tappo rosso)	2 contagocce (tappo rosso)
8. Enzima di estrazione (ZL55/R30951001)	2 flaconi	8 flaconi
9. Bastoncini di miscelazione monouso	3 mazzetti	12 mazzetti
10. Cartoncini di reazione monouso (RT02/R30368601)	2 confezioni	8 confezioni
11. Istruzioni per l'uso	1	1

DESCRIZIONE DEI REAGENTI, PREPARAZIONE PER L'USO E RACCOMANDAZIONI PER LA CONSERVAZIONE

Fare riferimento anche alla sezione **Avvertenze e precauzioni di impiego**.

2°C – 8°C

Con ogni kit è fornito un contenitore estraibile per la conservazione di tutti i reagenti da refrigerare. Con il kit ZL61/R30164701 è fornito un contenitore di grandi dimensioni per la conservazione dei reagenti di riserva. Affinché mantengano la propria attività fino alla data di scadenza indicata sulla confezione, tutti i reagenti devono essere conservati a 2-8°C, salvo diversa indicazione.

Carte di reazione e bastoni di miscelazione devono essere conservati a temperatura ambiente (15-30 °C)

LATEX **Sospensioni al lattice**

Sei (ZL50/R30950501) o quattro set di sei (ZL61/R30164701) flaconi contagocce di plastica, uno specifico per ciascuno dei gruppi A, B, C, D, F e G contenenti reagente sufficiente per 50 test. Le particelle al lattice di polistirene, rivestite con anticorpi di coniglio purificati diretti contro il corrispondente antigene di gruppo, sono sospese ad una concentrazione dello 0,5% in tampone fosfato (pH 7,4), contenente sodio azide allo 0,1%.

Le sospensioni al lattice sono fornite pronte per l'uso e devono essere conservate in posizione verticale a 2-8°; in tali condizioni i reagenti mantengono la loro attività almeno fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone. Dopo un periodo di conservazione prolungato, potrebbero formarsi degli aggregati o potrebbe verificarsi un essicamento intorno all'apertura dei flaconi. In questo caso, agitare energicamente i flaconi per qualche secondo fino a quando il contenuto non è stato riportato in sospensione. NON CONGELARE.

EXTRACTION ENZYME **Enzima di estrazione**

Due (ZL50/R30950501) oppure otto (ZL61/R30164701) flaconi contenenti una frazione proteolitica liofilizzata ottenuta da colture di Streptomyces griseus con cloruro di calcio. La soluzione ricostituita alla concentrazione di utilizzo contiene Bronopol allo 0,01%, come conservante.

Ricostituire l'enzima di estrazione aggiungendo nel flacone 11 ml di acqua distillata sterile. Lasciare riposare per qualche minuto agitando e capovolgendo di tanto in tanto il flacone per una migliore dissoluzione.

Affinché mantenga la propria attività per almeno tre mesi dopo la ricostituzione o fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone, qualora questa sia più ravvicinata, l'enzima di estrazione ricostituito deve essere conservato a 2-8°C.

In alternativa, l'enzima può essere conservato congelato in aliquote ad una temperatura compresa tra -15 e -25°C. In queste condizioni, manterrà la propria attività per almeno sei mesi o fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone originale qualora questa sia più vicina. NON SOTTOPORRE A PIÙ DI UN CICLO DI CONGELAMENTO E SCONGELAMENTO.

CONTROL + **Controllo positivo polivalente**

Uno (ZL50/R30950501) oppure due (ZL61/R30164701) flaconi contagocce di plastica con tappo rosso contenenti un estratto polivalente di antigeni ottenuti da un ceppo rappresentativo di ciascun gruppo streptococcico, ovvero A, B, C, D, F e G, in tampone fosfato (pH 7,4) contenente sodio azide allo 0,1%, come conservante.

Il controllo positivo polivalente deve essere conservato a 2-8°C; in tali condizioni i reagenti mantengono la loro attività almeno fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone.

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI DI IMPIEGO

IVD

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro.*

Esclusivamente per uso professionale.

Per informazioni su componenti potenzialmente pericolosi, fare riferimento alle schede di sicurezza fornite dal produttore ed alle informazioni riportate sulle etichette dei prodotti.

