

DOMAINE D'APPLICATION

Les réactifs d'agglutination au latex pour *Legionella* PRO-LAB sont réservés à l'identification à presumption de colonies cultivées du germe *Legionella pneumophila* dans des plaques de gélose¹.

RESUME ET EXPLICATION

En 1976, le Centre épidémiologique a participé à une recherche intensive de la cause d'une flambée de maladie fébrile aiguë en Philadelphie^{2,3}. Par la suite, le bacille en bâtonnet que l'on a découvert être à l'origine de cette affection, dénommée par la suite maladie des légionnaires, a été appelé bactérie de la maladie de *Legionella*.

Les manifestations de la maladie des légionnaires vont de l'infection asymptomatique, ou des symptômes peu graves semblables à la grippe, à des bronchopneumonies graves et souvent fatales.

Les réactifs au latex d'agglutination pour *Legionella* PRO-LAB offrent une méthode de dépistage rapide et simple des sérogroupes prédominants de *Legionella*.

PRINCIPE DU TEST

Les réactifs d'agglutination *Legionella pneumophila* PRO-LAB consistent en des suspensions tamponnées de particules de latex enduites d'anticorps purifiés. Les anticorps sont spécifiquement dirigés contre les antigènes de surface du séro groupe du *Legionella pneumophila*. Si une goutte de suspension de colonies suspectées être du germe *Legionella* est mélangée à une goutte de réactif au latex et si l'organisme appartient à l'un des sérogroupes du *Legionella pneumophila*, il se liera grâce à un latex sensibilisé anti-*Legionella* spécifique. Le mélange entraînera une agglutination visible et les amas formés ainsi sont classés visuellement.

REACTIFS ET MATERIEL DISPONIBLE

Les particules de latex enduites d'IgG sont préparées à partir d'antisérums de lapin produits contre les sérogroupes 2 à 14 de *Legionella pneumophila*. Chaque réactif est fourni en flacons de 2,7 ml.

Les réactifs suivants sont disponibles (numéros de référence) :

PL.215	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 2	2,7 ml
PL.216	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 3	2,7 ml
PL.217	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 4	2,7 ml
PL.218	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 5	2,7 ml
PL.219	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 6	2,7 ml
PL.325	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 7	2,7 ml
PL.326	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 8	2,7 ml
PL.327	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 9	2,7 ml
PL.328	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 10	2,7 ml
PL.329	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 11	2,7 ml
PL.330	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 12	2,7 ml

PL.331	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 13	2,7 ml
PL.332	<i>L. pneumophila</i> , séro groupe 14	2,7 ml

CONSERVATION

Les réactifs sont à conserver entre 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.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

1. Enceinte de biosécurité.
2. Bec Bunsen.
3. Milieu à l'extrait de levure et au charbon, tamponné.
4. Anse d'ensemencement.
5. Mélangeur rotatif.
6. Eprovettes.
7. Soluté tamponné au phosphate (STP, pH 7,4).

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI, DISPONIBLE CHEZ PRO-LAB

1. Les particules de latex témoin négatif, sont enduites d'IgG de lapin et fournies dans des flacons de 1,5 ml. Disponible sous le numéro de référence : PL.223 Témoin négatif : 1,5 ml
2. Antigènes témoins de *Legionella pneumophila*, sérogroupes 1 à 14, cultivés sur un milieu artificiel et tués au formol. L'antigène témoin est fourni dans des flacons d 1,5 ml. Disponible sous le numéro de référence : PL.334 Témoin positif : 1,5 ml
3. Cartes de test avec cercles pour le mélange des réactifs et des échantillons tests.
4. Bâtonnets mélangeurs.

PROCEDURE

1. Porter les échantillons et les réactifs à la température ambiante avant l'utilisation.
2. Repiquer autant de colonies suspectes que possible du milieu à l'extrait de levure et au charbon tamponné et remettre en suspension les colonies dans environ 1 ml de STP (pH 7,4). Les colonies suspectes sont les colonies de morphologie type qui ne prolifèrent pas dans la gélose de sang. La suspension idéale doit présenter une turbidité d'environ 10⁸ UFC par ml. Toutefois, deux colonies dans 1,0 ml de STP suffisent.
3. Remettre en suspension les réactifs d'agglutination au latex en les agitant doucement.
4. Ajouter 1 goutte de suspension de cellules avec 1 goutte de chaque réactif au latex dans les cercles de la lame fournie.
5. Mélanger le contenu de chaque cercle avec un nouveau bâtonnet mélangeur.
6. Placer la lame sur le mélangeur rotatif (160 tr/min) pendant 2 minutes ou secouer doucement la carte de test à la main.
7. Lire visuellement en examinant le degré d'agglutination avant de lui attribuer une classification.

