

IMPIEGO PREVISTO

I reagenti di agglutinazione al lattice per Legionella PRO-LAB sono concepiti per l'identificazione presuntiva di colonie di coltura di *Legionella pneumophila*, sierogruppi da 2 a 14, da piastre agarizzate¹.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Nel 1976 il Centro per la Lotta contro le Malattie (Centre for Disease Control - C.D.C.) prese parte ad un'impegnativa indagine riguardante la causa di uno scoppio di una malattia con febbre acuta a Filadelfia^{2,3}. Tale condizione, poi definita malattia dei Legionari, risultò causata da un bastoncello Gram-negativo denominato Batterio della *Legionella*.

Le manifestazioni della Malattia dei Legionari variano da infezione asintomatica o lievi sintomi di tipo influenzale a broncopolmonite severa, talvolta con esito infausto.

I reagenti di agglutinazione al lattice per *Legionella* PRO-LAB forniscono una procedura di screening rapida e semplice per i sierogruppi di *Legionella* predominanti.

PRINCIPIO DEL METODO

I reagenti di agglutinazione per il sierogruppo *Legionella pneumophila* PRO-LAB consistono di una sospensione tamponata di particelle di lattice rivestite con anticorpi purificati. Gli anticorpi sono specificamente indirizzati contro gli antigeni di superficie del sierogruppo *Legionella pneumophila*. Quando una goccia di una sospensione di colonie sospette di *Legionella* è miscelata con una goccia di reagente al lattice e l'organismo in questione è uno dei sierogruppi di *Legionella pneumophila*, essa si legherà al lattice sensibilizzato anti-*Legionella* specifico. La miscela determinerà un'agglutinazione visibile e l'aggregato risultante viene graduato ad occhio nudo.

REAGENTI E MATERIALI DISPONIBILI

Le particelle di lattice rivestite di IgG vengono preparate da antisieri di coniglio prodotti contro singoli sierogruppi da 2 a 14 di *Legionella pneumophila*. I reagenti sono singolarmente confezionati in flaconi da 2,7 ml.

Sono disponibili i seguenti reagenti (numeri di catalogo):

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

PL.327	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 9	2,7 ml
PL.328	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 10	2,7 ml
PL.329	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 11	2,7 ml
PL.330	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 12	2,7 ml
PL.331	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 13	2,7 ml
PL.332	<i>L. pneumophila</i> sierogruppo 14	2,7 ml

CONSERVAZIONE

I reagenti devono essere conservati a temperature comprese tra 2-8° C. **NON CONGELARE**. I reagenti conservati in queste condizioni sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

1. Cappa di sicurezza biologica.
2. Becco Bunsen.
3. Terreni tamponati al carbone con estratto di lieviti.
4. Ansa per inoculazione.
5. Mixer rotante.
6. Provette.
7. Salina tamponata con fosfato (PBS, pH 7,4).

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI, REPERIBILI PRESSO PRO-LAB

1. Le particelle di lattice per il controllo negativo sono rivestite con IgG normale di coniglio e confezionate in flaconi da 1,5 ml. Disponibile con numero di catalogo: PL. 223 Controllo negativo 1,5 ml
2. Gli antigeni di controllo della *Legionella pneumophila* sierogruppo da 1 a 14 sono cresciuti su terreno artificiale e vengono distrutti con formalina. Il controllo negativo è confezionato in flaconi da 1,5 ml. Disponibile con numero di catalogo: PL. 334 Controllo positivo 1,5 ml
3. Test card con aree cerchiata e per la miscelazione dei reagenti con i campioni da analizzare.
4. Bastoncini di miscelazione

PROCEDURA

1. Prima dell'uso, attendere finché i reagenti non raggiungono la temperatura ambiente.
2. Prelevare il maggior numero possibile di colonie sospette dal terreno tamponato al carbone con estratto di lieviti e risospenderle le colonie in circa 1 ml di PBS (pH 7,4). Per colonie sospette si intendono quelle con una morfologia tipica e nessuna crescita su agar sangue. In teoria la sospensione dovrebbe mostrare un intorbidamento pari a circa 10⁸ CFU per ml. Comunque, sono sufficienti anche solo due colonie in 1,0 ml di PBS.
3. Agitare delicatamente per portare in sospensione i reagenti di

agglutinazione al lattice.