PRECAUZIONI DI SICUREZZA

5.1 In accordo con le norme di buona pratica di laboratorio (GLP), si raccomanda vivamente di trattare gli estratti a qualsiasi stadio del test come potenzialmente infettivi e di prendere tutte le necessarie precauzioni.

5.2 Il materiale non monouso deve essere sterilizzato con un'adeguata procedura dopo l'uso; il metodo consigliato è la sterilizzazione in autoclave per 15 minuti a 121°C; il materiale monouso deve essere sterilizzato in autoclave o incenerito. Gli schizzi di materiali potenzialmente infettivi devono essere immediatamente asciugati con carta assorbente e l'area interessata deve essere decontaminata con un disinfettante battericida d'uso comune oppure con alcol al 70%. NON utilizzare ipoclorito di sodio. I materiali utilizzati per asciugare gli schizzi, inclusi i guanti, devono essere smaltiti seguendo la stessa procedura prevista per i rifiuti a rischio biologico.

5.3 Non pipettare con la bocca. Indossare guanti monouso e occhiali protettivi mentre si trattano i campioni e si esegue il test. Al termine, lavarsi accuratamente le mani.

5.4 L'enzima di estrazione liofilizzato contiene cloruro di calcio che è un irritante (Xi). Evitare il contatto con la pelle e gli occhi. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare immediatamente con molta acqua e consultare un medico.

5.5 Le sospensioni al lattice ed il controllo positivo polivalente contengono sodio azide allo 0,1%. Le azidi possono reagire con rame e piombo presenti nelle condutture di scarico e dare luogo alla formazione di sali esplosivi. Sebbene le quantità di azidi utilizzate in questo kit siano minime, si raccomanda di far defluire nelle condutture di scarico i materiali contenenti azidi con molta acqua corrente.

5.6 Se utilizzati in conformità con i principi di buona pratica di laboratorio (GLP), con gli standard operativi d'igiene del lavoro e con le istruzioni riportate nel presente foglio di istruzioni, i reagenti forniti non rappresentano alcun rischio per la salute.

PRECAUZIONI ANALITICHE

5.7 Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata.

5.8 Evitare la contaminazione microbica dei reagenti poiché potrebbe ridurre la validità del kit e fornire risultati errati.

5.9 Portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (18-30°C) prima dell'uso. Immediatamente dopo l'uso, riportare i reagenti alle temperature di conservazione raccomandate. I reagenti al lattice che prima dell'uso presentano segni di aggregazione o granulosità potrebbero essere stati congelati e non devono essere utilizzati.

5.10 In caso di contaminazione (aumento della torbidità durante la conservazione), la soluzione con Enzima di estrazione deve essere eliminata.

5.11 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 nell'area circostante e non esattamente all'estremità; in questo caso asciugare il beccuccio prima di procedere.

5.12 Non toccare le aree di reazione dei cartoncini.

6. PRELIEVO DEL CAMPIONE E PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per maggiori informazioni sul prelievo del campione e la preparazione delle colture primarie si consiglia di consultare la bibliografia specializzata[6]. Tra i terreni utilizzati è normalmente incluso l'agar-sangue; in tal caso, osservare la reazione emolitica delle colonie sospette, prima di procedere all'identificazione di gruppo. Gli streptococchi cresciuti in colture miste su terreni solidi di isolamento primario possono essere identificati in modo diretto ed attendibile, ad eccezione dei casi in cui si verifichi una sovracrescita di microrganismi appartenenti ai generi Klebsiella, Escherichia o Pseudomonas, che possono produrre una reazione aspecifica di agglutinazione con tutti i reagenti al lattice. L'identificazione di gruppo con Streptex* non deve essere eseguita su colture primarie in terreni liquidi. Se non si ottiene un risultato chiaro da colture primarie o da sottocolture miste, qualora si sospetti la presenza di streptococchi, si consiglia di allestire sottocolture pure da colonie sospette e di ripetere l'identificazione con Streptex*.

