

LISTERIA RAPID LATEX TEST KIT

Per uso diagnostico *in Vitro*Test di agglutinazione al lattice su card per l'identificazione presuntiva di colonie di *Listeria*

DESTINAZIONE D'USO

Listeria Rapid Latex Test Kit è un test di agglutinazione al lattice per l'identificazione rapida di *Listeria spp* in campioni sottoposti a coltura su terreno solido selettivo. Il test può essere utilizzato affiancandolo ad altri test biochimici per una identificazione completa di *Listeria spp*. Il kit è ad uso esclusivo dei laboratori specializzati.

PRINCIPIO DEL TEST

Le particelle di lattice sono rivestite con antisieri polivalenti verso flagellina purificata da *Listeria monocytogenes* e *Listeria grayi*. Quando le particelle di lattice sensibilizzate vengono mescolate con la sospensione contenente le colonie di *Listeria*, si verifica una reazione immunochimica ad alta sensibilità e specificità, in seguito alla quale le particelle di lattice finemente disperse si agglutinano rapidamente in aggregati facilmente visibili ad occhio nudo.

MATERIALI FORNITI NEL KIT

REAG TEST: Reagente al lattice per *Listeria*: 2,5 mL- Particelle di lattice sensibilizzate con immunoglobuline di coniglio anti antigeni flagellari di *Listeria*. Contiene Thiomersal allo 0,02% come conservante. (Tappo bianco gocciolatore)

CONTROL +: Controllo Positivo: 0,5 mL- Contiene Thiomersal allo 0,02% come conservante. (Tappo rosso gocciolatore)

SAMPLE DILUENT: Soluzione salina allo 0,9%: 5,0 mL- Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo nero)

9 CARD (SLIDE): monouso per il test di agglutinazione, ciascuna con 6 aree test

50 BASTONCINI: 2x25 bastoncini per miscelazione, monouso

PIPETTA: N.1

ISTRUZIONI PER L'USO

MATERIALI NECESSARIO MA NON FORNITO NEL KIT

Anse da batteriologia; Tubi di plastica da 1 mL, Timer

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per la sicurezza:

- I reagenti forniti nel kit sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- Il kit è solo per uso professionale.
- 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 *Listeria Rapid Latex Test Kit* in conformità alle istruzioni del kit.
- 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.
- Assicurarsi che la card sia pulita ed asciutta prima dell'uso.

CONSERVAZIONE E PERIODO DI VALIDITA'

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

CAMPIONI

Colonie prelevate da terreni solidi selettivi per *Listeria*.

PROCEDURA

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

1. L'uso di terreni selettivi contenenti esculina è vantaggioso nella differenziazione tra *Listeria sp* (Esc+) dalle non-*Listeria sp* (Esc-).
2. Le colonie devono prima essere testate con il test dell'ossidasi; potrebbero esserci delle false reazioni con colture positive all'ossidasi. La *Listeria sp* è ossidasi negativa.
3. E' importante testare solo colonie lisce. Le colonie rugose hanno dato aggregazione/agglutinazione non-specifica solo con salina.
4. La produzione massima di flagelli avviene a 30°C o temperature inferiori.

Controllo di Qualità:

I seguenti test con il Controllo Positivo e il Reagente al lattice devono essere eseguiti ogni volta che si utilizza il kit per verificarne la funzionalità.

Dispensare una goccia da 50 µL di **CONTROL +** in un'area dello slide. Aggiungere una goccia di **REAG TEST** e, dopo aver miscelato delicatamente, osservare il risultato. Nell'arco di 2 minuti dovrebbe verificarsi la reazione di agglutinazione. Se la reazione non si verifica, eliminare i reagenti.

In un'altra area dello slide dispensare una goccia di **REAG TEST** e una goccia di soluzione salina isotonica. Mescolare e osservare la reazione, che non deve dare luogo ad agglutinazione. La presenza di una reazione di agglutinazione indica che almeno uno dei reagenti è contaminato. In tal caso, eliminare i reagenti.

Procedura del test:

1. Agitare delicatamente il lattice per omogenare la sospensione.
2. Dispensare 50µL di **SAMPLE DILUENT** in un'area dello slide.
3. Utilizzando un'ansa da batteriologia, prelevare una colonia con morfologia simile a *Listeria* dalla piastra di terreno selettivo. Emulsionare la colonia nella goccia di **SAMPLE DILUENT** per produrre una sospensione densa e omogenea.
4. Osservare la sospensione. La presenza di agglutinazione o di aggregati indica un fenomeno di autoagglutinazione. Se la sospensione resta omogenea, procedere alla fase successiva. Se si riscontra autoagglutinazione, l'organismo non può essere testato mediante *Listeria Rapid Latex Test Kit*. In tal caso sarà necessario ricorrere a metodi di saggio alternativi.



5. Aggiungere 1 goccia (50µL) di **REAG TEST** alla sospensione contenente la colonia, precedentemente ottenuta sul vetrino. **Evitare che il contagocce entri in contatto con la sospensione contenente i microrganismi.**
6. Miscelare la sospensione batterica con il reagente al lattice usando un bastoncino per miscelazione per 30 secondi. Continuare a mescolare facendo oscillare il vetrino.
7. Controllare se si verifica agglutinazione nell'arco di 2 minuti, a partire dal momento in cui si è iniziato a mescolare il reagente con il campione.
8. Leggere il risultato (vedi **INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI** di seguito)
9. Dopo la lettura, eliminare i bastoncini e le card usati in un disinfettante adatto.

INTERPRETAZIONE

L'agglutinazione entro 2 minuti è indice di risultato positivo e di presenza di *Listeria* nel campione. L'intensità della reazione può variare e possono essere utilizzate le seguenti linee guida per l'interpretazione.

- + reazione: fine, ma ben distinguibile la granularità rispetto al fondo lattiginoso.
- ++ reazione: granularità grossolana rispetto al fondo lattiginoso.
- +++ reazione: agglomerate molto visibili lungo il contorno della sospensione rispetto al fondo lattiginoso.

LIMITAZIONI D'USO

1. E' noto che colonie rugose di *Listeria* possono dare luogo ad agglutinazioni non-specifiche utilizzando solo salina, pertanto non possono essere testate con il *Listeria Rapid Latex Test Kit*.
2. Colture incubate a temperature superiori ai 30°C non producono flagelli e potrebbero fornire dei risultati falsi negativi con il *Listeria Rapid Latex Test Kit*.
3. I ceppi immobili non possono essere identificati con il *Listeria Rapid Latex Test Kit*.
4. Alcune specie di Stafilococchi e bacilli gram positivi possono dare reazioni falsamente positive.
5. L'identificazione di *Listeria* mediante *Listeria Rapid Latex Test Kit* è solo presuntiva e tutti i risultati positivi devono essere confermati da altre analisi biochimiche.











CARATTERISTICHE DEL TEST

Listeria Rapid Latex Test Kit è stato valutato come test di conferma per colture sia da un laboratorio indipendente di microbiologia esterno, sia mediante procedure interne. In totale sono stati analizzati mediante coltura in piastre di agar selettivo 105 isolati batterici, e le colonie sono state testate con *Listeria Rapid Latex Test Kit* e altri test disponibili in commercio.

Specie confermate da metodo di riferimento	<i>Listeria Rapid Latex Test Kit</i>	
	+vo	-vo
<i>L. monocytogenes</i>	59	0
<i>L. innocua</i>	22	0
<i>L. seeligeri</i>	9	0
<i>L. welshimeri</i>	7	0
<i>L. ivanovii</i>	4	0
<i>L. grayi</i>	4	0
Totale	105	0

BIBLIOGRAFIA

1. WHO Working Group. 1988. Foodborne listeriosis. Bull WHO 66:241-428.
2. Brackett RE. 1988. Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. Food Technol 42:162.
3. Kerr KG, Dealler SF and Lacy RW. 1988. *Listeria* in cook-chill food. Lancet 2:37-38
4. Billie J and Doyle MP. *Listeria* and *Erysipelothrix* Chapt 32 in Manual of Clinical Microbiology, 5th Edition 1991. Eds Albert Balows, William J Hausler, Kenneth L Herman D Isenberg, H Jean Shadomy. American Society for Microbiology.

 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 tests)

REAG TEST
CONTROL +
SAMPLE DILUENT
CARD (SLIDE)
BASTONCINI
PIPETTA
ISTRUZIONI PER L'USO

COD. 271090

2,5 mL (Tappo bianco gocciolatore)
 0,5 mL (Tappo rosso gocciolatore)
 5,0 mL (Tappo nero)
 9 card con 6 aree test
 2 x 25 bastoncini
 1
 1

Codice Ramo CND W0105011301

