

IMPIEGIO PREVISTO

Per un uso nella misurazione quantitativa e nell'identificazione specifica di colonie di coltura di *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 da piastre agarizzate.

INTRODUZIONE E SPIEGAZIONE

La *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 è l'agente eziologico più comune della legionellosi e uno dei microrganismi più frequenti nei campioni ambientali.¹

Le tecniche più utilizzate per la conferma di laboratorio dell'identificazione delle colonie di *Legionella* sono basate su metodi di tipo sierologico, che utilizzano antisieri iperimmuni di coniglio, contenenti anticorpi diretti contro l'antigene somatico (un lipopolisaccaride) o antigene O.² Comunque, molte specie e sierogruppi di *Legionella* hanno antigeni comuni³ e cross-reagiscono, quando sono usati anticorpi policlonali, per l'identificazione sierologica³. Il reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 utilizza anticorpi monoclonali ricoperti da particelle di lattice di polistirene che dispongono di un'alta specificità e selettività nell'identificazione di *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1.

PRINCIPIO DEL METODO

Il reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 è costituito da una sospensione tamponata di particelle di lattice ricoperte da anticorpo monoclonale, specificamente diretto contro l'antigene di superficie della *Legionella pneumophila* sierogruppo 1. Se la colonia di prova è *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1, sarà agglutinata con il reagente. Il grado di agglutinazione è quindi graduato visivamente.

REAGENTI E MATERIALI DISPONIBILI

I reagenti al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 Pro-Lab sono venduti singolarmente. I materiali sono forniti pronti all'uso in quantità sufficienti per 20 test.

1. **Reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 (PL.380):** Flacone con contagocce contenente 1,1 ml di particelle di lattice rivestite di una frazione di IgG di anticorpo monoclonale di tipo diretto contro la *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1. Le particelle di lattice sono risospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
2. **Reagente al lattice con controllo negativo per *Legionella pneumophila* di sierogruppo (PL.381):** Flacone con contagocce contenente 0,7 ml di particelle di lattice rivestite di una frazione di IgG (normale) di anticorpo monoclonale. Le particelle di lattice sono risospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
3. **Reagente con controllo positivo per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 (PL.382):** Flacone con contagocce contenente 0,7 ml di antigene di controllo di *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 cresciuto su terreno artificiale e distrutto con formalina. L'antigene di controllo è risospeso in tampone contenente 0,095% sodio azide come conservante.

MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

1. Cappa di sicurezza biologica
2. Becco Bunsen
3. Ansa per inoculazione
4. Provette
5. Salina tamponata con fosfato (PBS, pH 7.4)
6. Test card con aree cerchiare e per la miscelazione dei reagenti con i campioni da analizzare
7. Bastoncino di miscelazione

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Tutti i componenti devono essere conservati a 2 - 8°C. **Non congelarli.** I reagenti conservati in questo modo sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.

PRECAUZIONI

1. I reagenti sono destinati esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
2. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
3. I reagenti contengono una minima quantità di sodio azide come conservante. Il composto può reagire in modo esplosivo con piombo o rame se lasciato accumulare. Benché la quantità di sodio azide nei reagenti sia minima, è necessario utilizzare una grande quantità di acqua quando si scaricano nel lavandino i reagenti utilizzati.
4. Al momento della manipolazione, elaborazione e smaltimento di tutti i campioni clinici è necessario adottare precauzioni universali. Tutti i materiali dei test devono essere considerati potenzialmente infettivi sia durante che dopo l'uso e pertanto vanno maneggiati e smaltiti adeguatamente.
5. Non utilizzare il reagente se vi è presenza di autoagglutinazione. L'autoagglutinazione può indicare la presenza di contaminazione o deterioramento.
6. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.
7. I reagenti contengono materiale di origine animale e deve pertanto essere manipolato come potenziale portatore e trasmettitore di malattie.

PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per ottenere i migliori risultati, si raccomanda l'impiego di colture fresche.

PROTOCOLLO DEL TEST

1. Prima dell'uso, attendere finché i reagenti non raggiungono la temperatura ambiente.
2. Prelevare il maggior numero possibile di colonie sospette dal terreno tamponato al carbone con estratto di lieviti e sospendere 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 un intorbidamento pari a circa 108 CFU per ml (standard McFarland 0.5). 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 colonia a un cerchio di prova.
5. Aggiungere 1 goccia di reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 al cerchio di prova.
6. Utilizzare un bastoncino di miscelazione per mescolare il contenuto del cerchio di prova e quindi inclinare con cautela la card per 2 minuti.
7. Dopo 2 minuti esaminare l'agglutinazione del cerchio di prova. Se rilevata, graduare come riportato di seguito.

Definizione del grading 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 piccoli con un background torbido.
 3+ = Aggregati medi con un background limpido.
 4+ = Aggregati grandi con un background limpido.

8. In presenza di agglutinazione, testare la sospensione della colonia con

il reagente al lattice con controllo negativo seguendo la stessa procedura indicata nei punti da 4 a 7 di cui sopra.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 deve reagire con il reagente di controllo positivo per fornire una reazione da 3+ a 4+. Il reagente al lattice con controllo negativo non deve agglutinare il reagente di controllo positivo. In caso contrario, il test è considerato non valido.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Qualsiasi test attribuito al grado da 1+ a 4+ con il reagente al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 è considerato positivo, purché il reagente al lattice con controllo negativo risulti tale.

LIMITI DEL METODO







1. Il test di agglutinazione al lattice è una diagnostica presuntiva. Quando possibile dovrebbero essere eseguiti test di conferma biochimici.
2. Un test di agglutinazione al lattice negativo non significa che la coltura non appartenga alla *Legionella*. Indica solamente che la coltura non è *Legionella pneumophila* sierogruppo 1.

PERFORMANCE DEL METODO

Una valutazione del test di agglutinazione al lattice per *Legionella pneumophila* di sierogruppo 1 di Pro-Lab Diagnostics eseguita presso il Public Health Laboratory ha evidenziato una specificità e sensibilità del prodotto pari al 100% se testato rispetto a un panel di ceppi di *Legionella pneumophila* (14 *L. pneumophila* di sierogruppo 1 e 36 ceppi di altri sierotipi).

BIBLIOGRAFIA

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 (ed.), Laboratory diagnosis of infection diseases, Principles and practice, Vol.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.

	= Produttore
	= Mandatario nella Comunità Europea
	= Quantità sufficiente per (n) test
	= Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	= Limiti di temperatura
	= Per l'uso consultare le istruzioni

Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.

Revisione: 2021 09