

Revisions

SO 0191-5

Rev from	Rev to	ECO #
E	F	5359-10

Notes:

1. BD Cat. Number 240951
2. Blank (Sheet) Size: Length: 6.25" Width: 10.5"
 Number of Pages: 32 Number of Sheets: 8
 Page Size: Length 6.25" Width 5.25" Final Folded Size: 3.125" x 5.25"
3. Style (see illustrations below): # 5



4. See Specification Control Number OEM VS 240951 for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# 3278 Green
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	<p style="font-size: small;">COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION</p>	Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: X5464		Category and Description <p style="text-align: center;">Package Insert, BBL Streptocard Acid Latex Test</p>	Sheet: 1 of 33 <hr/> Scale: N/A	A

BD BBL™ Streptocard™ Acid Latex Test

A streptococcus grouping test using nitrous acid extraction for the rapid identification of β -hemolytic streptococci of Lancefield types A, B, C, F and G.

English:	pages	1 – 6	Italiano:	pagine	18 – 23
Français :	pages	7 – 12	Español:	páginas	23 – 28
Deutsch:	Seiten	12 – 17	Flow Chart		29



X5464F
2010/06

Pokyny vám poskytnú miestni zástupcov spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar. / **Свържете се с местния представител на BD за инструкции.** / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкции свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзінiздiң жергiлiктi БД өкiлiне жүгiнiп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

The **BBL™ Streptocard™** Acid Latex Test is a latex test system for the qualitative identification of Lancefield streptococcal groups A, B, C, F and G. The test is intended for use with streptococcus colonies that are β -hemolytic on blood agar.

SUMMARY AND EXPLANATION

β -hemolytic streptococci can be differentiated into Lancefield groups based on specific carbohydrate antigens.¹ Differentiation is necessary for clinical treatment and for epidemiological purposes.² For extraction of the group specific antigen prior to grouping a variety of methods have been used including hot acid,¹ hot formamide³ and enzyme extraction methods.^{4,5} The **BBL Streptocard** Acid Latex Test is based on modified nitrous reagents,^{6,7} which will rapidly extract the group antigens without the need for any incubation.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The **BBL Streptocard** Acid Latex Test latex particles are sensitized with group specific antibody and will agglutinate in the presence of homologous antigen. The group specific antigens are extracted from streptococci by using an instant room temperature nitrous acid extraction procedure. The extract is then neutralized and the antigens are identified by agglutination.

REAGENTS

Extraction Reagent 1	1 x 8.0 mL	Contains sodium nitrite solution with a pH indicator, with 0.1% sodium azide (preservative).
Extraction Reagent 2	1 x 8.0 mL	Contains 0.4N hydrochloric acid.
Extraction Reagent 3	1 x 8.0 mL	Contains neutralizing solution, with 0.1% sodium azide (preservative).
Test Latex A	1 x 2.5 mL	Test Latex A, B, C, F, and G consist of blue latex particles sensitized with rabbit antibody to appropriate group specific antigen, suspended in buffer with 0.1% sodium azide (preservative).
Test Latex B	1 x 2.5 mL	
Test Latex C	1 x 2.5 mL	
Test Latex F	1 x 2.5 mL	
Test Latex G	1 x 2.5 mL	
Control +	1 x 2.5 mL	Positive Control containing extracted antigen from streptococcal groups A, B, C, F and G in a sodium nitrite solution with 0.1% sodium azide as a preservative.
Reaction Cards	50	Disposable; 6 reaction circles per card.
Mixing Sticks	250	Disposable.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

Caution: This product contains natural rubber latex which may cause allergic reactions.

Do not use test components beyond the expiration date.

Observe established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. Extraction Reagents do not always render bacteria nonviable. After use, contaminated materials must be sterilized by autoclaving.

WARNING: Toxic if swallowed. Corrosive, causes burns. When using do not eat or drink. Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection. In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately.

Reagents contain sodium azide. Very toxic by inhalation, in contact with skin, and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

REAGENTS: Extraction Reagents 1 and 2 contain a mild irritant and a weak acid respectively. Avoid direct contact by wearing suitable protective equipment. If the material comes into contact with the skin, mucous membranes or eyes immediately wash the area by rinsing with plenty of water.

Do not allow reagents to become contaminated by allowing the dropper tip to touch the specimen on the reaction card. Ensure caps are securely fitted on reagent bottles after each use to prevent contamination and drying out of the reagents.

CARDS: Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results.

Storage: Upon receipt, store kit at 2 – 8°C. DO NOT FREEZE. Under these conditions the reagents will retain their reactivity until the date shown on the bottle labels. After use return the kit to the refrigerator storing bottles in an upright position.

Product Deterioration: Do not use the kit if the Control + does not yield appropriate results. Refer to “User Quality Control.” Examine the Control + and Extraction Reagents for evidence of contamination, evaporation or other signs of deterioration, such as turbidity. Examine the Test Latex, and do not use if not a homogenous suspension.

Preparation of Cultures: Samples for identification should be grown on a blood agar plate 16 – 24 h at 35 ± 2°C. Note the hemolytic reaction of suspect colonies. It is also advisable to perform a Gram stain and catalase test to

confirm the presence of gram-positive, catalase-negative cocci. For further details, please consult standard references.²

Organisms of groups A, B, C, F or G are normally β -hemolytic. If an α - or non-hemolytic organism appears to belong to one of these groups, the species identification should be confirmed by biochemical tests.

PROCEDURES

Review “Precautions,” “Product Deterioration,” “Preparation of Cultures” and “Test Procedure” prior to performing procedures. The test area, all reagents, test specimens and test components should be at room temperature (15 – 30°C) when used.

Materials Provided: All materials as listed under “Reagents” and accessories.

Materials Required But Not Provided: Microbiological loop, Pasteur pipettes and glass or plastic 12 x 75 mm tubes. Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of serologic specimens.

Test Procedure: If fewer tests than six are to be performed, the card may be cut with scissors and the unused portion saved for future use.

1. Label one 12 x 75 mm test tube for each specimen to be tested.
2. Add 3 drops of **Extraction Reagent 1** to each specimen tube by holding the bottle and gently squeezing.
3. Add 3 drops of **Extraction Reagent 2** to each specimen tube. This will change the color of the solution from blue to orange/yellow.
4. Select 2 – 5 similar β -hemolytic colonies with a microbiological loop and emulsify in the extraction solution. If the culture is mixed avoid obvious contamination. Do not use a swab, because it will absorb too much of the liquid volume. If the colonies are small, use more than five and ensure that at least a slightly turbid suspension is obtained.
5. Add 3 drops of **Extraction Reagent 3** to each specimen tube. The solution color will now revert to a pale blue indicating the solution is neutralized.
If not assayed immediately, store the tube tightly capped at 2 – 8°C. Test within 24 h.
6. Dispense 1 drop from each Test Latex to be tested onto a separate circle on the reaction card.
7. Using a Pasteur pipette add 1 drop of extract to each of the five test circles.
8. With the mixing sticks provided, spread the mixture over the entire area of the circle, using a separate stick for each.
9. Gently rock the card manually for up to 1 min and observe for agglutination under normal lighting conditions. Read macroscopically; do not use magnification to aid reading.
10. Dispose of the reaction card in an appropriate biohazard container.

User Quality Control: Initially, upon receipt, the laboratory should check each shipment or lot of material prior to use to verify the performance of the product.

Streptococci of known group reactivity should be subjected to the complete test procedure. The performance of the test is assessed by the presence of agglutination in one latex suspension only, with the other four suspensions showing a negative (no agglutination) reaction for each reference strain tested. This will evaluate both the efficacy of the extraction procedure and the specificity of each reagent.

The positive control procedure and negative control procedure should be tested each day of use. Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

POSITIVE CONTROL – Shake each Test Latex and dispense 1 drop onto a separate circle of the card. Dispense 1 drop of Control + onto each of the five circles. Spread each mixture over the entire area of the circle, using a separate

stick for each Test Latex. Rock the card manually for 1 min. Each of the five Test Latex should demonstrate obvious agglutination.

NEGATIVE CONTROL – Shake each Test Latex and dispense 1 drop onto a separate circle of the card. Prepare the Negative Control by adding extraction reagents to 12 x 75 mm test tube per steps 1, 2, 3 and 5 (Refer to section "Test Procedure" above). Dispense 1 drop of Negative Control onto each of the five circles on a reaction card. Spread each mixture over the entire area of the circle, using a separate stick for each Test Latex. Rock the card manually for 1 min. No obvious agglutination should be evident for any Test Latex suspension.

The **BBL™ Streptocard™** Positive Control (Cat. No. 240965) contains a mixture of extracted antigen from streptococcal groups A, B, C, D, F and G with sodium azide as a preservative. This control may also be used to perform quality control when using the individual test latex reagents (see "Availability").

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

Positive Result: The test should be considered positive when agglutination occurs within 1 min with one Test Latex or when one Test Latex gives a substantially stronger reaction than the other four.

Negative Result: A negative result is obtained if no agglutination occurs after 1 min.

Granular or Stringy Reactions: Occasional granular or stringy reactions may be seen due to the particulate nature of the test material. When such reactions are seen to occur they should be interpreted using the following criteria:

The result is positive when there is noticeable clearing of the blue background in the Test Latex.

The result is negative when there is no noticeable clearing of the blue background in the Test Latex.

Uninterpretable Results: If more than one Test Latex strongly agglutinates, then the possibility exists that a mixed culture of streptococcal groups is present. Examine the plate and carefully select organisms of like morphology and retest. Subculture, if the suspected organism is overgrown or insufficient. If the reaction pattern is unaltered, reisolate the organism or perform additional biochemical tests.

Refer to Flow Chart 1 (see p. 30), "Recommended Scheme for Grouping β -hemolytic Streptococci."

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

False negative results can occur if an inadequate amount of the culture is used for extraction. Some streptococci, notably group F, produce minute colonies. When this occurs, use more colonies to prepare extract.

Nearly all the β -hemolytic streptococci isolated from human infections possess specific carbohydrate antigens, which can be recognized by serological reactivity. Attempts to extend these procedures to non β -hemolytic streptococci have been unsuccessful except for group B.²

Streptococcus pneumoniae share common antigenic determinant(s) with group C streptococci⁸ and therefore may react with Test Latex C. *S. pneumoniae* colonies are typically α -hemolytic.

Certain strains of *Streptococcus milleri* possess A, C, F or G antigens and may therefore react with one or more of these Test Latex. *S. milleri* typically form minute and usually non-hemolytic colonies on blood agar plates. Identification of *S. milleri* may be performed using a scheme as that described by Lawrence et al.⁹

Streptococcus porcinus which is usually associated with swine, may react with Test Latex B. Differentiation with Group B streptococcus may be based on *S. porcinus* typically giving more pronounced zones of hemolysis and a positive pyrrolidonyl-arylamidase (PYR) test.¹⁰

Staphylococci and *Listeria monocytogenes* are β -hemolytic and can be distinguished from streptococci by their cellular morphology and catalase reactions.^{11,12}

Some strains of group D streptococci have been found which also possess group G antigen.^{13,14} For Group D *Enterococcus*, the group D component of these strains is not extracted efficiently by the reagents supplied with this kit and they should be identified using biochemical tests or the **BBL™ Streptocard™** Enzyme Latex Test (See "Availability").

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the **BBL Streptocard** Acid Latex Test was evaluated at three clinical sites. A total of 470 clinical isolates were tested. The results obtained with the **BBL Streptocard** Acid Latex Test were compared with test results obtained with other commercially available latex kits (Table 1).

