

LEGIONELLA LATEX TEST KIT PLUS

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test di agglutinazione al lattice su card per l'identificazione confermativa di colonie di *Legionella pneumophila* 01, *Legionella pneumophila* 2-15, *Legionella spp*

DESTINAZIONE D'USO

Legionella Latex Test Kit Plus è un test di agglutinazione al lattice su card per l'identificazione confermativa di colonie di *Legionella pneumophila* sierogruppo 01, *Legionella pneumophila* sierogruppi 2-15, e di *Legionella spp* coltivate su piastre di terreno selettivo. Il test è adatto all'identificazione di ceppi di *Legionella* derivati da pazienti con sospetta polmonite o da fonti ambientali.

PRINCIPIO DEL TEST

I reattivi al lattice usati nel kit sono sensibilizzati con immunoglobuline trattate per minimizzare le cross-reattività aspecifiche.

Il reattivo REAG TEST L1 contiene particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio anti-*Legionella pneumophila* sierogruppo 1.

Il reattivo REAG TEST L2-15 contiene particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio anti-*Legionella pneumophila* sierogruppi dal 2 al 15.

Il reattivo REAG TEST LSPP contiene particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio rivolti verso gli antigeni di 10 specie di *Legionella* più comunemente isolate dai campioni clinici o ambientali: *L. micdadei*, *L. bozemanii* 1 & 2, *L. dumoffii*, *L. longbeachae* 1 & 2, *L. jordanis*, *L. gormanii*, *L. anisa*, *L. feelei*.

MATERIALI FORNITI NEL KIT

REAG TEST L1 - reattivo L1: 2,5 ml. Reagente con particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio anti-*Legionella pneumophila* sierogruppo 1 (Tappo **verde**)

REAG TEST L2-15 - reattivo L2-15: 2,5 ml. Reagente con particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio anti-*Legionella pneumophila* sierogruppo 2-15 (Tappo **bianco**)

REAG TEST LSPP - reattivo LSPP: 2,5 ml. Reagente con particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi policlonali di coniglio rivolti verso gli antigeni di 10 specie di *Legionella* più comunemente isolate dai campioni clinici o ambientali: *L. micdadei*, *L. bozemanii* 1 & 2, *L. dumoffii*, *L. longbeachae* 1 & 2, *L. jordanis*, *L. gormanii*, *L. anisa* and *L. feelei* (tappo **nero**)

REAG CONTROL - reagente al lattice di controllo: 2,5 ml. Particelle di lattice sensibilizzate con immunoglobuline di coniglio non specifiche. Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante (Tappo **rosso**)

CONTROL +: Controllo Positivo: 1,0 mL. Preparazione inattivata di antigeni di *Legionella* reattivi con i lattici dei reattivi L1, L2-15 e LSPP. Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo **rosso**)

SAMPLE DILUENT/ CONTROL -: Soluzione salina isotonica allo 0,9%: 1x10,0 mL. Contiene sodio azide allo 0,095% come conservante. (Vial)

35 Card (Slide) monouso per il test di agglutinazione, ciascuna con 6 aree test

200 Bastoncini per miscelazione, monouso

1 pipetta pasteur

Istruzioni per l'uso

MATERIALI NECESSARIO MA NON FORNITO NEL KIT

- Anse da batteriologia
- Terreno selettivo per *Legionella*
- Provette di vetro adatte alla bollitura
- Soluzione fisiologica
- Incubatore
- Timer

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per la sicurezza:

- I reagenti forniti nel kit sono esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- L'azide sodica, utilizzata come conservante nei reagenti del kit, può reagire con le tubature in piombo o in rame formando sali metallici potenzialmente esplosivi. Smaltire sciacquando abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi.
- Prendere le necessarie precauzioni quando si maneggiano o si smaltiscono ceppi potenzialmente patogeni. Per la decontaminazione del materiale infetto utilizzare ipoclorito di sodio a una concentrazione finale del 3% per 30 minuti. Gli scarti liquidi contenenti acido devono essere neutralizzati prima di eliminarli.
- Il controllo positivo è stato inattivato durante il processo produttivo. In ogni caso deve essere maneggiato come se fosse potenzialmente infetto.

