




Key Code TSMX5057D
www.oxoid.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.....  **DE**

1. ANWENDUNGSBEREICH

Der Oxoid Legionella-Latex-Test ist ein Latex-Agglutinationstest, mit dem die häufigsten *Legionella*-Arten in Kulturmedium (aus Patienten mit Verdacht einer Legionellose) und Umweltmaterial nachweisbar sind. Über den Oxoid Legionella-Latex-Test kann der differenzierte Nachweis der *Legionella pneumophila* Serogruppe 1, der Serogruppen 2 bis 14 sowie sieben weiterer *Legionella* spp. erfolgen, die an Legionellosen des Menschen beteiligt sind.

2. EINLEITUNG

Der Begriff Legionärskrankheit entstand nach einer Legionellenepidemie, die 1976 auf einem Kongreß amerikanischer Legionäre (ehemaliger Berufssoldaten) in Philadelphia ausgebrochen war; die Krankheit wird durch *Legionella pneumophila* sowie weitere *Legionella* spp. verursacht. Charakteristisch verläuft sie als akute fiebrige Erkrankung der Atemwege, wobei sich ihre Symptomatik zwischen einer leichten Erkrankung bis hin zu tödlicher Lungenentzündung bewegen kann. Seit dem ersten Auftreten der Legionärskrankheit fand man heraus, daß sie sowohl in epidemischer wie endemischer Form auftritt; ferner weiß man, daß sich sporadische Fälle anhand der klinischen Symptome nicht ganz leicht von anderen Atemwegserkrankungen differenzieren lassen. Man nimmt an, daß es weltweit jährlich zu etwa 25000 *Legionella*-Infektionen kommt. Zu den bekannten Risikofaktoren zählen u.a. Immunsuppression, Rauchen (von Zigaretten), Alkoholkonsum und gleichzeitig auftretende Lungenerkrankungen. Die Mortalitätsrate, die bei unbehandelten Patienten mit Immunsuppression sogar bis zu 25% ausmachen kann, läßt sich durch rasche Diagnose der Krankheit und frühzeitige Behandlung mit geeigneten Antibiotika senken.

Legionella pneumophila ist nachweislich sowohl der Erreger dieser Pneumonie wie auch des Pontiac-Fiebers, einer selbstlimitierenden, akuten, fieberhaften Erkrankung. Stämme von *L. pneumophila* und anderer *Legionella* spp. wurden aus Pneumoniepatienten sowie aus Umweltmaterial (hauptsächlich Wasser) isoliert.

Nur sehr selten wurden Legionellen auch aus nichtpneumonischen Patienten isoliert (z.B. Wundabszesse). In der Natur kommen Legionellen hauptsächlich in Trinkwassersystemen, Luftbefeuchtern von Klimaanlage sowie in Wasserleitungen vor.

Der Haupterreger der Legionärskrankheit ist *L. pneumophila*. Gegenwärtig sind 14 verschiedene Serogruppen bekannt, wobei die *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 für 90% der Erkrankungen verantwortlich ist.

Der Oxoid-Legionella-Latex-Test verwendet mit Antikörper sensibilisierte blaue polystyrol Latexpartikel, die in Anwesenheit

von spezifischen Zellwand-Antigenen von Legionellen agglutinieren und sichtbare Klumpen bilden. Dies bietet ein schnelles und einfaches Screeningverfahren für vorherrschende pathogene Legionella-Spezies und -Serotypen.^{1,2}

3. BESTANDTEILE DES TESTS

DR0801 Legionella pneumophila Serogruppe 1 Testreagenz

Eine Suspension aus synthetischen blauen Latexpartikel, die mit spezifischen Kaninchen-Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 Antigen beladen sind. Der Inhalt einer Packung reicht für 50 Tests.

DR0802 Legionella pneumophila Serogruppe 2–14 Testreagenz

Eine Suspension aus synthetischen blauen Latexpartikel, die mit spezifischen Kaninchen-Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* Serogruppen 2–14 Antigen beladen sind. Der Inhalt einer Packung reicht für 50 Tests.

