

**INTENDED USE**

MedicoDx™ Streptococcal-Select Grouping Kit provides a rapid method for the serological identification of groups A, B, C, D, F and G of the Lancefield groups of beta-hemolytic streptococci grown on agar plates.

**SUMMARY AND EXPLANATION**

Clinical, epidemiological and microbiological studies have conclusively shown that the diagnosis of streptococcal infections based on clinical symptoms always requires microbiological verification (4). Beta-haemolytic streptococci are the most frequently isolated human pathogens among the representatives of the genus *Streptococcus*. Nearly all the beta-haemolytic streptococci possess specific carbohydrate antigens (streptococcal group antigens). Lancefield showed that these antigens can be extracted in soluble form and identified by precipitation reactions with homologous antisera. Different procedures for extraction of streptococcal antigens are currently in use (1, 2, 6, 7, 10, and 11). The MedicoDx™ Streptococcal-Select Grouping Kit is based on liberation of specific antigen from bacteria cell walls by modified nitrous acid extraction. The extracted antigen in conjunction with particle agglutination offers a rapid, sensitive and specific method for identification of streptococcal groups A, B, C, D, F and G from primary culture plates.

**PRINCIPLE OF THE TEST**

The MedicoDx™ streptococcal grouping method involves chemical extraction of group specific carbohydrate antigens using specially developed nitrous acid extraction reagents. The extraction reagents 1 and 2 provided in the kit contain chemical substances able to extract streptococcal group specific antigens at room temperature. Extraction Reagent 3 contains a neutralizing solution. The neutralized extracts can be easily identified using blue particles sensitized with purified group specific rabbit immunoglobulins. These blue particles agglutinate strongly in the presence of homologous antigen and will not agglutinate when homologous antigen is absent.

**REAGENTS**

Each kit is sufficient for 65 streptococcal grouping tests. Materials are supplied ready for use.

**MATERIALS PROVIDED**

Customers select any five vials of particle suspension to accompany the MedicoDx™ Streptococcal-Select Grouping Kit:

|                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| Blue Particle Suspension Group A     | PL031C     |
| Blue Particle Suspension Group B     | PL032C     |
| Blue Particle Suspension Group C     | PL033C     |
| Blue Particle Suspension Group D     | PL034C     |
| Blue Particle Suspension Group F     | PL035C     |
| Blue Particle Suspension Group G     | PL036C     |
|                                      |            |
| Extraction Reagent 1 (PL047C-7)      | } PL046C-7 |
| Extraction Reagent 2 (PL048C-7)      |            |
| Extraction Reagent 3 (PL049C-7)      |            |
| Polyvalent Positive Control 'ABCDGF' | PL040C     |
|                                      |            |
| Mixing Sticks                        | PL091C     |
| Reaction Cards                       | PL092C-48  |

**Particle Suspensions:** Each vial contains 3.5 mL of blue particles coated with purified rabbit antibodies to Group A, Group B, Group C, Group D, Group F or Group G streptococci. The blue particles are suspended in buffer pH 7.4 containing 0.098% sodium azide as preservative.

**Polyvalent Positive Control:** One dropper bottle containing 3 mL of **ready to use** polyvalent antigens extracted from inactivated streptococci of Lancefield groups A, B, C, D, F and G.

**Extraction Reagent 1:** One dropper bottle containing 7 mL of extraction reagent 1 with 0.098% sodium azide as preservative.

**Extraction Reagent 2:** One dropper bottle containing 7 mL of extraction reagent 2.

**Extraction Reagent 3:** One dropper bottle containing 7 mL of extraction reagent 3 with 0.098% sodium azide as preservative.

**ALL COMPONENTS OF THIS KIT ARE AVAILABLE SEPARATELY FOR PURCHASE.**

**MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED**

- Inoculating loops
- Pasteur pipettes
- Test tubes 12 x 75 mm
- Timer

**PRECAUTIONS**

1. Do not use reagents after expiry date shown on product label.
2. Some reagents contain sodium azide. Sodium azide can react explosively with copper or lead if allowed to accumulate. Although the amount of sodium azide in the reagents is minimal, large quantities of water should be used if reagents are flushed down the sink.
3. The extraction reagents contain a mildly caustic agent. In case of skin contact, immediately wash the area with soap and copious amounts of water. If the reagent comes into contact with an eye, flush with water for at least 15 minutes.
4. Safety precautions should be taken in handling, processing and discarding all clinical specimens as a pathogenic organism may be present.
5. The kit is intended for *in vitro* diagnostic use only.
6. The procedures, storage conditions, precautions and limitations specified in these directions must be adhered to in order to obtain valid test results.
7. Some reagents contain materials of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

**STABILITY AND STORAGE**

All kit components should be stored at 2-8°C. **Do not freeze.** Reagents stored under these conditions will be stable until the expiry date shown on product label.