Procedurali:

- Utilizzare Legionella Latex Test Kit Plus in conformità alle istruzioni del kit.
- Il kit è solo per uso professionale
- Attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Non diluire i reagenti del kit.
- Non scambiare tra loro reagenti provenienti da kit di lotti diversi.
- Non congelare i reagenti del kit.
- Fare in modo che il contagocce del reagente al lattice non tocchi il controllo positivo o il campione batterico.
- Fare attenzione a registrare solo l'agglutinazione. Le reazioni "coagulate" o "filamentose" possono non essere vere agglutinazioni.
- Assicurarsi che la card sia pulita ed asciutta prima dell'uso.

CONSERVAZIONE E PERIODO DI VALIDITA'

Conservare Legionella Latex Test Kit Plus a 2-8°C. Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta della scatola.

CAMPIONI

Il campione consiste in colonie presunte *Legionella* isolate su piastre di terreno selettivo (es. Legionella BCYE Selective Agar REF 549995)

PROCEDURA

Controllo di Qualità:

I seguenti controlli devono essere eseguiti ogni volta prima dell'impiego del kit per assicurarsi il corretto funzionamento dei reagenti:

1. Controllo del reagente: miscelare gentilmente i reattivi REAG TEST L1, REAG TEST L2-15, REAG TEST LSPP e REAG CONTROL, depositarne una goccia in quattro distinte aree della card. Aggiungere a ciascuna goccia di reattivi al lattice una goccia (50 µL) di **SAMPLE DILUENT** nelle stesse aree della card. Miscelare i reattivi al lattice con il Sample Diluent su tutte le superfici delle aree della card, con quattro differenti bastoncini. Ruotare



delicatamente la card per 2 minuti e osservare per il formarsi di agglutinati. Se si osserva una qualche agglutinazione, o il lattice o la soluzione salina sono contaminati e devono essere scartati.

2. Controllo Positivo: depositare una goccia di reattivo **CONTROL +** su un'area della card. Miscelare gentilmente il reattivo **REAG TEST L1** ed aggiungerne una goccia alla stessa area e miscelare. Fare in modo che il contagocce non tocchi il controllo positivo. Ruotare delicatamente la card per 2 minuti ed osservare per la formazione di agglutinati. Vi deve essere agglutinazione che è indice di risultato positivo. Se non si osserva agglutinazione è necessario usare un nuovo kit.

Ripetere la stessa prova di controllo con il **CONTROL+** ed i reattivi **REAG TEST L2-15**, **REAG TEST LSPP** e con **REAG CONTROL**.

Nota: generalmente la reazione di agglutinazione di *L.pneumophila* sierogruppo 1 con il reattivo REAG TEST L1 è più intensa e rapida rispetto alla reazione data da *L.pneumophila* sierogruppi da 2 a 15 con il reattivo REAG TEST L2-15. Questo è dovuto all'effetto diluizione della miscela di antigeni. *Legionella* spp reagiscono con il REAG TEST LSPP allo stesso modo di *L.pneumophila* 01 con il reattivo REAG TEST L1. Non ci devono essere reazioni tra il **REAG CONTROL** e il controllo positivo.

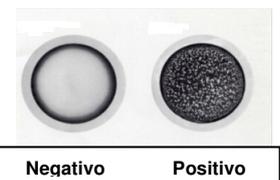
Procedura del test:

1. Isolare le colonie di *Legionella* su un appropriato terreno selettivo
2. Dispensare 1 goccia (50 µL) di **SAMPLE DILUENT** su quattro differenti aree della card.
3. Utilizzando un'ansa da batteriologia, rimuovere 3-4 colonie con morfologia tipica di *Legionella* dalla piastra di terreno selettivo ed eseguire uno striscio spesso e uniforme a fianco di ciascuna goccia di **SAMPLE DILUENT**.
4. Con l'ausilio di un bastoncino, emulsionarle le colonie nella goccia di **SAMPLE DILUENT** per produrre una sospensione densa e omogenea su tutta l'area della card.
5. Se la sospensione rimane omogenea passare alle operazioni del punto 6; se la sospensione diventa filamentosa e granulosa (spesso quando le colonie sono mucoidi) procedere come segue:
Dispensare in una provetta 0,5 mL di soluzione salina isotonica allo 0,85%. Preparare una sospensione microbica torbida ed omogenea prelevando la crescita microbica dalla piastra di terreno selettivo.
Bollire la sospensione per 5 minuti. Lasciare raffreddare a temperatura ambiente. Deposare tre aliquote da 30µL della sospensione bollita su tre aree della card.
6. Miscelare i reattivi al lattice **REAG TEST L1**, **REAG TEST L2-15**, **REAG TEST LSPP** e **REAG CONTROL** capovolgendo delicatamente i flaconcini.
7. Depositare una goccia di **REAG TEST L1** accanto alla prima sospensione batterica, una goccia di **REAG TEST L2-15** accanto alla seconda sospensione batterica, una goccia di **REAG TEST LSPP** accanto alla terza sospensione e una goccia di **REAG CONTROL** accanto alla quarta sospensione batterica. Fare in modo che i contagocce non tocchino le sospensioni.
8. Miscelare i reagenti al lattice con le sospensioni batteriche su tutta l'area della card, usando ogni volta un nuovo bastoncino monouso.
9. Ruotare delicatamente la card per 2 minuti ed osservare per la formazione di agglutinati.
10. Dopo la lettura, eliminare i bastoncini e le card usati in un disinfettante adatto.

INTERPRETAZIONE

La reazione di agglutinazione è evidenziabile con l'aggregazione delle particelle di lattice entro 2 minuti. I risultati devono essere interpretati secondo i criteri riportati in tabella:

REAG L1	REAG L2-15	REAG LSPP	REAG CONTROL	Interpretazione
+	-	-	-	Presenza di <i>L. pneumophila</i> 1
-	+	-	-	Presenza di <i>L. pneumophila</i> 2-15
-	-	+	-	Presenza di <i>Legionella</i> species
-	-	-	-	Assenza di <i>Legionella</i>
+	+	+	-	Possibile agglutinazione aspecifica Risultato non conclusivo*
+	+	-	-	Possibile agglutinazione aspecifica Risultato non conclusivo*
+	-	+	-	Possibile agglutinazione aspecifica Risultato non conclusivo*
-	+	+	-	Possibile agglutinazione aspecifica Risultato non conclusivo*
- o +	- o +	- o +	+	Risultato non interpretabile. Il ceppo in esame provoca autoagglutinazione



* Uno qualsiasi dei modelli di agglutinazione aspecifica sopra-riportati non preclude la presenza di *L. pneumophila* ma i risultati devono essere interpretati come non conclusivi.

LIMITAZIONI D'USO

- o I risultati devono essere interpretati nel contesto di tutte le informazioni disponibili, cliniche e di laboratorio.
- o La presenza di reazioni "filamentose" sulla card possono non essere vere reazioni positive e sono necessari ulteriori test.
- o Le colture vecchie e/o mucoidi di *Legionella* possono non dare sospensioni omogenee in soluzione salina e possono dar luogo ad agglutinazioni atipiche. In questi casi, pre-trattare con la bollitura come descritto in precedenza.
- o *Legionella* Latex Test Kit Plus è indicato per l'identificazione dei sierotipi 1-15 di *L. pneumophila* e di *Legionella* spp., dopo isolamento su terreno selettivo. Le colonie che danno risultato positivo con il kit devono essere confermate come appartenenti al genere *Legionella* per mezzo del test di incapacità a crescere su terreno di coltura privo di cisteina (es. *Legionella* Agar w/o Cysteine REF 549943)

CARATTERISTICHE DEL TEST

Legionella Latex Test Kit Plus è stato valutato avendo come riferimento un test di agglutinazione al lattice per la *Legionella* disponibile in commercio. Sono stati analizzati con entrambi i prodotti 128 ceppi di *Legionella pneumophila*, *Legionella* spp. (non-*pneumophila*) e un gruppo di batteri potenzialmente cross-reattivi con il test al lattice.

