



<p>Key Code TSMX7733B www.oxid.com/ifu</p>	<p>Europe + 800 135 79 135 CA 1 855 805 8539</p>	<p>US 1 855 236 0910 ROW +31 20 794 7071</p>
--	--	--

PathoDxtra Strep Grouping Kit/Kit De Grupaje De Estreptococos

REF DR0700M	60		ES
--------------------------	----	---	-----------

1. INDICACIONES

El kit de grupaje de estreptococos PathoDxtra™ es una prueba de aglutinación en látex que proporciona un método rápido de identificación serológica de los estreptococos pertenecientes a los grupos de Lancefield A, B, C, D, F y G a partir de placas de cultivos primarios. Los materiales suministrados son para uso diagnóstico in vitro y facilitan un grupaje rápido de los estreptococos.

2. RESUMEN

Los carbohidratos estreptocócicos de los grupos A, B, C, F y G son antígenos complejos que suelen incluir oligosacáridos que contienen ramnosa y diferentes cadenas laterales, que consisten principalmente en glucosamina, tanto acetilada como no acetilada. El antígeno del grupo D es el ácido lipoteicoico.

En el procedimiento PathoDxtra se utiliza un método de aglutinación de látex junto con un procedimiento de extracción con ácido nítrico. La IgG acoplada a las partículas de látex es altamente específica para un determinado antígeno estreptocócico de grupo. Este método ofrece importantes ventajas con respecto a otros procedimientos de grupaje de estreptococos en cuanto a rapidez, simplicidad y conveniencia.

3. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

En el procedimiento PathoDxtra, el anticuerpo específico de las partículas de látex reacciona con el antígeno estreptocócico de grupo extraído de la pared celular bacteriana y lo aglutina. En presencia del antígeno estreptocócico de grupo correspondiente, las partículas sensibilizadas forman un patrón de aglutinación granular definido y claramente visible que contrasta con el aspecto uniforme y blanquecino de una prueba negativa.

El antígeno específico de grupo se obtiene mediante el procedimiento de extracción con ácido nítrico a temperatura ambiente. Luego se neutraliza la mezcla de reacción. La rotación del portaobjetos durante un minuto hace que el antígeno extraído se aglutine por acción de las partículas de látex recubiertas con IgG.

Los reactivos están diseñados para producir una aglutinación positiva con una a cuatro colonias de un cultivo de 18 a 24 horas en la mayoría de las colonias de aislados de estreptococos β-hemolíticos. Con colonias pequeñas del grupo F y variantes de colonias pequeñas de otros estreptococos se pueden necesitar 10 colonias o más.

La correlación de las pruebas de grupaje rápido de estreptococos con los métodos de referencia mejora cuando se analizan solamente estreptococos β-hemolíticos en agar sangre de oveja^{1,2,3,4}.

4. DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

CONTROL 	Control positivo
	Contenido o presencia de látex de caucho natural
REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico “in vitro”
	Consult instruction for use
	Límites de temperatura (temperatura de conservación)
	Contenido suficiente para <n> pruebas
LOT	Código de lote (número de lote)
10 - 60 seconds	Rotación de tarjeta durante 10 a 60 segundos
POSITIVE RESULT	Resultado positivo
NEGATIVE RESULT	Resultado negativo
	Fecha de caducidad
	Fabricante

5. CONTENIDO DEL KIT, PREPARACIÓN PARA EL USO Y CONSERVACIÓN

El kit de grupaje de estreptococos PathoDxtra incluye suficientes reactivos para realizar 60 pruebas.

Consulte también la sección 6, Precauciones.

La fecha de caducidad de cada kit se indica en la etiqueta del envase.



El kit sin abrir debe conservarse a una temperatura de 2 a 8°C, puesto que sus componentes son más estables a esta temperatura que a temperaturas superiores. Una vez que se utiliza el kit, los reactivos de látex y el control positivo tienen que conservarse a una temperatura de 2 a 8°C. Los demás componentes pueden guardarse a temperatura ambiente .