DR0803 Legionella spp. Testreagenz

Eine Suspension aus synthetischen blauen Latexpartikel, die mit spezifischen Kaninchen-Antikörpern gegen folgenden Legionellenarten und deren Serogruppen beladen sind:

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

Der Inhalt einer Packung reicht für 50 Tests.

DR0804 Positive Kontrollsuspension

Eine *Legionella*-Zellsuspension in Puffer (polyvalent), der Inhalt einer Packung reicht für 25 Tests.

DR0805 Negative Kontrollsuspension

Eine *Legionella* spiritensis Zellsuspension (in Puffer), die nicht mit dem Testreagenz reagiert. Der Inhalt einer Packung reicht für 25 Tests.

DR0806 Kontroll-Latex

Suspension aus synthetischen blauen Latexpartikeln, die mit nicht-reaktiven Kaninchenglobulinen (Kontroll-Reaktionsfeld) sensibilisiert sind. Der Inhalt einer Packung reicht für 50 Tests.

DR0807 Suspensionspuffer x 2

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH 7,3.

DR0500 Einweg-Reaktionskarten

Jede Packung enthält 50 Einweg- Reaktionskarten.

Gebrauchsanweisung.

4. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

Folgende Materialien werden ebenfalls benötigt, jedoch nicht mitgeliefert:

Impföse und Bunsenbrenner.

0,85% Kochsalzlösung (wahlweise für Reagenzglas-Methode).

Geeignete Labordesinfektionsmittel (z.B. Natrium-Hypochlorit >1,3% w/v).

5. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD *In vitro* Diagnostikum. Nicht tiefrieren.

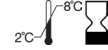
Die Reagenzien enthalten zur Konservierung 0,1% Natriumazid. Natriumazid kann in Blei- oder Kupferrohren

hochexplosive Metallsalze bilden. Zur Vermeidung einer Metallazidakkumulation sollten flüssige Abfälle daher umgehend mit reichlich Wasser nachgespült werden. Da das Probenmaterial evtl. pathogene Organismen enthält, sollten die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden.

Die Bildung von Aerosolen, insbesondere beim Homogenisieren des Probenmaterials, sollte vermieden werden.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem Sicherheitsdatenblatt des Herstellers oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

6. LAGERUNG



Lagerung bei 2° bis 8°C. Bei Einhaltung dieser Bedingungen bleibt die Aktivität der Reagenzien bis zum angegebenen Verfalldatum unbeeinträchtigt.

7. KONTROLLVERFAHREN

Anhand der mitgelieferten Kontrollsuspensionen sollte die einwandfreie Reaktion der Latexreagenzien täglich vor den Routinetests überprüft werden.

Bei der positiven Kontrollsuspension (DR804) sollte innerhalb einer Minute eine sichtbar Agglutination mit den Latexpartikeln eintreten. Die negative Kontrollsuspension (DR805) sollte innerhalb einer Minute keine Reaktion (Agglutination) zeigen.

Test nicht verwenden, wenn die Kontrollsuspensionen auf andere Weise als hier beschrieben reagieren!

8. WICHTIGER HINWEIS

Vermeiden Sie, daß Reagenzien kontaminiert werden, indem Sie mit der Tropfpipette das Probenmaterial auf der Reaktionskarte berühren. Achten Sie darauf, daß die Reagenzfläschchen nach Gebrauch fest verschlossen sind, damit die Reagenzien nicht austrocknen oder kontaminiert werden. Stellen Sie die Packung nach Gebrauch wieder in den Kühlschrank, und achten Sie darauf, daß die Fläschchen dort nicht liegend oder schräg gelagert werden.

9. PROBENNAHME UND- VORBEREITUNG

Isolate aus klinische und Umweltmaterial können auf Standard-Legionella-Nährböden (Selektiv- und Nichtselektivnährböden) kultiviert werden. In der Literatur^{3,4} sind typische Isolierungsvorschriften angegeben. *Legionella* spp. auf Primärisolierungen benötigen unbedingt L-Cystein-HCl. Um zu gewährleisten, daß auch tatsächlich Legionellen isoliert wurden, muß nachgewiesen werden, daß dieses Isolat nicht auf einem L-Cystein-HCl- Mangelmedium (d.h. kein L-Cystein-HCl enthält) wächst (*Legionella* Agar ohne cysteine CM655 + SR175). Dieser Nachweis kann vor oder nach dem Latex-Test erbracht werden.