Table 1

Organisms	# Tested	BBL Streptocard Acid Latex Test Sensitivity
Streptococci, Group A	111	111/111 100%
Streptococci, Group B	120	117/120 ¹ 98%
Streptococci, Group C	83	80/83 ² 96%
Streptococci, Group F	66	59/66 ³ 89%
Streptococci, Group G	90	90/90 100%
Total	470	457/470 97%

1. At one site, upon initial testing, 3 negative reactions were observed. Discrepancies were related to insufficient number of colonies used. Discrepancies were resolved upon retest.
2. At one site, upon initial testing, 3 negative reactions were observed. Discrepancies were related to insufficient number of colonies used. Discrepancies were resolved upon retest.
3. At one site, upon initial testing, 7 negative reactions were observed. Discrepancies were related to insufficient number of colonies used. 5 of the 7 discrepancies were resolved upon retest.

Overall Agreement of **BBL Streptocard** Acid Latex Test = 97%.

Further testing was performed to demonstrate the specificity of the **BBL Streptocard** Acid Latex Test using organisms other than β -hemolytic Streptococci (Table 2). All results of the **BBL Streptocard** Acid Latex Test were compared to test results using other commercially available latex kits. These isolates demonstrated negative results in all cases.

Table 2

Organism	# Tested	BBL Streptocard Acid Latex Test Result
Alpha-hemolytic Streptococci	46	–
Non-hemolytic Streptococci	22	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	–
Coagulase Negative Staphylococci	22	–
Group D <i>Streptococcus</i> (<i>Enterococcus</i> and Non- <i>Enterococcus</i> Group D)	61	–
<i>Listeria</i>	4	–

BBL Streptocard Acid Latex Test demonstrated 100% specificity.

The performance of the **BBL Streptocard** Acid Latex Test was tested with 24 ATCC™ strains of streptococci (obtained from American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). Masked randomized specimens were tested on 3 consecutive days; 8 group A, 6 group B, 5 group C, 2 group F and 3 group G. 100% agreement was observed. All streptococci were correctly grouped and there was no cross-reaction observed with the **BBL Streptocard** Acid Latex Test.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
240951	BBL™ Streptocard™ Acid Latex Kit, 50 Tests.
240950	BBL™ Streptocard™ Enzyme Latex Kit, 50 Tests.
240960	BBL™ Streptocard™ Test Latex A, one 2.5 mL bottle.
240961	BBL™ Streptocard™ Test Latex B, one 2.5 mL bottle.
240865	BBL™ Streptocard™ Test Latex C, one 2.5 mL bottle.
240866	BBL™ Streptocard™ Test Latex F, one 2.5 mL bottle.
240867	BBL™ Streptocard™ Test Latex G, one 2.5 mL bottle.
240963	BBL™ Streptocard™ Extraction Reagents 1, 2 and 3, box of one each, 8 mL bottle.
240965	BBL™ Streptocard™ Positive Control, one 2.5 mL bottle.
240966	BBL™ Streptocard™ Test Cards, box of 50.

REFERENCES

1. Lancefield, R.C. 1938. Proc. Soc. Exp. Biol., 38: 473-478.
2. Ruoff, K.L. 1995. *Streptococcus*, p. 299-307. In Murray, P.R., Baron, E.J., Tenover, F.C. and Tenover, R.H. (ed.), Manual of Clinical Microbiol., 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Fuller, A.T. 1938. Brit. J. Exp. Path., 19: 130-139.
4. Maxted, W.R. 1948. Lancet ii: 255-256.
5. Ederer, G.M., Herman, M.M., Bruce, R., Matsen, J.M. and Chapman, S.S. 1972. App. Microbiol., 23: 285-288.
6. Data on file, BD Diagnostic Systems.
7. El Kholy, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M. 1974. Appl. Microbiol., 28: 836-839.
8. Lee, P.C. and Wetherall, B.L. 1987. J. Clin. Microbiol., 25: 152-153.
9. Lawrence, J., Yaiko, D.M. and Hadley, W.K. 1985. J. Clin. Microbiol., 22: 772-777.
10. Thompson, T. and Facklam, R. 1997. J. Clin. Microbiol. 35: 1885-1886.
11. Kloos, W.E. and Bannerman. 1995. *Staphylococcus and Micrococcus*, p. 282-298. In (same as ref. 2).
12. Swaminathan, B., Rocourt, J. and Bille, J. 1995. *Listeria*, p. 341-348. In (same as ref. 2).
13. Hopfer, R.L., Pinzon, R., Wenglar, M. and Rolston, K.V.I. 1985. J. Clin. Microbiol., 22: 677-679.
14. Birch, B.R., Keaney, M.G.L. and Ganguli, L.A. 1984. Lancet ii: 856-857.

BD BBL Streptocard Acid Latex Test

Test d'agglutination des streptocoques utilisant un procédé d'extraction à l'acide nitreux pour l'identification rapide des streptocoques β-hémolytiques de type A, B, C, F et G de Lancefield.

Français

APPLICATION

Le **BBL Streptocard Acid Latex Test** (test d'acidité au latex **BBL Streptocard**) est un test au latex permettant l'identification qualitative des streptocoques des groupes A, B, C, F et G de Lancefield. Le test est conçu pour être utilisé avec des colonies de streptocoques qui sont β-hémolytiques sur la gélose au sang.

RESUME ET EXPLICATION

Les streptocoques β-hémolytiques peuvent être identifiés par groupe d'appartenance Lancefield d'après les antigènes carbohydrates spécifiques.¹ La différenciation est indispensable pour le traitement clinique et à des fins épidémiologiques.² Plusieurs méthodes, incluant l'acide chaud,¹ le formamide chaud³ et l'extraction enzymatique,^{4,5} ont été utilisées pour extraire l'antigène spécifique au groupe avant l'agglutination. Le test **BBL Streptocard Acid Latex Test** est basé sur des réactifs nitreux modifiés,^{6,7} qui extrairont rapidement les antigènes du groupe sans incubation.

PRINCIPES DE LA METHODE

Les particules de latex du **BBL Streptocard Acid Latex Test** sont sensibilisées avec l'anticorps spécifique au groupe et s'agglutinent en présence d'un antigène homologue. Les antigènes spécifiques au groupe sont extraits des streptocoques grâce à un procédé d'extraction à l'acide nitreux à température ambiante. L'extrait est ensuite neutralisé et les antigènes sont identifiés par agglutination.

REACTIFS

Réactif d'extraction 1	1 × 8,0 mL	Contient une solution de nitrite de sodium associée à un indicateur de pH, avec 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Réactif d'extraction 2	1 × 8,0 mL	Contient 0,4N d'acide chlorhydrique.
Réactif d'extraction 3	1 × 8,0 mL	Contient une solution de neutralisation avec 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Latex pour test A	1 × 2,5 mL	Les latex pour test A, B, C, F et G contiennent des particules bleues de latex sensibilisées avec des anticorps de lapin à l'antigène spécifique au groupe approprié et mises en suspension dans un tampon comprenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
Latex pour test B	1 × 2,5 mL	
Latex pour test C	1 × 2,5 mL	
Latex pour test F	1 × 2,5 mL	
Latex pour test G	1 × 2,5 mL	
Contrôle +	1 × 2,5 mL	Témoin positif contenant de l'antigène extrait de streptocoques de groupe A, B, C, F et G dans une solution à base de nitrite de sodium avec 0,1 % d'azide de sodium comme agent conservateur.
Cartes de réaction	50	Jetables ; 6 cercles de réaction par carte.
Batônnets de mélange	250	Jetables.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Attention : Ce produit contient un latex de caoutchouc naturel qui peut causer des réactions allergiques. Ne pas utiliser les composants du test au-delà de la date de péremption.

Observer les précautions en vigueur en matière de lutte contre les dangers microbiologiques durant toutes les procédures. Le réactif d'extraction ne rend pas toujours les bactéries non viables. Après emploi, stériliser les matériaux contaminés par autoclavage.

AVERTISSEMENT : Toxique en cas d'ingestion. Corrosif - provoque des brûlures. Ne pas manger ou boire pendant l'utilisation. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.

Les réactifs contiennent de l'azide de sodium, qui est extrêmement toxique par inhalation, contact avec la peau ou ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement à grande eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

REACTIFS : Les réactifs d'extraction 1 et 2 contiennent, respectivement, un irritant léger et un acide faible. Evitez le contact direct en portant un équipement de protection approprié. Si le matériau entre en contact avec la peau, les muqueuses ou les yeux, laver immédiatement la région affectée en rinçant avec beaucoup d'eau.

Le test au latex peut être contaminé si l'extrémité du compte-gouttes touche accidentellement l'échantillon sur la carte de réaction. S'assurer que les flacons de réactifs sont bien rebouchés après chaque emploi pour éviter une contamination et un dessèchement des réactifs.

CARTES : Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones de test car tout dépôt gras risque de fausser les résultats.

Conservation : Dès réception, conserver la trousse à 2 – 8 °C. NE PAS CONGELER. Dans ces conditions, les réactifs restent actifs jusqu'à la date indiquée sur les étiquettes des flacons. Après emploi, remettre la trousse dans le réfrigérateur en rangeant les flacons en position verticale.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser la trousse si le contrôle + ne donne pas les résultats escomptés. Se référer au « Contrôle de qualité par l'utilisateur ». Vérifier si le contrôle + et les réactifs d'extraction ne sont pas contaminés, s'ils ne se sont pas évaporés ou s'il ne présentent pas d'autres signes de détérioration comme la turbidité. Examiner les latex pour test et ne pas les utiliser s'ils ne forment pas une suspension homogène.

Préparation des cultures : Les échantillons à identifier doivent être cultivés sur une plaque de gélose au sang pendant 16 – 24 h à 35 °C ± 2 °C. Noter la réaction hémolytique des colonies suspectes. Il est également recommandé d'effectuer une coloration de Gram et un test à la catalase pour confirmer la présence de cocci Gram-positifs et catalase négatifs. Pour de plus amples détails, consulter les références standard.²

Les organismes des groupes A, B, C, F ou G sont, normalement, β-hémolytiques. Si un organisme α- ou non-hémolytique apparaît dans l'un de ces groupes, l'identification des espèces doit être confirmée par des tests biochimiques.

MODE OPERATOIRE

Relire les rubriques « Précautions », « Détérioration du produit », « Préparation des cultures » et « Méthode de test » avant de procéder au test. Lors du test, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent tous être à température ambiante (15 – 30 °C).

Matériaux fournis : tout le matériel énuméré à la rubrique « Réactifs » et les accessoires.

Matériaux requis mais non fournis : anse microbiologique, pipettes pasteur et tubes à essai en verre ou en plastique de 12 x 75 mm. L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Mode opératoire du test : si moins de six tests sont à faire, la carte du test peut être coupée avec des ciseaux et les portions inutilisées conservées pour des analyses ultérieures.

1. Etiqueter un tube à essai de 12 x 75 mm pour chaque échantillon à tester.
2. Ajouter 3 gouttes du **Réactif d'extraction 1** dans chaque tube à essai en tenant le flacon et en pressant légèrement.
3. Ajouter 3 gouttes du **Réactif d'extraction 2** dans chaque tube à essai. La solution passera du bleu au jaune orangé.
4. Prélever 2 à 5 colonies β -hémolytiques semblables avec une anse microbiologique et les émulsifier dans l'enzyme d'extraction. Si la culture est mixte, éviter la contamination évidente. Ne pas utiliser d'écouvillon car il absorbera une trop grande quantité du volume liquide. Si les colonies sont petites, en utiliser plus de cinq et s'assurer qu'on obtient au moins une suspension légèrement trouble.
5. Ajouter 3 gouttes du **Réactif d'extraction 3** dans chaque tube à essai. Une fois neutralisée, la solution redeviendra bleu pâle.