**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION OF CULTURES**

For specific procedures regarding specimen collection and preparation of primary cultures refer to a standard microbiology textbook. In general, a fresh (18-24 hr.) gram positive beta-haemolytic (5 % sheep blood agar) isolate of streptococcal colonies is assumed. One to four large colonies should be sufficient for grouping; however if the colonies are minute, an increased number of colonies (loopful) should be used.

**TEST PROTOCOL**

- All components should be at room temperature (20-28°C) prior to use.
1. Re-suspend the test particles reagents by gently inverting the dropper bottle several times. Examine the dropper bottles to ensure that the particles are properly suspended before use. Do not use if the particles fail to re-suspend.
  2. Label one test tube for each isolate to be tested.
  3. Add 2 drops of Extraction Reagent 1 to each tube.
  4. Select 1-4 beta-haemolytic colonies using a disposable loop and suspend them in the Extraction Reagent 1. If colonies are minute, pick several well isolated colonies to be tested such that Extraction Reagent 1 solution becomes turbid. In all cases the streptococcal colonies should be picked from an area which contains the least amount of contamination.
  5. Add 2 drops of Extraction Reagent 2 to each tube.
  6. Mix the reaction by tapping the tube with a finger for 5-10 seconds.
  7. Add 2 drops of Extraction Reagent 3 to each tube. Mix the reaction as in **step 6.**
  8. Dispense one drop of each blue particle suspension onto separate circles on the test card labelled for each isolate being tested.
  9. Using a Pasteur pipette, for each test place one drop of extract beside each drop of the particle suspension.
  10. Mix the blue suspension and the extract with the sticks provided, using the complete area of the circle. A new stick should be used for each test circle.
  11. **Gently** rock the card allowing the mixture to flow slowly over the entire test ring area.
  12. At one minute, under normal lighting conditions, observe for agglutination.

**OPTIONAL TEST PROTOCOL:** For testing of specific groups and not the full panel, a ratio of 1:1:1 drop of each Extraction Reagent can be used. This ratio is sufficient for up to three tests.

**QUALITY CONTROL PROCEDURES**

Routine quality control procedures for each MedicoDx™ lot involve testing of the blue particle suspension and extraction reagents with each streptococci group A, B, C, D, F and G using ATCC strains or equivalent as listed in this section. The extract from these strains will agglutinate with the homologous particle suspension. The Polyvalent Positive Control is used to test the individual latex reagents and should be performed with each shipment and new kit lot number received.

The following ATCC strains are recommended for use in quality control;

| Organism   | Lancefield Group | Reference  |
|--|------------------|------------|
| <i>Streptococcus pyogenes</i>                        | group A          | ATCC 19615 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i>                      | group B          | ATCC 12386 |
| <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> | group C          | ATCC 12388 |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                         | group D          | ATCC 19433 |
| <i>Streptococcus sp. Type 2,</i>                     | group F          | ATCC 12392 |
| <i>Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis</i> | group G          | ATCC 12394 |

## QUALITY CONTROL PROCEDURES continued

In addition, the following procedure is recommended to check the performance of the reagents:

- As a test of absence of auto agglutination, the blue particle suspensions should not show agglutination with normal saline solution.

## INTERPRETATION OF RESULTS

**Positive results:** Rapid strong agglutination of the blue particles within one minute with one of the particle reagents indicates specific identification of the streptococcal isolate. A weak reaction with a single blue particle suspension should be repeated using a heavier inoculum. The repeated test is considered positive if agglutination occurs with only one of the blue particle suspensions. Figure 1 illustrates a suggested scheme for grouping streptococci.

**Negative results:** No agglutination of the blue particles. If traces of granulation are seen in the test circle the test should also be regarded as negative.

**Inconclusive results:** If weak clumping or non-specific reaction (stringiness) is present in the test circle after one minute, the test should be repeated using a fresh subculture. If the same result is seen after retesting, biochemical testing should be performed to identify the isolate.

**Non-specific results:** On a rare occasion you may see agglutination with more than one group. If this occurs, please check the purity of the culture used to perform the test. If it looks pure, repeat the test and confirm the identification of the isolate with biochemical testing.

