

BEOOGD GEBRUIK

Voor gebruik bij kwalitatieve detectie en specifieke identificatie van *Legionella pneumophila* serogroep 1 kweekkoloniën vanaf agarplaten.

SAMENVATTING EN TOELICHTING

Legionella pneumophila serogroep 1 is het meest voorkomende etiologische agens van de veteranenziekte en een van de meest geïdentificeerde *Legionella*-isolaten in milieumonsters.¹

De meeste beschikbare technieken gebruikt voor laboratoriumbevestiging van de identificatie van *Legionella*-isolaten zijn de serologische methoden die zijn gebaseerd op hyperimmune konijnenantiseria die antilichamen bevatten tegen de somatische lipopolysacharide of het "O" antigeen.² Veel *Legionella*-soorten en serogroepen hebben echter antigenen gemeen³ en worden er kruisreacties gezien bij gebruik van polyklonale antilichamen voor serologische identificatie³. Het *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens maakt gebruik van monokonaal antilichaam gecoat polystyreenlatexdeeltjes die uiterst gevoelige en specifieke identificatie van de *Legionella pneumophila* serogroep 1 bieden.

PRINCIPE VAN DE TEST

Pro-Lab *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens omvat een gebufferde suspensie van latexdeeltjes die zijn gecoat met monokonaal antilichaam, specifiek gericht tegen oppervlakte-antigenen van *Legionella pneumophila* serogroep 1. Als de testkolonie *Legionella pneumophila* serogroep 1 is, zal het agglutineren met het reagens. De mate van agglutinatie wordt vervolgens visueel gegradeerd.

BESCHIKBARE REAGENTIA EN MATERIELEN

De Pro-Lab *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagentia worden afzonderlijk verkocht. De materialen worden gebruiksklaar verkocht in hoeveelheden die voldoende zijn voor 20 tests.

- Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens (PL.380):** Druppelfles met 1,1 ml latexdeeltjes gecoat met IgG-fractie van monokonaal muisantilichaam tegen *Legionella pneumophila* serogroep 1. De latexdeeltjes worden gesuspenderd in een buffer met 0,098 % natriumazide als conserveermiddel.
- Legionella pneumophila* serogroep 1 negatieve controle latexreagens (PL.381):** Druppelfles met 0,7 ml latexdeeltjes gecoat met IgG-fractie (normaal) van monokonaal antilichaam. De latexdeeltjes worden gesuspenderd in een buffer met 0,098 % natriumazide als conserveermiddel.
- Legionella pneumophila* serogroep 1 positieve controle-reagens (PL.382):** Druppelfles met 0,7 ml controle-antigeen van *Legionella pneumophila* serogroep 1 gekweekt op kunstmatig medium en gedood door middel van formaline. Het controle-antigeen wordt gesuspenderd in een buffer met 0,095 % natriumazide als conserveermiddel.

BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIELEN

- Biologische veiligheidskast
- Bunsenbrander
- Entingslus
- Reageerbuizen
- Fosfaat-gebufferde fysiologische zoutoplossing (PBS, pH 7,4)
- Testkaarten met omcirkelde gebieden voor het mengen van reagentia en testmonsters
- Roerstaafjes

STABILITEIT EN OPSLAG

Alle onderdelen dienen bewaard te worden bij 2-8° C. **Niet invriezen.** Onder deze condities opgeslagen reagentia zullen tot de op het productlabel ver-

melde uiterste gebruiksdatum stabiel zijn.

VOORZORGSMAATREGELEN

- De reagentia zijn uitsluitend voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
- Gebruik de reagentia niet na de op het productetiket vermelde uiterste gebruiksdatum.
- De reagentia bevatten een kleine hoeveelheid natriumazide als conserveermiddel. Wanneer natriumazide de kans krijgt op te hopen kan het explosief reageren met loden of koperen leidingen. Hoewel de hoeveelheid natriumazide in de reagentia minimaal is, dient men grote hoeveelheden water te gebruiken wanneer de reagentia door de gootsteen worden gespoeld.
- Er dienen universele voorzorgsmaatregelen te worden genomen bij het hanteren, verwerken en weggooiden van alle klinische specimens. Alle testmaterialen dienen te worden gezien als mogelijk infectieus tijdens en na gebruik en dienen op de juiste wijze te worden gehanteerd en opgeruimd.
- Het latexreagens niet gebruiken wanneer auto-agglutinatie zichtbaar is. Auto-agglutinatie geeft aan dat verontreiniging of kwaliteitsvermindering is opgetreden.
- Voor het verkrijgen van geldige resultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
- De reagentia bevatten materialen van dierlijke oorsprong en dienen te worden behandeld als mogelijke drager en overbrenger van ziekten.

BEREIDING VAN KWEKEN

Voor de beste resultaten wordt het gebruik van verse kweken aanbevolen.

TESTPROCEDURE

- Laat monsters en reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.
- Kies zoveel mogelijk verdachte koloniën uit het gebufferde houtskool gistextract medium en suspendeer de koloniën in ongeveer 1 ml PBS (pH 7,4). Verdachte koloniën verwijst naar koloniën die typische morfologie en geen groei op bloedagar vertonen. Idealerweise zou de suspensie een troebelheid van ongeveer 108 CFU per ml. moeten hebben (McFarland-standaard 0,5). Zelfs twee koloniën in 1,0 ml PBS zijn echter al voldoende.
- Suspender de latex-agglutinatiereagentia door voorzichtig te schudden.
- Voeg 1 druppel van de koloniesuspensie toe aan een testcirkel.
- Voeg 1 druppel van het *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens toe aan de testcirkel.
- Roer de inhoud van de testcirkel met behulp van een roerstaafje samen en schud de kaart vervolgens voorzichtig gedurende 2 minuten.
- Controleer de testcirkel na 2 minuten op agglutinatie. Indien aanwezig, beoordeel op de hieronder beschreven wijze.

Definitie van agglutinatiegradering:

- 0 = Identiek aan negatieve controle, homogene suspensie van PBS en latexreagens zonder agglutinatie.
- 1+ = Fijne granulatie met een troebele achtergrond.
- 2+ = Kleine klonters met een troebele achtergrond.
- 3+ = Middelgrote klonters met een transparante achtergrond.
- 4+ = Grote klonters met een transparante achtergrond.

- Bij aanwezigheid van agglutinatie, de koloniesuspensie met het negatieve controle latexreagens testen volgens dezelfde procedure als omschreven in de bovenstaande stappen 4 tot 7.

KWALITEITSCONTROLE

Het *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens moet reageren met het positieve controlereagens om een 3+ tot 4+ reactie te geven. Het negatieve controle latexreagens mag niet agglutineren met het positieve controlereagens. Anders wordt de test ongediend bevonden.

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Elke test als 1+ tot 4+ beoordeeld met het *Legionella pneumophila* serogroep 1 latexreagens wordt gezien als positief, op voorwaarde dat het negatieve controle latexreagens negatief is.

BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE







- De latex-agglutinatietest is een vermoedelijk diagnosticum. Bevestiging door middel van biochemische tests moet waar mogelijk worden gedaan.
- Een negatieve latex-agglutinatietest betekent niet dat de kweek geen *Legionella* soort is. Het geeft alleen aan dat de kweek geen *Legionella pneumophila* serogroep 1 is.

PRESTATIEKENMERKEN

Een evaluatie van de Pro-Lab Diagnostics *Legionella pneumophila* serogroep 1 latex-agglutinatietest uitgevoerd in het Public Health Laboratory toonde aan dat het product 100 % specificiteit en gevoeligheid had bij tests tegen een panel van stammen van *Legionella pneumophila* (14 *L. pneumophila* serogroep 1 en 36 stammen van andere serotypes).

REFERENTIES

- 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.
- Wilkinson, H. W.** 1988. Legionellosis, P. 320-332. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., M. Ohashi, and A. Turano (ed.), *Laboratory diagnosis of infectious diseases, Principles and practice, Vol.1.* Springer-Verlag, New York.
- 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.

	= Fabrikant
	= Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
	= Bevat voldoende voor (n) testen
	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbepijking
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.

Revisie: 2021 09