

POLYCLONAL LATEX REAGENTS SET

REAGENTI DI AGGLUTINAZIONE AL LATTICE PER LEGIONELLA

IMPIEGO PREVISTO

I reagenti di agglutinazione al lattice per *Legionella* sono concepiti per l'identificazione presuntiva di colonie di *Legionella pneumophila*, sierogruppi da 2 a 14, cresciute su terreno agarizzato.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Nel 1976 il Center for Disease Control- C.D.C. prese parte ad un'impegnativa indagine riguardante una epidemia scoppiata a Filadelfia e caratterizzata da febbre acuta (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 broncopneumonia severa, talvolta con esito infausto.

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

PRINCIPIO DEL METODO

I reagenti di agglutinazione per i sierogruppi di *Legionella pneumophila* 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 sospettate di appartenere al genere *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 specifico anti-Legionella. La miscela determinerà un'agglutinazione visibile e l'aggregato risultante sarà osservabile 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):

17PL215	L. pneumophila sierogruppo 2	2.7 ml
17PL216	L. pneumophila sierogruppo 3	2,7 ml
17PL217	L. pneumophila sierogruppo 4	2,7 ml
17PL218	L. pneumophila sierogruppo 5	2,7 ml
17PL219	L. pneumophila sierogruppo 6	2,7 ml
17PL325	L. pneumophila sierogruppo 7	2,7 ml
17PL326	L. pneumophila sierogruppo 8	2,7 ml
17PL327	L. pneumophila sierogruppo 9	2,7 ml
17PL328	L. pneumophila sierogruppo 10	2,7 ml
17PL329	L. pneumophila sierogruppo 11	2,7 ml
17PL330	L. pneumophila sierogruppo 12	2,7 ml
17PL331	L. pneumophila sierogruppo 13	2,7 ml
17PL332	L. pneumophila sierogruppo 14	2,7 ml

CONSERVAZIONE

I reagenti al lattice vengono conservati a 2°-8°C. Non congelare. Se conservati alle condizioni indicate, i reagenti di agglutinazione al lattice per *Legionella* possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

1. Cappa di sicurezza biologica.
2. Becco Bunsen.
3. Buffered charcoal yeast extract medium.
4. Ansa per inoculazione.
5. Mixer rotante.
6. Provette.
7. Soluzione Salina tamponata con fosfato (PBS, pH 7,4).

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI, disponibili a listino

1. 17PL223: Controllo negativo (1.5 ml). Le particelle di lattice per il controllo negativo sono rivestite con IgG normale di coniglio e confezionate in flaconi da 1.5 ml.
2. 17PL334: Controllo positivo (1.5 ml)- Gli antigeni di controllo di *Legionella pneumophila* sierogruppo da 1 a 14 sono cresciuti su terreno artificiale e distrutti con formalina. Il controllo è confezionato in flaconi da 1.5ml.
3. Test card con aree cerchiare 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 Buffered charcoal yeast extract medium e risospendere 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 torbidità pari a circa 10^8 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 cerchiare della Test card.
5. Miscelare ogni area cerchiata con un nuovo bastoncino di miscelazione.
6. Mettere la Test card sul mixer rotante (160 giri al minuto) per 2 minuti o agitare manualmente e con delicatezza la test card.
7. Leggere visivamente valutando il livello di agglutinazione e definire il relativo grado.

Definizione del grado 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 con un grado di agglutinazione da 2+ a 4+ con un reagente al lattice è considerato positivo, purché il controllo negativo risulti effettivamente tale (vedere paragrafo CONTROLLO DI QUALITÀ').

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.

LIMITI DEL METODO

1. Il test di agglutinazione al lattice è presuntivo. Quando possibile dovrebbero essere eseguiti test biochimici di conferma.
2. Un test di agglutinazione al lattice negativo non indica che la coltura non appartenga al genere *Legionella*. Indica solamente che la coltura non è *Legionella pneumophila* sierogruppi da 2 a 14.

AVVERTENZE

1. I reagenti sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
2. Similmente a quanto accade con tutti i campioni clinici, occorre adottare precauzioni contro un potenziale rischio microbiologico. È quindi necessario manipolare tutti i materiali agendo in conformità delle Buone Pratiche di Laboratorio.
3. Non utilizzare i reagenti in presenza di autoagglutinazione. L'autoagglutinazione indica presenza di contaminazione o deterioramento.
4. Per ottenere i migliori risultati, si raccomanda l'impiego di colture fresche. Le colture vecchie possono essere mucoidi, mentre, la sospensione deve essere omogenea. Ciò è attuabile con un vortex o altro metodo adeguato.
5. I reagenti al lattice contengono sodio azide come conservante. Il composto può reagire con piombo e rame ed i sali risultanti hanno proprietà esplosive. Per smaltire i reagenti utilizzati si dovrebbero utilizzare grandi volumi di acqua. Inoltre, la sodio azide è irritante per la pelle. Evitare il contatto della pelle con i reagenti. Non miscelare con acidi, poiché ciò potrebbe determinare la formazione di acido idrazoico, un gas ad alta tossicità.

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.

CONFEZIONI:**2,7 ml**

17PL215	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 2 POLICLONALE	50 test
17PL216	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 3 POLICLONALE	50 test
17PL217	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 4 POLICLONALE	50 test
17PL218	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 5 POLICLONALE	50 test
17PL219	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 6 POLICLONALE	50 test
17PL325	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 7 POLICLONALE	50 test
17PL326	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 8 POLICLONALE	50 test
17PL327	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 9 POLICLONALE	50 test
17PL328	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 10 POLICLONALE	50 test
17PL329	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 11 POLICLONALE	50 test
17PL330	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 12 POLICLONALE	50 test
17PL331	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 13 POLICLONALE	50 test
17PL332	L.PNEUMOPHILA SIEROGRUPPO 14 POLICLONALE	50 test

Disponibili sempre presso Biolife:

17PL380	Reagente al lattice per Legionella pneumophila, sierogruppo 1 (Particelle al lattice ricoperte di anticorpi monoclonali)	1,1 mL (20 test)
17PL381	L. pneumophila, sierogruppo 1 – Controllo negativo	20 test
17PL382	L. pneumophila, sierogruppo 1 – Controllo positivo	20 test

CND W0105010501

IVD	Per esclusivo uso diagnostico in vitro
LOT	Lotto di fabbricazione
REF	Codice di catalogo
	Intervallo di temperatura per la conservazione
	Data di scadenza (anno – mese)
	Consultare i documenti allegati
	Consultare le istruzioni operative
STERILE	Sterizzato per irradiazione

**Pro-Lab Diagnostics (Canada)**Mural Street, Unit #4, Richmond Hill, ON, L4B 20
Canada - 800 268 2341 Fax 905 731 0206