I microrganismi di gruppo A, B, C, F o G sono solitamente beta-emolitici. Se un microrganismo alfa- o non-emolitico risultasse appartenere ad uno di questi gruppi, l'identificazione di specie deve essere confermata mediante test biochimici[7,16]. Poiché gli enterococchi sono relativamente resistenti alla penicillina, la differenziazione dei microrganismi di gruppo D in enterococchi *(Enterococcus* spp.) e non-enterococchi (streptococchi di gruppo D) deve essere eseguita mediante il test di idrolisi dell'L-pirrolidonil-ß-naftilamide o PYR (Cod. Remel LP02/R30854301 e LP03/R30854401) o mediante coltura in brodo con bile-esculina e NaCl al 6,5%[6] (figura 3). La produzione di antigeni da parte di streptococchi di gruppo D viene notevolmente incrementata con l'aggiunta di glucosio allo 0,5-1% nel terreno di coltura[14], tuttavia in agar-sangue la reazione emolitica risulta poco evidente.

7. PROCEDURA

MATERIALI FORNITI

Streptex* contiene materiali sufficienti per 50 test (ZL50/R30950501) o 200 test (ZL61/R30164701); fare riferimento a **Componenti del kit**.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Pipetta per misurare e dispensare volumi da 0,4 ml.
- Ansa per batteriologia.
- Pipette per dispensare gocce di volume pari a 40 µl.
- Bagnomaria a 37°C.
- Provette di vetro o di plastica con un diametro interno di 8-12 mm, una per ciascun microrganismo da identificare.

PROCEDURA DEL TEST

ATTENZIONE: nell'esecuzione dei test è opportuno osservare le precauzioni riservate al trattamento di colture vitali.

La figura 3 illustra uno schema sintetico per l'identificazione dei gruppi di microrganismi da colture primarie o sottocolture.

Fase 1 Per ciascuna coltura da identificare, dispensare 400 µl di enzima di estrazione in una provetta per test contrassegnata da un'etichetta apposita.

Fase 2 Con un'ansa per batteriologia, emulsionare la coltura in una provetta con soluzione enzimatica fino ad ottenere una sospensione leggera. Un unico prelievo dalla coltura dovrebbe essere sufficiente: è spesso possibile ottenere un risultato raccogliendo solo 5 grandi colonie da emulsionare nell'enzima, sempre che riescano ad aderire all'ansa. Se la coltura non è pura, si raccomanda di raccogliere le colonie di streptococco da un'area che contenga meno contaminanti possibile.

Fase 3 Incubare la sospensione a 37°C in un bagnomaria (o in un beaker d'acqua portata a 37°C in un termostato) per un minimo di 10 minuti ed un massimo di 1 ora. Agitare la provetta dopo un periodo di incubazione di 5 minuti.

Fase 4 Risospendere ciascuna sospensione al lattice agitando energicamente i flaconi per alcuni secondi. Tenendo il flacone contagocce in posizione verticale, dispensare una goccia (20 µl) di ciascuna sospensione al lattice in aree separate di un cartoncino di reazione.

NOTA: 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 nell'area circostante e non esattamente all'estremità; in questo caso asciugare il beccuccio prima di procedere.

Fase 5 Con una pipetta, dispensare una goccia (40 µl) di estratto in ciascuna delle sei aree del cartoncino di reazione.

Fase 6 Miscelare il contenuto di ogni area con un apposito bastoncino sino a coprirne l'intera superficie. Usare un bastoncino diverso per ogni area, eliminandolo dopo l'uso secondo le norme di sicurezza.

Fase 7 Agitare delicatamente il cartoncino con movimento oscillatorio per massimo un minuto. Il cartoncino deve essere tenuto alla normale distanza di lettura dagli occhi (25-35 cm). Non usare lenti di ingrandimento. Lo schema di reazione ottenuto è chiaro e visibile in normali condizioni di illuminazione.

Fase 8 Eliminare il cartoncino di reazione usato secondo le norme di sicurezza.

Fase 9 Accertarsi che i reagenti siano riposti in frigorifero a 2-8°C nel contenitore fornito.

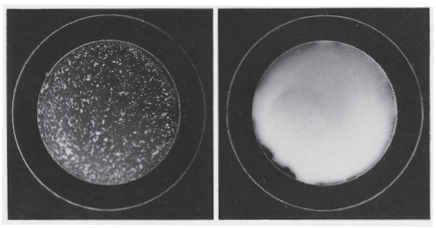
RISULTATI

LETTURA DEI RISULTATI

Un risultato positivo è indicato dalla presenza di un'agglutinazione che mostra un'aggregazione delle particelle al lattice chiaramente visibile (figura 1).

