

INDICATION

Le Prolex™ Strep Enzyme Kit offre une plateforme rapide destinée à l'identification sérologique des streptocoques bêta-hémolytiques appartenant aux groupes A, B, C, D, F et G de Lancefield.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Des études cliniques, épidémiologiques et microbiologiques ont démontré irréfutablement qu'en présence d'un diagnostic d'infections streptococciques basé sur les symptômes cliniques, il est nécessaire de procéder systématiquement à une vérification microbiologique⁽⁴⁾. Les streptocoques bêta-hémolytiques sont les pathogènes humains les plus fréquemment isolés parmi les représentants du genre *Streptococcus*. La quasi-totalité des streptocoques bêta-hémolytiques possèdent des antigènes carbohydrates spécifiques (antigènes du groupe streptococcique). Lancefield a prouvé que ces antigènes peuvent être extraits sous forme soluble et identifiés par des réactions de précipitation avec des immun-sérums homologues. À l'heure actuelle, différentes procédures d'extraction des antigènes streptococciques sont utilisées^(1,2,6,7,10,11,12). Le Prolex™ Strep Enzyme Kit est basé sur la libération d'un antigène spécifique des parois cellulaires bactériennes par l'action d'enzymes lytiques. L'antigène extrait associé à l'agglutination au latex apporte une méthode rapide, sensible et spécifique d'identification des groupes streptococciques A, B, C, D, F et G à partir de plaques de culture primaire.

PRINCIPE DU TEST

La méthode de groupage du kit Prolex™ Strep Enzyme implique l'extraction enzymatique d'antigènes carbohydrates spécifiques aux groupes. Le réactif d'extraction Strep Enzyme fourni dans le kit contient des enzymes lytiques capables d'extraire les antigènes spécifiques aux groupes streptococciques par incubation à 37°C. Les extraits peuvent être aisément identifiés à l'aide de particules en latex de polystyrène bleu sensibilisées avec des immunoglobulines de lapin purifiées et spécifiques aux groupes. Ces particules en latex bleu s'agglutinent très fortement en présence d'un antigène homologue et ne s'agglutinent pas en l'absence d'un antigène homologue.

MATÉRIELS FOURNIS

Chaque kit permet d'effectuer 50 tests. Les matériels sont fournis prêts à l'emploi.

- **Réactifs latex** : Chaque flacon compte-gouttes contient 2,5 ml de particules de latex bleu enrobées d'anticorps de lapin purifiés correspondant aux groupes de streptocoques de Lancefield A, B, C, D, F ou G. Les particules en latex bleu sont mises en suspension dans un tampon au pH de 7,4 contenant 0,098 % d'azote de sodium comme agent conservateur.
- **Contrôle positif polyvalent** : Un flacon compte-gouttes contenant 2,5 ml d'antigènes polyvalents prêts à l'emploi, extraits de streptocoques inactivés des groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G. Les antigènes sont suspendus dans un tampon d'un pH de 7,4 contenant 0,098% d'azote de sodium comme agent conservateur.
- **Réactif d'extraction enzymatique** : Un flacon contenant 22 ml de réactif d'extraction enzymatique prêt à l'emploi avec conservateur.
- Cartes de test
- Bâtonnets mélangeurs
- Notice d'utilisation

Tous les éléments de ce kit peuvent être vendus séparément :

Réactif ou élément	Code produit
Réactif enzymatique latex Strep Group A	PL.1051
Réactif enzymatique latex Strep Group B	PL.1052
Réactif enzymatique latex Strep Group C	PL.1053
Réactif enzymatique latex Strep Group D	PL.1054
Réactif enzymatique latex Strep Group F	PL.1055
Réactif enzymatique latex Strep Group G	PL.1056
Réactif d'extraction Strep Enzyme	PL.1057
Contrôle positif polyvalent Strep Enzyme	PL.1058
Bâtonnets mélangeurs	PL.091P
Cartes de test	PL.092-48

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Aiguille ou anse de repiquage
- Pipettes Pasteur
- Tubes à essai de 12 x 75 mm
- Minuterie
- Bain d'eau (37°C)