Si le test n'est pas effectué immédiatement, stocker le tube à essai à 2 – 8 °C en le bouchant hermétiquement. Refaire le test dans les 24 h.

6. Déposer 1 goutte de chaque latex pour test sur un cercle différent de la carte de réaction.
7. Avec une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte d'extrait dans chacun des cinq cercles du test.
8. A l'aide des bâtonnets de mélange fournis, étaler le mélange sur la totalité de la surface du cercle en utilisant un bâtonnet différent pour chaque cercle.
9. Agiter doucement la carte manuellement pendant 1 min et observer l'agglutination dans des conditions de lumière normale. Faire la lecture à l'œil nu ; ne pas utiliser de loupe pour faciliter la lecture.
10. Jeter la carte de réaction dans un récipient approprié pour matériel posant un risque biologique.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Dès réception, le laboratoire devrait contrôler chaque expédition ou lot de matériel avant utilisation afin de vérifier la performance du produit.

Les streptocoques dont la réactivité au groupe est connue doivent être soumis au mode opératoire complet du test. La performance du test doit être confirmée par la présence d'une agglutination dans une suspension au latex seulement et l'absence d'agglutination dans les quatre autres suspensions pour chaque souche de référence analysée. Ceci permettra d'évaluer l'efficacité de la procédure d'extraction et la spécificité de chaque réactif.

Les procédures de contrôle positif et négatif doivent être testées chaque jour d'utilisation. Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

CONTROLE POSITIF – Mélanger chaque latex pour test et déposer 1 goutte sur différents cercles de la carte. Déposer 1 goutte de contrôle + sur chacun des cinq cercles. Etaler chaque mélange sur la totalité de la surface du cercle, en utilisant un bâtonnet différent pour chaque latex pour test. Agiter la carte manuellement pendant 1 min. Chacun des cinq tests au latex doit démontrer une agglutination visible.

CONTROLE NEGATIF – Mélanger chaque latex pour test et déposer 1 goutte sur différents cercles de la carte. Préparer le contrôle négatif en ajoutant les réactifs d'extraction dans le tube à essai de 12 x 75 mm et en suivant les étapes 1, 2, 3 et 5 (se référer à la rubrique « Mode opératoire du test » ci-dessus). Déposer 1 goutte

de contrôle négatif sur chacun des cinq cercles de la carte de réaction. Etaler le mélange sur la totalité de la surface du cercle, en utilisant un bâtonnet différent pour chaque latex pour test. Agiter la carte manuellement pendant 1 min. Aucune agglutination ne doit se produire dans les suspensions de latex pour test.

Le contrôle positif **BBL Streptocard** Positive Control (n° réf. 240965) contient un mélange d'antigène extrait des streptocoques de groupe A, B, C, D, F et G avec de l'azide de sodium comme agent conservateur. Ce contrôle peut aussi être utilisé pour effectuer un contrôle de la qualité à l'aide des réactifs au latex fournis individuellement (voir « Conditionnement »).

INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultat positif : Le test doit être considéré positif lorsque l'agglutination se produit dans l'espace de 1 min avec un latex pour test ou lorsqu'un latex pour test produit une réaction substantiellement plus forte que les quatre autres.

Résultat négatif : On obtient un résultat négatif lorsqu'il n'y a aucune agglutination après 1 min.

Réaction granuleuse ou douteuse : Parfois des réactions granuleuses ou douteuses peuvent être observées du fait de la nature particulière du test. De telles réactions doivent être interprétées en fonction des critères suivants :

Le résultat est positif si le fond bleu du latex pour test s'est éclairci de façon notable.

Le résultat est négatif s'il n'y a aucun éclaircissement notable du fond bleu du latex pour test.

Résultats ininterprétables : Lorsque plus d'un latex pour test s'agglutine fortement, il se peut qu'il y ait une culture mixte de groupes streptococciques. Examiner la plaque, sélectionner minutieusement les organismes de morphologie identique et recommencer le test. Si les organismes suspectés sont trop nombreux ou insuffisants, repiquer. Si le schéma de la réaction demeure inchangé, isoler à nouveau l'organisme ou effectuer des tests biochimiques supplémentaires.

Se référer à l'organigramme 1 (voir p. 30), « Plan de classification recommandé pour le groupage des Streptocoques β -hémolytiques ».

LIMITES DE LA METHODE

Il se peut qu'on obtienne de faux résultats négatifs lorsqu'on utilise une quantité inadéquate de la culture pour l'extraction. Certains streptocoques, particulièrement le groupe F, produisent de minuscules colonies. Si c'est le cas, utiliser davantage de colonies pour préparer l'extrait.

Pratiquement tous les streptocoques β -hémolytiques isolés à partir des infections humaines possèdent des antigènes carbohydrates spécifiques qui peuvent être identifiés par réactivité sérologique. Lorsqu'on a tenté d'élargir ces procédures aux streptocoques β -hémolytiques, on a constaté un échec avec tous les groupes à l'exception de B.²

Le *Streptococcus pneumoniae* partage un (des) déterminant(s) antigénique(s) commun(s) avec les streptocoques du groupe C^B et peut donc réagir avec le latex pour test C. Les colonies de *S. pneumoniae* sont généralement α -hémolytiques.

Certaines souches de *Streptococcus milleri* possèdent des antigènes A, C, F ou G et peuvent donc réagir avec un ou plusieurs latex pour test. En général, *S. milleri* forme de minuscules colonies non-hémolytiques sur les plaques de gélose au sang. L'identification du *S. milleri* peut s'effectuer en utilisant un schéma tel que celui qui est décrit par Lawrence et al.⁹

Le *Streptococcus porcinus*, généralement associé au porc, peut réagir avec le latex pour test B. La différenciation avec le Streptocoque de groupe B peut être basée sur le fait que le *S. porcinus* donne généralement des zones d'hémolyse plus prononcées et un test pyrrolidonyl-arylamidase (PYR) positif.¹⁰

Les staphylocoques et *Listeria monocytogenes* sont β -hémolytiques et peuvent être différenciés des streptocoques grâce à leur morphologie cellulaire et leurs réactions au test à la catalase.^{11,12}

On a remarqué que certaines souches des streptocoques du groupe D possédaient également un antigène au groupe G.^{13,14} En ce qui concerne l'*Enterococcus* du groupe D, le composant du groupe D de ces souches n'est pas extrait efficacement par les réactifs fournis dans cette trousse et devrait être identifié en utilisant des tests biochimiques ou le test enzymatique au latex **BBL Streptocard** Enzyme Latex Test (Voir « Conditionnement »).

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

La performance du test d'acidité au latex **BBL Streptocard Acid Latex Test** a été évaluée dans trois centres cliniques. Un total de 470 isolats cliniques ont été testés. Les résultats obtenus avec le **BBL Streptocard Acid Latex Test** ont été comparés à ceux d'autres troussees disponibles sur le marché (Tableau 1).

Tableau 1

Microorganismes	N° testés	Sensibilité au test BBL Streptocard Acid Latex Test
Streptocoques, Groupe A	111	111/111 100 %
Streptocoques, Groupe B	120	117/120 ¹ 98 %
Streptocoques, Groupe C	83	80/83 ² 96 %
Streptocoques, Groupe F	66	59/66 ³ 89 %
Streptocoques, Groupe G	90	90/90 100 %
Total	470	457/470 97 %

1. Dans un des centres, on a observé 3 réactions négatives lors de l'analyse initiale. Les résultats anormaux proviennent du nombre insuffisant de colonies utilisées. Ces résultats sont alors expliqués après une seconde analyse.
2. Dans un des centres, on a observé 3 réactions négatives lors de l'analyse initiale. Les résultats anormaux proviennent du nombre insuffisant de colonies utilisées. Ces résultats sont alors expliqués après une seconde analyse.
3. Dans un des centres, on a observé 7 réactions négatives lors de l'analyse initiale. Les résultats anormaux proviennent du nombre insuffisant de colonies utilisées. Une seconde analyse a éliminé 5 des 7 résultats anormaux.

Concordance générale du test **BBL Streptocard Acid Latex Test** = 97 %.

D'autres analyses ont été effectuées pour démontrer la spécificité du test d'acidité au latex **BBL Streptocard Acid Latex Test** en utilisant des organismes autres que les streptocoques β -hémolytiques (Tableau 2). Tous les résultats obtenus avec le **BBL Streptocard Acid Latex Test** ont été comparés à ceux d'autres tests disponibles sur le marché. Ces isolats ont donné des résultats négatifs dans tous les cas.

Tableau 2

Microorganisme	N° testés	Résultats du test BBL Streptocard Acid Latex Test
Streptocoques alpha-hémolytiques	46	–
Streptocoques non hémolytiques	22	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	–
Staphylocoques à coagulase négative	22	–
Streptocoques du groupe D (Groupe D <i>Enterococcus</i> et Non <i>Enterococcus</i>)	61	–
<i>Listeria</i>	4	–

Spécificité du test **BBL Streptocard Acid Latex Test** = 100 %.

La performance du test **BBL Streptocard Acid Latex Test** a été testée avec 24 souches ATCC de streptocoques (provenant de l'American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). Des échantillons masqués et aléatoires, ont été testés sur 3 jours consécutifs ; 8 du groupe A, 6 du groupe B, 5 du groupe C, 2 du groupe F et 3 du groupe G. Les résultats observés ont donné 100 % de concordance. Tous les streptocoques ont été regroupés correctement et aucune réaction croisée n'a été constatée avec le **BBL Streptocard Acid Latex Test**.

CONDITIONNEMENT

N° Réf.	Description
240951	BBL Streptocard Acid Latex , 50 tests.
240950	BBL Streptocard Enzyme Latex , 50 tests.
240960	BBL Streptocard Test Latex A , un flacon de 2,5 mL.
240961	BBL Streptocard Test Latex B , un flacon de 2,5 mL.
240865	BBL Streptocard Test Latex C , un flacon de 2,5 mL.
240866	BBL Streptocard Test Latex F , un flacon de 2,5 mL.
240867	BBL Streptocard Test Latex G , un flacon de 2,5 mL.
240963	BBL Streptocard Extraction Reagents 1, 2 et 3 , un seul par boîte, flacon de 8 mL.
240965	BBL Streptocard Positive Control , un flacon de 2,5 mL.
240966	BBL Streptocard Test Cards , boîte de 50.

REFERENCES : Voir la rubrique « References » du texte anglais.

BD BBL Streptocard Acid Latex Test Ein Test zur Gruppenbestimmung von Streptokokken unter Einsatz von Extraktion mit salpetriger Säure zur schnellen Identifizierung von betahämolisierenden Streptokokken der Lancefield-Gruppen A, B, C, F und G.

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der **BBL Streptocard Acid Latex Test** ist ein Latex-Agglutinationstestsystem zur qualitativen Identifizierung von Streptokokken der Lancefield-Gruppen A, B, C, F und G. Der Test ist zur Verwendung mit Streptokokken-Kolonien vorgesehen, die auf Blutagar β -hämolisierende Eigenschaften aufweisen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

β -hämolisierende Streptokokken können auf der Basis spezifischer Polysaccharidantigene in Lancefield-Gruppen eingeteilt werden.¹ Diese Differenzierung ist zur klinischen Behandlung und für epidemiologische Zwecke erforderlich.² Zur Extraktion des gruppenspezifischen Antigens vor der Gruppenbestimmung wurden verschiedene Methoden wie z.B. heiße Säure,¹ heißes Formamid³ und Enzymextraktionsverfahren eingesetzt.^{4,5} Die Grundlage des Testkits **BBL Streptocard Acid Latex Test** bilden modifizierte salpetrige Säurereagenzien,^{6,7} die ohne jegliche Inkubation eine rasche Extraktion der Gruppenantigene bewirken.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die Partikel des **BBL Streptocard Acid Latex Tests** sind mit gruppenspezifischen Antikörpern sensibilisiert und agglutinieren bei Vorhandensein von homologem Antigen. Die gruppenspezifischen Antigene werden mit

Hilfe eines Schnellextraktionsverfahrens bei Raumtemperatur mit salpetriger Säure aus Streptokokken extrahiert. Der Extrakt wird anschließend neutralisiert und die Antigene werden durch Agglutination identifiziert.