La velocità di comparsa e la qualità dell'agglutinazione dipendono dalla reattività dell'antigene estratto; con un estratto fortemente reattivo compaiono grandi ammassi di particelle al lattice entro pochi secondi dalla miscelazione, mentre con un estratto debolmente reattivo la reazione compare più tardivamente, rendendo evidenti solo piccoli aggregati.

Figura 1 Figura 2



Nel caso di un risultato negativo, il lattice non agglutina e l'aspetto lattiginoso rimane sostanzialmente invariato nel corso del test (un minuto) (figura 2). Va osservato comunque che, anche in una reazione negativa, si possono riscontrare lievi tracce di granulosità, a seconda dell'acutezza visiva dell'operatore.

CONTROLLO DI QUALITÀ

I test di controllo qualità devono essere effettuati con ciascuna spedizione e nuovo numero di lotto dei kit ricevuti. Ogni laboratorio deve rispettare le norme vigenti locali e governative.

In condizioni normali, le prestazioni del test sono garantite dalla presenza di agglutinazione evidente con una sola sospensione al lattice e dalla contemporanea assenza di agglutinazione con le altre cinque sospensioni. Questo schema di reazione può essere considerato perlopiù sufficiente a dimostrare la specificità dei reagenti e l'efficacia della procedura di estrazione enzimatica. In caso di schemi di reazione diversi, si raccomandano le seguenti procedure:

a) **Controllo della reattività delle sospensioni al lattice (Procedura di controllo positivo)**

Dispensare una goccia (40 µl) di controllo positivo polivalente in sostituzione del campione in esame oppure in aggiunta a quest'ultimo dopo che, trascorso un minuto, non si è verificata alcuna reazione. Miscelare il contenuto di ogni area con un apposito bastoncino nuovo fino a coprirne la superficie. Dopo avere agitato delicatamente il cartoncino con movimento oscillatorio per un minuto, si produrrà un'agglutinazione evidente in tutte le sospensioni al lattice.

b) **Controllo della specificità dell'agglutinazione (Procedura di controllo negativo)**

Per verificare che l'agglutinazione di una sospensione al lattice sia specifica, in particolare nei casi di agglutinazione molto debole o quando più di una sospensione mostra agglutinazione con un singolo estratto, ripetere il/i test positivi e, in parallelo, eseguire un test utilizzando una goccia di enzima di estrazione invece dell'estratto batterico. La sospensione al lattice non produce un'agglutinazione significativa in presenza del solo enzima di estrazione ed il risultato funge da controllo per il confronto diretto con gli schemi di agglutinazione ottenuti nelle reazioni con l'estratto batterico.

c) **Controllo della procedura di estrazione enzimatica**

Eseguire l'intera procedura del test con una coltura appartenente ad un ceppo noto di collezione. È opportuno eseguire saltuariamente test di controllo utilizzando diversi gruppi noti, per valutare l'accuratezza e l'efficacia dell'intero sistema di analisi (operatore incluso).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Come regola generale giova ricordare che solo gli streptococchi beta-emolitici forniscono risultati attendibili nelle procedure di identificazione di gruppo[6,8]. Esistono però eccezioni a questa regola, poiché la maggior parte dei ceppi di streptococco di gruppo D sono alfa-emolitici o non-emolitici ed alcuni ceppi del gruppo B sono non-emolitici. I microrganismi di gruppo D dovrebbero essere ulteriormente classificati come Enterococcus o streptococchi di gruppo D mediante una coltura in brodo con bile-esculina e con NaCl al 6,5% o mediante il test PYR[6] (Cod. Remel LP02/R30854301 e LP03/R30854401). I microrganismi che reagiscono con i gruppi A, C, F o G possono, se necessario, essere identificati mediante appropriati procedimenti biochimici[16].