4. Aggiungere 1 goccia di sospensione cellulare con 1 goccia di ciascuno dei reagenti al lattice sulle aree cerchiata del vetrino fornito.
5. Miscelare ogni area cerchiata con un nuovo bastoncino di miscelazione.
6. Mettere il vetrino sul mixer rotante (160 giri al minuto) per 2 minuti e scuotere manualmente con delicatezza la test card.
7. Leggere visivamente valutando il livello di agglutinazione e definire il relativo grado.

Definizione del grading di agglutinazione:

- 0 = Identico al controllo negativo, sospensione omogenea di PBS e reagente al lattice senza agglutinazione.
1+ = Microgranulazione con un background torbido.
2+ = Aggregati visibili ad occhio nudo di piccole dimensioni con un background torbido.
3+ = Aggregati medi con un background limpido.
4+ = Aggregati grandi con un background limpido.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Qualsiasi test che viene attribuito al grado da 2+ a 4+ con un reagente al lattice è considerato positivo, purché il controllo negativo risulti effettivamente tale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

I reagenti al lattice devono agglutinare il controllo positivo con la formazione di un aggregato pari a 3+ - 4+. Il reagente al lattice del controllo negativo non deve agglutinare alcun antigene di controllo. In caso contrario, il test è considerato non valido.

AVVERTENZE

1. Il test di agglutinazione al lattice è diagnostica presuntiva. Quando possibile dovrebbero essere eseguiti test di conferma biochimici.
2. Un test di agglutinazione al lattice negativo non significa che la coltura non appartenga alla specie *Legionella*. Indica sola mente che la coltura non è *Legionella pneumophila* sierogruppi da 2 a 14.

PRECAUZIONI

1. I reagenti sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico in vitro.
2. Quando si maneggia, tratta e smaltisce un qualsiasi tipo di campione clinico è necessario adottare precauzioni universali. Tutti i materiali utilizzati nel test devono essere considerati potenzialmente infettivi durante e dopo l'uso e pertanto è indispensabile maneggiarli e smaltirli adeguatamente.










3. Non utilizzare reagenti al lattice in presenza di autoagglutinazione. L'autoagglutinazione è infatti indice di contaminazione o di deterioramento.
4. Per risultati ottimali, si raccomanda di utilizzare colture fresche in quanto quelle più vecchie potrebbero essere mucoidi e necessitare quindi la produzione di una sospensione omogenea. A tale scopo si consiglia l'uso del vortex o di altro metodo idoneo.
5. I reagenti contengono una piccola quantità di sodio azide che, se lasciato accumulare, può reagire in modo esplosivo con le tubature in rame o in piombo. Benché quindi la quantità di sodio azide presente nei reagenti sia minima, in caso di scarico nel lavandino dei reagenti utilizzati è necessario utilizzare una grande quantità di acqua.
6. Questi reagenti contengono materiali di origine animale e pertanto devono essere maneggiati e smaltiti come potenziali vettori e portatore della malattia.

BIBLIOGRAFIA

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, 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 Serogroup and Species Causing Human Illness. J. Infect. Disease. **149**:819.

Reperibili sempre presso Pro-Lab:

- PL.380 Reagente al lattice per *Legionella pneumophila*, siero gruppo 1 (Particelle al lattice ricoperte di anticorpi monoclonali) 1,1 ml per flacone
- PL.226 Kit di agglutinazione al lattice *Legionella pneumophila* 0sierogruppo 1 20 test

	= Utilizzare per
	= Numero di lotto
	= Numero di catalogo
	= Produttore
	= Mandatario nella Comunita Europea
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.