## LIMITATION OF THE PROCEDURE

- False negative or false positive results can occur if insufficient amounts of culture or extraction reagents are used.
- The kit is intended for use in identification of beta-haemolytic streptococci only. If alpha or non-haemolytic streptococci are tested, the identification should be confirmed by biochemical tests (5, 9) (Refer to suggested scheme for grouping streptococci).
- False positive reactions have been known to occur with organisms from unrelated genera, e.g. *Escherichia coli*, *Klebsiella* or *Pseudomonas* (3, 8). These are likely to non-specifically agglutinate all particle reagents.
- Some strains of Group D streptococci have been found to cross react with Group G antisera; these strains may be confirmed as Group D by the bile-esculin test. Some strains of *Enterococcus faecium* and *Streptococcus bovis* might be difficult to be grouped.
- Listeria monocytogenes* may cross react with the Group B and/or G Streptococcal particle suspensions. The catalase test may be performed to distinguish between *Listeria*, which are catalase-positive, and streptococci, which are catalase-negative. Gram staining and motility testing may be performed as further aids to differentiation.
- Some strains of *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*) typically non-haemolytic possess A, C, F or G antigens and can give positive reaction with Strep A, C, F or G latex reagents. Morphology on blood agar and biochemical testing should be used to identify these organisms.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### A. Cross - reactivity studies:

The MedicoDx™ Streptococcal Grouping Kit was tested for cross-reactivity using 33 ATCC reference strains. The kit successfully grouped all streptococci containing Lancefield groups A, B, C, D, F and G (N=16). No cross-reactivity was observed during the testing of other streptococcal strains (n=7) nor of other non-streptococcal organisms (n=10).

### B. Clinical performance studies:

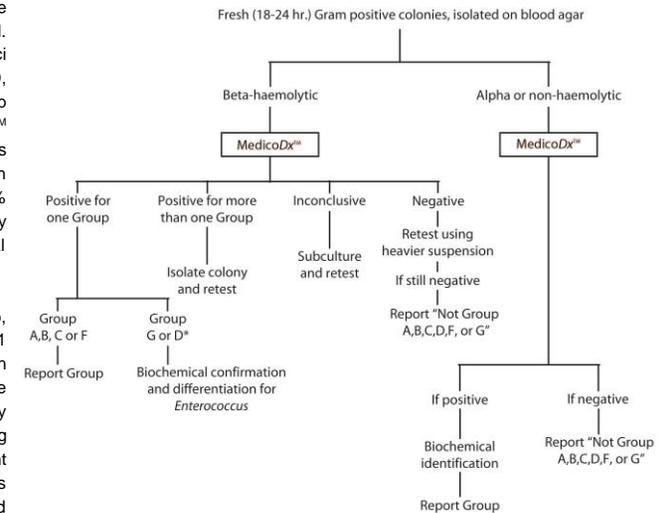
1. The MedicoDx™ Streptococcal Grouping Kit was evaluated as part of a comparison of five commercially available streptococcal grouping kits. The study was performed at the Northern General Hospital in Sheffield, England. All of the kits were challenged with a panel of 302 beta-haemolytic streptococci composed of 64, 67, 44, 55, 56 and 4 strains of Lancefield groups A, B, C, D, G and F respectively. The results showed that 12 of the strains failed to group with any of the kits tested. Of the remaining 290 strains the MedicoDx™ Streptococcal Grouping Kit correctly identified 286 (98%). The authors concluded that the MedicoDx™ Streptococcal Grouping Kit proved to be both accurate and rapid, with sensitivity and specificity of 99% and 100% respectively. Furthermore, the average time to agglutination was substantially less than that achieved by three of the other four kits evaluated. Additional data is available upon request.

2. A second performance study was carried out at a Health Centre in Ontario, Canada. In this study, 111 primary cultures were included (110 tested, 1 inadequate). All the strains were originally grouped by Lancefield precipitation reactions. All group D were further biochemically confirmed using a BE (bile esculin) and PYR (pyrrolidonyl aminopeptidase) assay protocol. The primary cultures were tested in parallel using the MedicoDx™ Streptococcal Grouping Kit and an alternative grouping kit. In this study, the overall agreement between MedicoDx™ and Lancefield results occurred with 109 of 110 isolates tested (99%), while overall agreement between the alternative kit and Lancefield results occurred with 106 of 110 isolates tested (96.3%). The 110 primary isolates used in this study included 15 group A, 40 group B, 13 group C, 4 group D, 11 group F, 12 group G and 15 non-groupable strains.