Una forte e rapida agglutinazione in una soltanto delle sei sospensioni al lattice indica l'identità del ceppo in esame, mentre reazioni ritardate e deboli con lo stesso estratto devono essere ignorate. Agglutinazioni analoghe con più di una sospensione al lattice (ma non con tutte) indicano che l'estratto potrebbe contenere un insieme di streptococchi di gruppi diversi o di altri batteri contenenti antigeni che provocano reazione crociata: in questi casi è opportuno eseguire un ulteriore isolamento e/o test biochimici. Sono stati riscontrati alcuni ceppi di streptococco di gruppo D che sembrano possedere anche antigeni del gruppo G[1,11]. Tali ceppi reagiscono con i reagenti al lattice sia di gruppo D che di gruppo G e possono essere confermati come appartenenti al gruppo D con il test con bile-esculina[6]. A scopo epidemiologico e per il grado straordinariamente elevato di resistenza agli antibiotici di alcuni di questi ceppi[1], è importante che sia eseguita una corretta identificazione.

Una reazione ritardata e debole con una singola sospensione al lattice indica solitamente l'identità del ceppo in esame e, se possibile, il test dovrebbe essere ripetuto utilizzando una sospensione cellulare più concentrata. Quando l'agglutinazione è talmente debole da dare adito a dubbi sulla sua interpretazione, si raccomanda di eseguire il test di specificità descritto nella sezione **controllo di qualità** (b); il confronto tra i due test indicherà il risultato corretto.

La presenza di un'agglutinazione con tutti i reagenti al lattice di tipico aspetto fibroso o filamentoso è indice (a) di sovrainoculazione dell'enzima di estrazione: in tale caso l'estrazione può essere ripetuta utilizzando una sospensione meno concentrata; oppure (b) di contaminazione con un microrganismo interferente (fare riferimento alla sezione **Limiti del metodo**): in questo caso è necessario allestire un'ulteriore sottocoltura al fine di risolvere il problema. False agglutinazioni dovute ad una delle due cause possono di solito essere eliminate riscaldando l'estratto in bagnomaria bollente per tre minuti. Se nessuna delle sospensioni al lattice mostra agglutinazione, è probabile che la coltura non appartenga ad alcuno dei gruppi identificabili con il test. Si possono ottenere risultati negativi anche a causa dell'uso di quantità troppo esigue di microrganismi per l'estrazione, in particolare con i ceppi di gruppo D - alcuni dei quali contengono meno antigene di altri gruppi - e i ceppi di gruppo F - che formano colonie minuscole che aderiscono fortemente alla superficie dell'agar. Se uno streptococco identificato con il metodo colturale non produce una chiara agglutinazione con nessuna delle sospensioni al lattice, può essere opportuno ripetere l'estrazione con una quantità maggiore di coltura.

8. LIMITI DEL METODO

Se per la fase di estrazione si utilizza un quantitativo insufficiente di coltura, si possono ottenere risultati falsi negativi (cfr.: **Interpretazione dei risultati**). Alcuni ceppi di *Streptococcus bovis* ed *Enterococcus faecium* (gruppo D) possono rivelarsi di difficile identificazione.

Talvolta si possono ottenere risultati falsi positivi con microrganismi di generi non correlati, come ad es. Klebsiella, Escherichia o Pseudomonas, che possono causare un'agglutinazione non specifica con tutti i reagenti al lattice. Tuttavia, l'operatore può solitamente escludere tali microrganismi dal test mediante l'esame delle caratteristiche delle colture sviluppate sui terreni di crescita. L'esistenza di antigeni comuni con microrganismi di genere o specie eterologhe è stata dimostrata in alcuni streptococchi[2,5,15]: perciò l'eventualità di reazioni crociate di questo tipo nei sistemi per l'identificazione di gruppo degli streptococchi non può essere eliminata. L'antigene del gruppo D è comune ai microrganismi appartenenti al genere Streptococcus di gruppo Q, R e S[5,15].

Gli enterococchi sono relativamente resistenti alla penicillina, ma le tecniche sierologiche non consentono di differenziarli dagli altri streptococchi di gruppo D. A tal fine si può ricorrere a test biochimici, quali l'idrolisi del PYR (Cod. Remel LP02/R30854301 e LP03/R30854401) o la coltura in brodo contenente NaCl al 6,5%. Per maggiori informazioni sulla differenziazione biochimica degli streptococchi si consiglia di consultare un testo specifico[6].