Folgende Medien und Supplemente von Oxoid können zur Legionellenkultivierung vor dem Latex-Test verwendet werden:

BCYE-Nährboden (CM655 + SR110), BPMAα-Selektivnährboden (CM655 + SR110 + SR111), MWY-Selektivnährboden (CM655 + SR110 + SR118) sowie GVPC- Selektivnährboden (CM655 + SR110 + SR152).

Für weitere Informationen zu diesen Produkten wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

Kulturen können in jeder beliebigen Wachstumsphase untersucht werden, die Kolonien sollten allerdings eine erforderliche Größe aufweisen. Aus älteren Kulturen werden evtl. jedoch zähflüssigere Isolate gewonnen, wodurch die Interpretation erschwert wird.

10. TESTPRINZIP

Der Test kann auf zwei Weisen durchgeführt werden; sowohl mit der Direktmethode wie auch dem Reagenzglasverfahren werden zuverlässige Ergebnisse erzielt. Wenn ein Isolat eine zähflüssige Konsistenz besitzt, sollte besser das Reagenzglasverfahren verwendet werden.

(a) Direktmethode

1. Bringen Sie die Latexreagenzien auf Raumtemperatur. Stellen Sie sicher, daß die Latexsuspensionen vor Gebrauch vollständig gelöst sind, indem Sie das Latex-Fläschchen kräftig schütteln. Leeren Sie die Tropfpipette völlig, damit vor dem Durchmischen keine Latex- Rückstände zurückbleiben.
2. Tragen Sie jeweils einen Tropfen der Latexreagenzien auf ein (kreisförmiges) Testfeld der Reaktionskarte auf. Setzen Sie den Tropfen jeweils am Testfeldrand ab.
3. Tragen Sie einen Tropfen verdünnte Puffersuspension auf jedes der vier Testfelder auf. Achten Sie darauf, daß Puffer und Latexreagenzien zu diesem Zeitpunkt noch nicht ineinanderlaufen.
4. Mit Hilfe einer Impföse nehmen Sie eine mindestens 1 mm große Kolonie auf (bei kleineren Kolonien evtl. 2 oder mehr abnehmen) und suspendieren sie diese vorsichtig im Puffer. Ein optimales Testergebnis erzielen Sie, wenn diese Suspension möglichst homogen ist. Verfahren Sie mit den übrigen Reagenzien genauso, indem Sie gleich große Kolonien verwenden.
5. Mischen Sie nun Latexreagenzien und Suspensionen miteinander. Verteilen Sie diese Mischungen mit der Impföse gleichmäßig über die jeweiligen Reaktionsfelder. Sterilisieren Sie die Impföse in der Flamme des Bunsenbrenners.
6. Reaktionskarte vorsichtig kreisförmig bewegen und auf Agglutination prüfen. Karte nicht länger als eine Minute bewegen. Zur Auswertung keine Lupe verwenden.
7. Reaktionskarte nach Gebrauch in einem geeigneten Desinfektionsmittel entsorgen.
8. Latex-Fläschchen wieder verschließen und in den Kühlschrank stellen.

(b) Reagenzglasverfahren

1. Bringen Sie die Latexreagenzien auf Raumtemperatur. Stellen Sie sicher, daß die Latexsuspensionen vor Gebrauch vollständig gelöst sind, indem Sie das Latex-Fläschchen kräftig schütteln. Leeren Sie die Tropfpipette völlig, so daß dort vor dem Mischen keine Rückstände zurückbleiben können.
2. Beschriften Sie die Reagenzgläser (Teströhrchen) auf geeignete Weise, und geben Sie anschließend in jedes 0,4 ml Kochsalzlösung (0,85%).
3. Mit einer Impföse nehmen Sie 4 bis 10 Kolonien von ähnlichem Aussehen (vom Nährboden) ab und suspendieren sie vorsichtig in der Kochsalzlösung.
4. Homogenisieren (Vortex) Sie die diese Zellsuspension 5 Minuten lang. (Beachten Sie den Punkt: Vorsichtsmaßnahmen).
5. Tragen Sie einen Tropfen jedes Latexreagenzes (3 Testreagenzien und 1 Kontrollreagenz) auf die vier kreisförmigen Testfelder der Reaktionskarte auf. Setzen Sie sie jeweils am Testfeldrand ab.
6. Mit einer Pasteurpipette geben Sie jeweils einen Tropfen der Zellsuspension auf jedes der vier Testfelder der