Instrucciones de uso
Bastoncillos de mezcla (2 paquetes)
Tarjetas de reacción desechables (1 paquete DR0720G)
Tarjeta de procedimiento

Los componentes del kit se pueden intercambiar con otros componentes que tengan el mismo número de referencia. Los componentes se pueden adquirir por separado.

LATEX

Látex de grupaje
Látex para grupaje de estreptococos A (DR0701G)
Látex para grupaje de estreptococos B (DR0702G)

Látex para grupaje de estreptococos C (DR0703G)
Látex para grupaje de estreptococos D (DR0704G)
Látex para grupaje de estreptococos F (DR0705G)
Látex para grupaje de estreptococos G (DR0706G)

Seis frascos cuentagotas (uno para cada uno de los grupos A, B, C, D, F y G) cada uno contiene una suspensión de partículas sintéticas de látex azul recubiertas de anticuerpo de conejo y sensibilizadas con IgG, suficientes para 60 pruebas, con azida sódica al 0,098% y ProClin 300™ al 0,05% como conservantes. Si se conservan a una temperatura de 2 a 8°C, se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Justo antes del uso, invierta ligeramente el frasco o sométalo a agitación en “vortex”.

Control positivo (DR0707G)

Un frasco cuentagotas con 2,8 ml de antígeno de control polivalente compuesto por antígenos estreptocócicos extraídos de cepas representativas de los grupos de Lancefield A, B, C, D, F y G. La solución contiene azida sódica al 0,098% como conservante. Si se conserva a una temperatura de 2 a 8°C, se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Reactivo 1 (DR0709A)

Un frasco que contiene 4,0 ml de una solución de nitrto sódico de color azul con azida sódica al 0,098% como conservante. Si se guarda en posición vertical y herméticamente cerrado, se mantiene estable a temperatura ambiente (15 a 30°C) hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Reactivo 2 (DR0709B)

Un frasco que contiene 4,0 ml de una solución ligeramente ácida (solución de ácido acético) y un indicador púrpura. Si se guarda en posición vertical y herméticamente cerrado, se mantiene estable a temperatura ambiente (15 a 30°C) hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Reactivo 3 (DR0709C)

Un frasco que contiene 10 ml de una solución neutralizadora incolora (solución de tampón Tris) con azida sódica al 0,098% como conservante. Si se guarda en posición vertical y herméticamente cerrado, se mantiene estable (a una temperatura de 15 a 30°C) hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

6. PRECAUTIONS

IVD

Los reactivos son para uso diagnóstico *in vitro* solamente.

Para uso por profesionales solamente.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad de los materiales y la documentación del producto.

INFORMACIÓN SANITARIA Y DE SEGURIDAD

6.1 De acuerdo con los principios de las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda encarecidamente tratar los extractos en cualquier fase de análisis como potencialmente infecciosos y manipularlos con las precauciones necesarias.

6.2 Las aglutinaciones de látex contienen el 0,05 % de ProClin 300®, cuya clasificación conforme al reglamento de la comunidad europea (CE) es de producto que puede provocar sensibilización. Las siguientes indicaciones de peligro (H) prevención (P) son las adecuadas.

LATEX	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
ATENCIÓN	P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
	P302 + P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

6.3 El reactivo de extracción 1 contiene nitrto de sodio, clasificado según el reglamento de la comunidad europea (CE) como perjudicial. Las siguientes indicaciones de peligro (H) prevención (P) son las adecuadas.

EXTRACTION REAGENT 1	H302	Nocivo en caso de ingestión.
ATENCIÓN	P264	Llavarse concienzudamente la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas tras su manipulación
	P301 + P310	EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
	P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

6.4 Aunque no están catalogados como peligrosos, los reactivos de extracción 2 y 3 contienen un ácido débil y un irritante leve, respectivamente. Por consiguiente, utilice equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con estas sustancias. Si entran en contacto con la piel, las membranas mucosas o los ojos, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua.