STABILITÉ ET STOCKAGE

Tous les éléments du kit doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C. **Ne pas congeler.** Les réactifs conservés dans ces conditions resteront stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit.
2. Certains réactifs contiennent une petite quantité d'azote de sodium. En cas d'accumulation d'azote de sodium, celui-ci peut provoquer des réactions explosives au contact des canalisations en cuivre ou en plomb. Bien que la quantité d'azote de sodium présente dans les réactifs soit minimale, d'abondantes quantités d'eau devront être utilisées pour rincer les éviers lorsque les réactifs y sont vidés.
3. Les précautions universelles devront être observées lors de la manipulation, du traitement et de l'élimination de tous les spécimens cliniques. Tous les matériels de test devront être considérés comme des sources infectieuses potentielles pendant et après leur emploi, et devront ainsi être convenablement manipulés et éliminés en conséquence.
4. Ce kit est exclusivement réservé aux emplois de diagnostic *in vitro*.
5. Il est indispensable d'observer les procédures, conditions de conservation, précautions et limitations d'emploi figurant dans les présentes instructions pour pouvoir obtenir des résultats de tests valides.
6. Le produit contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et transmettre des maladies.

PRÉLEVEMENT DES SPECIMENS ET PRÉPARATION DES CULTURES

Pour les procédures spécifiques concernant le prélèvement des spécimens et la préparation des cultures primaires, consulter un manuel de microbiologie standard. Une culture fraîche (18-24 heures) sur gélose au sang devra être utilisée. Deux à quatre colonies équivalentes à une croissance de 2-3 mm

devraient suffire pour le groupage.

PROCÉDURE DE TEST

Tous les éléments doivent être à température ambiante avant emploi.

1. Remettre les réactifs latex du test en suspension en renversant plusieurs fois délicatement le flacon compte-gouttes. Examiner les flacons compte-gouttes pour vérifier que toutes les particules en latex sont bien en suspension avant l'emploi. Ne pas l'utiliser si le latex ne se remet pas correctement en suspension.
2. Étiqueter un tube à essai pour chaque isolat à tester.
3. Ajouter 400 µl de réactif d'extraction Strep Enzyme à chaque tube.
4. Sélectionner 2-4 colonies bêta-hémolytiques (2-3 mm de croissance) en utilisant une aiguille ou anse jetable et les mettre en suspension dans le réactif d'extraction. Dans tous les cas, les colonies streptococciques devront être sélectionnées à partir d'une zone présentant le moindre risque de contamination avec un autre organisme.
5. Incuber les tubes dans un bain d'eau à 37°C pendant **précisément** 10 minutes. Agiter tous les tubes à mi-temps de la période d'incubation.
6. Retirer l'eau du bain et laisser refroidir à température ambiante.
7. Distribuer une goutte de chaque groupe de réactif latex sur des cercles distincts de différentes cartes de test étiquetées avec le nom de chaque isolat testé.
8. En utilisant une pipette de Pasteur, pour chaque test, placer une goutte de l'extrait à côté de chaque goutte de réactif latex.
9. Mélanger le latex et l'extrait à l'aide des bâtonnets fournis en étalant bien sur la totalité de la surface des cercles. Utiliser un nouveau bâtonnet pour chaque cercle de test.
10. Secouer délicatement les cartes pour permettre au mélange de s'écouler lentement sur la totalité de la surface du cercle de test.
11. Observer l'agglutination éventuelle pendant un maximum de 30 secondes.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

La procédure de contrôle qualité systématique de chaque lot de Prolex™ nécessite de tester les réactifs latex et réactifs d'extraction avec chaque groupe streptococcique A, B, C, D, F et G en utilisant les souches ATCC ou équivalentes selon les indications de cette section. L'extrait de ces souches s'agglutine avec le réactif latex homologue. Le contrôle positif polyvalent est utilisé pour tester les réactifs latex individuels.