REAGENZIEN

Extraktionsreagenz 1	1 x 8,0 mL	Enthält Natriumnitritlösung mit einem pH-Indikator und mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).
Extraktionsreagenz 2	1 x 8,0 mL	Enthält 0,4 N Salzsäure.
Extraktionsreagenz 3	1 x 8,0 mL	Enthält Neutralisierungslösung mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel).
Testlatex A	1 x 2,5 mL	Die Testlatexuspensionen A, B, C, D, F und G enthalten blaue Latexpartikel, die mit Kaninchenantikörpern gegen das entsprechende gruppenspezifische Antigen sensibilisiert und in einer Pufferlösung mit 0,1 % Natriumazid (Konservierungsmittel) suspendiert sind.
Testlatex B	1 x 2,5 mL	
Testlatex C	1 x 2,5 mL	
Testlatex F	1 x 2,5 mL	
Testlatex G	1 x 2,5 mL	
Kontrolle +	1 x 2,5 mL	Positive Kontrolle mit extrahierten Antigenen von Streptokokken der Gruppen A, B, C, F und G in einer Natriumnitritlösung mit 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel.
Testkarte	50	Einweg-Testkarte mit 6 Testkreisen pro Karte.
Rührstäbchen	250	Einmalprodukte.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Vorsicht: Dieses Produkt enthält Naturgummi-Latex; das allergische Reaktionen auslösen kann. Testkomponenten nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Bakterien werden durch das Extraktionsreagenz nicht immer lebensfähig. Kontaminierte Materialien müssen nach der Verwendung im Autoklaven sterilisiert werden.

WARNHINWEIS: Giftig beim Verschlucken. Ätzend - Verursacht Verätzungen. Bei der Arbeit nicht essen und trinken. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfällen oder Unwohlsein sofort einen Arzt konsultieren.

Die Reagenzien enthalten Natriumazid. Sehr giftig beim Einatmen, bei Berührung mit der Haut und beim Verschlucken. Bei Kontakt mit Säuren entstehen hochgiftige Gase. Falls es zu Hautkontakt kommt, sofort mit reichlich Wasser abwaschen. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit sehr viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen zu vermeiden.

REAGENZIEN: Extraktionsreagenz 1 wirkt schwach reizend, Extraktionsreagenz 2 enthält eine schwache Säure. Direkten Kontakt durch Tragen geeigneter Schutz-ausrüstung vermeiden. Kommt das Material mit der Haut, den Schleimhäuten oder den Augen in Kontakt, müssen die betroffenen Stellen sofort mit reichlich Wasser gespült werden.

Die Tropfpipettenspitze darf das Untersuchungsmaterial auf der Testkarte nicht berühren, da die Reagenzien dadurch kontaminiert werden können. Die Verschlüsse der Reagenzfläschchen müssen nach jedem Gebrauch wieder fest angebracht werden, um eine Kontamination oder das Austrocknen der Reagenzien zu vermeiden.

KARTEN: Testfelder nicht berühren, da eventuelle Fettsuren zu falschen Ergebnissen führen können.

Aufbewahrung: Das Kit nach Erhalt bei 2 – 8 °C aufbewahren. NICHT EINFRIEREN. Unter diesen Bedingungen behalten die Reagenzien ihre Reaktivität bis zu dem auf dem Fläschchenetikett angegebenen Datum bei. Nach

der Verwendung die Packung wieder in den Kühlschrank stellen und die Fläschchen in aufrechter Position aufbewahren.

Produktverfall: Die Testpackung nicht verwenden, wenn die Kontrolle + nicht die erwarteten Ergebnisse liefert. Siehe „Qualitätssicherung durch den Anwender“. Die Kontrolle + und die Extraktionsreagenzien auf Anzeichen von Kontamination, Verdunstungsverlust oder andere Anzeichen von Verfall, beispielsweise Trübung, untersuchen. Testlatex überprüfen und nicht verwenden, wenn die Suspension nicht homogen ist.

Ansatz der Kulturen: Zur Identifizierung vorgesehene Proben sollten auf Blutagarplatten 16 – 24 Std. bei 35 ± 2 °C angezüchtet werden. Die Hämolysereaktion verdächtige Kolonien aufzeichnen. Zur Bestätigung der Anwesenheit grampositiver, katalasenegativer Kokken sollten ebenfalls eine Gram-Färbung und ein Katalasetest durchgeführt werden. Nähere Informationen hierzu sind Standardlehrbüchern zu entnehmen.²

Organismen der Gruppen A, B, C, F oder G sind normalerweise β -hämolisierend. Sollte ein α -hämolisierender oder nichthämolisierender Organismus zu einer dieser Gruppen gehören, ist die Spezies-Identifizierung durch biochemische Tests zu bestätigen.

VERFAHREN

Vor der Durchführung des Tests die Abschnitte „Sicherheitshinweise“, „Produktverfall“, „Ansatz der Kulturen“ und „Testverfahren“ gut durchlesen. Die Testfläche, alle Reagenzien, das gesamte Untersuchungsmaterial sowie die Verbrauchsmaterialien sollten bei Gebrauch Raumtemperatur (15 – 30 °C) aufweisen.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Alle Materialien, wie unter „Reagenzien“ aufgeführt, sowie Zubehör.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Mikrobiologische Öse, Pasteurpipetten und Glas- oder Kunststoffröhrchen, 12 x 75 mm. Ferner werden die zur Vorbereitung, Lagerung und Verarbeitung der serologischen Proben verwendeten Geräte und Laborutensilien benötigt.

Testverfahren: Wenn weniger als sechs Tests durchgeführt werden, kann die Karte mit einer Schere zugeschnitten und der nicht verwendete Teil für spätere Verwendung aufbewahrt werden.

1. Für jede zu untersuchende Probe ein 12 x 75 mm-Reagenzglas kennzeichnen.
2. 3 Tropfen **Extraktionsreagenz 1** in jedes Probenröhrchen hinzufügen; das Fläschchen hierzu leicht zusammendrücken.
3. 3 Tropfen **Extraktionsreagenz 2** in jedes Probenröhrchen hinzufügen. Die zuvor blaue Lösung färbt sich dadurch orange/gelb.
4. Mit einer mikrobiologischen Öse 2 – 5 ähnliche β -hämolisierende Kolonien aufnehmen und in der Extraktionslösung emulgieren. Bei einer Mischkultur eine offensichtliche Kontamination vermeiden. Keinen Abstrichputzer verwenden, da dadurch zuviel Flüssigkeit mit aufgesaugt wird. Bei kleinen Kolonien mehr als fünf verwenden und sicherstellen, dass eine zumindest schwach trübe Suspension erhalten wird.
5. 3 Tropfen **Extraktionsreagenz 3** in jedes Probenröhrchen hinzufügen. Die Farbe der Lösung ändert sich jetzt zu einem blassen Blau und zeigt damit an, dass die Lösung neutralisiert ist.
Bei erst später geplantem Assay die Röhrchen fest verschlossen bei 2 – 8 °C lagern. Innerhalb von 24 Std. analysieren.
6. Von jeder zu prüfenden Testlatexsuspension 1 Tropfen jeweils in ein neues Testfeld auf der Testkarte abgeben.
7. Mit einer Pasteurpipette in jedes der fünf Testfelder 1 Tropfen Extrakt geben.
8. Die Lösung mit den mitgelieferten Röhrstäbchen jeweils über den gesamten Testbereich des Kreises verteilen und dabei für jeden Kreis ein neues Röhrstäbchen verwenden.
9. Die Karte vorsichtig mit der Hand bis zu 1 Min lang schwenken und bei normaler Beleuchtung auf Agglutinationen prüfen. Makroskopisch ablesen; zum Ablesen keine Lupe verwenden.
10. Die Testkarte in einem geeigneten Behälter für biologisch gefährlichen Abfall entsorgen.

Qualitätssicherung durch den Anwender: Bei Empfang im Labor sollte die Leistungsfähigkeit des Produktes durch Testen jeder Lieferung oder Charge überprüft werden.

Streptokokken mit bekannter Gruppenreaktivität sollten einem kompletten Testverfahren unterzogen werden. Die Leistungsfähigkeit des Tests wird beurteilt anhand der Agglutination in nur einer Latexsuspension, wobei die vier anderen Suspensionen eine negative (keine Agglutination) Reaktion für jeden getesteten Kontrollstamm aufweisen. Dadurch lässt sich sowohl die Wirksamkeit des Extraktionsverfahrens als auch die Spezifität jedes Reagenzes bewerten.

Das positive und negative Kontrollverfahren sollten an jedem Tag des Einsatzes durchgeführt werden. Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

POSITIVE KONTROLLE – Jedes Testlatex schütteln und 1 Tropfen in einen separaten Kreis auf der Testkarte geben. 1 Tropfen Kontrolle + in jeden der fünf Kreise geben. Die Lösung jeweils über den gesamten Bereich des Kreises verteilen und dabei für jedes Testlatex ein neues Rührstäbchen verwenden. Die Karte 1 Min lang mit der Hand schwenken. Jedes der fünf Testlatex sollte eine deutliche Agglutination aufweisen.

NEGATIVE KONTROLLE – Jedes Testlatex schütteln und 1 Tropfen in einen separaten Kreis auf der Testkarte geben. Zur Vorbereitung der negativen Kontrolle entsprechend den im obigen Abschnitt „Testverfahren“ beschriebenen Schritten 1, 2, 3 und 5 Extraktionsreagenzien in ein 12 x 75 mm-Röhrchen geben. 1 Tropfen der negativen Kontrolle in jeden der fünf Kreise auf der Testkarte geben. Die Lösung jeweils über den gesamten Bereich des Kreises verteilen und dabei für jedes Testlatex ein neues Rührstäbchen verwenden. Die Karte 1 Min lang mit der Hand schwenken. Keine der Testlatexsuspensionen sollte eine sichtbare Agglutination aufweisen.

Die positive Kontrolle für **BBL Streptocard** (Best.-Nr. 240965) enthält eine Mischung aus extrahiertem Antigen von Streptokokken der Gruppen A, B, C, D, F und G und Natriumazid als Konservierungsmittel. Diese Kontrolle kann in Verbindung mit den einzelnen Testlatexreagenzien auch als Qualitätskontrolle eingesetzt werden (siehe „Lieferbare Produkte“).

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis: Das Testergebnis ist als positiv zu bewerten, wenn bei einem Testlatex entweder innerhalb von 1 Min eine Agglutination oder eine im Vergleich zu den anderen vier Reagenzien wesentlich stärkere Reaktion auftritt.

Negatives Ergebnis: Ein negativ zu bewertendes Testergebnis liegt vor, wenn nach 1 Min keine Agglutination auftritt.

Granulat- oder fädchenerzeugende Reaktionen: Aufgrund der körnchenartigen Natur des Prüfmaterials kann es gelegentlich zu granulat- oder fädchenerzeugenden Reaktionen kommen. Reaktionsergebnisse solcher Art sollten anhand der folgenden Kriterien bewertet werden:

Ein positiver Befund liegt vor, wenn die blaue Hintergrundfarbe im Testlatex merklich freigelegt wird.

Ein negativer Befund liegt vor, wenn die blaue Hintergrundfarbe im Testlatex nicht merklich freigelegt wird.