## REFERENCES

- 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.
- EL Kholy, A., Wannamaker, L.W. and Krause, R.M. (1974). Simplified Extraction Procedure for Serological Grouping of Beta-Hemolytic Streptococci. Appl. Microbiol., 28, 836.
- Elliott, S.D. and Tai, J.Y. (1978). The Type-Specific Polysaccharides of *Streptococcus suis*. J. Exp.Med.,148, 1699.
- 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.
- Facklam R.R. (1977). Physiological Differentiation of Viridans Streptococci. J. Clin. Microbiol., 5, 184.
- Fuller, A.T. (1938). The Formamide Method for the Extraction of Polysaccharides from Haemolytic Streptococci. Brit. J. Exp. Path., 19, 130.
- Maxted, W.R. (1948). Preparation of Streptococcal Extracts for Lancefield Grouping. Lancet, ii, 255.
- Nowlan, S.S. and Deibel, R.H. (1967). Group Q Streptococci. I. Ecology, Serology, Physiology and Relationships to Established Enterococci. J. Bact., 94, 291.
- Petts, D.N. (1984). Early Detection of Streptococci in Swabs by Latex Agglutination Before Culture. J. Clin. Microbiol., 19, 432.
- Rantz, L.A. and Randall, E. (1955). Use of Autoclaved Extracts of Haemolytic Streptococci for Serological Grouping. Stanford Med. Bull., 13, 290.
- 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.

Figure 1 SUGGESTED SCHEME FOR GROUPING STREPTOCOCCI



\* Some strains of group D have been found to cross-react with group G antisera. [Harvey, C.L. and McIlmurray, M.B (1984) Eur.J.Clinical Microbiol, 10,641].

|  |  |
|--|--|
| <p><b>PL047C-7</b><br/><b>PL047C-18</b></p>  | <p> <b>Warning</b></p> <p>Harmful if swallowed.</p> <p>Wash hands and exposed skin thoroughly after handling.<br/>Dispose of contents/container in accordance with local regulation.</p>  |
| <p><b>PL048C-7</b><br/><b>PL048C-18</b></p>  | <p> <b>Danger</b></p> <p>Causes severe skin burns and eye damage.</p> <p>Do not breathe vapour/mist.<br/>Wear eye protection/protective gloves/protective clothing.<br/>IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.<br/>IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.<br/>IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.<br/>Dispose of contents/container in accordance with local regulation.</p> |
| <p><b>PL031C</b><br/><b>PL032C</b><br/><b>PL033C</b><br/><b>PL034C</b><br/><b>PL035C</b><br/><b>PL036C</b></p> | <p> <b>Danger</b></p> <p>May damage fertility or the unborn child.</p> <p>Obtain special instructions before use.<br/>Wear eye protection/protective gloves/protective clothing.<br/>If exposed or concerned: Get medical advice/attention.<br/>Dispose of contents/container in accordance with location regulation.</p>   |

|   |                  |   |                                      |
|---|------------------|---|--------------------------------------|
|  | = Use by         |  | = In vitro diagnostic medical device |
|  | = Lot number     |  | = Contains sufficient for <n> tests  |
|  | = Catalog number |  | = Temperature limitation             |
|  | = Manufacturer   |  | = Consult Instructions for use       |

**DOMAINE D'APPLICATION**

Le Kit de particules pour groupage de streptocoques Select MedicoDx™ est un test rapide pour l'identification sérologique des groupes de streptocoques bêta-hémolytiques A, B, C, D, F et G (technique de Lancefield) cultivés en plaques de gélose.

**INTRODUCTION**

Des études cliniques, épidémiologiques et microbiologiques ont démontré que le diagnostic des infections à streptocoques basé sur des symptômes cliniques nécessitait toujours une vérification microbiologique (4). Les streptocoques bêta-hémolytiques sont les agents pathogènes humains du genre *Streptococcus* les plus fréquemment isolés. Presque tous les streptocoques bêta-hémolytiques possèdent des antigènes glucidiques spécifiques (Ag de groupes de streptocoques). Lancefield a montré qu'il était possible d'extraire ces antigènes sous forme soluble et de les identifier par une réaction de précipitation avec un antisérum homologue. Différentes procédures d'extraction des antigènes de streptocoques sont couramment utilisées (1,2,6,7,10,11). Le kit de particules pour groupage des streptocoques Select MedicoDx™ est basé sur la libération d'un antigène spécifique des parois cellulaires des bactéries par extraction avec de l'acide nitreux modifié. L'antigène extrait, conjugué à une agglutination avec les particules, offre une méthode rapide, sensible et spécifique pour l'identification des Streptocoques de groupe A, B, C, D, F et G à partir de plaques de cultures primaires.