6.5 A algunos componentes se ha añadido azida sódica en concentraciones inferiores al 0,1% como agente antibacteriano. Para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de cobre y plomo, los reactivos sólo deben eliminarse por el desagüe si se diluyen y se deja correr abundante agua.

6.6 No utilice la pipeta con la boca. Lleve puestos guantes desechables y protección ocular cuando manipule muestras y cuando realice el ensayo. Lávese bien las manos cuando acabe.

6.7 Los aparatos no desechables deben esterilizarse mediante un procedimiento adecuado después de su uso, aunque el método preferido es la esterilización en autoclave durante 15 minutos a 121°C. Los aparatos desechables deben incinerarse o esterilizarse en autoclave. Los derrames de materiales potencialmente infecciosos deben

eliminarse inmediatamente con papel absorbente; las zonas contaminadas deben limpiarse con algodón o gasa y un desinfectante bacteriano estándar o alcohol al 70%. NO utilice hipoclorito sódico. Los materiales utilizados para limpiar los derrames, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos biopeligrosos.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS

6.8 No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad indicada.

6.9 No utilice los reactivos si presentan contaminación evidente u otros síntomas de deterioro.

6.10 No toque las zonas de reacción de las tarjetas.

6.11 No deje los componentes del kit expuestos a luz solar directa.

7. RECOGIDA Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Las muestras deben recogerse y manipularse de acuerdo con las pautas recomendadas⁵.

8. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

MATERIALES NECESARIOS SUMINISTRADOS

Consulte la sección 5, Contenido del kit.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Dispositivo de esterilización de asa
Asa de inoculación, hisopos, recipientes de recogida
Incubadores, sistemas ambientales alternativos
Medios adicionales
Microorganismos de control de calidad
Agua destilada
12 tubos de ensayo de 75 mm
Pipetas de punta desechable de 50 µl, o pipetas capilares o Pasteur
Lámpara incandescente (recomendado)

PROCEDURE

8.1 Todos los componentes (excepto los reactivos de látex y el control) deben encontrarse a temperatura ambiente (15 a 30°C) antes de usarlos. Si se conservan a una temperatura de 2 a 8°C, no es necesario esperar a que alcancen la temperatura ambiente. Utilice pipetas de punta desechable, capilares o Pasteur para transferir el extracto.

A Colonias en medio sólido:

- Etiquete un tubo de 12 x 75 mm por cada muestra.
- Añadir 1 gota libre fluir** de Reactivo 1 a cada tubo de muestra, para esto, exprima suavemente la botella mientras se mantiene en posición vertical.
- Tome de 1 a 4 colonias β-hemolíticas aisladas con un bastoncillo desechable o con un asa de inoculación y resuspéndalas en reactivo 1. (Si las colonias son pequeñas recójanse las suficientes para que al resuspenderlas en el reactivo 1 este se vuelva turbio.) No utilice hisopos, ya que absorberán demasiado líquido. Frote el bastoncillo o el asa contra el fondo o el lateral del tubo para remover el inóculo y mezcle bien. Deseche el bastoncillo o el asa como corresponda.
- Añadir 1 gota libre fluir** de reactivo 2 a cada tubo de muestra; para esto, apriete ligeramente el frasco mientras lo mantiene en vertical. Golpee ligeramente el tubo con un dedo durante cinco o diez segundos para mezclar los reactivos. (No es necesario incubar los tubos, aunque pueden dejarse a temperatura ambiente (15 a 30°C) durante un máximo de 60 minutos si se toman precauciones para evitar la sequedad. No se han probado periodos de incubación más largos.)
- Añadir 5 gotas de flujo libre** reactivo 3 a cada tubo de muestra; para esto, apriete ligeramente el frasco mientras lo mantiene en vertical. Golpee ligeramente el tubo con un dedo durante cinco o diez segundos para mezclar los reactivos. Si no realiza el análisis de inmediato, tape el tubo y guárdelo a una temperatura de 2 a 8°C. El análisis debe realizarse en 24 horas.