		Legionella Latex Test Kit Plus (tutti i sierogruppi)		Totale
		+ve	-ve	
Test al Lattice in commercio	+ve	50*	0	50
	-ve	0	78	78
Totale		50	78	128

Sensibilità: 50/50 = 100%
 Specificità: 78/78 = 100%
 Accuratezza: 128/128 = 100%



Tra i 50 ceppi esaminati, 12 erano ceppi cross-reattivi con entrambi i kit: *S.aureus* (4), *C.diversus* (1), *A.baumannii* (2), *P.stuartii* (1), *B.cereus* (1), *K.pneumoniae* (1), *Streptococcus* spp (1); tuttavia tutti questi ceppi non sviluppano crescita su terreno selettivo per *Legionella* o sviluppano colonie chiaramente atipiche. Nel caso del *B.cereus* l'agglutinazione registrata è stata del tutto atipica (filamentosa).

70 ceppi di *L.pneumophila* e *Legionella* spp. sono stati testati con Legionella Latex Test Kit Plus e con un kit in commercio, per la differenziazione tra sierogruppo 1 e sierogruppo 2-15 o per la negatività ai due reattivi al lattice (L1 e L2-15).

		Legionella Latex Test Kit Plus			
		SG1 Positivo	SG2-15 Pos	L. pneu. Nega	Totale
Test al Lattice in commercio	SG1 Positivo	8	0	0	8
	SG2-15 Positivo	0	30	0	30
	L. pneu. negativo	0	0	32	32
Totale		8	30	32	70

Nessun ceppo di *L.pneumophila* 01 ha cross-reagito con il reattivo L 2-15 e, parimenti, nessun ceppo appartenente ai sierogruppi 2-15 ha cross-reagito con il reattivo L1. Tutti i ceppi appartenenti a specie diverse da *L.pneumophila* non hanno cross-reagito con i reattivi L1 e L2-15 ad eccezione di *L. longbeachae* 1 & 2 che quindi fornisce agglutinazione atipica con L1 e L2-15.

Il reattivo LSPP è stato testato contro tutti i ceppi di *L.pneumophila* appartenenti ai sierogruppi 2-15 senza mostrare alcuna cross-reattività.

I test di specificità hanno mostrato che il reattivo al lattice LSPP fornisce risultati positivi anche con *L. sainthelensi* sgp 1, *L.hackiaie* e *L. tucsonensis*.

RIPRODUCIBILITA'

La riproducibilità intra-lotto è stata valutata esaminando la sensibilità e la specificità di 1 lotto di prodotto nei confronti di diluizioni seriali di antigeni di riferimento e di controllo del kit e di un gruppo di 47 campioni batterici. Operatori diversi hanno effettuato i test in tre occasioni distinte. Il punto finale delle titolazioni ottenute con gli antigeni di riferimento/controllo ed i risultati qualitativi con il gruppo di campioni sono risultati identici nelle tre prove.

La riproducibilità inter-lotti è stata esaminata analizzando la sensibilità e la specificità di 3 lotti di prodotto nei confronti di diluizioni seriali di antigeni di riferimento e di controllo del kit e di un gruppo di 47 campioni batterici. Fra i 3 lotti le variazioni del punto finale delle titolazioni sono risultate non significative e i risultati qualitativi con il gruppo di campioni hanno presentato una correlazione del 100%.

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	 LOT	Codicedel lotto (XXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto	 NON STERILE	Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

CONFEZIONE (50 test)

REAG TEST L1
REAG TEST L2-15
REAG TEST LSPP
REAG CONTROL
CONTROL +
SAMPLE DILUENT/ CONTROL -
CARD (SLIDE)
BASTONCINI
PIPETTA PASTEUR
ISTRUZIONI PER L'USO

COD. 271054

2,5 mL (Tappo verde gocciolatore)
 2,5 mL (Tappo bianco gocciolatore)
 2,5 mL (Tappo nero gocciolatore)
 2,5 mL (Tappo rosso gocciolatore)
 1 mL (Tappo rosso gocciolatore)
 1 x 10,0 mL (Vial)
 35 card con 6 aree test
 8 x 25 bastoncini
 1 pezzo
 1 pezzo

Codice Ramo CND W0105090199