**PRINCIPE DU TEST**

La méthode de groupage des streptocoques MedicoDx™ implique l'extraction chimique des antigènes glucidiques spécifiques de groupe en utilisant des réactifs d'extraction à l'acide nitreux spécialement développés. Les réactifs d'extraction 1 et 2, inclus dans le kit, contiennent des substances chimiques capables d'extraire les antigènes spécifiques de groupe des streptocoques à température ambiante. Le réactif d'extraction 3 contient une solution de neutralisation. L'extrait ainsi neutralisé peut facilement être identifié à l'aide des particules bleues sensibilisées avec des immunoglobulines de lapin spécifiques de groupe et purifiées. Ces particules bleues s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue et n'agglutinent pas lorsqu'il est absent.

**RÉACTIFS**

Chaque kit est suffisant pour 60 tests de groupage de streptocoques. Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

**MATÉRIEL FOURNI – 5 flacons de suspension de particules, au choix du client pour accompagner le kit de particules de groupage des streptocoques Select MedicoDx™ :**

|   |                  |
|---|------------------|
| <b>Suspension de particules bleues (groupe A)</b> | <b>PL031C</b>    |
| <b>Suspension de particules bleues (groupe B)</b> | <b>PL032C</b>    |
| <b>Suspension de particules bleues (groupe C)</b> | <b>PL033C</b>    |
| <b>Suspension de particules bleues (groupe D)</b> | <b>PL034C</b>    |
| <b>Suspension de particules bleues (groupe F)</b> | <b>PL035C</b>    |
| <b>Suspension de particules bleues (groupe G)</b> | <b>PL036C</b>    |
| <b>Réactif d'extraction 1 (PL047C-7)</b>          | }                |
| <b>Réactif d'extraction 2 (PL048C-7)</b>          |                  |
| <b>Réactif d'extraction 3 (PL049C-7)</b>          |                  |
| <b>Témoin positif polyvalent 'ABCD'FG'</b>        | <b>PL040C</b>    |
| <b>Bâtonnets mélangeurs</b>                       | <b>PL091C</b>    |
| <b>Cartes de réaction</b>                         | <b>PL092C-48</b> |

**Suspensions de particules :** Chaque flacon contient 3,5 ml de particules bleues enduites d'anticorps de lapin purifiés dirigés contre les streptocoques des groupes A, B, C, D, F ou G. Les particules bleues sont en suspension dans du tampon au pH 7,4 contenant 0,098% d'azide de sodium (agent de conservation).

**Témoin positif polyvalent 'ABCD'FG' :** Un flacon contenant 3 ml d'antigènes polyvalents comprenant des streptocoques inactivés des groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G.

**Réactif d'extraction 1 :** Un flacon compte-gouttes contenant 7 ml de réactif d'extraction 1 avec 0,098% d'azide de sodium en tant qu'agent de conservation.

**Réactif d'extraction 2 :** Un flacon compte-gouttes contenant 7 ml de réactif d'extraction 2.

**Réactif d'extraction 3 :** Un flacon compte-gouttes contenant 7 ml de réactif d'extraction 3 avec 0,098% d'azide de sodium en tant qu'agent de conservation.

**TOUS LES COMPOSANTS DE CETTE TROUSSE PEUVENT ÊTRE ACHETÉS SÉPARÉMENT.**

**MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI**

- Oeses
- pipettes Pasteur
- éprouvettes en verre borosilicaté (12 mm x 75 mm)
- chronomètre

**PRÉCAUTIONS D'EMPLOI**

1. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption imprimée sur les étiquettes.
2. Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium. L'accumulation d'azide de sodium dans les tuyauteries en cuivre ou en plomb peut provoquer une réaction explosive. En dépit de la quantité d'azide de sodium minimale que contiennent les réactifs, rincer abondamment à l'eau lors de l'élimination dans les tuyauteries.
3. Les réactifs d'extraction contiennent un agent légèrement caustique. En cas de contact avec la peau, laver immédiatement la zone avec du savon et de grandes quantités d'eau. Si le réactif entre en contact avec l'œil, rincer à l'eau pendant au moins 15 minutes.
4. Tous les spécimens doivent être considérés comme potentiellement infectieux : les manipuler, les traiter et les éliminer selon les règles de sécurité en vigueur.
5. Le kit est uniquement destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
6. Les procédures, les conditions de conservation, les précautions d'emploi et les limites d'utilisation spécifiées dans cette notice doivent être respectées pour assurer la validité des tests réalisés.
7. Certains réactifs contiennent des substances d'origine animale: les manipuler comme si elles présentaient un risque de porteur et de transmission de pathogènes.