Organisme	Groupe Lancefield	Référence
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Groupe A	ATCC 19615
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Groupe B	ATCC 12386
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groupe C	ATCC 12388
<i>Enterococcus faecalis</i>	Groupe D	ATCC 19433
<i>Streptococcus sp. Type 2</i>	Groupe F	ATCC 12392
<i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i>	Groupe G	ATCC 12394

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- **Résultat positif** : Une agglutination forte et rapide des particules en latex bleu dans un délai de 30 secondes avec l'un des réactifs latex ou une réaction notablement plus forte de l'un des réactifs par rapport aux cinq autres indique l'identification spécifique de l'isolat streptococcique. Une

réaction faible avec un seul réactif latex nécessitera la répétition du test en utilisant un inoculum plus consistant.

- **Résultat négatif** : Pas d'agglutination des particules en latex. Si des traces de granulation sont visibles dans les cercles de test, le test devra également être considéré comme négatif.
- **Résultat non concluant** : En présence d'une faible agglutination ou d'une réaction non-spécifique (filandreuse) dans le cercle de test après 30 secondes, répéter le test en utilisant une sous-culture fraîche. Si le même résultat est constaté après ce deuxième test, procéder à un test biochimique pour identifier l'isolat.
- **Résultat non-spécifique** : Si une agglutination d'intensité similaire se produit sur plusieurs groupes, vérifier la pureté de la culture utilisée pour réaliser le test. Si elle semble pure, répéter le test et contrôler l'identification de l'isolat à l'aide d'un test biochimique.
- La Figure 1 est l'illustration d'une configuration possible pour le groupage des streptocoques.

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

1. De faux résultats positifs ou négatifs risquent d'être obtenus lorsque le kit n'est pas utilisé conformément aux indications ou qu'une quantité de culture inadéquate est utilisée pour l'extraction.
2. Le kit est uniquement destiné à l'identification des streptocoques bêta-hémolytiques. Si des streptocoques alpha ou non-hémolytiques sont testés, l'identification devra être contrôlée à l'aide d'un test biochimique (5,9). (Se référer à la configuration suggérée pour le groupage des streptocoques).
3. Des réactions faussement positives ont été constatées avec des organismes issus de genres non apparentés, comme par exemple *Escherichia coli*, *Klebsiella* ou *Pseudomonas*(3,8). Ils sont susceptibles de présenter une agglutination non-spécifique avec tous les réactifs latex.
4. Certaines souches des streptocoques du Groupe D se sont avérées présenter une réaction croisée avec les immun-sérums du Groupe G ; l'appartenance de ces souches au Groupe D peut être contrôlée par le test bile-esculine. Il peut s'avérer difficile de grouper certaines souches d'*Enterococcus faecium* et de *Streptococcus bovis*.
5. *Listeria monocytogenes* peut présenter une réaction croisée avec les réactifs latex streptococciques des Groupes B et G. Le test catalase pourra être réalisé pour différencier les *Listeria*, qui sont catalase-positifs, et les streptocoques, qui sont eux catalase-négatifs. On pourra également avoir recours à une coloration de Gram et des tests de mobilité pour faciliter encore davantage cette différenciation.
6. Certaines souches typiquement non hémolytiques de *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) possèdent des antigènes A, C, F ou G et peuvent produire des réactions positives avec des réactifs au latex des streptocoques du groupe A, C, F ou G. On aura recours à la morphologie observée sur les tests biochimiques et de gélose au sang pour identifier ces organismes.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