Nicht auswertbare Ergebnisse: Tritt in mehr als einem Testlatex eine starke Agglutination auf, besteht die Möglichkeit, dass eine Mischkultur von Streptokokkengruppen vorliegt. Die Kulturplatte überprüfen; sorgfältig Organismen ähnlicher Morphologie auswählen und erneut testen. Ist der vermutete Organismus überwachsen oder liegt in unzureichender Menge vor, eine Subkultur anlegen. Bei gleichbleibendem Reaktionsmuster den Organismus neu isolieren oder zusätzliche biochemische Tests durchführen.

Das Flussdiagramm 1 (Seite 30), „Empfohlenes Schema zur Gruppenbestimmung β -hämolyisierender Streptokokken“ beachten.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Falsch negative Ergebnisse können auftreten, wenn zur Extraktion eine unzureichende Menge der Kultur verwendet wird. Einige Streptokokken, insbesondere jene der Gruppe F, bilden nur sehr kleine Kolonien. In diesem Fall müssen zur Herstellung des Extrakts mehr Kolonien verwendet werden.

Nahezu alle aus Humaninfektionen isolierten β -hämolisierenden Streptokokken weisen spezifische Polysaccharidantigene auf, die anhand serologischer Reaktivität erkennbar sind. Mit Ausnahme der Gruppe B blieben alle Versuche, diese Verfahren auf nicht β -hämolisierende Streptokokken auszuweiten, erfolglos.²

Streptococcus pneumoniae weist gemeinsame antigene Determinanten mit Streptokokken der Gruppe C⁸ auf und kann daher mit dem Testlatex C reagieren. *S. pneumoniae*-Kolonien sind in der Regel α -hämolisierend.

Bestimmte Stämme von *Streptococcus milleri* weisen A-, C-, F- oder G-Antigene auf und können daher mit einem oder mehreren dieser Testlatex reagieren. *S. milleri* bildet auf Blutagarplatten in der Regel sehr kleine und normalerweise nichthämolisierende Kolonien. *S. milleri* kann z. B. mit Hilfe der von Lawrence et al. beschriebenen Methode identifiziert werden.⁹

Streptococcus porcinus, das in der Regel mit dem Schwein assoziiert wird, kann mit dem Testlatex B reagieren. Die Abgrenzung gegen Streptokokken der Gruppe B kann durch die in der Regel ausgetragenen Hämolysezonen und eine positive Reaktion im Pyrrolidonylarylamidase-Test (PYRase-Test) von *S. porcinus* erfolgen.¹⁰

Staphylokokken und *Listeria monocytogenes* sind β -hämolisierend und können anhand ihrer Zellmorphologie und der Katalasereaktionen von Streptokokken unterschieden werden.^{11,12}

Es sind einige Stämme der Streptokokken der Gruppe D bekannt, die ebenfalls Antigene der Gruppe G aufweisen.^{13,14} Bei *Enterococcus* der Gruppe D wird die D-Gruppen-Komponente dieser Stämme von den mit diesem Kit gelieferten Reagenzien nicht wirksam extrahiert; diese Stämme sollten daher mit Hilfe biochemischer Tests oder des **BBL Streptocard** Enzyme Latex Tests identifiziert werden (siehe „Lieferbare Produkte“).

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsfähigkeit des **BBL Streptocard** Acid Latex Tests wurde in drei klinischen Zentren untersucht. Insgesamt wurden dabei 470 klinische Isolate getestet. Die mit dem **BBL Streptocard** Acid Latex Test erhaltenen Ergebnisse wurden mit anderen kommerziell erhältlichen Latexkits verglichen (Tabelle 1).

Tabelle 1

Organismus	Anz. getestet	Empfindlichkeit des BBL Streptocard Acid Latex Tests
Streptokokken der Gruppe A	111	111/111 100 %
Streptokokken der Gruppe B	120	117/120 ¹ 98 %
Streptokokken der Gruppe C	83	80/83 ² 96 %
Streptokokken der Gruppe F	66	59/66 ³ 89 %
Streptokokken der Gruppe G	90	90/90 100 %
Gesamt	470	457/470 97 %

1. In einem Zentrum wurden in Anfangstests 3 negative Reaktionen beobachtet. Die Diskrepanzen waren auf eine unzureichende Anzahl an Kolonien zurückzuführen. Durch wiederholtes Testen wurden diese Diskrepanzen behoben.
2. In einem Zentrum wurden in Anfangstests 3 negative Reaktionen beobachtet. Die Diskrepanzen waren auf eine unzureichende Anzahl an Kolonien zurückzuführen. Durch wiederholtes Testen wurden diese Diskrepanzen behoben.

3. In einem Zentrum wurden in Anfangstests 7 negative Reaktionen beobachtet. Die Diskrepanzen waren auf eine unzureichende Anzahl an Kolonien zurückzuführen. Durch wiederholtes Testen wurden 5 der 7 Diskrepanzen behoben.

Gesamtübereinstimmung des **BBL Streptocard** Säuretests mit Latex = 97 %.

Weitere Tests mit nicht- β -hämolisierenden Streptokokken wurden durchgeführt, um die Spezifität des **BBL Streptocard Acid Latex Test** unter Beweis zu stellen (Tabelle 2). Alle Ergebnisse, die mit dem **BBL Streptocard Acid Latex Test** geliefert wurden, wurden mit den Testergebnissen von anderen kommerziell erhältlichen Latexkits verglichen. Diese Isolate wiesen in allen Fällen negative Ergebnisse auf.

Tabelle 2

Organismus	Anz. getestet	Ergebnis des BBL Streptocard Acid Latex Test
Alpha-hämolisierende Streptokokken	46	-
Nichthämolisierende Streptokokken	22	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	-
Koagulasenegative Staphylokokken	22	-
Streptokokken der Gruppe D (Enterokokken und nicht-Enterokokken der Gruppe D)	61	-
<i>Listeria</i>	4	-

Der **BBL Streptocard Acid Latex Test** wies eine Spezifität von 100 % auf.

Die Leistungsfähigkeit des **BBL Streptocard Acid Latex Tests** wurde mit 24 Streptokokkenstämmen der ATCC (bei der American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA erhalten) getestet. Maskierte und randomisierte Proben, darunter 8 der Gruppe A, 6 der Gruppe B, 5 der Gruppe C, 2 der Gruppe F und 3 der Gruppe G, wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen getestet. 100%ige Übereinstimmung wurde beobachtet. Alle Streptokokken wurden korrekt nach Gruppen eingeordnet und es trat keine Kreuzreaktion mit dem **BBL Streptocard Acid Latex Test** auf.

LIEFERBARE PRODUKTE

BEST.-NR. BESCHREIBUNG

- 240951 **BBL Streptocard** Acid Latex Kit, 50 Tests.
- 240950 **BBL Streptocard** Enzyme Latex Kit, 50 Tests.
- 240960 **BBL Streptocard** Test Latex A, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240961 **BBL Streptocard** Test Latex B, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240865 **BBL Streptocard** Test Latex C, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240866 **BBL Streptocard** Test Latex F, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240867 **BBL Streptocard** Test Latex G, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240963 **BBL Streptocard** Extraction Reagents 1, 2 und 3, Packung mit jeweils einem Reagenz, 8 mL-Fläschchen.
- 240965 **BBL Streptocard** Positive Control, ein 2,5-mL-Fläschchen.
- 240966 **BBL Streptocard** Test Cards, Packung mit 50 Stück.

LITERATUR: S. „References“ im englischen Text.

BD BBL Streptocard Acid Latex Test

Test di tipizzazione degli streptococchi mediante estrazione con acido nitroso per l'identificazione rapida degli streptococchi β -emolitici di gruppo A, B, C, F e G di Lancefield.

Italiano

USO PREVISTO

BBL Streptocard Acid Latex Test è un sistema di test al latex per l'identificazione qualitativa degli streptococchi appartenenti ai gruppi A, B, C, F e G di Lancefield. Il test è destinato a essere usato con colonie di streptococchi β -emolitici su agar sangue.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Gli streptococchi β -emolitici si possono differenziare in gruppi di Lancefield in base agli antigeni carboidrati specifici.¹ La differenziazione è necessaria sia per il trattamento clinico sia a fini epidemiologici.² Per estrarre l'antigene gruppo-specifico prima della tipizzazione, sono state usate svariate metodiche quali la procedura con acido caldo,¹ formamide calda³ e metodi di estrazione enzimatica.^{4,5} Il kit **BBL Streptocard Acid Latex Test** si basa su reagenti nitrosi modificati,^{6,7} che estraggono rapidamente gli antigeni di gruppo senza necessità di incubazione.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Le particelle di latex di **BBL Streptocard Acid Latex Test** sono sensibilizzate con anticorpi gruppo-specifici e agglutinano in presenza dell'antigene omologo. Gli antigeni gruppo-specifici vengono estratti dagli streptococchi mediante una procedura di estrazione istantanea con acido nitroso condotta a temperatura ambiente. L'estratto viene poi neutralizzato e gli antigeni vengono identificati mediante agglutinazione.

REAGENTI

Reagente di estrazione 1	1 x 8,0 mL	Contiene una soluzione di nitrito di sodio con indicatore di pH e sodio azide allo 0,1% (conservante).
Reagente di estrazione 2	1 x 8,0 mL	Contiene acido cloridrico 0,4N.
Reagente di estrazione 3	1 x 8,0 mL	Contiene una soluzione neutralizzante con sodio azide allo 0,1% (conservante).
Latex per test A	1 x 2,5 mL	I latex per test A, B, C, F e G consistono di particelle di latex blu sensibilizzate con anticorpi di coniglio per l'antigene gruppo-specifico appropriato e sospese in un tampone contenente sodio azide allo 0,1% (conservante).
Latex per test B	1 x 2,5 mL	
Latex per test C	1 x 2,5 mL	
Latex per test F	1 x 2,5 mL	
Latex per test G	1 x 2,5 mL	
Controllo +	1 x 2,5 mL	Controllo positivo contenente antigene estratto da streptococchi di gruppo A, B, C, F e G in soluzione di nitrito di sodio con sodio azide allo 0,1% come conservante.
Cartoncini di reazione	50	Monouso; 6 cerchi di reazione per cartoncino
Bastoncini di miscelazione	250	Monouso

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Attenzione – questo prodotto contiene lattice di gomma naturale che può causare reazioni allergiche. Non usare i componenti del test oltre la data di scadenza.

Durante tutte le procedure, seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. I reagenti di estrazione non sempre rendono i batteri non vitali. Dopo l'uso, sterilizzare in autoclave tutti i materiali contaminati.

AVVERTENZA – Tossico per ingestione. Corrosivo, provoca ustioni. Non mangiare né bere durante l'impiego. Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia. In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico.

I reagenti contengono sodio azide, sostanza altamente tossica se inalata, ingerita e in caso di contatto con la pelle. A contatto con acidi, libera gas altamente tossici. In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente e abbondantemente con acqua. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Eliminare la sodio azide facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi per impedire l'accumulo di azidi.

REAGENTI – I reagenti di estrazione 1 e 2 contengono rispettivamente una sostanza leggermente irritante e un acido debole. Evitare il contatto diretto indossando indumenti di protezione adeguati. Se il materiale viene a contatto con la pelle, gli occhi o le mucose, lavare immediatamente la zona risciacquando abbondantemente con acqua.

Non contaminare i reagenti toccando il campione sul cartoncino di reazione con il puntale del contagocce. Dopo ogni utilizzo, assicurarsi che i flaconi dei reagenti siano perfettamente chiusi con il tappo per evitare la contaminazione e l'essiccamento dei reagenti stessi.

