

VERWENDUNGSZWECK

Die Reagenzien für den Latex-Agglutinationstest auf *Legionellen* von PRO-LAB dienen der präsumptiven Identifizierung von *Legionella pneumophila* Serotyp 2 bis 14 in Anzuchtcolonien von Agarplatten.¹

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Im Jahr 1976 war das US-amerikanische Center for Disease Control an einer eingehenden Untersuchung der Ursachen eines Ausbruches einer akuten fieberigen Erkrankung in Philadelphia beteiligt.^{2,3} Die Erkrankung wurde später als Legionärskrankheit bezeichnet und es stellte sich heraus, dass sie von gramnegativen Stäbchen, den *Legionellen*, hervorgerufen wird.

Die Legionärskrankheit manifestiert sich in unterschiedlichen Formen, d.h. als asymptomatischer Infekt oder mit schwachen, grippeähnlichen Symptomen bis hin zu schwerer, in manchen Fällen sogar tödlicher Bronchialpneumonie.

Die Reagenzien für den Latex-Agglutinationstest auf *Legionellen* von PRO-LAB ermöglichen ein schnelles und einfaches Screening-Verfahren für die wichtigsten *Legionella*-Serotypen.

TESTPRINZIP

Die Reagenzien für den Latex-Agglutinationstest auf *Legionellen* von PRO-LAB bestehen aus einer gepufferten Suspension von Latexpartikeln, die mit gereinigten Antikörpern beschichtet sind. Die Antikörper sind spezifisch gegen Oberflächenantigene der Serotypen von *Legionella pneumophila* gerichtet. Wird ein Tropfen einer Suspension einer vermuteten *Legionellen*kolonie mit einem Tropfen Latexreagenz vermischt und gehört der Organismus zu einem der Serotypen von *Legionella pneumophila*, kommt es zu einer Bindung des Organismus an die spezifisch gegen *Legionellen* sensitivierten Latexpartikel. Die Mischung löst eine sichtbare Agglutination aus, die makroskopisch ausgewertet werden kann.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Mit IgG beschichtete Latexpartikel werden aus Kaninchen-Antiserum gegen die einzelnen Serotypen 2 bis 14 von *Legionella pneumophila* hergestellt. Die Reagenzien sind in einem Volumen von 2,7 ml pro Fläschchen abgefüllt.

Es sind folgende Reagenzien erhältlich (Katalog-Nr.):

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

PL.329	<i>L. pneumophila</i> Serotyp 11	2,7 ml
PL.330	<i>L. pneumophila</i> Serotyp 12	2,7 ml
PL.331	<i>L. pneumophila</i> Serotyp 13	2,7 ml
PL.332	<i>L. pneumophila</i> Serotyp 14	2,7 ml

AUFBEWAHRUNG

Die Reagenzien sollten bei 2-8°C aufbewahrt werden. **NICHT EINFRIEREN.** Unter diesen Bedingungen gelagerte Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

1. Eine Arbeitsbank zur Durchführung von Arbeiten mit Biogefährdung.
2. Bunsenbrenner.
3. Gepuffertes Charcoal Yeast Extract-Medium (BCYE-Medium).
4. Impföse.
5. Rotationsmischer.
6. Reagenzröhrchen.
7. Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, pH 7,4).

ERFORDERLICHE, NICHT MITGELIEFERTE UND VON PRO-LAB ERHÄLTICHE MATERIALIEN

1. Negativkontrolle, Latexpartikel beschichtet mit normalem Kaninchen-IgG. In jedem Fläschchen befindet sich 1,5 ml Latexreagenz
Nachbestellung unter der Katalog-Nr. PL. 223 Negativkontrolle 1,5 ml
2. Kontrollantigene von *Legionella pneumophila* Serotyp 2 bis 14, angezüchtet auf artifiziellem Medium und mit Formalin inaktiviert. In jedem Fläschchen befindet sich 1,5 ml Kontrollantigen.
Nachbestellung unter der Katalog-Nr. PL. 334 Positivkontrolle 1,5 ml
3. Agglutinationskarten mit runden Feldern zum Mischen von Reagenzien und Testproben.
4. Mischstäbchen.