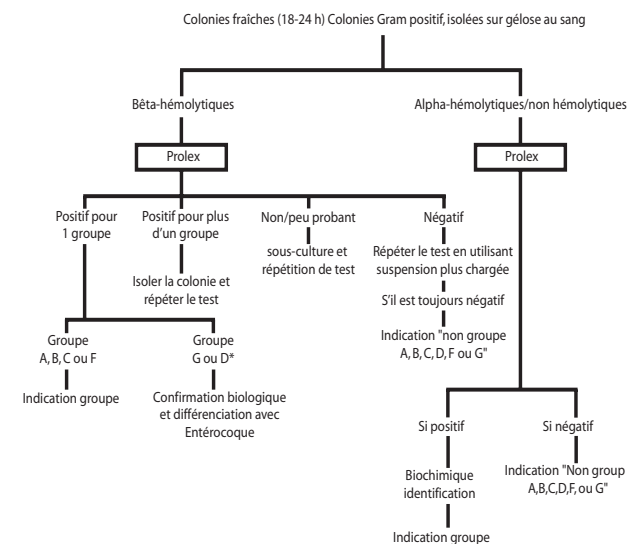
Cent soixante-sept (167) streptocoques à raison de 27, 56, 19, 31, 11 et 23 spécimens des groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G ont été testés avec le kit Prolex™ Strep Enzyme. La sensibilité et la spécificité du kit sont respectivement de 99,4% et 100%. La sensibilité et la spécificité de chaque groupe sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Groupe	Nombre total de souches	Nombre confirmé de souches	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Précision globale (%)
Strep A	27	27	100	100	100
Strep B	56	56	100	100	100
Strep C	19	19	100	100	100
Strep D	31	31	100	100	100
Strep F	11	11	100	100	100
Strep G	23	22	95.7	100	99.4
Total	167	166	99.4	100	99.9

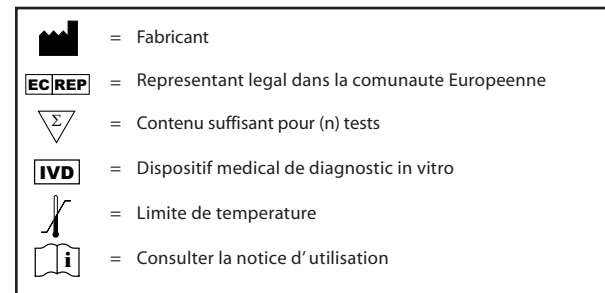
RÉFÉRENCES

1. **Ederer, G.M., Herrmann, M.M., Bruce, R. Matsen, J.M. and Chapman, S.S.** (1972). Rapid Extraction Method with Pronase B for Grouping Beta-Haemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 23, 285.
2. **EL Kholly, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M.** (1974). Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. *Appl. Microbiol.*, 28, 836.
3. **Elliot, S.D. and Tai, J.Y.** (1978). The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.*, 148, 1699.
4. **Facklam, R.R.** (1980). Streptococci and Aerococci, Ch. 8 in *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd Ed., Edited by Lennette, E.H. Balows, A., Hausler, W.J., and Truant, J.P. American Society for Microbiology, Washington, D.C. page 88-110.
5. **Facklam R.R.** (1977). Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. *J. Clin. Microbiol.*, 5, 184.
6. **Fuller, A.T.** (1938). The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130.
7. **Maxted, W.R.** (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. *Lancet*, ii, 255.
8. **Nowlan, S.S. and Deibel, R.H.** (1967). Group Q Streptococci. I. Ecology, Serology, Physiology and Relationships to Established Enterococci. *J. Bact.*, 94, 291.
9. **Petts, D.N.** (1984). Early Detection of Streptococci in Swabs by Latex Agglutination Before Culture. *J. Clin. Microbiol.*, 19, 432.
10. **Rantz, L.A. and Randall, E.** (1955). Use of Autoclaved Extracts of Haemolytic Streptococci for Serological Grouping. *Stanford Med. Bull.*, 13, 290.
11. **Watson, B.K., Moellering, R.C. and Kunz, L.J.** (1975). Identification of Streptococci. Use of Lysozyme and *Streptomyces albus* filtrate in the Preparation of Extracts of Lancefield Grouping. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 274.
12. **Slifkin, M., Cumbie, R.** (1987) Serogrouping Single Colonies of Beta-Hemolytic Streptococci with Achromopeptidase Extraction. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1555.

Figure 1 SCHEMA SUGGERE POUR LE GROUPE DES STREPTOCOQUES



*Certaines souches du groupe D peuvent présenter des réactions croisées avec des anti-sérums du groupe D. Harvey, C. L. and McIlmurray, M.B (1984) *Eur. J. Clinical Microbiol.*, 10, 641].



Ce mode d'emploi est une traduction professionnelle de la version anglaise d'origine. En cas d'ambiguïté ou de divergence flagrante, veuillez consulter le Service de soutien de Pro-Lab.