

USO PROPUESTO

Los reactivos de látex de aglutinación de *Legionella* PRO-LAB están previstos para la identificación de presunción de colonias de cultivos de *Legionella pneumophila* serogrupos 2 a 14 en placas de agar¹.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En 1976 el Centre for Disease Control (C.D.C.) participó en una investigación intensiva sobre la causa de un brote de enfermedad febril aguda en Filadelfia^{2,3}. Se observó que el trastorno, denominado posteriormente enfermedad del legionario, estaba producido por un bacilo gramnegativo denominado bacteria de la enfermedad *Legionella*.

Las manifestaciones de la enfermedad de los legionarios van desde la infección asintomática o los síntomas leves de tipo gripal a la bronconeumonía intensa, a veces mortal.

Los reactivos de látex de aglutinación de *Legionella* de PRO-LAB aportan un procedimiento de cribado rápido y simple para los serogrupos predominantes de *Legionella*.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los reactivos de aglutinación de serogrupo de *Legionella pneumophila* de PRO-LAB consisten en una suspensión tamponada de partículas de látex revestidas con anticuerpos purificados. Los anticuerpos se dirigen específicamente contra los antígenos de superficie del serogrupo de *Legionella pneumophila*. Cuando se mezcla una gota de una suspensión de colonias con sospecha de *Legionella* con una gota de reactivo de látex y el organismo es uno de los serogrupos de *Legionella pneumophila*, se unirá a un látex sensibilizado anti-*Legionella* específico. La mezcla producirá una aglutinación que es visible y la aglutinación resultante se gradúa visualmente.

REACTIVOS Y MATERIALES DISPONIBLES

Las partículas de látex revestidas con IgG se preparan a partir de antisueros de ratón producidos contra serogrupos individuales de 2 a 14 de *Legionella pneumophila*. Los reactivos se envasan cada uno en una cantidad de 2,7 ml por frasco.

Están disponibles los siguientes (Números de catálogo):

PL.215	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 2	2,7 ml
PL.216	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 3	2,7 ml
PL.217	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 4	2,7 ml
PL.218	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 5	2,7 ml
PL.219	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 6	2,7 ml
PL.325	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 7	2,7 ml
PL.326	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 8	2,7 ml
PL.327	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 9	2,7 ml
PL.328	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 10	2,7 ml
PL.329	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 11	2,7 ml

PL.330	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 12	2,7 ml
PL.331	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 13	2,7 ml
PL.332	<i>L. pneumophila</i> serogrupo 14	2,7 ml

CONSERVACIÓN

Los reactivos deben conservarse a 2-8°C. **NO CONGELAR.** Los reactivos conservados en estas condiciones serán estables hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Vitrina de seguridad biológica
2. Mechero Bunsen.
3. Medio de extracto de levadura con carbón vegetal, tamponado.
4. Asa de inoculación.
5. Mezclador rotatorio.
6. Tubos de ensayo.
7. Solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4).

**MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS,
DISPONIBLES DE PRO-LAB**

1. Las partículas de látex de control negativo están revestidas con IgG de conejo normal y se envasan 1,5 ml por frasco. Disponibles como número de catálogo:
PL.223 Control negativo 1,5 ml
2. Antígenos de control de *Legionella pneumophila* de serogrupos 1 a 14 cultivados en medio artificial y muertos con formol. El antígeno control se envasa en 1,5 ml por frasco. Disponibles como número de catálogo:
PL.334 Control positivo 1,5 ml
3. Tarjetas de prueba con áreas rodeadas por círculos para mezclar los reactivos y las muestras de prueba.
4. Palos de mezcla.

PROCEDIMIENTO

1. Antes de usar, permita que las muestras y los reactivos alcancen temperatura ambiente.
2. Recoja tantas colonias sospechosas como pueda del medio de extracto de levadura con carbón vegetal tamponado y resuspenda las colonias en aproximadamente 1 ml de PBS (pH 7,4). Las colonias sospechosas se refieren a aquellas que muestran una morfología típica y sin crecimiento en agar sangre. Idealmente, la suspensión debe tener una turbidez de aproximadamente 10⁸ UFC por ml. Sin embargo, son suficientes sólo dos colonias en 1,0 ml de PBS.
3. Resuspenda los reactivos de aglutinación de látex mediante agitación suave.
4. Añada 1 gota de suspensión celular con 1 gota de cada uno de los reactivos de látex en las áreas rodeadas por un círculo del portaobjetos facilitado.
5. Mezcle cada área rodeada por círculos con un nuevo palo de mezcla.
6. Coloque el portaobjetos en un mezclador rotatorio (160 rpm)

durante 2 minutos o mueva suavemente la ficha de prueba manualmente.

7. Lea visualmente examinando el grado de aglutinación y califique la aglutinación.

Definición del grado de aglutinación:

- 0 = Idéntica al control negativo, suspensión homogénea de PBS y reactivo látex sin aglutinación.
- 1+ = Granulación fina con un fondo turbio.
- 2+ = Agrupaciones visibles pequeñas con un fondo turbio.
- 3+ = Grumos medianos con un fondo transparente.
- 4+ = Grandes grumos con un fondo transparente.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Cualquier prueba que se califique como 2+ o 4+ con un látex control reactivo se considera positiva, siempre que el control negativo resulte negativo.


CONTROL DE CALIDAD

Todos los reactivos de látex deben aglutinar al control positivo con una aglutinación 3+ o 4+. El reactivo de látex de control negativo no debe aglutinar ninguno de los antígenos control. De otro modo se considera que la prueba es inválida.

LIMITACIONES

1. La prueba de aglutinación de látex da un diagnóstico de presunción. Debe realizarse confirmación mediante pruebas bioquímicas siempre que sea posible.
2. Una prueba de aglutinación en látex negativa no significa que el cultivo no sea una especie de *Legionella*. Sólo indica que el cultivo no es *Legionella pneumophila* de los serogrupos de 2 a 14.

PRECAUCIONES

1. Los reactivos son exclusivamente para uso diagnóstico *in-vitro*.
2. Al igual que con todas las muestras y materiales clínicos, hay que tener precauciones contra el peligro de riesgos microbiológicos. Así pues, manipule todos los materiales de una manera conforme a las Buenas Prácticas de Laboratorio.
3. No utilice los Reactivos de Látex si presentan autoaglutinación visible. La autoaglutinación indica que se ha producido contaminación o deterioro.
4. Para obtener los mejores resultados, se recomienda usar cultivos recientes. Los cultivos más antiguos pueden ser mucoides y por tanto, debe realizarse una suspensión lisa. Esto puede conseguirse mediante vortex y otro método adecuado.
5. Los reactivos de látex contienen azida sódica como conservante. La azida sódica  puede reaccionar con plomo y cobre produciendo sales con propiedades explosivas. Deben usarse grandes volúmenes de agua cuando se eliminen los reactivos








usados. Además, la azida sódica es un irritante cutáneo. Evite el contacto de la piel con los reactivos. No mezcle con ácido porque esto puede conducir a la formación de ácido hidrazoico un gas extremadamente tóxico.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Sedgwick, A.K. and Tilton, R.C.** 1983. Identification of *Legionella pneumophila* by Latex Agglutination. J. Clin. Microbiol. 17:365-368.
2. **Brenner, D.J., Steigerwalt, A.G., Gorman, G.W., Wilkinson, H.W., Bibb, W.F., Hackel, M., Tyndall, R.L., Campbell, J., Feeley, J.C., Thacker, W.L., Skaliy, W.T., Martin, W.T., Brake, B.J., Fields, B.S., McEachern, V.H., Corcoran, L.K.**, 1985. Ten New Species of *Legionella*. Intern. J. System. Bacteriol. 35:50-59.
3. **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 Serogroups and Species Causing Human Illness. J. Infect. Disease. 149:819.

También disponibles de Pro-Lab:

- PL.380 Reactivo de látex de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 (Partículas de látex revestidas con anticuerpos monoclonales) 1,1 ml por frasco
- PL.226 Kit de aglutinación de látex de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 20 pruebas

	= Fabricante
	= Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	= 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.

Representado en exclusiva en España para los sectores industriales y ambientales por:



LABORATORIOS MICROKIT S.L.
P.O. Box 44, 28210- Madrid
Tel.91-8974616 Fax.91-8974641
E-mail: microkit@microkit.es
www.microkit.es