9. RISULTATI ATTESI

Gli estratti di streptococchi appartenenti ai gruppi A, B, C, D, F o G devono presentare agglutinazione forte e rapida con la sospensione al lattice corrispondente.

10. CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PRESTAZIONE19

Sono stati eseguiti studi clinici in 4 centri in Gran Bretagna ed in 2 centri in Canada su un totale di 743 colture di streptococchi (663 beta-emolitiche, 80 alfa-emolitiche o non-emolitiche). Sono state analizzate 290 colture primarie, 451 sottocolture e 2 brodocolture. I risultati ottenuti con Streptex* mediante estrazione sia di 10 che di 60 minuti sono stati messi a confronto con i risultati ottenuti con un metodo di riferimento convenzionale.

I risultati relativi a 703 colture di streptococchi di gruppo A, B, C, D, F e G (638 beta-emolitiche e 65 alfa- o non-emolitiche) sono riportati nelle Tabelle 1 e 2. Il test Streptex* ha identificato correttamente 698 colture (99%) sottoposte ad estrazione di 10 minuti e tutte le 703 colture dopo estrazione di 60. Quattro colture beta-emolitiche (1 di gruppo B, 1 di gruppo D, 1 di gruppo F e 1 di gruppo G) sono andate perdute con la procedura di 10 minuti del test Streptex*, tuttavia sono state identificate correttamente dopo estrazione di 60 minuti. Una coltura beta-emolitica è stata identificata come G con la procedura di 10 minuti e come B con l'estrazione di 60 minuti. La coltura, fortemente contaminata da Corynebacterium spp., non era disponibile per ulteriori studi. Il ceppo di Corynebacterium spp. di questa coltura non ha prodotto alcuna reazione con Streptex*.

Inoltre, 13 colture beta-emolitiche e 3 colture alfa- o non-emolitiche hanno fornito una reazione positiva con più di un gruppo streptococcico con il metodo di riferimento, con Streptex* o con

entrambi. Presumibilmente, si trattava di colture miste che tuttavia non erano disponibili per la conferma.

Ventiquattro colture di streptococchi, che non sono state identificate come appartenenti ai gruppi A, B, C, D, F o G con il metodo di riferimento, non hanno mostrato alcuna reazione con Streptex*.

Tabella 1

Identificazione della coltura (estrazione in 10 minuti)
Risultato Streptex*

		A	B	C	D	F	G	Nessuna reazione
Metodo di riferimento	A	149						
	B		214[a]				1	1
	C			64				
	D				120[b]			1
	F					14		1
	G						137	1

[a] = 197 streptococchi beta-emolitici + 17 alfa- o non-emolitici
[b] = 72 streptococchi beta-emolitici + 48 alfa- o non-emolitici

Tabella 2

Identificazione della coltura (estrazione in 60 minuti)
Risultato Streptex*

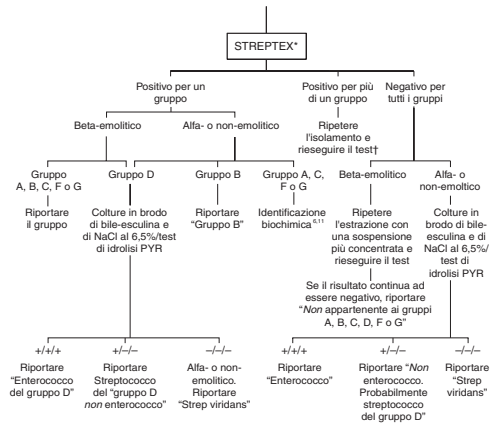
		A	B	C	D	F	G
Metodo di riferimento	A	149					
	B		216[a]				
	C			64			
	D				121[b]		
	F					15	
	G						138

[a] = 199 streptococchi beta-emolitici + 17 alfa- o non-emolitici
[b] = 73 streptococchi beta-emolitici + 48 alfa- o non-emolitici

Figura 3

Schema proposto per l'identificazione dei gruppi degli streptococchi*[2,9]

Esaminare la coltura di streptococchi per rilevare il tipo di emolisi e le caratteristiche della coltura (se alfa-emolitica, escludere la specie *Streptococcus pneumoniae).*
Produrre una sottocoltura nel caso in cui il microrganismo sospetto sia scarso o in eccesso.



