




Key Code TSMX5057D
www.oxid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Legionella Latex Test

REF DR0800M.....  50 **IT**

1. FINALITÀ D'USO

Legionella Latex Test Oxoid è un test di agglutinazione per l'identificazione delle specie predominanti di *Legionella*, cresciute su terreni in piastra, isolate da pazienti con sospetta legionellosi o da campioni di origine ambientale. Legionella Latex Test Oxoid permette l'identificazione separata di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, dei sierogruppi da 2 a 14 e l'individuazione di sette ulteriori specie di *Legionella*, implicate in patologie umane.

2. INTRODUZIONE

La malattia dei Legionari, così chiamata per l'epidemia verificatasi a Filadelfia nel 1976 durante la "American Legion Convention", è causata da *Legionella pneumophila* e da altre specie di *Legionella*. È caratterizzata da una malattia respiratoria a sintomatologia febbrile acuta, la cui severità può variare da una forma lieve ad una polmonite fatale. Da allora, è stato riconosciuto che la malattia si sviluppa sia in forma epidemica che endemica e che i casi sporadici non sono facilmente distinti in base alla sintomatologia clinica de altre infezioni respiratorie. Si stima che annualmente nel mondo si verifichino circa 25.000 casi di infezione da *Legionella*. I fattori di rischio conosciuti includono l'immunosoppressione, il fumo da sigaretta, il consumo di alcool e concomitanti malattie polmonari. Il tasso di mortalità, che può essere pari al 25% nei pazienti immunocompromessi non trattati, può essere inferiore se la malattia viene diagnosticata rapidamente e se viene precocemente intrapresa un'appropriate terapia antibiotica.

Legionella pneumophila è stata indicata come la causa principale sia di polmoniti che di una malattia febbrile acuta autolimitante chiamata Febbre di Pontiac. I ceppi di *L. pneumophila* e di altre specie di *Legionella* sono isolati da pazienti affetti da polmonite e dall'ambiente (principalmente dall'acqua).

Rari isolamenti sono stati riferiti anche in presenza di affezioni diverse dalla polmonite: per esempio in accessi da ferita. Il più importante serbatoio d'infezione delle specie di *Legionella* è rappresentato dall'acqua dolce, dagli impianti di condizionamento d'aria e da installazioni idriche di vario tipo.

L. pneumophila è il più frequente agente eziologico della malattia dei Legionari. Allo stato attuale, esistono 14 differenti sierotipi e – tra questi – il sierogruppo 1 è responsabile del 90% dei casi.

Il test Oxoid basato sul lattice per la Legionella utilizza particelle in lattice blu sensibilizzate agli anticorpi che sono soggette ad agglutinazione in presenza di antigeni della parete delle cellule di Legionella formando aggregati visibili. Questo consente una procedura di screening semplice e rapida per le specie e i sierotipi di Legionella patogena predominanti.^{1,2}

3. MATERIALE COMPRESO NEL KIT

DR0801 Legionella pneumophila sierogruppo 1 Reagente Test

Particelle di lattice blu sensibilizzate con anticorpi specifici di coniglio che reagiscono con l'antigene di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1. Il kit contiene reagente sufficiente per 50 determinazioni.

DR0802 Legionella pneumophila sierogruppi 2–14 Reagente Test

Particelle di lattice blu sensibilizzate con anticorpi specifici di coniglio che reagiscono con gli antigeni di *Legionella pneumophila* sierogruppi 2–14. Il kit contiene reagente sufficiente per 50 determinazioni.

DR0803 Legionella species Reagente Test

Particelle di lattice blu sensibilizzate con anticorpi specifici di coniglio che reagiscono con le seguenti specie e i seguenti sierotipi di Legionella:

- L. longbeachae* 1 & 2
- L. bozemanii* 1 & 2
- L. dumoffii*
- L. gormanii*
- L. jordanis*
- L. micdadei*
- L. anisa*

Il kit contiene reagente sufficiente per 50 determinazioni.

DR0804 Sospensione di Controllo Positivo

Sospensione polivalente di cellule di *Legionella* in soluzione tamponata, sufficiente per eseguire 25 determinazioni.

DR0805 Sospensione di Controllo Negativo

Sospensione di cellule di *L. spiritensis* in soluzione tamponata non reattive con i reagenti del test, sufficiente per eseguire 25 determinazioni.

DR0806 Lattice di controllo

Una sospensione di particelle di lattice sintetico blu sensibilizzate con globulina di coniglio non reattiva. Il kit contiene reagente sufficiente per 50 determinazioni.

DR0807 Soluzione tampone x 2

Soluzione salina tamponata (pH 7.3).

DR0500 Cartoncini di reazione

Cartoncini di reazione monouso. Il kit contiene 50 cartoncini monouso.

Istruzioni per l'uso

4. MATERIALI ADDIZIONALI RICHIESTI PER L'ESECUZIONE DEL TEST

Anse microbiologiche e Becco Bunsen. Soluzione salina (0.85% NaCl) (per il metodo opzionale in provetta). Idoneo disinfettante per uso di laboratorio: per es.: Soluzione di ipoclorito di sodio (>1.3% p/v).

5. PRECAUZIONI

IVD Il prodotto è indicato esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

Non congelare.

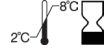
I reagenti contengono sodio azide allo 0.1% come conservante. La sodio azide può reagire a contatto con il rame o il piombo delle tubature producendo azidi metalliche che sono esplosive per detonazione da contatto. Per evitare l'accumulo di azidi nelle tubature, far scorrere molta acqua dopo avere eliminato i residui. I campioni possono contenere microrganismi patogeni e devono

perciò essere maneggiati con le opportune precauzioni.

Evitare la formazione di aerosol, prestando particolare attenzione durante l'uso del Vortex.

Fare riferimento alla scheda di sicurezza fornita dal produttore e all'etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

6. CONSERVAZIONE



Il kit deve essere conservato a 2–8°C. In queste condizioni i reagenti mantengono la loro validità fino alla data di scadenza evidenziata in etichetta.

7. PROCEDURE DI CONTROLLO

Si consiglia di controllare giornalmente, prima dell'esecuzione del test, il corretto funzionamento del reagente al lattice, utilizzando la sospensione di controllo fornita nel kit.

La sospensione di controllo positivo (DR804) deve evidenziare, entro un minuto, un'evidente agglutinazione del reagente al lattice. La sospensione di controllo negativo (DR805), viceversa, non deve causare alcuna agglutinazione delle particelle entro un minuto.

Non utilizzare il prodotto in presenza di reazioni non appropriate con le sospensioni di controllo.

8. IMPORTANTI NOTE PROCEDURALI

Evitare assolutamente la contaminazione dei reagenti, che può intervenire toccando i campioni depositati sul cartoncino di reazione con il contagocce del flacone. Assicurarsi che, durante la conservazione, i flaconi siano ben chiusi, al fine di prevenire contaminazioni o l'essiccamento dei reagenti. Dopo l'uso, riporre il kit in frigorifero assicurandosi che i flaconi siano conservati in posizione verticale.

9. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Gli isolamenti di origine ambientale ed i campioni clinici possono essere coltivati su terreni standard non selettivi o su terreni selettivi per *Legionella*. Gli schemi tipici di isolamento sono illustrati in bibliografia.^{3,4} Le specie di *Legionella* richiedono assolutamente la presenza, nei terreni di primo isolamento, di L-cisteina cloridrato. Per confermare che una colonia isolata appartenga al genere *Legionella*, è necessario verificare l'assenza di crescita del ceppo in esame in terreno privo di L-cisteina cloridrato (*Legionella* Agar senza cysteine CM655 + SR175). Questa prova di conferma può essere eseguita prima o dopo l'esecuzione del test al lattice.

Per la coltura di *Legionella*, si consiglia di utilizzare i seguenti terreni e supplementi Oxoid, prima di impiegare il test al lattice. BCYE (CM655 + SR110), BPMAα (CM655 + SR110 + SR111), MWCY (CM655 + SR110 + SR118), GVP (CM655 + SR110 + SR152).

Per ulteriori informazioni su questi prodotti si prega di contattare la filiale distributore.

Le colture possono essere analizzate in qualsiasi stadio di crescita, a condizione che le colonie presentino un diametro sufficiente. Tuttavia, colture troppo vecchie possono dare origine a reazioni fibroso/viscose, rendendo più difficile l'interpretazione dei risultati.

10. TECNICA

Il test può essere eseguito seguendo due differenti protocolli: il primo, direttamente su colonia; il secondo, in provetta. Entrambi forniscono risultati attendibili. Qualora la colonia isolata abbia

una consistenza fibrosa si raccomanda l'impiego del metodo in provetta.

(a) Test Diretto

1. Portare i reagenti al lattice a temperatura ambiente. Agitare bene la sospensione al lattice per assicurarne la completa omogeneità. Eliminare il lattice eventualmente trattenuto nel contagocce, al fine di ottenere una miscelazione ottimale.
2. Diluire 1 goccia di ogni reagente contenente lattice all'interno e vicino al bordo di un cerchio su un cartoncino di reazione.
3. Distribuire 1 goccia di soluzione tampone per diluizioni all'interno di ciascuno dei 4 cerchi predisposti sul cartoncino di reazione. Assicurarsi che il lattice ed il tampone in questa fase non si mescolino.
4. Usando un'ansa, prelevare 1 colonia di almeno 1 mm di diametro (se le colonie sono più piccole prelevarne 2 o più) ed emulsionarla accuratamente con la soluzione tampone. Per ottenere un risultato ottimale assicurarsi che la sospensione sia omogenea. Ripetere la procedura per ciascuno dei reagenti.
5. Mescolare i reagenti al lattice con la sospensione, spandendo la miscela sull'intera area di reazione. Flambare l'ansa.
6. Ruotare delicatamente il cartoncino di reazione ed osservare l'eventuale presenza di agglutinazione. Non ruotare il cartoncino per più di 1 minuto. Non utilizzare lenti di ingrandimento per la lettura del risultato.
7. Terminata l'analisi, eliminare il cartoncino di reazione in un'idonea soluzione disinfettante.
8. Richiudere i flaconi e riporli in frigorifero.

(b) Metodo in provetta

1. Portare i reagenti al lattice a temperatura ambiente. Agitare bene la sospensione al lattice per assicurarne la completa omogeneità. Eliminare il lattice eventual- mente trattenuto nel contagocce, al fine di ottenere una miscelazione ottimale.
2. Etichettare le provette in modo opportuno e distribuire 0.4 ml di soluzione salina (0.85% NaCl) in ciascuna provetta.
3. Prelevare con un'ansa da 4 a 10 colonie con la medesima morfologia e stemperarle nella soluzione salina.
4. Passare al Vortex la sospensione cellulare per 5 secondi. (Fare riferimento alla sezione Precauzioni).
5. Distribuire 1 goccia di ciascun reagente al lattice (3 reagenti test ed il reagente di controllo) all'interno di ciascun dei 4 cerchi predisposti sul cartoncino di reazione. Dispensarli in prossimità del bordo del cerchio.
6. Utilizzando una pipetta Pasteur aggiungere 1 goccia di sospensione cellulare in ciascuno dei 4 cerchi e mescolarla con il reagente al lattice. Spandere la miscela sull'intera area di reazione.
7. Ruotare delicatamente il cartoncino di reazione ed osservare l'eventuale agglutinazione. Non ruotare il cartoncino per più di 1 minuto. Non utilizzare lenti di ingrandimento per la lettura del risultato.
8. Terminata l'analisi, eliminare il cartoncino di reazione in un idonea soluzione disinfettante.
9. Richiudere il flaconi e riporli in frigorifero.

11. LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato positivo

Un risultato è positivo se interviene agglutinazione delle particelle di lattice blu entro 1 minuto e non si verifica agglutinazione nell'area di controllo. Una reazione positiva indica che nel campione sono stati individuati gli antigeni di un determinato sierogruppo delle specie di *Legionella*.

Risultato negativo

Un risultato è negativo se non si verifica agglutinazione e la colorazione blu di fondo rimane invariata dopo 1 minuto nelle tre aree del cartoncino di reazione.

Risultato non interpretabile

Il test non è interpretabile se il reagente di controllo mostra agglutinazione. Questo indica che il ceppo in esame provoca autoagglutinazione.

Reazioni viscoso/fibrose o con formazione di granuli

Occasionalmente si possono osservare reazioni viscoso/fibrose o granulose a causa della natura particolare di questo materiale. Quando si osservano reazioni di questo tipo, si consiglia di interpretarle seguendo i seguenti criteri:

Risultato positivo quando il colore blu di fondo del reagente test presenta una marcata limpidezza.

Risultato negativo quando il colore blu di fondo del reagente test non presenta una marcata limpidezza.

12. LIMITAZIONI

- Il test di agglutinazione al lattice ha un valore diagnostico presuntivo. Confermare i risultati positivi utilizzando test biochimici.⁵
- Un risultato negativo ottenuto con il test di agglutinazione non permette di escludere che la coltura esaminata appartenga alle specie del genere *Legionella*. Un risultato di questo tipo indica soltanto che la coltura non appartiene alle specie *Legionella pneumophila* sierogruppo 1-14, *L. longbeachae* 1 & 2, *L. bozemanii* 1 & 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa*.⁶
- Si può verificare una reazione crociata tra *L. pneumophila* sierogruppo 1 e sierogruppo 9, causata dalla natura degli antigeni di gruppo. Se, con una colonia isolata, entrambi i reagenti per *L. pneumophila* sierogruppo 1 e sierogruppo 2-14 agglutinano, si consiglia di sospettare la possibilità di una reazione crociata.
- E' stata segnalata l'occasionale presenza di reazioni crociate del *Legionella* Species Reagente Test con alcuni sierotipi di altre specie di *Legionella* (per es. *L. parisiensis*, *L. sainthelensi*, *L. steigerwaltii*, *L. wadsworthii*, *L. santicrucis*, *L. tusconensis*, *L. gratiana*, *L. cincinnatiensis*).⁶
- Il test è studiato per differenziare tra diverse specie e sierotipi di *Legionella*. Si consiglia di confermare che le colture siano bastoncini Gram-negativi e che non siano in grado di crescere su terreni privi di cisteine.

13. CARATTERISTICHE DEL TEST

I reagenti del *Legionella* Latex Test Oxoid sono stati saggiati per verificare l'assenza di reazioni crociate nei confronti dei microrganismi elencati di seguito. Nessuna reazione crociata è stata osservata con questi microrganismi.

L. cherri
L. birminghamensis
L. rubrilucens

L. maceachernii
L. oakridgensis
L. erythra
L. feelei
L. fairfieldensis
L. brunensis
L. spiritensis
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas cepacia
Pseudomonas aeruginosa
Aeromonas hydrophila
L. hackeliae
L. israeliensis
L. jamestowniensis
L. quinlivanii
L. moravica
Stenotrophomonas maltophilia
Bacillus subtilis
Citrobacter freundii
Escherichia coli
Serratia marcescens

Il *Legionella* Latex Test Oxoid è stato valutato presso un laboratorio di analisi cliniche ed un laboratorio di analisi ambientali. Sono stati analizzati un totale di 40 isolamenti clinici e 279 isolamenti di origine ambientale, includendo *Legionella pneumophila* sierogruppo 1-14 e legionelle non appartenenti alla specie *pneumophila*. Ciascuna identificazione è stata confermata mediante tecnica sierologica.

Le prestazioni del kit Oxoid sono state confrontate con altri kit di agglutinazione al lattice per *Legionella* disponibili sul mercato. I risultati ottenuti sono riportati di seguito.⁷

La *L. pneumophila* di sierogruppo 15 non è ancora stata isolata da campioni clinici o ambientali in Europa⁹ ed è stata isolata una sola volta negli USA.⁸

Quest'ultimo sierogruppo ancora da definire comprende solamente un ceppo (Lansing-3 (ATCC® 35251). Studi sull'isolato Jena-1^{10,11} avevano proposto un 16° sierogruppo, ma analisi ulteriori hanno dimostrato che il ceppo non rappresenta un sierogruppo a sé stante ma appartiene alla *L. pneumophila* di sierogruppo 4 (gruppo monoclonale Portland 1).^{12,13}

Sono stati raccolti dati interni ulteriori che hanno dimostrato che l'Oxoid *Legionella* Latex Kit (DR0800M, DR0801M, DR0802M e DR0803M) è in grado di individuare la *Legionella pneumophila* di sierogruppo 15 (ATCC® 35251) nonché la *L. pneumophila* 1-14 e altri ceppi patogeni di *Legionella* diversi dall'*L. pneumophila*. Tuttavia, poiché per le analisi è disponibile solamente un ceppo del sierogruppo 15, si ritiene che non sia adeguato rinominare il reagente al lattice per i sierogruppi 2-14 sulla base dei risultati provenienti da un solo isolato.

Gli Oxoid *Legionella* Latex Kit offrono il vantaggio di permettere la distinzione dei campioni in tre gruppi: *L. pneumophila* di sierogruppo 1, *L. pneumophila* di sierogruppi 2-15 (con il reagente 2-14) e altre specie di *Legionella*, attraverso una procedura di screening rapida e semplice.

	Legionella Latex Test	Test al lattice/Esame sierologico
	Numero	%
Legionella pneumophila sierogruppo 1	59/59	100
Legionella pneumophila sierogruppo 2-14	134/134	100
Altre legionelle comprese nel kit	63/65	97
Altre legionelle non comprese nel kit	0/93	100
Altri microrganismi	0/10	100

La sensibilità totale del kit *Legionella* Latex Test Oxoid è stata del 99%.









La specificità totale del kit *Legionella* Latex Test Oxoid è stata del 100%.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide. Nocivo per ingestione.

14. REFERENCES:

- Sedgwick, A. K. and Tilton, R. C. (1983). *J. Clin. Microbiol.*, 17: 365-368.
- Ciesielski, C. A., Blaser, M. J. and Wang, W. L. (1986). *Infect. Immun.*, 51: 397-404.
- Dennis, P. J. L. (1988). Isolation of Legionellae from Environmental Specimens p. 31-44. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). *A Laboratory Manual for Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
- Dournon, E. (1988). Isolation of Legionellae from Clinical Specimen p. 13-30. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). *A Laboratory Manual for Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
- Cowan and Steel's Manual for the identification of Medical Bacteria 3rd Ed. Barrow, G. I. and Feltham, R. K. A. (eds) (1993) p. 161-163. University Press, London.
- Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (1988). Identification of Legionellae by Serological Methods. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). *A Laboratory Manual for Legionella*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
- Data on file Oxoid Ltd.
- Brenner et al. Legionella pneumophila Serogroup Lansing 3 Isolated from a Patient with Fatal Pneumonia, and Descriptions of *L. pneumoniae* subsp. *pneumophila* subsp. nov., *L. pneumophila* subsp. *fraseri* subsp. nov., and *L. pneumophila* subsp. *pascullei* subsp. nov. *Journal of Clinical Microbiology*; 1988; 26: 1695-1703.
- Helbig, J. H et al. Pan-European Study on Culture Proven Legionnaires' Disease: Distribution of Legionella pneumophila Serogroups and Monoclonal Subgroups. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*; 2002; 21: 710-716.
- Lück, C et al. Isolation of a Legionella pneumophila Strain Serologically Distinguishable from all known Serogroups. *Zentralblatt fuer Bakteriologie*. 1995; 282: 35-39.
- Fry, N. K and Harrison, T. G. An evaluation of intergenic rRNA gene sequence length polymorphism analysis for the identification of Legionella species. *Molecular Identification and Epidemiology*; 1998; 47: 667-678.
- Lück, P. C et al. DNA Polymorphisms in Strains of Legionella pneumophila Serogroups 3 and 4 Detected by Macrorestriction Analysis and Their Use for Epidemiological Investigation of Nosocomial Legionellosis. *Applied and Environmental Microbiology*; 1995; 61: 2000-2003.
- Helbig, J. H. 2003. Personal Communication.

15. SIMBOLO LEGGENDA

	Numero catalogo
	Dispositivo medico per la diagnostica in vitro
	Fare riferimento alle Istruzioni per l'uso
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Numero lotto
	Data di scadenza
	Prodotto da



IFU X5057D Revisione Maggio 2016



OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Per l'assistenza tecnica rivolgersi al distributore locale

Meridian Healthcare srl
Via G. Guglielmino, 68 -
95030 Tremestieri Etneo - CT
Tel. 095 725 68 69 - Fax: 095 725 44 54
e-mail: info@meridianhealthcare.it

Meridian Healthcare®