VERFAHREN

1. Alle Proben und Reagenzien müssen vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
2. Nehmen Sie so viel infrage kommende Kolonien wie möglich von dem BCYE-Medium auf und suspendieren Sie die Kolonien in etwa 1 ml PBS (pH 7,4). Infrage kommende Kolonien zeigen eine typische Morphologie und wachsen nicht auf Blutagar. Idealerweise sollte die Suspension eine Trübung von etwa 10⁸ CFU/ml aufweisen. Es sind jedoch auch nur 2 Kolonien in einem Milliliter PBS ausreichend.
3. Resuspendieren Sie die Latex-Agglutinationsreagenzien durch vorsichtiges Schütteln.
4. Geben Sie 1 Tropfen der Zellsuspension zu 1 Tropfen eines jeden

- Latexreagenz auf den runden Testfeldern des Objektträgers.
5. Mischen Sie jeden Bereich mit einem frischen Mischstäbchen.
 6. Legen Sie den Objektträger 2 Minuten lang auf einen Rotationsmischer (160 rpm) oder bewegen Sie die Agglutinationskarte vorsichtig mit der Hand hin und her.
 7. Lesen Sie das Ergebnis anhand der Stärke der Agglutination ab und beurteilen Sie die Stärke der Agglutination.

Definition des Agglutinationsgrades:

- 0 = Identisch mit der Negativkontrolle, homogene Suspension von PBS und Latexreagenz ohne Agglutination.
1+ = Feine Granulation mit trübem Hintergrund.
2+ = Schwache, erkennbare Agglutination mit trübem Hintergrund.
3+ = Mittelgroße Klümpchen mit klarem Hintergrund.
4+ = Große Klümpchen mit klarem Hintergrund.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Jeder Test, der bei Verwendung eines Latexreagenz eine Agglutination der Stufe +2 bis +4 ergibt, gilt als positiv, vorausgesetzt, die Negativkontrolle ist negativ.

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Latexreagenzien müssen die Positivkontrolle bis zu einer Stufe von 3+ bis 4+ agglutinieren. Die Negativkontrolle darf das Kontrollantigen nicht agglutinieren. Ist dies dennoch der Fall, ist der Test als ungültig einzustufen.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Bei dem Latex-Agglutinationstest handelt es sich um einen diagnostischen Test, der präsumptive Ergebnisse liefert. Idealerweise sollten die Ergebnisse stets durch laborchemische Tests abgesichert werden.
2. Ein negativer Latex-Agglutinationstest bedeutet nicht, dass es sich bei dem kultivierten Organismus nicht um eine *Legionella*-Art handelt. Er sagt lediglich aus, dass es sich bei der Kultur nicht um *Legionella pneumophila*, Serotyp 2 bis 14 handelt.

VORSICHTSHINWEISE

1. Die Reagenzien sind nur für den Gebrauch in der *in vitro*-Diagnostik bestimmt.
2. Wie bei allen klinischen Proben und Materialien sind Sicherheitsvorkehrungen hinsichtlich mikrobiologischer Risiken zu treffen. Jedes Material sollte daher entsprechend den Regeln der guten klinischen Praxis behandelt werden.
3. Die Latexreagenzien nicht verwenden, wenn eine Autoagglutination erkennbar ist. Eine Autoagglutination kann ein Zeichen einer Kontamination oder einer Qualitätsminderung des Reagenzes sein.
4. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, wird die Verwendung frischer Kulturen empfohlen. Ältere Kulturen können mukoid

sein; in diesem Fall muss eine glatte Suspension hergestellt werden. Dies kann durch Verwendung eines Vortex-Mischers oder einer anderen geeigneten Methode erfolgen.

- Die Reagenzien enthalten geringe Mengen Natriumazid. Natriumazid kann bei Kontakt mit Kupfer oder Blei explosive Verbindungen bilden. Obwohl die Natriumazidmenge in den Reagenzien minimal ist, sollte beim Entsorgen von Reagenzienresten immer mit reichlich Wasser nachgespült werden.
- Die Reagenzien enthalten Material tierischen Ursprungs und sind wie potenzielle Träger und Überträger von Krankheiten zu behandeln.










QUELLEN

- Sedgwick, A.K. and Tilton, R.C.** 1983. Identification of *Legionella pneumophila* by Latex Agglutination. J. Clin. Microbiol. 17: 365-368.
- 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.
- 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.

Ebenfalls erhältlich von Pro-Lab:

PL.380 *Legionella pneumophila* Serotyp 1 Latex-Reagenz
(mit monoklonalen Antikörpern beschichtete
Latexpartikel). 1,1 ml pro Fläschchen

PL.226 *Legionella pneumophila* Serotyp 1 Latex-
Agglutinationskit. 20 Tests

	= Verwendbar bis
	= Chargennummer
	= Bestellnummer
	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.