6 Elija una fila de círculos de prueba de la Tarjeta de Reacción PathoDxtra por cada muestra o control que vaya a analizar.

7 **Añada 40-50 µl** de extracto a cada uno de los cinco círculos.

8 Resuspender los reactivos de látex de inversión suave o agitación. Añadir **1 gota libre fluir** del Strep A látex mediante la celebración de la botella vertical y apretando suavemente con el primer círculo, a continuación, añadir **1 gota libre fluir** del Strep B látex al segundo círculo sosteniendo la botella vertical y apretando suavemente. Continuar de la misma manera, la adición de Strep C, D, F y G de látex a los 4 círculos restantes.

9 Mezcle el látex y el extracto con un bastoncillo de mezcla; utilice un extremo limpio del bastoncillo en cada círculo.

10 Sujete la Tarjeta de Reacción bajo una luz adecuada y rótelala ligeramente adelante y atrás. La reacción de aglutinación positiva con uno de los reactivos de látex suele producirse en 30 segundos. Deje de rotar la Tarjeta de Reacción tan pronto como detecte una reacción claramente positiva y anote el resultado. No rote la Tarjeta de reacción durante más de 60 segundos.

Mezcle el látex y el extracto con un bastoncillo de mezcla; utilice un extremo limpio del bastoncillo en cada círculo.

11 Sujete la Tarjeta de Reacción bajo una luz adecuada y rótelala ligeramente adelante y atrás. La reacción de aglutinación positiva con uno de los reactivos de látex suele producirse en 30 segundos. Deje de rotar la Tarjeta de Reacción tan pronto como detecte una reacción claramente positiva y anote el resultado. No rote la Tarjeta de reacción durante más de 60 segundos.

B Procedimiento directo de colonias opcional

- Este procedimiento puede emplearse cuando existen suficientes colonias para satisfacer los requisitos del ensayo (por ej., 4 colonias por reactivo de grupaje o 24 colonias para grupaje completo).
- Tome 4 colonias aisladas con un bastoncillo desechable o un asa de inoculación. (Es posible que se necesiten más de 4 colonias si son pequeñas o tienen menos de 18 horas.)
- Extienda las colonias con suavidad y de forma meticulosa sobre la Tarjeta de Reacción PathoDxtra por el centro del círculo perfilado.
- Repita los pasos 1 y 2 con cada reactivo de grupaje que vaya a usar.
- Mantenga el frasco en vertical y apriete para dispensar **1 gota** de látex para grupaje de estreptococos A en el primer círculo; luego añada **1 gota** de látex para grupaje de estreptococos B al segundo círculo mientras sujeta el frasco en vertical y aprieta. Continúe de la misma manera y añada látex para grupaje de estreptococos C, D, F y G a los cuatro círculos restantes.
- Mezcle bien el látex y las colonias aplicadas a la Tarjeta

de Reacción con un bastoncillo de mezcla; utilice un extremo limpio del bastoncillo en cada círculo.

7 Sujete la Tarjeta de Reacción bajo una luz adecuada y rótelala ligeramente adelante y atrás. La reacción de aglutinación positiva con uno de los reactivos de látex suele producirse en 10 segundos. Deje de rotar la Tarjeta de Reacción tan pronto como detecte una reacción claramente positiva y anote el resultado. **No rote la Tarjeta de Reacción durante más de 60 segundos.** Si el resultado no se aprecia claramente, debe utilizarse el procedimiento de extracción con ácido.

PRECAUCIÓN: Algunos cultivos de bacterias con capas exteriores mucoides pueden atrapar las micropartículas y provocar una aglutinación no específica. Esto suele ocurrir en el procedimiento directo de colonias. Para evitar en lo posible este problema, el análisis debe detenerse tras observar una reacción positiva inicial.