Reaktionskarte und verrühren ihn mit den Latexreagenzien. Verteilen Sie alles gleichmäßig über das jeweilige Reaktionsfeld.

- Bewegen Sie die Reaktionskarte vorsichtig kreisförmig, und prüfen Sie, ob Agglutination eingetreten ist. Karte nicht länger als eine Minute bewegen. Zur Auswertung keine Lupe verwenden.
- Entsorgen Sie die Reaktionskarte nach Gebrauch in einem geeigneten Desinfektionsmittel.
- Latex-Fläschchen wieder verschließen und in den Kühlschrank stellen.

11. ABLESEN UND AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positive Testergebnisse

Der Test gilt als positiv, wenn innerhalb einer Minute Agglutination der Latexpartikel, jedoch keine Agglutination im Kontrollfeld eintritt. Eine positive Reaktion weist auf vorhandene Antigene gegen *Legionella* spp. Serogruppen in der Probe hin.

Negative Testergebnisse

Der Test gilt als negativ, wenn innerhalb einer Minute keine Agglutination eintritt und die Latex-Suspensionen in den Testfeldern nach einer Minute weiterhin blau gefärbt sind.

Nicht interpretierbare Testergebnisse

Der Test gilt als nicht auswertbar, wenn sich im Kontrollreagenz eine Agglutination zeigt. Dies ist ein Hinweis auf Autoagglutination der Kultur.

Nicht homogene Reaktionen

Je nach Probenmaterial können als Reaktionen feinkörnige oder faserige Ausflockungen beobachtet werden. In solchen Fällen sollten folgende Bewertungskriterien verwendet werden:

Der Test gilt als *positiv*, wenn sich der blaue Hintergrund des Testreagenzes (im Testfeld) deutlich geklärt hat.

Der Test gilt als *negativ*, wenn sich der blaue Hintergrund des Testreagenzes (im Testfeld) nicht deutlich geklärt hat.

12. TESTBESCHRÄNKUNGEN

- Der Latex-Agglutinationstest ist ein präsumtives Diagnoseverfahren. Positive Ergebnisse sollten durch biochemische Tests bestätigt werden.⁵
- Ein negatives Testergebnis bedeutet nicht automatisch, daß in der Kultur keine Legionellen vorhanden sind. Vielmehr handelt es sich um den Nachweis, daß die Kultur weder die *Legionella pneumophila* Serogruppen 1–14 noch Legionellen der Arten *L. longbeachae* 1 und 2, *L. bozemanii* 1 und 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, und *L. anisa* enthalten hat.⁶
- Zwischen den *Legionella pneumophila* Serogruppen 1 und 9 kann es aufgrund natürlicher Antigene zu Kreuzreaktionen kommen. Fals Agglutination sowohl beim *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 Reagenz als auch beim *Legionella pneumophila* Serogruppen 2–14 Reagenz eintritt, kann von dieser Kreuzreaktion ausgegangen werden.
- Weiterhin wurden gelegentlich Kreuzreaktionen zwischen dem *Legionella* spp. Testreagenz und bestimmten Serotypen anderer Legionellen beobachtet (z.B. *L. parisiensis*, *L. sainthelsii*, *L. steigerwaltii*, *L. wadsworthii*, *L. santicrocicus*, *L. tusconensis*, *L. gratiana*, und *L. cincinnatiensis*).⁶
- Der Test wurde so entwickelt, daß er zwischen unterschiedlichen Legionellenarten und -serotypen unterscheidet. Als Absicherung, daß in der Kultur tatsächlich

Legionellen sind, gelten folgenden Kriterien: Stäbchenform, Gramnegativität sowie fehlendes Wachstum auf Cystein-Mangelmedium.

