




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.....  **ES**

1. INDICACIONES DE USO

Prueba de aglutinación de látex para la identificación de las especies más frecuentes de *Legionella* a partir de los cultivos en placa procedentes de pacientes con sospecha de legionelosis o de fuentes ambientales. La prueba de aglutinación de látex de Oxoid permite la identificación por separado de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 y de los serogrupos 2–14 así como la detección de otras siete especies de *Legionella* implicadas en infecciones humanas.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de los Legionarios, denominada así tras el brote que tuvo lugar en 1976 durante la convención de la legión americana en Filadelfia, es causada por *Legionella pneumophila* y otras especies de *Legionella*. Se caracteriza por ser una enfermedad respiratoria febril aguda cuya severidad va desde una forma leve hasta una neumonía fatal.

La enfermedad cursa en forma tanto epidémica como endémica y los casos esporádicos no se diferencian en sus síntomas clínicos de otras infecciones respiratorias. La infección por *Legionella* en todo el mundo se estima en unos 25.000 casos anuales. Los factores de riesgo conocidos incluyen: inmunosupresión, consumo de alcohol y tabaco y enfermedad pulmonar concomitante.

La tasa de mortalidad, que puede alcanzar hasta un 25% en pacientes inmunocomprometidos no tratados puede disminuir si se diagnostica la enfermedad rápidamente y se instaura con prontitud la terapia antimicrobiana adecuada.

Se ha demostrado que *Legionella pneumophila* es la causa más frecuente tanto de neumonía como del síndrome febril agudo autolimitado conocido como fiebre de Pontiac. Las razas de *L. pneumophila* y otras especies de *Legionella* se aíslan de pacientes con neumonía y del ambiente (principalmente agua).

Rara vez se han aislado de localizaciones no neumónicas como en abscesos de heridas. El mayor reservorio de las especies de *Legionella* parecen ser los sitios con agua fresca, unidades de aire acondicionado y diversos dispositivos del sistema de tuberías.

L. pneumophila es la causa más común de la enfermedad de los legionarios. Hasta el presente existen 14 serotipos diferentes, de los cuales *L. pneumophila* serogrupo 1 acontece en el 90% de los casos.

La prueba Oxoid Legionella Latex emplea poliestireno partículas de látex azul detectadas con anticuerpos que se aglutinan cuando existen determinados antígenos de la pared celular de legionella para formar grupos visibles. Esto proporciona un procedimiento de detección rápido y sencillo para especies y serotipos de legionella patógenos predominantes.^{1,2}

3. COMPONENTES DEL EQUIPO

DR0801 Reactivo para la prueba de Legionella pneumophila serogrupo 1

Consiste en partículas de látex azul sensibilizadas con anticuerpo de conejo específico a antígeno de *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Cada equipo contiene suficiente reactivo para 50 pruebas.

DR0802 Reactivo para prueba de Legionella pneumophila serogrupos 2–14

Consiste en partículas de látex azul sensibilizadas con anticuerpo de conejo reactivo a antígenos de *Legionella* serogrupos 2–14. Cada equipo contiene suficiente reactivo para 50 pruebas.

DR0803 Reactivo para prueba de especies de Legionella

Consiste en partículas de látex azul sensibilizadas con anticuerpo de conejo específico reactivo a las siguientes especies y serotipos:

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

Cada equipo contiene suficiente reactivo para 50 pruebas.

DR0804 Suspensión de Control Positivo

Suspensión polivalente de células de *Legionella* en tampón. Suficiente para 25 pruebas.

DR0805 Suspensión de Control Negativo

Suspensión de células de *L. spiritensis* en tampón, no reactivas con los reactivos de prueba. Suficiente para 25 pruebas.

DR0806 Látex Control

Consiste en partículas azules de látex sensibilizadas con globulina de conejo no reactiva. Cada equipo contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

DR0807 Suspensión Tampón

Solución tampón fosfato salino pH 7,3.

DR0500 Tarjetas de Reacción

Cada equipo contiene 50 tarjetas de reacción, desechables.

Instrucciones de uso

4. MATERIAL REQUERIDO

El material requerido, pero no suministrado en el equipo es:

Asa bacteriológica y mechero.

Solución salina (0,85%) (Método opcional en tubo.)

Desinfectante de laboratorio ejem. Solución de hipoclorito sódico >1,3% p/v.

5. PRECAUCIONES

IVD Este producto es exclusivamente para diagnóstico “in vitro”.

No congelar.

Los reactivos contienen 0,1% de azida sódica como agente conservante.

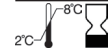
La azida sódica puede reaccionar con el plomo o cobre de las tuberías y producir azidas metálicas que son explosivas por contacto detonante. Para prevenir la acumulación de azidas en las tuberías dejar correr abundante agua inmediatamente después de desecharlas.

Las muestras pueden contener organismos patógenos, manipular con las debidas precauciones.

Evitar la formación de aerosoles, particularmente cuando se utiliza el “Vortex”.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad de los materiales del fabricante y la etiqueta del producto.

6. CONSERVACIÓN



El equipo debe conservarse a 2–8°C. Bajo éstas condiciones los reactivos

permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que figura en la caja.

7. PROCEDIMIENTO DE CONTROL

Las suspensiones control que se suministran deben utilizarse cada día para controlar el correcto funcionamiento de los reactivos de látex, antes de realizar las pruebas rutinarias.

La suspensión de control positivo (DR804) debe mostrar aglutinación con el reactivo de látex en un minuto. La suspensión de control negativo (DR805) no debe mostrar aglutinación en un minuto.

No utilizar la prueba si las reacciones con las suspensiones control son incorrectas.

8. NOTAS IMPORTANTES AL PROCEDIMIENTO

No permitir que los reactivos se contaminen por dejar que el goteador toque las muestras en la tarjeta de reacción. Asegurar que los tapones de los reactivos estén perfectamente cerrados para prevenir la contaminación y la desecación de los mismos. Tras su uso, retornar el equipo a la nevera y mantener las botellitas en posición vertical.

9. RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Los aislamientos procedentes de muestras ambientales y clínicas pueden cultivarse sobre medios de cultivo para *Legionella* selectivos y no selectivos. Esquemas de aislamiento típico aparecen en las referencias 3 y 4. Las especies de *Legionella* en medios de aislamiento primario, tienen requerimientos absolutos de clorhidrato de L-cisteína. Para asegurar que un aislamiento es *Legionella* es necesario demostrar que no puede crecer sobre ningún medio que no contenga Clorhidrato de L-cisteína (*Legionella* Agar sin cysteine CM655 + SR175). Esta confirmación puede llevarse a cabo antes o después de emplear la prueba de látex.

Los siguientes medios pueden utilizarse para cultivar *Legionella* antes de realizar la prueba.

BCYE (CM655 + SR110), BPMA (CM655 + SR110 + SR111), MWY (CM655 + SR110 + SR118), GVPC (CM655 + SR110 + SR152).

Para más información sobre estos productos, consulte a el distribuidor local

Los cultivos pueden ensayarse en cualquier estadio del crecimiento, siempre y cuando las colonias tengan suficiente tamaño. Los cultivos envejecidos, no obstante, pueden producir reacciones filamentosas que dificultan la interpretación.

10. MÉTODOS DE PRUEBA

Hay dos métodos de prueba que pueden utilizarse. Ambos métodos, directo y en tubo, conducen a resultados seguros.