C Prueba opcional a partir de cultivo de caldo

- Inocule **0,5 ml** de caldo (consulte la medida de precaución a continuación) con dos o más de las colonias (dependiendo del tamaño) del aislado que se vaya a grupar.
- Incube el caldo a una temperatura de **35 a 37°C** hasta que se vuelva turbio (por norma general, 4 horas o más).
- Centrifugue el caldo a 1000 g durante **15 minutos**.
- Elimine con cuidado el caldo del pellet bacteriano con una pipeta.
- Añada **1 gota** de reactivo 1 al pellet bacteriano; para esto, sujete el frasco en vertical y apriete suavemente. Resuspenda el pellet bacteriano.
- Añada **1 gota** de reactivo 2 para esto, sujete el frasco en vertical y apriete suavemente. Mezcle con cuidado.
- Añada lentamente 5 gotas** de reactivo 3.
- Añada **8 gotas** de agua destilada con una pipeta de 5 ml y mezcle suavemente.
- Analice **50 µl** del extracto como se describe en los pasos del 6 a 10 de la **sección Procedimiento del ensayo** (Colonias en medio sólido).

PRECAUCIÓN: Los neumococos y los estreptococos del grupo D podrían liberar antígenos que den reacción cruzada en el caldo si se incuba durante un intervalo de tiempo prolongado (por ej., durante la noche).

PRECAUCIÓN: El caldo se debe analizar con látex para grupaje de estreptococos para asegurarse de que no se produzca autoaglutinación antes de añadir los cultivos al caldo. Algunas marcas de caldo Todd-Hewitt pueden provocar autoaglutinación con varios reactivos de grupaje comercializados⁴. El caldo de infusión cerebro-corazón también presenta este inconveniente.

PRECAUCIÓN: Los estreptococos del grupo D no se detectan fácilmente con la prueba basada en el método de cultivo de caldo y a menudo desencadenan reacciones cruzadas con otros grupos.

9. CONTROL DE CALIDAD

La prueba de control de calidad debe realizarse con cada remesa y cada vez que se recibe un kit con número de lote nuevo. Todos los laboratorios deben cumplir las normativas estatales y locales.

Para comprobar la eficacia de los reactivos de látex pueden emplearse los procedimientos siguientes:

- a) Prueba de reactividad de las suspensiones de látex (Procedimiento del control positivo)**

Para una prueba: Dispense una gota (40 µl) de antígeno de control positivo en la tarjeta de la prueba y mezcle con la suspensión de látex. Mezcle el contenido del círculo con un bastoncillo de mezcla limpio. Después de rotar la tarjeta con cuidado durante un minuto, debe producirse una aglutinación evidente con todos los látex de la prueba.

- b) Prueba de especificidad del método de aglutinación (Procedimiento de control negativo)**

Cuando la aglutinación sea muy débil, habrá que repetir las pruebas positivas en paralelo frente a una gota de un extracto preparado (según se describe en el procedimiento del ensayo en medio sólido) con un bastoncillo de mezcla o un asa de inoculación no inoculados. La suspensión de látex no debería presentar una aglutinación significativa y los resultados sirven para comparar directamente la prueba realizada con el extracto de bacterias.
- c) Lleve a cabo el procedimiento del ensayo completo en cultivos “stock” de grupos conocidos.**

10. RESULTADOS

INTERPRETACIÓN

10.1 RESULTADO POSITIVO: La reacción es positiva cuando se produce una aglutinación visible de las micropartículas de látex con aclaración del fondo en 60 segundos. El kit de grupaje de estreptococos PathoDxtra está diseñado para provocar una reacción de aglutinación rápida con el extracto de una a cuatro colonias de un cultivo de 18 a 24 horas de estreptococos de los grupos de Lancefield A, B, C, D y G (gran variedad de colonias). La reacción se produce en 60 segundos en la mayoría de colonias estreptocócicas aisladas. Con las colonias pequeñas del grupo F y las cepas de colonias pequeñas de otros grupos se necesitan más colonias (barrido intenso) para obtener una reacción de aglutinación positiva.