CARTONCINI – Prestare attenzione a non lasciare impronte delle dita sulle aree di test del cartoncino, perché così facendo si possono formare depositi oleosi che a loro volta alterano i risultati del test.

Conservazione – Al ricevimento, conservare il kit a 2 – 8 °C. **NON CONGELARE**. In queste condizioni la reattività dei reagenti resta inalterata sino alla data riportata sull'etichetta del flacone. Dopo l'utilizzo, rimettere il kit in frigorifero, con i flaconi in posizione verticale.

Deterioramento del prodotto – Non usare il kit se il Controllo + non dà i risultati attesi. Vedere la sezione "Controllo di qualità a cura dell'utente". Esaminare se il Controllo + e i reagenti di estrazione presentano tracce di contaminazione, evaporazione o altri segni di deterioramento, come torbidità. Esaminare i reagenti al latex e non usarli se la sospensione non è omogenea.

Preparazione delle colture – I campioni per l'identificazione devono essere coltivati su una piastra di agar sangue per 16 – 24 h a 35 ± 2 °C. Prestare attenzione alla reazione emolitica di colonie sospette. Si consiglia inoltre di eseguire una colorazione di Gram e un test della catalasi per confermare la presenza di cocchi Gram-positivi e catalasi-negativi. Per maggiori dettagli, consultare la documentazione standard.²

I microrganismi appartenenti ai gruppi A, B, C, F o G sono normalmente β-emolitici. Se un microrganismo α- o non-emolitico sembra appartenere a uno di questi gruppi, l'identificazione della specie deve essere confermata mediante test biochimici.

PROCEDURE

Prima di iniziare il test, vedere le sezioni "Precauzioni", "Deterioramento del prodotto", "Preparazione delle colture" e "Procedura del test". Prima dell'uso, l'area di test, i reagenti, i campioni da testare e tutti i componenti da utilizzare nel test devono essere a temperatura ambiente (15 – 30 °C).

Materiali forniti – Tutti gli accessori e i materiali elencati nella sezione "Reagenti".

Materiali necessari ma non forniti – Ansa microbiologica, pipette Pasteur e provette in vetro o plastica da 12 x 75 mm. Sono inoltre necessarie la strumentazione e l'attrezzatura di laboratorio utilizzate per la preparazione, la conservazione e la manipolazione di campioni sierologici.

Procedura del test – Se si eseguono meno di sei test, si può tagliare il cartoncino di reazione con forbici e conservare le parti non utilizzate per altri test.

1. Apporre l'etichetta a una provetta da 12 x 75 mm per ogni campione da testare.
2. Dispensare 3 gocce di **Reagente di estrazione 1** in ogni provetta contenente il campione, tenendo il flacone in posizione verticale e schiacciando delicatamente.
3. Dispensare 3 gocce di **Reagente di estrazione 2** in ogni provetta contenente il campione. Ciò determinerà il viraggio della soluzione da blu ad arancio/giallo.
4. Con l'ausilio di un'ansa microbiologica, prelevare 2 – 5 colonie β -emolitiche simili ed emulsionarle nella soluzione di estrazione. Se la coltura è mista, evitare una contaminazione macroscopica. Non usare un tampone, perché tende ad assorbire un volume eccessivo di liquido. Se le colonie sono piccole, usarne più di cinque e assicurarsi che la sospensione ottenuta sia leggermente torbida.
5. Dispensare 3 gocce di **Reagente di estrazione 3** in ogni provetta contenente il campione. La soluzione virerà ora al blu pallido, a indicare l'avvenuta neutralizzazione.

Se non si effettua il test immediatamente, conservare la provetta accuratamente chiusa a 2 – 8 °C. Testare entro 24 h.

6. Dispensare 1 goccia di ciascun latex da testare su un cerchio distinto del cartoncino di reazione.
7. Usando una pipetta Pasteur, dispensare 1 goccia di estratto in ciascuno dei 5 cerchi.
8. Con i bastoncini di miscelazione forniti, distribuire la miscela su tutta l'area del cerchio, usando un bastoncino diverso per ogni cerchio.
9. Prendere in mano il cartoncino e farlo oscillare per un massimo di 1 minuto e quindi verificare l'agglutinazione in condizioni di luce normale. Eseguire una verifica macroscopica, senza lente d'ingrandimento.
10. Eliminare il cartoncino di reazione in un contenitore per rifiuti a rischio biologico.

Controllo di qualità a cura dell'utente – Al ricevimento, il laboratorio deve controllare ogni partita o lotto di materiale prima di usarlo allo scopo di verificare la performance del prodotto.

Gli streptococchi di reattività di gruppo conosciuta devono essere sottoposti a una procedura di test completa. La performance del test si valuta mediante la presenza di agglutinazione in una sola sospensione di latex, mentre le altre quattro sospensioni devono evidenziare una reazione negativa (assenza di agglutinazione) per ogni ceppo di riferimento testato. Ciò consente di valutare sia l'efficacia della procedura d'estrazione sia la specificità di ogni reagente.

Testare un controllo positivo e uno negativo ogni giorno in cui si usa il kit. Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

CONTROLLO POSITIVO – Agitare ciascun latex per test e dispensare 1 goccia su un cerchio distinto del cartoncino di reazione. Dispensare 1 goccia di Controllo + su ciascuno dei cinque cerchi. Distribuire ciascuna miscela su tutta l'area del cerchio, usando un bastoncino diverso per ogni latex del test. Prendere in mano il cartoncino e farlo oscillare per 1 min. Tutti e cinque i latex del test devono evidenziare una netta agglutinazione.

CONTROLLO NEGATIVO – Agitare ciascun latex per test e dispensare una goccia su un cerchio distinto del cartoncino. Preparare il controllo negativo dispensando i reagenti di estrazione in una provetta da 12 x 75 mm, seguendo i punti 1, 2, 3 e 5 (vedere sopra la sezione "Procedura del test"). Dispensare 1 goccia di controllo negativo su ciascuno dei cinque cerchi del cartoncino di reazione. Distribuire ciascuna miscela su tutta l'area del cerchio, usando un bastoncino diverso per ogni latex del test. Prendere in mano il cartoncino e farlo oscillare per 1 min. Nessuna sospensione di latex del test deve evidenziare una netta agglutinazione.

Il controllo positivo **BBL Streptocard** (n. di catalogo 240965) contiene una miscela di antigene estratto da streptococchi di gruppo A, B, C, D, F e G con sodio azide come conservante. Questo controllo può essere usato anche per eseguire il controllo di qualità quando si usano reagenti al latex individuali (vedere "Disponibilità").

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

Risultato positivo – Il test deve essere considerato positivo quando entro 1 min si verifica agglutinazione con un latex del test o quando un latex del test produce una reazione sostanzialmente più forte di quella degli altri quattro.

Risultato negativo – Se dopo 1 min non si verifica alcuna agglutinazione, il risultato è negativo.

Reazioni granulari o filamentose – Data la particolare natura del materiale del test, si possono talvolta riscontrare reazioni granulari o filamentose. Interpretare eventuali reazioni granulari o filamentose attenendosi ai criteri seguenti.

Il risultato è positivo quando il fondo blu nel latex del test evidenzia un netto schiarimento.

Il risultato è negativo quando il fondo blu nel latex del test non evidenzia un netto schiarimento.

Risultati non interpretabili – In caso di forte agglutinazione di più di un latex del test, è possibile che sia presente una coltura mista di più gruppi di streptococchi. Esaminare la piastra e selezionare attentamente i microrganismi di morfologia simile e ritestare. Eseguire una subcoltura se i microrganismi sospetti manifestano una crescita eccessiva o insufficiente. Se il pattern di reazione rimane inalterato, isolare nuovamente i microrganismi o eseguire altri test biochimici.

Vedere lo schema 1 (pag. 30), "Procedura raccomandata per il raggruppamento degli Streptococchi β -emolitici".

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

L'uso di una quantità insufficiente di cultura per l'estrazione può dare luogo a risultati falsamente negativi. Alcuni streptococchi, specialmente di gruppo F, producono colonie minute. In tale eventualità, usare un maggior numero di colonie per preparare l'estratto.

Quasi tutti gli streptococchi β -emolitici isolati da infezioni nell'uomo possiedono antigeni specifici a base di carboidrati, rilevabili mediante reattività sierologica. I tentativi di estendere queste procedure a streptococchi non β -emolitici sono risultati infruttuosi, a eccezione del gruppo B.²

Streptococcus pneumoniae ha in comune con gli streptococchi di gruppo C⁸ alcuni determinanti antigenici e può pertanto reagire con il latex per test C. Le colonie di *S. pneumoniae* sono tipicamente α -emolitiche.

Alcuni ceppi di *Streptococcus milleri* possiedono antigeni A, C, F o G e possono quindi reagire con uno o più di questi latex per test. *S. milleri* forma di norma colonie minute e solitamente non-emolitiche su piastre di agar sangue. L'identificazione di *S. milleri* può essere eseguita usando una procedura come quella descritta da Lawrence et al.⁹

Streptococcus porcinus, di norma associato a suini, può reagire con il latex per test B. *S. porcinus* può essere differenziato dallo streptococco di gruppo B in base alla formazione di zone di emolisi più pronunciate e alla positività del test pirrolidoniil-arilamidasi (PYR).¹⁰

Gli stafilococchi e *Listeria monocytogenes* sono β -emolitici e si distinguono dagli streptococchi per la morfologia cellulare e le reazioni della catalasi.^{11,12}

È stato riscontrato che alcuni ceppi di streptococchi di gruppo D possiedono anche l'antigene di gruppo G.^{13,14} Per *Enterococcus* di gruppo D, il componente di gruppo D di tali ceppi non viene estratto in modo efficace con i reagenti forniti con questo kit; l'identificazione deve pertanto essere eseguita usando test biochimici o il kit **BBL Streptocard Enzyme Latex Test** (vedere "Disponibilità").

PERFORMANCE

La performance del kit **BBL Streptocard** Acid Latex Test è stata valutata in tre centri clinici. Sono stati complessivamente testati 470 isolati clinici. I risultati ottenuti con il **BBL Streptocard** Acid Latex Test sono stati comparati a quelli conseguiti usando altri kit al latex in commercio (Tabella 1).

Tabella 1

Microrganismi	N. test	Sensibilità di BBL Streptocard Acid Latex Test
Streptococchi, gruppo A	111	111/111 100%
Streptococchi, gruppo B	120	117/120 ¹ 98%
Streptococchi, gruppo C	83	80/83 ² 96%
Streptococchi, gruppo F	66	59/66 ³ 89%
Streptococchi, gruppo G	90	90/90 100%
Totale	470	457/470 97%

1. In un centro, dopo i test iniziali, sono state osservate 3 reazioni negative. Le discrepanze sono state imputate alla quantità insufficiente di colonie usate. Le discrepanze sono state risolte ritestando le colonie.
2. In un centro, dopo i test iniziali, sono state osservate 3 reazioni negative. Le discrepanze sono state imputate alla quantità insufficiente di colonie usate. Le discrepanze sono state risolte ritestando le colonie.
3. In un centro, dopo i test iniziali, sono state osservate 7 reazioni negative. Le discrepanze sono state imputate alla quantità insufficiente di colonie usate. 5 discrepanze su 7 sono state risolte ritestando le colonie.

Concordanza complessiva di **BBL Streptocard** Acid Latex Test = 97%

Sono stati condotti altri test per dimostrare la specificità del kit **BBL Streptocard** Acid Latex Test usando microrganismi diversi dagli streptococchi β -emolitici (Tabella 2). Tutti i risultati ottenuti con il **BBL Streptocard** Acid Latex Test sono stati comparati a quelli conseguiti usando altri kit al latex in commercio. Questi isolati hanno dimostrato risultati negativi in tutti i casi.