**STABILITÉ ET CONSERVATION**

Tous les composants du kit sont à conserver à 2-8°C. **Ne pas congeler.** Conservés dans ces conditions, les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

**PRÉLEVEMENT DES SPÉCIMENS ET MISE EN CULTURE**

Pour les procédures spécifiques de prélèvement des spécimens et de mise en culture, se référer aux méthodes standards décrites dans les manuels de microbiologie. En général, on présume qu'il s'agit d'un isolat Gram positif bêta-hémolytique frais (18-24 heures) de colonies de streptocoques (en gélose à 5% de sang de mouton). Une à quatre grosses colonies devraient être adéquates pour le test ; néanmoins, si les colonies sont minuscules, un plus grand nombre de colonies (toute une oese) devra être utilisé.

**PROTOCOLE DU TEST**

Porter tous les composants à température ambiante (20°-28°C) avant l'utilisation.

1. Resuspendre les particules d'analyse des réactifs en inversant doucement les flacons compte-gouttes à plusieurs reprises. Avant l'utilisation, vérifier les flacons compte-gouttes pour s'assurer d'une suspension adéquate. Ne pas utiliser le produit si les particules ne sont pas adéquatement en suspension.
2. Étiqueter un tube pour chacun des isolats à tester.
3. Ajouter 2 gouttes de réactif d'extraction 1 à chaque tube.
4. À l'aide d'une oese jetable, sélectionner 1 à 4 colonies bêta-hémolytiques et les mettre en suspension dans le réactif d'extraction 1. Dans le cas de colonies minuscules, prélever plusieurs colonies bien isolées puis les mettre en suspension dans la solution du réactif d'extraction 1 jusqu'à ce que la solution devienne trouble. Dans tous les cas, les colonies de streptocoques doivent être prélevées d'une zone montrant la plus faible contamination possible.
5. Ajouter 2 gouttes de réactif d'extraction 2 dans chaque tube.
6. Mélanger la suspension en tapotant le tube avec le doigt pendant 5 à 10 secondes.
7. Ajouter 2 gouttes de réactif d'extraction 3 dans chaque tube. Mélanger la suspension comme à l'étape 6.
8. Déposer une goutte de chaque suspension de particules bleues dans les cercles distincts de la carte test, un pour chaque isolate à tester.
9. À l'aide d'une pipette Pasteur, déposer une goutte du produit de l'extraction à côté de chaque goutte de suspension de particules.
10. Mélanger les particules bleues et le produit de l'extraction avec les bâtonnets fournis, pour couvrir l'intégrité du cercle. Un bâtonnet doit être utilisé pour chaque cercle d'analyse.
11. Balancer **doucement** la carte afin que la suspension circule sur la totalité du cercle
12. Après une minute, observer sous éclairage normal pour voir s'il y a eu agglutination.

**PROTOCOLE DU TEST FACULTATIF :** Pour l'analyse des groupes spécifiques et non pour le groupage complet, un rapport de 1 : 1 goutte de chaque réactif d'extraction peut être utilisé. Cette quantité suffit pour effectuer un maximum de trois tests.

**PROCÉDURES DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ**

Les procédures systématiques de contrôle de la qualité pour chaque lot de MedicoDx™ impliquent le contrôle de chaque composant du kit (les suspensions de particules bleues, les témoins positifs polyvalents et les réactifs d'extraction) avec le produit d'extraction de chacun des groupes de streptocoques A, B, C, D, F et G en utilisant les souches ATCC nommées dans le paragraphe "MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI". De plus, chaque suspension de particules bleues est testée pour l'absence de réactions croisées avec le produit de l'extraction des souches. Ce processus devrait être effectué avec chaque expédition et avec chaque nouveau numéro de lot reçu.

Les souches ATCC suivantes sont recommandées pour le contrôle de la qualité :

| 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 |

Néanmoins, les procédures suivantes sont recommandées pour vérifier la performance des réactifs.

1. Pour tester l'absence d'auto-agglutination, les réactifs de particules bleues ne doivent pas s'agglutiner avec de la solution saline normale.