Définition de la classification de l'agglutination :

- 0 = Identique au témoin négatif, suspension homogène de STP et réactif au latex sans agglutination.
- 1+ = Granulation fine avec un fond trouble.
- 2+ = Petits groupages visibles avec un fond trouble.
- 3+ = Amas moyens avec un fond transparent.
- 4+ = Grands amas avec un fond transparent.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Tout test préalablement gradué entre 2+ et 4+ avec le réactif au latex est considéré comme positif à condition que le témoin négatif soit négatif.

CONTROLE DE QUALITE

Le réactif au latex doit s'agglutiner avec le témoin positif à une graduation entre 3+ à 4+. Le réactif au latex témoin négatif ne doit pas entraîner de réaction d'agglutination avec l'antigène témoin. Si tel n'est pas le cas, le test est considéré comme non valable.

LIMITES

1. Le test d'agglutination au latex est un diagnostic à présomption. La confirmation par des tests biochimiques doit être effectuée dans la mesure du possible.
2. Par ailleurs, un test d'agglutination négatif ne signifie pas pour autant que la culture n'appartient pas à l'espèce *Legionella*. Il indique uniquement qu'il ne s'agit pas d'une culture de *Legionella pneumophila*, sérogroupes 2 à 14.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Les réactifs sont réservés à un usage diagnostique *in vitro*.
2. Respecter les précautions universelles pour manipuler, traiter et éliminer tous les échantillons cliniques. Tous les produits du test doivent être considérés comme potentiellement infectieux durant et après leur utilisation et doivent être manipulés et éliminés de manière appropriée.
3. Ne pas utiliser les réactifs au latex si l'autoagglutination est visible. L'autoagglutination indique qu'une contamination ou une détérioration s'est produite.
4. Pour de meilleurs résultats, il est recommandé d'utiliser des cultures fraîches. Les cultures plus anciennes risquent d'être mucoïdes ; par conséquent, effectuer une légère mise en suspension. Pour ce faire, tourbillonner ou opter pour une méthode appropriée.
5. Les réactifs contiennent une petite quantité d'azide de sodium. L'accumulation d'azide de sodium dans les tuyauteries en cuivre ou en plomb peut provoquer une réaction explosive. Même si la quantité d'azide de sodium contenue dans les réactifs est minimale, les rincer abondamment à l'eau lors de leur élimination dans un évier.
6. Ces réactifs contiennent des produits d'origine animale et doivent être manipulés comme s'il s'agissait d'un vecteur potentiel de maladie.










BIBLIOGRAPHIE

1. **Sedgwick, A.K. and Tilton, R.C.** 1983. Identification of *Legionella pneumophila* by Latex Agglutination. J. Clin. Microbiol. **17**: 365-368.
2. **Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., Gorman, G.W., Wilkinson, H.W., Bibb, W. F., Hackel, M., Tyndall, R.L., Campbell, J., Feeley, J.C., Thacker, W.L., Skaliy, W.T., Martin, W.T., Brake, B.J., Fields, B.S., McEachern, V.H., Corcoran, L.K.,** 1985. Ten New Species of *Legionella*. Intern. J. System. Bacteriol. **35**:50-59.
3. **Reingold, A.L., Thomason, B.M., Brake, B.J., Thacker, L., Wilkinson, H.W., Kuritsky, J.N.** 1984. *Legionella pneumophila* in the United States: The Distribution of Serogroups and Species Causing Human Illness. J. Infect. Disease. **149**:819.

Egalement disponible chez Pro-Lab:

PL.380 Réactif au latex *Legionella pneumophila*, séroroupe 1 (particules de latex enduites d'anticorps monoclonaux) en flacons de 1,1 mL

PL.226 Kit d'agglutination au latex *Legionella pneumophila*, séroroupe 120 tests

	= Date de péremption
	= Numéro de Lot
	= Référence
	= Fabricant
	= Représentant légal dans la communauté européenne
	= Contenu suffisant pour (n) tests
	= Dispositif médical de diagnostic in vitro
	= Limite de température
	= Consulter la notice d'utilisation

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.