Tabella 2

Microrganismo	N. test	Risultato BBL Streptocard Acid Latex Test
Streptococchi α -emolitici	46	-
Streptococchi non emolitici	22	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	-
Stafilococchi coagulasi-negativi	22	-
<i>Streptococcus</i> di gruppo D (<i>Enterococcus</i> e non <i>Enterococcus</i> gruppo D)	61	-
<i>Listeria</i>	4	-

Il kit **BBL Streptocard** Acid Latex Test ha dimostrato una specificità del 100%.

La performance del kit **BBL Streptocard** Acid Latex Test è stata testata con 24 ceppi ATCC di streptococchi (ottenuti da American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). I campioni randomizzati mascherati sono stati testati per 3 giorni consecutivi; 8 gruppo A, 6 gruppo B, 5 gruppo C, 2 gruppo F e 3 gruppo G. Tutti gli

streptococchi sono stati correttamente tipizzati e non è stata osservata alcuna reazione crociata con il kit **BBL Streptocard Acid Latex Test**.

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
240951	BBL Streptocard Acid Latex Kit , 50 test
240950	BBL Streptocard Enzyme Latex Kit , 50 test
240960	BBL Streptocard Test Latex A , un flacone da 2,5 mL
240961	BBL Streptocard Test Latex B , un flacone da 2,5 mL
240865	BBL Streptocard Test Latex C , un flacone da 2,5 mL
240866	BBL Streptocard Test Latex F , un flacone da 2,5 mL
240867	BBL Streptocard Test Latex G , un flacone da 2,5 mL
240963	BBL Streptocard Extraction Reagents 1, 2 e 3 , confezione da 1 flacone da 8 mL cad.
240965	BBL Streptocard Positive Control , un flacone da 2,5 mL
240966	BBL Streptocard Test Cards , confezione da 50

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD BBL Streptocard Acid Latex Test

Una prueba de determinación de grupo de la especie estreptococos mediante la extracción de ácido nitroso para la identificación rápida de estreptococos β -hemolíticos tipos A, B, C, F y G de Lancefield.

Español

USO PREVISTO

BBL Streptocard Acid Latex Test es un sistema de prueba de látex para la identificación cualitativa de estreptococos de grupos A, B, C, F y G de Lancefield. La prueba se debe utilizar con colonias de estreptococos β -hemolíticos en agar sangre.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Los estreptococos β -hemolíticos pueden diferenciarse en grupos de Lancefield basados en antígenos de carbohidratos específicos¹. La diferenciación es necesaria para el tratamiento clínico y con fines epidemiológicos². Para la extracción del antígeno específico del grupo antes de la determinación de grupos, se ha utilizado una variedad de métodos, incluidos ácido caliente¹, formamida caliente³ y extracción de enzimas^{4,5}. **BBL Streptocard Acid Latex Test** se basa en reactivos nitrosos modificados^{6,7}, que extraen rápidamente los antígenos de grupos sin la necesidad de incubación.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Las partículas de látex de **BBL Streptocard Acid Latex Test** se sensibilizan con anticuerpo específico del grupo y se aglutinan en presencia del antígeno homólogo. Los antígenos específicos del grupo se extraen de los estreptococos mediante el procedimiento instantáneo de extracción de ácido nitroso a temperatura ambiente. El extracto luego se neutraliza y los antígenos se identifican mediante aglutinación.

REACTIVOS

Reactivo de extracción 1	1 x 8,0 mL	Contiene solución de nitrito de sodio con un indicador de pH, con azida sódica al 0,1% (conservante).
Reactivo de extracción 2	1 x 8,0 mL	Contiene ácido clorhídrico 0,4N.
Reactivo de extracción 3	1 x 8,0 mL	Contiene solución neutralizante, con azida sódica al 0,1% (conservante).
Látex de prueba A	1 x 2,5 mL	Látex de prueba A, B, C, F y G formado por partículas de látex de color azul sensibilizadas con anticuerpo de conejo para un antígeno específico de grupo adecuado, suspendido con azida sódica al 0,1% (conservante).
Látex de prueba B	1 x 2,5 mL	
Látex de prueba C	1 x 2,5 mL	
Látex de prueba F	1 x 2,5 mL	
Látex de prueba G	1 x 2,5 mL	
Control +	1 x 2,5 mL	Control positivo con antígeno extraído de <i>Streptococcus</i> , grupos A, B, C, F y G en una solución de nitrito de sodio con azida sódica al 0,1% como conservante.
Tarjetas reactivas	50	Desechables; 6 círculos reactivos por tarjeta.
Varillas para mezcla	250	Desechables.

Advertencias y Precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Precaución: Este producto contiene látex de caucho natural, que puede causar reacciones alérgicas.

No utilizar los componentes de la prueba después de la fecha de caducidad.

Observar las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante todos los procedimientos. El reactivo de extracción no siempre hace las bacterias no viables. Después de su uso, los materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave.

ADVERTENCIA: Tóxico por ingestión. Corrosivo - Provoca quemaduras. No comer ni beber durante su utilización. Usar indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico.

Los reactivos contienen azida sódica. Sumamente tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. El contacto con ácidos libera gases extremadamente tóxicos. Después del contacto con la piel, lávese inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y producir azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los reactivos, use suficiente agua para evitar la acumulación de azida.

REACTIVOS: Los reactivos de extracción 1 y 2 contienen un irritante suave y un ácido débil, respectivamente. Evitar el contacto directo utilizando equipo protector adecuado. Si el material entra en contacto con la piel, las mucosas o los ojos, lavar de inmediato la zona con abundante agua.

No permitir la contaminación de los reactivos: evitar que la punta del dropper toque la muestra en la tarjeta reactiva. Asegurarse de que las tapas de los frascos de reactivos estén bien cerradas después de cada uso para evitar la contaminación y la deshidratación de los reactivos.

TARJETAS: Deben tomarse precauciones para no dejar huellas de dedos en las áreas de prueba, puesto que esto puede provocar un depósito de grasa con el consiguiente resultado incorrecto de la prueba..

Conservación: Al recibir el equipo, almacenarlo a una temperatura de 2 – 8 °C. NO CONGELAR. En dichas condiciones, los reactivos conservarán sus características hasta la fecha mostrada en las etiquetas de los frascos. Después de utilizarlo, volver a colocar el equipo en el refrigerador y guardar los frascos en posición vertical.

Deterioro del producto: No utilizar el equipo si los controles positivo y negativo no producen los resultados adecuados. Consultar la sección "Control de calidad del usuario". Examinar el Control + y los reactivos de

extracción en busca de indicios de contaminación, evaporación y otros signos de deterioro, tal como turbidez. Examinar el látex de la prueba, y no utilizar si no tiene aspecto de suspensión homogénea.

Preparación de los cultivos: Las muestras para identificación deben cultivarse en placa de agar sangre durante 16 – 24 h a 35 ± 2 °C. Tomar nota de la reacción hemolítica de las colonias presuntas. También es aconsejable realizar una tinción de Gram y prueba de catalasa para confirmar la presencia de cocos gram positivos y catalasa negativos. Para obtener más detalles, consultar las referencias estándar².

Los organismos de los grupos A, B, C, F y G son normalmente β -hemolíticos. Si un organismo α -hemolítico o no hemolítico parece pertenecer a uno de estos grupos, la identificación de la especie debe confirmarse con pruebas bioquímicas.

PROCEDIMIENTOS

Revisar “Precauciones”, “Deterioro del producto”, “Preparación de los cultivos” y “Procedimiento de análisis” antes de realizar los procedimientos. La zona en que se van a realizar las pruebas, los reactivos, las muestras y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) en el momento de usarse.

Materiales suministrados: Todos los materiales se relacionan bajo el epígrafe “Reactivos” y accesorios.

Materiales necesarios pero no suministrados: Asa microbiológica, pipetas Pasteur y tubos de vidrio o de plástico de 12 x 75 mm. También se necesitan el equipo y los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Procedimiento de análisis: Si se realizan menos de seis pruebas, la tarjeta de prueba puede cortarse con tijera y guardarse las secciones sin usar para su utilización en otro momento.

1. Rotular un tubo de ensayo de 12 x 75 mm para cada muestra que ha de analizarse.
2. Añadir 3 gotas de **Reactivo de extracción 1** a cada tubo de muestra sosteniendo y apretando suavemente el frasco.
3. Añadir 3 gotas de **Reactivo de extracción 2** a cada tubo de muestra. Así la solución cambiará de un color azul a naranja/amarillo.
4. Seleccionar 2 – 5 colonias β -hemolíticas similares con un asa microbiológica y emulsionar en la solución de extracción. Si el cultivo es mixto, evitar la contaminación evidente. No utilizar torundas, porque éstas absorben demasiado volumen de líquido. Si las colonias son pequeñas, utilizar más de cinco y asegurarse de que al menos se obtenga una suspensión ligeramente turbia.
5. Añadir 3 gotas de **Reactivo de extracción 3** a cada tubo de muestra. La solución cambiará de color, volviendo a azul claro, lo que indica que se ha neutralizado.

Si no se realiza el análisis de inmediato, almacenar el tubo con tapa ajustada a 2 – 8 °C. Realizar la prueba dentro de las 24 h.

6. Dispensar 1 gota de cada látex de prueba a analizar en un círculo diferente en la tarjeta reactiva.
7. Con una pipeta Pasteur, añadir 1 gota de extracto a cada uno de los 5 círculos de prueba.
8. Con las varillas de mezcla suministradas, extender la mezcla sobre toda la superficie del círculo, utilizando una varilla diferente para cada uno.
9. Mover suavemente la tarjeta con la mano hasta 1 min y observar indicios de aglutinación en condiciones de iluminación normal. Efectuar la lectura a simple vista; no utilizar lupa para favorecer la lectura.
10. Desechar la tarjeta reactiva en un recipiente adecuado para desechos de peligro biológico.

Control de calidad del usuario: Al principio, cuando se recibe cada envío o lote de material, el laboratorio debe verificarlo antes del uso para comprobar el rendimiento del producto.

Los estreptococos de reactividad de grupo conocida deben someterse a un procedimiento de análisis completo. El rendimiento de la prueba debe evaluarse por la presencia de aglutinación en una suspensión de látex

solamente, con las otras 4 suspensiones con reacción negativa (sin aglutinación) para cada cepa de referencia analizada. Así se evalúan la eficacia del procedimiento de extracción y la especificidad de cada reactivo.

Los procedimientos de control positivo y de control negativo deben analizarse cada día en que se utilicen las pruebas. El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

CONTROL POSITIVO: Agitar cada látex de prueba y dispensar 1 gota en un círculo diferente de la tarjeta. Dispensar 1 gota de Control + en cada uno de los 5 círculos. Extender cada mezcla sobre toda la superficie del círculo, con una varilla diferente para cada látex de prueba. Mover suavemente la tarjeta con la mano durante 1 min. Cada uno de los cinco látex de prueba deben presentar aglutinación evidente.

CONTROL NEGATIVO: Agitar cada látex de prueba y dispensar 1 gota en un círculo diferente de la tarjeta. Preparar el Control – añadiendo reactivos de extracción a tubo de ensayo de 12 x 75 mm según los pasos 1, 2, 3 y 5 (consultar la sección “Procedimiento de análisis” anterior). Dispensar 1 gota de Control – en cada uno de los 5 círculos de la tarjeta reactiva. Extender cada mezcla sobre toda la superficie del círculo, con una varilla diferente para cada látex de prueba. Mover suavemente la tarjeta con la mano durante 1 min. No debe presentar indicios evidentes de aglutinación en ninguna suspensión de látex de prueba.