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

**Résultats positifs :** Dans un délai d'une minute, l'agglutination rapide et robuste des particules bleues avec un des réactifs de particules indique l'identification spécifique de l'isolat de streptocoque. Dans le cas d'une réaction faible avec un seul réactif de particules bleues, répéter le test avec un inoculum plus chargé. Ce nouveau test est considéré comme positif si l'agglutination apparaît avec seulement un des réactifs de particules bleues. La Figure 1 illustre un schéma de groupage suggéré pour les streptocoques.

**Résultats négatifs :** Aucune agglutination des particules bleues. Si des traces de granulation sont aperçues dans le cercle de l'analyse, le test doit également être considéré comme négatif.

**Résultats peu concluants :** Dans le cas d'agrégation faible ou de réaction non spécifique (fibreuse) dans le cercle d'analyse après une minute, le test doit être répété avec une sous-culture fraîche. Si le même résultat est obtenu la deuxième fois, des analyses biochimiques doivent être effectuées pour identifier l'isolat.

**Résultats non spécifiques :** Dans de rares occasions, il peut y avoir agglutination avec plus d'un groupe. Dans ces cas, vérifier la pureté de la culture utilisée pour l'analyse. Si elle semble être pure, répéter le test et confirmer l'identification de l'isolat avec des analyses biochimiques.

### LIMITES DU TEST

1. Des résultats faux négatifs ou faux positifs peuvent être obtenus si les quantités de culture ou de réactifs d'extraction ne sont pas respectées.
2. Le kit est destiné à l'identification des streptocoques bêta-hémolytiques seulement. Pour les streptocoques alpha-hémolytiques ou non hémolytiques, l'identification doit être confirmée par des tests biochimiques (5,9) (Cf. Fig. 1 Schéma suggéré pour le groupage des streptocoques).
3. Des réactions faussement positives peuvent être obtenues avec des organismes de genres non associés, tels que *Escherichia coli*, *Klebsiella* ou *Pseudomonas* (3,8). Ceux-ci ont tendance à s'agglutiner sans spécificité avec tous les réactifs de particules.
4. Certaines souches de Streptocoques du Groupe D peuvent présenter des réactions croisées avec le groupe G. Ces souches peuvent être confirmées comme appartenant au groupe D avec le test de bile-esculine. Certaines souches d'*Enterococcus faecium* et de *Streptococcus bovis* peuvent s'avérer difficiles à grouper.
5. *Listeria monocytogenes* peut présenter une réaction croisée avec les streptocoques des groupes B et/ou G, car *L. monocytogenes* présente une antigénicité similaire. Le test de catalase permet de distinguer les *Listéria* (catalase +) des streptocoques (catalase -). Une coloration de Gram et des tests sur la mobilité peuvent être réalisés comme aide à la différenciation.
6. Certaines souches de *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus*), typiquement non hémolytique, possèdent des antigènes A, C, F ou G et peuvent produire une réaction positive avec les réactifs latex Strep A, C, F ou G. La morphologie sur la gélose de sang et les tests biochimiques devraient être utilisés pour identifier ces organismes.

### CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

#### A. Études de réaction croisée :

Le Kit de particules pour groupage des Streptocoques MedicoDx™ a été testé pour voir s'il y avait réactivité croisée en utilisant 33 souches ATCC. Le kit a groupé avec succès tous les streptocoques contenant les groupes A, B, C, D, F et G (technique de Lancefield) (N=16). Aucune réactivité croisée n'a été observée pendant le test d'autres souches de streptocoques (n=7) ou avec des organismes autres que streptocoques (n=10).