13. LEISTUNGSMERKMALE

Die Reagenzien des Oxid Legionella-Latex- Agglutinationstests wurden auf Kreuzreaktion mit den nachfolgend aufgelisteten Organismen getestet. Mit keinem dieser Organismen wurde eine Kreuzreaktion beobachtet.

L. cherrii
L. birminghamensis
L. rubrilucens
L. maceachernii
L. oakridgensis
L. erythra
L. feeleei
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

Der Oxid Legionella-Latex-Test- Agglutinationstests wurde in einem Kliniklabor und einem Umweltlabor evaluiert. Insgesamt wurden 40 klinische Probenisolate und 279 Umweltprobenisolate auf *Legionella pneumophila* Serogruppen 1–14 sowie auf andere Legionellenarten hin untersucht. Jedes Isolat wurde durch serologische Tests abgesichert.

Die Qualität des Oxid Legionella-Latextests wurde mit den Leistungen anderer kommerzieller Legionellen-Latextests verglichen. Die Ergebnisse dieser Studie werden unten angegeben.⁷

L. pneumophila Serogruppe 15 wurde in Europa gegenwärtig nicht aus klinischen oder Umweltproben⁹ und in den USA nur einmal isoliert.⁸

Diese neueste, zu bezeichnende Serogruppe enthält nur einen Stamm (Lansing-3 (ATCC® 35251). Nach Untersuchungen am Jena-1-Isolat wurde eine 16. Serogruppe vorgeschlagen^{10,11}, bis eine weitere Analyse zeigte, dass der Stamm keine eigene Serogruppe bildet, sondern zur Serogruppe 4 von *L. pneumophila* (monoklonale Gruppe Portland 1) gehörte.^{12,13}

Es wurden weitere interne Daten erfasst, die zeigen, dass mit dem Oxid Legionella Latex Kit (DR0800M, DR0801M, DR0802M und DR0803M) Legionella-Stämme sowohl von *Legionella pneumophila* Serogruppe 15 (ATCC® 35251) als auch von *L. pneumophila* Serogruppen 1 bis 14 und weitere pathogene Nicht-*L. pneumophila* nachgewiesen werden können. Da jedoch nur ein Stamm der Serogruppe 15 für die Prüfung zur Verfügung stand, wird eine Umbenennung des Latex-Reagenz für die Serogruppen 2 bis 14 auf Basis der Ergebnisse aus einem einzigen Isolat nicht für angebracht gehalten.

Der Nutzen der Oxid Legionella Kits besteht darin, dass sie dem Anwender eine Unterscheidung der Proben in drei Gruppen: *L. pneumophila* Serogruppe 1, *L. pneumophila* Serogruppen 2 bis 15 (mit dem Reagenz für 2 bis 14) und andere Legionella-Spezies in einem schnellen und einfachen Screeningverfahren ermöglichen.

	Oxid Legionella Anzahl	Latex-Test/ Serologie %
<i>Legionella pneumophila</i> Serogruppe 1	59/59	100
<i>Legionella pneumophila</i> Serogruppen 2–14	134/134	100
Andere Legionellen– (Testreagenz Bestandteil des Testes)	63/65	97
Andere Legionellen (Testreagenz nicht Bestandteil des Testes)	0/93	100
Andere Organismen	0/10	100

Die Sensitivität des Oxid Legionella-Latex-Tests betrug 99%.









Die Spezifität des Oxid Legionella-Latex-Tests betrug 100%.

ACHTUNG: Product enthält Natriumazid. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

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. pneumonia* subsp. *pneumophila* subsp. nov., *L. pneumophila* subsp. *fraseri* subsp. nov., and *L. pneumophila* subsp. *pascuelli* 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. LEGENDE

	Katalognummer
	In-vitro-Diagnostikum
	In der Packungsbeilage (IFU) nachlesen
	Temperatureinschränkungen (Lagertemperatur)
	Ausreichend für "n" Ansätze
	Chargencode (Lotnummer)
	Verwendbar bis“ (Verfallsdatum)
	Hergestellt von



IFU X5057D überarbeitet Mai 2016



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

Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.