BBL Streptocard Positive Control (Nº de ref. 240965) contiene una mezcla de antígeno extraído de *Streptococcus* grupos A, B, C, D, F y G con azida sódica como conservante. Este control también se puede utilizar para realizar control de calidad cuando se utilizan reactivos de látex de prueba individuales (véase “Disponibilidad”).

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS

Resultado positivo: La prueba debe considerarse positiva si se produce aglutinación en 1 min. con un látex de prueba o si un látex de prueba produce una reacción sustancialmente más fuerte que los otros cuatro.

Resultado negativo: Se obtiene un resultado negativo si no se produce aglutinación después de 1 min.

Reacciones con forma granular o filamentosas: De vez en cuando se pueden observar reacciones con forma granular o filamentosas debido a la naturaleza de las partículas encontradas en el material de la prueba. Cuando se observen dichas reacciones, deben interpretarse mediante los siguientes criterios:

El resultado es positivo si se observa un aclaramiento notable del fondo azul del látex de prueba.

El resultado es negativo si no se observa un aclaramiento notable del fondo azul en el látex de prueba.

Resultados no interpretables: Si se produce una fuerte aglutinación de más de un látex de prueba, entonces existe la posibilidad de que se trate de un cultivo mixto de grupos de la especie *Streptococcus*. Examinar la placa y seleccionar cuidadosamente los organismos de morfología similar y repetir la prueba. Realizar subcultivo si se sospecha que el crecimiento del organismo es excesivo o insuficiente. Si el patrón de reacción se ve inalterado, volver a aislar el organismo o realizar pruebas bioquímicas adicionales.

Consultar el organigrama 1 (véase la pág. 30), “Esquema recomendado para determinar el grupo de estreptococos β -hemolíticos”.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Pueden producirse resultados negativos falsos si se utiliza una cantidad inadecuada de cultivo para la extracción. Algunos estreptococos, especialmente del grupo F, producen colonias diminutas. En dicho caso, utilizar más colonias para preparar el extracto.

Casi todos los estreptococos β -hemolíticos aislados en infecciones humanas poseen antígenos de carbohidratos específicos, lo que puede reconocerse mediante reactividad serológica. Los intentos para hacer estos procedimientos aplicables a los estreptococos no β -hemolíticos han sido infructuosos, con excepción del grupo B².

Streptococcus pneumoniae y *Streptococcus* grupo C tienen en común determinantes antigénicos⁸ y, por consiguiente, puede reaccionar con el látex de prueba C. Las colonias de *S. pneumoniae* por lo general son α -hemolíticas.

Ciertas cepas de *Streptococcus milleri* poseen antígenos A, C, F o G y, por consiguiente, pueden reaccionar con uno o más látex de prueba. *S. milleri* típicamente forma colonias diminutas y a menudo no hemolíticas en placas de agar sangre. La identificación de *S. milleri* puede realizarse con el esquema como el descrito por Lawrence et al⁹.

Streptococcus porcinus, asociado generalmente con los cerdos, pueden tener reacción con el látex de prueba B. La diferenciación con *Streptococcus* grupo B puede basarse en que *S. porcinus* típicamente presenta zonas con hemólisis más pronunciadas y una prueba de pirrolidionil-arilamidasa (PYR) con resultado positivo¹⁰.

Los estafilococos y *Listeria monocytogenes* son organismos β-hemolíticos y pueden distinguirse de los estreptococos por su morfología celular y las reacciones de catalasa^{11,12}.

Se han descubierto algunas cepas de *Streptococcus* grupo D con el antígeno del grupo G^{13,14}. Para *Enterococcus* grupo D, el componente de grupo D en estas cepas no es extraído eficazmente por los reactivos suministrados con este equipo y deben identificarse con pruebas bioquímicas o **BBL Streptocard** Enzyme Latex Test (véase "Disponibilidad").

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de **BBL Streptocard** Acid Latex Test se evaluó en tres centros clínicos. Se analizó un total de 470 aislados clínicos. Los resultados obtenidos con **BBL Streptocard** Acid Latex Test se compararon con los resultados de la prueba obtenidos con otros equipos de látex comercialmente disponibles (Tabla 1).

Tabla 1

Organismos	Cant. analizada	Sensibilidad de BBL Streptocard Acid Latex Test
<i>Streptococcus</i> , grupo A	111	111/111 100%
<i>Streptococcus</i> , grupo B	120	117/120 ¹ 98%
<i>Streptococcus</i> , grupo C	83	80/83 ² 96%
<i>Streptococcus</i> , grupo F	66	59/66 ³ 89%
<i>Streptococcus</i> , grupo G	90	90/90 100%
Total	470	457/470 97%

1. En un centro, al comenzar la prueba, se observaron 3 reacciones negativas. Los resultados discrepantes se relacionaron con el uso de una cantidad insuficiente de colonias. Dichos resultados discrepantes se resolvieron al repetir la prueba.
2. En un centro, al comenzar la prueba, se observaron 3 reacciones negativas. Los resultados discrepantes se relacionaron con el uso de una cantidad insuficiente de colonias. Dichos resultados discrepantes se resolvieron al repetir la prueba.
3. En un centro, al comenzar la prueba, se observaron 7 reacciones negativas. Los resultados discrepantes se relacionaron con el uso de una cantidad insuficiente de colonias. 5 de 7 resultados discrepantes se resolvieron al repetir la prueba.

Concordancia general de **BBL Streptocard** Acid Latex Test = 97%.

Se realizaron más pruebas para demostrar la especificidad de **BBL Streptocard** Acid Latex Test con organismos diferentes de *Streptococcus* β-hemolítico (Tabla 2). Todos los resultados de **BBL Streptocard** Acid Latex Test se

compararon con los resultados de la prueba con equipos de látex comercialmente disponibles. Estos aislados presentaron resultados negativos en todos los casos.

Tabla 2

Organismo	Cant. analizada	Resultado de BBL Streptocard Acid Latex Test
<i>Streptococcus</i> alfa-hemolítico	46	-
<i>Streptococcus</i> no hemolítico	22	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	-
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	22	-
<i>Streptococcus</i> grupo D (grupo D <i>Enterococcus</i> y no <i>Enterococcus</i>)	61	-
<i>Listeria</i>	4	-

BBL Streptocard Acid Latex Test demostró un 100% de especificidad.

El rendimiento de **BBL Streptocard Acid Latex Test** se analizó con 24 cepas de estreptococos ATCC (obtenidas de American Type Culture Collection, Manassas, VA, EE.UU.). Se analizaron muestras aleatorias enmascaradas en 3 días consecutivos; 8 del grupo A, 6 del grupo B, 5 del grupo C, 2 del grupo F y 3 del grupo G. Se observó un 100% de concordancia. Todos los estreptococos se agruparon correctamente y no se observó reacción cruzada con **BBL Streptocard Acid Latex Test**.

DISPONIBILIDAD

N° de ref. Descripción

240951	BBL Streptocard Acid Latex , equipo de 50 pruebas.
240950	BBL Streptocard Enzyme Latex , equipo de 50 pruebas.
240960	BBL Streptocard Test Latex A , un frasco de 2,5 mL.
240961	BBL Streptocard Test Latex B , un frasco de 2,5 mL.
240865	BBL Streptocard Test Latex C , un frasco de 2,5 mL.
240866	BBL Streptocard Test Latex F , un frasco de 2,5 mL.
240867	BBL Streptocard Test Latex G , un frasco de 2,5 mL.
240963	BBL Streptocard Extraction Reagents 1, 2 y 3 , caja con un frasco de 8 mL de c/u.
240965	BBL Streptocard Positive Control , un frasco de 2,5 mL.
240966	BBL Streptocard Test Cards , caja de 50.

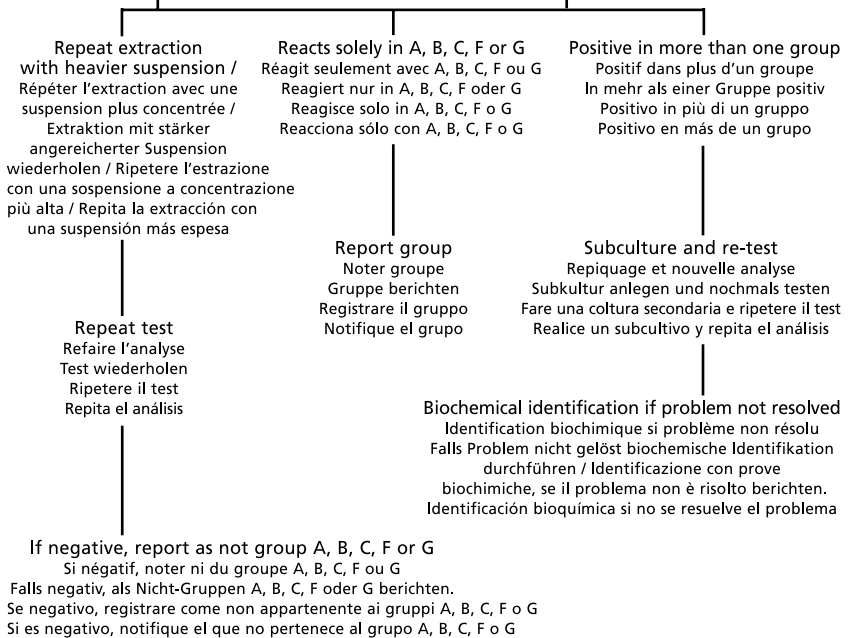
REFERENCIAS: Véase la sección “References” en el texto inglés.

**Recommended Scheme for Grouping β -hemolytic Streptococci / Plan de classification
recommandé pour le groupage des Streptocoques β -hémolytiques / Empfohlenes Schema zur
Gruppenbestimmung von β -hämolisierenden Streptokokken / Procedura raccomandata per il rag-
gruppamento degli Streptococchi β -emolitici / Esquema recomendado para determinar el grupo de
streptococos β -hemolíticos**

Flow Chart 1 / Organigramme 1 / Flußdiagramm 1 / Schema 1 / Diagrama 1

Negative Reactions on the Slide
Réaction négative sur lame
Negative Reaktion auf dem Objektträger
Reazione negativa sul vetrino
Reacciones negativas en el portaobjeto

Positive Reactions on the Slide
Réaction positive sur lame
Positive Reaktion auf dem Objektträger
Reazione positiva sul vetrino
Reacciones positivas en el portaobjeto





Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производител / Producător / Üretici / Proizvođač / Производител / Аткарушы



Use by / Spotřebujte do / Anvendes for / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použítě do / Usar antes de / Använd före / Ispol'zovajte do / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Употребити до / Исползовать до / дейін пайдаланура / Употребити до /
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) /
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mêsio pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiac) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfärstul lunii) /
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalognummer / Katalognummer / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalog numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numerasi / Kataloški broj / Номер по каталогу / Каталог номери



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Voliatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autoriserte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotas atstovas Europos Bendrijoje / Autoriseret representant i EU / Autorizowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Reprezentante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Reprezentante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизран представител в EU / Reprezentant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Топлулугу Yetkili Temsilcisi / Ovlašteni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәклетті екіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicensk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostikkalaji / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches in vitro -Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisai / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo medico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning for in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimit / Temperaturi piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sıcaklık sınırlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лот) / Лоттама коды / Lot (kod)



Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contêmo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно для <n> тестов(а) / <n> тесттери үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanım Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



Positive control / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positieve controle / Positiivkontrolli / Contrôle positif / Positive Kontrolle / θετικός έλεγχος / Pozitiv kontrol / Controllo positivo / Teigiama kontrolė / Positiv kontroll / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Pozitivna kontrola / Control positivo / Положительен контрол / Etalon pozitiv / Pozitif kontrol / Pozitivna kontrola / Положительный контроль / Жатымды бақылау



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland