

ANWENDUNGSBEREICH

Zum qualitativen Nachweis und spezifischer Bestimmung von *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Kulturkolonien auf Agarplatten.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Legionella pneumophila Serogruppe 1 ist der Haupterreger der Legionärskrankheit und eine der am häufigsten identifizierten *Legionella*-Isolate in Umweltproben.¹

Die für die Laborbestätigung am meisten verfügbaren Techniken zur Bestimmung von *Legionella*-Isolaten sind serologische Methoden, die auf Hyperimmunantiseren vom Kaninchen beruhen, die Antikörper gegen somatisches Lipopolysaccharid- bzw. "O"-Antigen enthalten.² Allerdings besitzen viele *Legionella*-Spezies und Serogruppen gemeinsame Antigene³, daher werden bei der Verwendung polyklonaler Antikörper zur serologischen Bestimmung Kreuzreaktionen beobachtet³. Das *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz verwendet mit monoklonalem Antikörper beschichtete Polystyrenlatexpartikel, die eine hochempfindliche und spezifische Bestimmung von *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 ermöglichen.

TESTPRINZIP

Das *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz von Pro-Lab besteht aus einer gepufferten Suspension von Latexpartikeln, die mit monoklonalem Antikörper beschichtet sind, der sich spezifisch gegen die Oberflächenantigene von *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 richtet. Wenn die Testkolonie *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 ist, wird sie das Reagenz agglutinieren. Der Agglutinationsgrad wird dann visuell bewertet.

REAGENZEN UND VERFÜGBARE MATERIALIEN

Die *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenzien von Pro-Lab werden einzeln verkauft. Die Materialien werden gebrauchsfertig, ausreichend für 20 Tests geliefert.

1. ***Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz (PL.380)**: Tropfflasche mit 1,1 ml Latexpartikeln, beschichtet mit der IgG-Fraktion monoklonaler Mausantikörper gegen *Legionella pneumophila* Serogruppe 1. Die Latexpartikel sind in einem Puffer mit 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.
2. ***Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz, Negativkontrolle (PL.381)**: Tropfflasche mit 0,7 ml Latexpartikeln, beschichtet mit der IgG-Fraktion (normal) monoklonaler Antikörper. Die Latexpartikel sind in einem Puffer mit 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.
3. ***Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz, Positivkontrolle (PL.382)**: Tropfflasche mit 0,7 ml Kontrollantigen von *Legionella pneumophila* Serogruppe 1, auf künstlichem Medium gewachsen und mit Formalin abgetötet. Das Kontrollantigen ist in einem Puffer mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

1. Biologische Sicherheitswerkbank
2. Bunsenbrenner
3. Impföse
4. Reagenzgläser
5. Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS, pH 7,4)
6. Testkarten mit eingekreisten Bereichen zum Mischen von Reagenzien und Proben
7. Rührstäbchen

STABILITÄT UND LAGERUNG

Alle Komponenten sollten bei 2–8 °C gelagert werden. **Nicht einfrieren.** Unter diesen Bedingungen gelagerte Reagenzien sind bis zum auf dem Produktetikett angegebenen Verfalldatum stabil.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Reagenzien sind nur für den Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum bestimmt.
2. Reagenzien nicht nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfalldatum verwenden.
3. Die Reagenzien enthalten eine kleine Menge Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazide können, wenn sie sich ansammeln, mit Rohrleitungen aus Blei oder Kupfer explosiv reagieren. Wenn gleich die Menge an Natriumazid in den Reagenzien minimal ist, sollte mit viel Wasser nachgespült werden, wenn sie in den Abfluss entsorgt werden.
4. Bei der Handhabung, Verarbeitung und Entsorgung aller klinischer Proben allgemeine Vorsichtsmaßnahmen einhalten. Alle Testmaterialien sollten bei und nach der Verwendung als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend gehandhabt und entsorgt werden.
5. Das Latexreagenz nicht verwenden, wenn Autoagglutination zu sehen ist. Eine Autoagglutination weist auf eine Kontamination oder einen Verfall hin.
6. Um gültige Ergebnisse zu erhalten, müssen die in dieser Anleitung gegebenen Verfahren, Lagerungsbedingungen, Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen befolgt werden.
7. Die Reagenzien enthalten Materialien tierischen Ursprungs und sollten wie potenzielle Träger und Überträger von Krankheiten gehandhabt werden.