(a) Prueba Directa

1. Permitir que los reactivos de látex alcancen la temperatura ambiente. Agitar vigorosamente las suspensiones de látex. Para mezclar completamente, expeler cualquier cantidad de látex que haya quedado en el goteador.
2. Vierta 1 gota de cada uno de los reactivos de látex dentro y cerca del borde de un círculo en una tarjeta de reacción.
3. Añadir 1 gota de la suspensión tampón diluyente en cada uno de los 4 círculos. Asegurarse que el látex y el tampón no se mezclan en este punto.
4. Por medio de un asa, recoger una colonia de al menos 1 mm. (utilizar 2 o más si las colonias son más pequeñas) y emulsionarlas cuidadosamente en el tampón. Para obtener resultados óptimos se recomienda una suspensión ligera. Repetir el procedimiento con los otros reactivos utilizando colonias de aspecto similar.
5. Mezclar los reactivos de látex y las suspensiones con el asa hasta cubrir todo el área de reacción. Flamear el asa.
6. Rotar la tarjeta con movimiento circular suave y observar la posible aglutinación. No rotar más de 1 minuto y no emplear lupa para leer los resultados.
7. Cuando haya finalizado, desechar la tarjeta en un desinfectante adecuado.
8. Tapar las botellitas y llevarlas de nuevo a la nevera.

(b) Método en Tubo

1. Permitir que los reactivos de látex alcancen la temperatura ambiente. Agitar vigorosamente la suspensión de látex. Para mezclar completamente expeler cualquier cantidad de látex que haya quedado en el goteador.
2. Etiquetar los tubos y dispensar 0,4 ml. de solución salina 0,85% en cada uno.
3. Selección con el asa 4–10 colonias de similar morfología y emulsionar en la solución salina.
4. Agitar en “Vortex” la suspensión celular durante 5 segundos (Ver sección Precauciones).
5. Dispensar 1 gota de cada reactivo de látex (los 3 reactivos para la prueba de especies y el reactivo control) en 4 círculos de la tarjeta de reacción. Colocarlas cerca del borde del círculo.
6. Por medio de una pipeta Pasteur añadir 1 gota de la suspensión de células a cada uno de los 4 círculos y mezclarla con los reactivos de látex. Extender por todo el área del círculo.
7. Rotar la tarjeta con movimiento circular suave y observar la posible aglutinación. No rotar más de 1 minuto y no emplear lupa para leer los resultados.
8. Cuando haya finalizado, deseche la tarjeta en un desinfectante adecuado.
9. Tapar las botellitas y llevarlas de nuevo a la nevera.

11. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultados Positivos

Se considera resultado positivo si hay aglutinación de las partículas de látex azul en menos de 1 minuto y no aglutinación en el control. La reacción positiva indica que los antígenos de ese serogrupo de especie de *Legionella* se han detectado en la muestra.

Resultados Negativos

Se considera resultado negativo si no aparece aglutinación y las partículas de látex permanecen en suspensión en el círculo tras

1 minuto.

Resultados Ininterpretables

El ensayo se considera ininterpretable si el reactivo control muestra aglutinación. Esto indica que el cultivo es autoaglutinable.

Reacciones Granulares o Filamentosas

Ocasionalmente pueden observarse reacciones granulares o filamentosas debido a la naturaleza particularizada del material a ensayar. Cuando tales reacciones aparecen deben ser interpretadas utilizando los siguientes criterios:

El resultado es positivo cuando hay un sensible aclaramiento del fondo azul en el reactivo de prueba.

El resultado es negativo cuando no hay un sensible aclaramiento del fondo azul en los reactivos de prueba.

12. LIMITACIONES

- La prueba de aglutinación de látex se considera un diagnóstico presuntivo. Confirmar los resultados positivos mediante pruebas bioquímicas.
- Una prueba de aglutinación de látex negativa no significa que el cultivo no sea una especie de *Legionella*. Únicamente indica que el cultivo no es *Legionella pneumophila* serogrupos 1 al 14. *L. longbeachae* 1 y 2, *L. bozemanii* 1 y 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei* ni *L. anisa*.⁶
- Puede darse reacción cruzada entre *L. pneumophila* serogrupo 1 y 9 debido a antígenos de grupos comunes. Si el cultivo da aglutinación con el reactivo de *L. pneumophila* serogrupo 1 y con el 2-14, debe sospecharse reacción cruzada.
- Se ha informado que ocasionalmente puede darse reacción cruzada con el Reactivo de Prueba para Especies de *Legionella* y ciertos serotipos de otras *Legionella* (ejem. *L. parisiensis*, *L. sainthelensii*, *L. steigerwaltii*, *L. wadsworthii*, *L. santicrucis*, *L. tusconensis*, *L. gratiana*, *L. ciniciatensis*.⁶)
- La prueba está diseñada para diferenciar entre las diferentes especies y serotipos de *Legionella*. Debe confirmarse que los cultivos son bacilos Gram-negativos que no crecen en medios deficientes en cisteína.

13. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los reactivos del equipo de Aglutinación Oxoid de *Legionella*. Se han ensayado para reactividad cruzada frente al panel de organismos que se lista a continuación. No se ha observado reactividad cruzada con ninguno de los siguientes organismos:

- 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

Oxoid *Legionella* Latex Test ha sido evaluada en ensayos clínicos y laboratorios ambientales. Se han probado un total 40 aislamientos clínicos y 279 aislamientos ambientales, cubriendo *Legionella pneumophila* serogrupos 1-14 y *Legionella* no *pneumophila*. Cada aislamiento fué confirmado por serología.

Las características de funcionamiento del equip de Oxoid fueron también ensayadas frente a otros equipos de aglutinación de látex para *Legionella* disponibles comercialmente. Los resultados del ensayo se resumen a continuación.⁷

Actualmente no se ha aislado el serogrupo 15 de *L. pneumophila* a partir de muestras clínicas o medioambientales en Europa⁹ y sólo se ha aislado una vez en EE. UU⁸.

Este serogrupo (el más reciente que se debe designar) contiene solo una cepa (Lansing-3, ATCC® 35251). Se propuso un serogrupo 16⁹ a partir de los estudios de la colonia Jena-1^{10,11}, hasta que en los análisis posteriores se demostró que la cepa no formaba un único serogrupo, sino que pertenecía al serogrupo 4 de *L. pneumophila* (grupo monoclonal Portland 1)^{12,13}.

Se han recopilado otros datos internos que demuestran que el Oxoid *Legionella* Latex Kit (DR0800M, DR0801M, DR0802M y DR0803M) puede detectar el serogrupo 15 de *Legionella pneumophila* (ATCC® 35251), y los serogrupos 1-14 de *L. pneumophila*, así como otras cepas de *Legionella* patógenas que no corresponden a *L. pneumophila*. Sin embargo, y puesto que solo se puede analizar una cepa del serogrupo 15, no se considera apropiado cambiar el nombre del reactivo de látex para la detección de los serogrupos 2-14 en función de los resultados de una sola colonia.

Los Oxoid *Legionella* kits son útiles para el usuario, ya que le permiten englobar las muestras en tres grupos: serogrupo 1 de *L. pneumophila*, serogrupos 2-15 de *L. pneumophila* (con el reactivo 2-14) y otras especies de *Legionella*, mediante un procedimiento de análisis sencillo y rápido.

	Oxoid <i>Legionella</i>	Equipo Latex/ Serología
	Numero	%
<i>Legionella pneumophila</i> serogrupo 1	59/59	100
<i>Legionella pneumophila</i> serogrupos 2-14	134/134	100
Otras <i>Legionellas</i> incluidas en el equipo	63/65	97
Otras <i>Legionellas</i> no incluidas en el equipo	0/93	100
Otros organismos	0/10	100

La sensibilidad en conjunto del Equipo de Látex *Legionella* de Oxoid fué de 99%.









La especificidad en conjunto del Equipo de Látex *Legionella* de Oxoid fué de 100%.

ATENCIÓN: Este producto contiene de azida sódica. Nocivo por ingestión.

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. DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Nº del catálogo
	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Código del lote (nº de lote)
	Fecha de caducidad
	Fabricado por



SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.

CIF: B-47700026

C/. Cardenal Torquemada, 24

Tel. 983 251 143 • 637 596 017

47010 VALLADOLID

www.analisisavanzados.com



IFU X5057D Revisado en mayo el año 2016



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

Para obtener asistencia técnica, por favor póngase en contacto con su distribuidor local.