†Sono stati riscontrati ceppi rari che sembrano possedere più di un gruppo di antigeni. Dopo aver verificato il corretto funzionamento dei reagenti (cfr: **Controllo di qualità**), i ceppi che causano problemi di classificazione devono essere inviati ad un laboratorio di riferimento per l'identificazione.

11. LEGENDA DEI SIMBOLI

REF	Numero di catalogo
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limite di temperatura (temp. di conservazione)
Σ N	Contiene materiali sufficienti per <n> test
LOT	Codice del lotto (numero lotto)
	Utilizzare entro (data di scadenza)
	Produttore

12. BIBLIOGRAFIA

1. **Birch, B.R., Keaney, M.G.L., et al (1984).**
Antibiotic susceptibility and biochemical properties of Streptococcus faecalis strains reacting with both D and G antisera. J. Clin. Path., 37, 1289.
2. **Chorpenning, F.W., Cooper, H.R., et al (1975).**
Cross-Reactions of Streptococcus mutans Due to Cell Wall Teichoic Acid. Infect. Immun., 12, 586.
3. **Ederer, G.M., Herrmann, M.M., et al (1972).**
Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Hemolytic Streptococci. Appl. Microbiol., 23, 285.
4 **El Kholy, A., Wannamaker, L.W., et al (1975).**
Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. Appl. Microbiol., 28, 836.
5. **Elliot, S.D. and Taj, J.Y. (1978).**
The Type-Specific Polysaccharides of Streptococcus suis. J. Exp. Med., 148, 1699.
6. **Facklam, R.R. and Carey, R.B. (1991).**
Streptococci and Aerococci. Manual of Clinical Microbiology, 5th Ed., Edited by Balows, A., Hausler, W.J., Herrman, K.L., Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J. American Society for Microbiology, Washington D.C. Pages 238-257.
7. **Facklam, R.R. (1977).**
Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. J. Clin. Microbiol., 5, 184.
8. **Facklam, R.R., Cooksey, R.C., et al (1979).**
Evaluation of Commercial Latex Agglutination Reagents for Grouping Streptococci. J. Clin. Microbiol., 10, 641.
9. **Facklam, R.R. and Smith, P.B. (1976).**
The Gram Positive Cocci. Human Pathology, 7, 187.
10. **Fuller, A.T. (1938).**
The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. Brit. J. Exp. Path., 19, 130.
11. **Harvey, C.L. and McIllmurray, M.B. (1984).**
Streptococci with dual antigen specificity for Lancefield groups D and G. Eur. J. Clin. Microbiol., 3, 526.
12. **Lancefield, R.C. (1938).**
A Micro Precipitin-Technic for Classifying Hemolytic Streptococci, and Improved Methods for Producing Antisera. Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y., 38, 473.
13. **Maxted, W.R. (1948).**
Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. Lancet, ii, 255.
14. **Medrek, T.F. and Barns, E.M. (1962).**
The Influence of the Growth Medium on the Demonstration of a Group D Antigen in Faecal Streptococci. J. gen. Microbiol., 28, 701.
15. **Nowlan, S.S. and Deibel, R.H. (1967).**
Group Q Streptococci. 1. Ecology, Serology, Physiology, and Relationship to Established Enterococci. J. Bact., 94, 291.
16. **Parker, M.T. and Ball, L.C. (1976).**
Streptococci and Aerococci Associated with Systemic Infection in Man. J. Med. Microbiol., 9, 275.
17. **Rantz, L.A. and Randall, E. (1955).**
Use of Autoclaved Extracts of Hemolytic Streptococci for Serological Grouping. Stanford Med. Bull., 13, 290.
18. **Watson, B.K., Moellering, R.C., et al (1975).**
Identification of Streptococci: Use of Lysozyme and Streptomyces albus Filtrate in the Preparation of Extracts for Lancefield Grouping. J. Clin. Microbiol., 1, 274.
19. **Data on file**

CE

*marchio registrato

IFU X7829A, revisione novembre 2014

Remel Europe Ltd, Clipper Boulevard West, Crossways, Dartford, Kent DA2 6PT, UK

Per l'assistenza tecnica, rivolgersi al distributore di zona.