#### B. Études de performance cliniques :

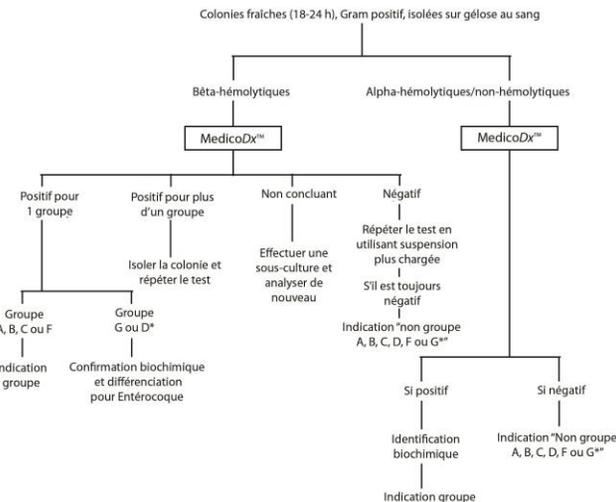
1. La trousse de groupage des streptocoques MedicoDx™ faisait partie d'une étude comparant cinq trousse commerciales de groupage des streptocoques. L'étude a été effectuée à l'hôpital Northern General à Sheffield en Angleterre. Toutes les trousse ont été testées avec un panel de 302 streptocoques bêta-hémolytiques qui incluaient 64, 67, 44, 55, 56 et 4 souches des groupes de Lancefield A, B, C, D, G et F respectivement. Les résultats ont démontré que 12 souches n'ont pu être identifiées par aucune des trousse testées. Des autres 290 souches, la trousse de groupage des streptocoques MedicoDx™ en a correctement identifié 286 (98%). Les auteurs en ont conclu que la trousse de groupage des streptocoques MedicoDx™ a prouvé sa précision et sa rapidité, avec une sensibilité et une spécificité de 99 % et 100 % respectivement. De plus, le temps moyen pour obtenir une agglutination était considérablement moindre que celui pour trois des quatre autres trousse évaluées. Des données additionnelles peuvent être obtenues sur demande.

2. Une seconde étude de performance a été réalisée dans un centre médical d'Ontario, au Canada. Dans cette étude, 111 cultures primaires ont été incluses (110 testées/1 inadéquate). Toutes les souches avaient été à l'origine groupées par la méthode de Lancefield. Tous les groupes ont été biochimiquement confirmés par les tests de bile-esculine et à la pyrrolidonyl-aminopeptidase. Dans cette étude, les cultures primaires ont été testées avec le kit de groupage des streptocoques MedicoDx™ et un autre test de groupage. Dans cette étude, la concordance entre le kit MedicoDx™ et la méthode de Lancefield était de 99 % (109/110 isolats) alors que la concordance était de 96,3 % (106/110 isolats) entre l'autre kit testé et cette même méthode. Les 110 cultures primaires utilisées dans cette étude se composaient de 15 streptocoques du groupe A, 40 du groupe B, 13 du groupe C, 4 du groupe D, 11 du groupe F, 12 du groupe G et 15 non-groupables.

#### BIBLIOGRAPHIE

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 Kholi, 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, 3. Auflage., Herausgegeben von Lennette, E.H. Balows, A., Hausler, W.J., und Truant, J.P. American Society for Microbiology, Washington, D.C. S. 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 Streptokokken 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. Stanfor 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.

Figure 1 **SCHÉMA SUGGÉRÉ POUR LE GROUPE DES STREPTOCOQUES**



\* Certaines souches du groupe D peuvent présenter des réactions croisées avec des antisérums du groupe G.

[Harvey, C.L. and McIlmurray, M.B (1984) Eur.J.Clinical Microbiol,10,641].

|  |  |
|--|--|
| <p><b>PL047C-7</b><br/><b>PL047C-18</b></p>  | <p> <b>Attention</b></p> <p>NoCIF en cas d'ingestion.</p> <p>Se laver mains et la peau exposée soigneusement après manipulation. Éliminer le contenu/récipient dans conformément à la réglementation locale.</p>  |
| <p><b>PL048C-7</b><br/><b>PL048C-18</b></p>  | <p> <b>Danger</b></p> <p>Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.</p> <p>Ne pas respirer les vapeurs/brouillards. Porter protection des yeux/des gants de protection/vêtements de protection.</p> <p>EN CAS D'INGESTION: Rincer la bouche. NE PAS faire vomir.</p> <p>EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.</p> <p>EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.</p> <p>Éliminer le contenu/récipient dans conformément à la réglementation locale.</p> |
| <p><b>PL031C</b><br/><b>PL032C</b><br/><b>PL033C</b><br/><b>PL034C</b><br/><b>PL035C</b><br/><b>PL036C</b></p> | <p> <b>Danger</b></p> <p>Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.</p> <p>Se procurer les instructions spéciales avant utilisation. Porter protection des yeux/des gants de protection/vêtements de protection.</p> <p>EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.</p> <p>Éliminer le contenu/récipient dans conformément à la réglementation locale.</p>  |

|   |   |
|---|---|
|  = Date de péremption  |  = Dispositif medical de diagnostic in vitro |
|  = Numéro de lot       |  = Contient suffisamment pour <n> tests      |
|  = Numéro de catalogue |  = Limite de température                     |
|  = Fabricant           |  = Consulter la notice d'utilisation         |