10.2 RESULTADO NEGATIVO: Forma uniforme de color azul pálido sin aglutinación transcurridos 60 segundos

10.3 RESULTADO NO CONCLUYENTE: Si se produce aglutinación con más de un reactivo de látex, el problema podría resolverse como sigue:

- Aglutinación débil con varios reactivos de látex y aglutinación mucho mayor con un reactivo. Interpretación: Las reacciones débiles suelen deberse a una reacción no específica (por ej., Staph. aureus), mientras que la reacción más enérgica es específica del grupo estreptocócico indicado.
- Prácticamente la misma aglutinación con más de un reactivo de látex (pocas veces más de dos). Interpretación: Presencia en la placa de cultivo de dos grupos estreptocócicos con morfología colonial similar y β-hemólisis. Repita la prueba con extractos puros de colonias tras el reasiamiento.
- En la colonia analizada puede haber más de un antígeno de grupo. Harvey y McIllmurray⁵ documentaron el aislamiento de estreptococos con antígenos del grupo D y el grupo G. Asimismo, se ha informado del desarrollo de antígenos tipo-específicos del grupo F (por ej., tipo II) en los grupos A, C y G^{6,7}, pero no deberían provocar reacciones cruzadas cuando se utilizan reactivos de látex PathoDxtra.

10.4 AGLUTINACIÓN NO ESPECÍFICA: En las pruebas de látex pueden producirse al menos dos tipos de aglutinación no específica.

- Algunas cepas mucoides de bacterias pueden ocasionar la aglutinación no específica del látex, probablemente debido al aprisionamiento de las partículas en el material capsular extraído. La prevalencia es mayor cuando se usa el procedimiento directo de colonias.
- Las cepas de Staphylococcus aureus que contienen proteína A pueden generar falsos positivos en la prueba de aglutinación de los reactivos de látex debido a la fijación de la porción Fc de la IgG en el látex. Los reactivos PathoDxtra están diseñados para que no reaccionen con niveles moderados de proteína A, pero el sistema podría alterarse con niveles más altos.

NOTA: Cuando se realiza la prueba, es aconsejable rotar la tarjeta solamente el tiempo suficiente para obtener una aglutinación claramente interpretable. La aplicación de este procedimiento reduce al mínimo las reacciones cruzadas.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

11.1 La obtención de falsos negativos puede deberse al uso de un número insuficiente de colonias en la extracción.

11.2 Con algunas cepas de estreptococos pueden obtenerse falsos positivos si se extrae un inóculo demasiado denso. Los determinantes antigénicos menores que pueden producir una reacción cruzada, no forman parte del carbohidrato del grupo y se ponen en evidencia cuando se extraen y analizan grandes cantidades, lo que produce una reacción positiva falsa.

11.3 Los Streptococcus pneumoniae tienen determinantes antigénicos en común con los estreptococos β-hemolíticos del grupo C^{8,9,10} y, por consiguiente, pueden reaccionar de forma positiva con el látex para grupaje de estreptococos C¹¹. No se puede pronosticar la posible reactividad cruzada de un amplio espectro de aislados clínicos de S. pneumoniae. Los estreptococos del grupo C son β-hemolíticos, mientras que los Streptococcus pneumoniae son α-hemolíticos. Si la duda persiste, debería determinarse la sensibilidad a la optoquina del cultivo para diferenciarlos.

11.4 Listeria monocytogenes presenta una antigenicidad similar a la de los estreptococos de los grupos B y G¹² y puede reaccionar de forma positiva con los reactivos de látex para grupaje de estos estreptococos. Si no se tiene certeza sobre la identidad de las colonias, puede efectuarse la prueba de calatasa para distinguir la Listeria de los estreptococos. La Listeria es una bacteria calatasa positiva, mientras que los estreptococos son calatasa negativos.

11.5 Cuando el análisis se efectúa directamente en el hemocultivo, debe realizarse la prueba opcional a partir del caldo de cultivo. Aunque no se recomienda, puede utilizarse el método directo de grupaje de estreptococos en hemocultivo si se adoptan las medidas de precaución necesarias y se conocen los problemas inherentes a la realización de esta prueba, muchos de los cuales se describen en la documentación^{13,14,15}.

