

USO PROPUESTO

El kit Pro-Lab *Legionella pneumophila* serogroup 1 Latex Agglutination Kit se usa para la detección cualitativa y para la identificación específica de *Legionella pneumophila* serogrupo 1, en colonias cultivadas en placas de agar.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Legionella pneumophila serogrupo 1 es el agente etiológico más común de la enfermedad del legionario y una de los aislamientos más frecuentes de *Legionella* en muestras ambientales ¹.

Las técnicas disponibles más utilizadas para la identificación en laboratorio de los aislamientos de *Legionella*, son los métodos serológicos que se basan en antisueros de conejos hiperinmunizados, que contienen anticuerpos dirigidos contra el lipopolisacárido somático o antígeno "O" ². Sin embargo, muchas especies y serogrupos de *Legionella* tienen antígenos en común ³, detectándose reacciones cruzadas cuando se utilizan anticuerpos policlonales para la identificación ³. El kit Pro-Lab *Legionella pneumophila* serogroup 1 Latex Agglutination Kit utiliza anticuerpos monoclonales unidos a partículas de látex, que ofrecen una alta sensibilidad y una identificación específica de *Legionella pneumophila* serogrupo 1.

PRINCIPIO DEL TEST

El kit Pro-Lab *Legionella pneumophila* serogroup 1 Latex Agglutination Kit consiste en una suspensión tamponada de partículas de látex, recubiertas con un anticuerpo monoclonal, específicamente dirigido contra los antígenos de la superficie de *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Cuando una gota de una suspensión de colonias sospechosas de *Legionella* es mezclada con una gota del reactivo de látex y el organismo es *Legionella pneumophila* serogrupo 1, éste se unirá a través de su único sitio reactivo a las partículas de látex sensibilizado. La mezcla provocará una aglutinación visible, estableciéndose visualmente la graduación de la aglutinación resultante.

REACTIVOS Y MATERIALES DISPONIBLES

1. Reactivo de látex. Partículas de látex recubiertas de la fracción IgG de anticuerpos monoclonales de ratón contra *Legionella pneumophila* serogrupo 1. El reactivo de látex se presenta en viales de 1,1 ml. Disponible con el número de catálogo PL.380
2. Control negativo de partículas de látex. Partículas de látex recubiertas con la fracción IgG (normal) de anticuerpos monoclonales presentado en viales de 0,7 ml. Disponible con el número de catálogo PL.381
3. Antígeno control de *Legionella pneumophila* serogrupo 1, cultivada en medio artificial e inactivada con formalina. El antígeno control se presenta en viales de 0,7 ml. Disponible con el número de catálogo PL.382
4. Tarjetas de test con áreas circulares marcadas (círculos de reacción) para la mezcla de los reactivos con las muestras a ensayar.

5. Palillos de mezcla desechables.

CONSERVACIÓN

Los reactivos de látex y los antígenos control se conservan a 2° - 8°C. No deben congelarse. El kit Prolex *Legionella pneumophila* serogrupo 1 tiene una vida media máxima de 18 meses desde la fecha de fabricación, cuando se ha conservado en las condiciones arriba indicadas, y puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

1. Cabina de seguridad biológica.
2. Mechero Bunsen.
3. Medio tamponado Carbón Extracto de Levadura.
4. Asas de siembra.
5. Tubos de ensayo.
6. Tampón PBS (pH 7.4).

PROCEDIMIENTO

1. Permitir que todas las muestras y los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su utilización.
2. Tomar con un asa de siembra todas las colonias posibles del medio tamponado Carbón Extracto de Levadura, que sean sospechosas de *Legionella*, y suspenderlas en aproximadamente 1 ml de tampón PBS (pH 7.4). Las colonias sospechosas son las que muestran una morfología típica y no crecen en agar sangre. Idealmente, la suspensión debe tener una turbidez de aproximadamente 10⁸ CFU por ml. Sin embargo, tan pocas como dos colonias en 1,0 ml de tampón PBS son suficientes.
3. Agitar suavemente los reactivos de aglutinación de látex, para resuspender las partículas de látex.
4. Depositar 1 gota de la suspensión de colonias y 1 gota del reactivo de látex en un círculo de reacción, y 1 gota de la suspensión de colonias y 1 gota del control negativo de partículas de látex en otro círculo de reacción, de la tarjeta del test.
5. Mezclar las gotas de cada círculo de reacción con un palillo de mezcla distinto para cada círculo y balancear suavemente la tarjeta del test durante 2 minutos.
6. Leer visualmente el resultado del test examinando el grado de aglutinación de cada círculo de reacción, comparando el círculo con reactivo de látex y el círculo con control negativo de partículas de látex.

Definición del grado de aglutinación del reactivo de látex:

- 0 = Idéntico al control negativo de partículas de látex: sus pensiones homogéneas de tampón PBS, reactivo de látex sin aglutinación.
- 1+ = Granulación fina con un fondo turbio.
- 2+ = Pequeños grumos visibles con fondo turbio.
- 3+ = Grumos de tamaño medio con un fondo claro.

4+ = Grandes grumos con un fondo claro.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Cualquier muestra ensayada que presente una aglutinación con el reactivo de látex graduada de 1+ a 4+ se considera positiva, comprobando previamente que el resultado de esa misma muestra con el control negativo de partículas de látex es negativo (sin ninguna aglutinación).

CONTROL DE CALIDAD

El reactivo de látex debe presentar una aglutinación con el antígeno control positivo graduada de 3+ a 4+. El control negativo de partículas de látex no debe aglutinar con el antígeno control positivo, de lo contrario el test debe considerarse sin validez.

LIMITACIONES

1. El test de aglutinación de látex es un método diagnóstico pre-suntivo. Deben realizarse la confirmación por test bioquímicos siempre que sea posible.
2. Un resultado negativo con el test de aglutinación de látex no significa que el cultivo no sea de otra especie de *Legionella*, solamente indica que el cultivo no es de *Legionella pneumophila* serogrupo 1.

PRECAUCIONES

1. Estos reactivos son para uso exclusivo en diagnóstico in vitro.
2. Todas las muestras clínicas y material en contacto con las mismas, deben ser consideradas como potencialmente infecciosas, por lo tanto, deben manipularse conforme a las Buenas Prácticas de Laboratorio para productos de riesgo microbiológico.
3. No utilizar el Reactivo de Látex si presenta autoaglutinación visible. La autoaglutinación indica que el reactivo se ha contaminado o se ha deteriorado.
4. Para obtener los mejores resultados se recomienda utilizar cultivos frescos. Los cultivos antiguos pueden ser mucoides y por lo tanto, debe hacerse una suspensión suave con un vórtex u otro método adecuado.
5. Los reactivos contienen azida sódica como preservante. ⚠
La azida sódica puede reaccionar con plomo y cobre produciendo sales con propiedades explosivas. Aunque la cantidad de azida sódica en los reactivos es mínima, deben usarse grandes volúmenes de agua cuando se eliminen los restos de reactivos. Además, la azida sódica es irritante para la piel, por lo que debe evitarse el contacto de la piel con los reactivos. No deben mezclarse los reactivos con un ácido ya que puede formarse un ácido hidrazoico que es un gas extremadamente tóxico.

REFERENCIAS

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.

	= Fabricante
	= Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	= Contiene suficiente para (n) test
	= Dispositivo para diagnóstico médico In vitro
	= Limite de temperatura
	= Consultar las instrucciones de uso

Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, diríjase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.