VORBEREITUNG DER KULTUREN

Für beste Ergebnisse wird die Verwendung frischer Kulturen empfohlen.

TESTVERFAHREN

1. Vor Gebrauch Proben und Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.
2. Aus dem gepufferten Aktivkohle-Hefeeextrakt-Medium so viele verdächtige Kolonien wie möglich entnehmen und diese in ungefähr 1 ml PBS (pH 7,4) suspendieren. Verdächtige Kolonien sind die, welche eine typische Morphologie und kein Wachstum auf Blutagar zeigen. Idealerweise sollte die Suspension einen Trübheitsgrad von ungefähr 108 CFU pro ml (McFarland-Standard 0,5) aufweisen. Allerdings sind auch nur zwei Kolonien in 1,0 ml PBS ausreichend.
3. Die Latexagglutinationsreagenzien durch sanftes Bewegen suspendieren.
4. Einem Testkreis 1 Tropfen der Kolonien suspension hinzufügen.
5. Dem Testkreis 1 Tropfen *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz hinzufügen.
6. Den Inhalt des Testkreises mit einem Rührstäbchen mischen und dann die Karte für 2 Minuten schwenken.
7. Nach 2 Minuten den Testkreis auf Agglutination prüfen. Falls vorhanden, bitte wie unten bewerten.

Definition der Agglutinationsbewertung:

- 0 = Mit der Negativkontrolle identisch, homogene Suspension von PBS und Latexreagenz ohne Agglutination.
- 1+ = Feine Granulation mit einem trüben Hintergrund.
- 2+ = Kleine Klumpen mit einem trüben Hintergrund.
- 3+ = Mittlere Klumpen mit einem klaren Hintergrund.
- 4+ = Große Klumpen mit einem klaren Hintergrund.

8. Bei Anwesenheit von Agglutination die Kolonien suspension mit der

Negativkontrolle des Latexreagenzes und demselben Vorgehen wie in Schritt 4 bis 7 oben beschrieben testen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Das *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz muss mit dem Reagenz der Positivkontrolle eine Reaktion von 3+ bis 4+ ergeben. Das Reagenz der Negativkontrolle darf mit dem Reagenz der Positivkontrolle nicht agglutinieren. Anderenfalls ist der Test ungültig.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Alle Tests, die mit dem *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexreagenz von 1+ bis 4+ bewertet werden, gelten als positiv, unter der Voraussetzung, dass das Latexreagenz der Negativkontrolle negativ ist.

BESCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS







1. Der Latexagglutinationstest ist eine präsumtive Diagnostik. Soweit möglich sollten biochemische Tests zur Bestätigung durchgeführt werden.
2. Ein negativer Latexagglutinationstest bedeutet nicht, dass die Kultur eine *Legionella*-Spezies ist. Er weist nur darauf hin, dass die Kultur keine *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 ist.

LEISTUNGSMERKMALE

Ein vom Gesundheitsamt (Public Health Laboratory) durchgeführter *Legionella pneumophila* Serogruppe 1-Latexagglutinationstest von Pro-Lab Diagnostics zeigte, dass das Produkt mit einem getesteten Panel aus *Legionella pneumophila*-Stämmen (14 *L. pneumophila* Serogruppe 1 und 36 Stämmen anderer Serotypen) 100 % Spezifität und Empfindlichkeit aufwies.

LITERATUR

1. **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.
2. **Wilkinson, H. W.** 1988. Legionellosis, P. 320-332. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., M. Ohashi, and A. Turano (Hrsg.), *Laboratory diagnosis of infectious diseases, Principles and practice*, Band 1. Springer-Verlag, New York.
3. **Plikaytis, B.B., G.M. Carlone, C.P. Pau, and Wilkinson, H. W.** 1987. Purified 60-Kilodalton *Legionella* Protein with *Legionella* -Specific and Non-specific epitopes. *J. Clin. Microbiol.* 25:2080-2084.

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.

Überarbeitet: 2021 09