11.6 Aproximadamente el 25% de los estreptococos viridans (rara vez β-hemolíticos) poseen antígeno de grupo, mientras que otro 1,4% tiene más de un antígeno de grupo demostrable¹⁶. En un estudio se llegó a la siguiente conclusión: “Estos datos descartan el grupaje serológico como herramienta útil para diferenciar los estreptococos viridans”¹⁶. Si sigue teniendo dudas, realice análisis bioquímicos para facilitar la identificación.

11.7 If performing broth testing be aware that certain brands of Todd-Hewitt Broth can cause autoagglutination with various commercial grouping reagents⁴. This has also been noted with Brain Heart Infusion Broth. The broth should be tested with Streptococcal Grouping Latex to ensure there is no autoagglutination before cultures are added to the broth.

11.7 Cuando analice el caldo, tenga en cuenta que determinadas marcas de cultivo Todd-Hewitt pueden provocar autoaglutinación con varios reactivos de grupaje comercializados⁴. El caldo de infusión cerebro-corazón también presenta este inconveniente. El caldo se debe analizar con látex para grupaje de estreptococos para asegurarse de que no se produzca autoaglutinación antes de añadir los cultivos al caldo.

11.8 Se ha demostrado la existencia de antígenos comunes a microorganismos de especies o géneros heterólogos en algunos estreptococos^{17,18,19}, por lo que no es posible descartar la posibilidad de que se produzcan reacciones cruzadas de este tipo en los sistemas de grupaje de estreptococos. El antígeno del grupo D es común a microorganismos de los grupos estreptocócicos Q, R y S^{17,18}.

11.9 El grupaje de algunas cepas de Enterococcus faecium y Streptococcus bovis puede no resultar sencillo.

11.10 Los cultivos de bacterias con capas exteriores mucoides pueden atrapar las micropartículas y provocar una aglutinación no específica. Esto suele ocurrir en el procedimiento directo de colonias. Para evitar en lo posible este problema, el análisis debe detenerse tras observar una reacción positiva inicial.

11.11 Puesto que el grupaje serológico de colonias β-hemolíticas se basa exclusivamente en la presencia de carbohidratos específicos de grupo, el resultado no permite diferenciar los estreptococos de los grupos A, C, F y G de las colonias pequeñas de Streptococcus anginosus (milleri) que tienen antígenos A, C, F o G. El único criterio que se utiliza para caracterizar los S. anginosus en los Centros de Control de Enfermedades son la morfología en placas de agar sangre y la reacción serológica²⁰. Para llevar a cabo la diferenciación bioquímica puede emplearse un esquema como el descrito por Lawrence et al²¹.

12. CARACTERÍSTICAS DE LOS RESULTADOS

La utilidad del kit de grupaje de estreptococos PathoDxtra se evaluó en el laboratorio de un hospital de París, Francia. Se analizaron un total de 419 aislados, incluidos 311 estreptococos pertenecientes a grupos de Lancefield, 79 estreptococos/enterococos no grupables y 29 no estreptococos. Los resultados obtenidos se compararon con los de un kit de extracción con ácido nitroso disponible comercialmente.

La sensibilidad y especificidad de los kits examinados se calculó a partir de los datos de las pruebas como sigue:

	PathoDxtra Streptococcal Grouping Kit	Dispositivo previamente homologado
Sensibilidad media (%)	89.1	85.2
Especificidad media (%)	97.8	97.5

13. BIBLIOGRAFÍA

1 **Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum, 2003.** Manual of Clinical Microbiology. 8th ed., Vol 1. ASM, Washington, D.C.

2 **Evins, G.M., et al., 1983.** The development by the Centers for Disease Control of a specification for streptococcal serogrouping kits and its application to Streptex and to the Phadebact Streptococcus Test. J. Biol. Standard. 11:333-339.

3 **Facklam, R.R., et al., 1979.** Evaluation of commercial latex agglutination reagents for grouping streptococci. J. Clin. Microbiol. 10:641-646.

4 **Slifkin, M., and G.R. Pouchet-Melvin, 1980.** Evaluation of three commercially available test products for serogrouping beta-hemolytic streptococci. J. Clin. Microbiol. 11:249-255.

5 **Harvey, C.L., and McIlmurray, M.B., 1984.** Streptococci with dual antigen specificity for Lancefield groups D and G. Eur. J. Clin. Microbiol., 3, 526.

6 **Jablon, J.M., et al., 1965.** β-Hemolytic Streptococci with Group A and Type II Carbohydrate Antigens. J. Bacteriol. 89:529-534.

7 **Ottens, H., and K.C. Winkler, 1962.** Indifferent and Haemolytic Streptococci Possessing Group-Antigen F. J. Gen. Microbiol. 28:181-191

8 **Jennings, H.L., et al., 1980.** Structure of the complex polysaccharide C-substance from Streptococcus pneumoniae type1. Biochem. 19:4712-4719.

9 **Krause, R.M., and M. McCarty, 1962.** Studies on the Chemical Structure of the Streptococcal Cell Wall: II The Composition of Group C Cell Walls and Chemical Basis for Serologic Specificity of the Carbohydrate Moiety. J. Exp. Med. 115:49-62

10 **Poxton, I.R., et al., 1978.** The structure of C-polysaccharide from the walls of Streptococcus pneumoniae. Biochem. J. 175:1033-1042.

11 **Lee, P., and B.L. Wetherall, 1987.** Cross-reaction between Streptococcus pneumoniae and group C streptococcal latex reagent. J. Clin. Microbiol. 25:152-153.

12 **Hopfer, R.L., et al., 1985.** Enzyme release of antigen from Streptococcus faecalis and Listeria monocytogenes cross-reactive with Lancefield group G typing reagents. J. Clin. Microbiol. 22:677-679.

13 **Shlaes, D.M., et al., 1984.** Comparison of latex agglutination and immunofluorescence for direct Lancefield grouping of streptococci from blood cultures. J. Clin. Microbiol. 20:195-198.

14 **Wellstood, S., 1982.** Evaluation of Phadebact and Streptex Kits for rapid grouping of streptococci directly from blood cultures. J. Clin. Microbiol. 15:226-230.

15 **Wetkowski, M.A., et al., 1982.** Direct Testing of Blood Cultures for Detection of Streptococcal Antigens J. Clin. Microbiol. 16:86-91.

16 **Facklam, R.R., 1977.** Physiological differentiation of viridans streptococci. J. Clin. Microbiol. 5:184-201.

17 **Chorpenning, F.W., Cooper, H.R., et al., 1975.** Cross reactions of Streptococcus mutans Due to Cell Wall Teichoic Acid. Infect. Immun., 12, 586.

18 **Ellio, S.D., and Taj, J.Y., 1978.** The type-specific polysaccharides of Streptococcus suis. J. Exp. Med., 148, 1699

19 **Nowlan, S.S., and Deibel, R.H., 1967.** Group Q Streptococci. I Ecology, Serology, Physiology and Relationship to Established Enterococci. J Bact., 94, 291.

20 **Facklam, R.R., 1984.** The major differences in the American and British Streptococcus taxonomy schemes with special reference to Streptococcus milleri. Eur. J. Clin. Microbiol. 2:91-93.

21 **Lawrence, J., et al., 1985.** Incidence and characterization of beta-hemolytic Streptococcus milleri and differentiation from S. pyogenes (group A), S. equisimilis (group C), and large-colony group G streptococci. J. Clin. Microbiol. 22:772-777

La marca ProClin 300™ es propiedad de Rohm and Haas Corp, todas las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific o sus subsidiarias.



 Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW UK

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local.

IFU X7733B, revisada el diciembre 2015