FR

Key Code TSMX5782D
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

DrySpot Legionella Latex Test

REF DR0200M DrySpot Legionella pneumophila 1 ..... ▽60

REF DR0210M DrySpot Legionella pneumophila 2-14 ▽60

REF DR0220M DrySpot Legionella species..... ▽60

1. UTILISATION PRÉVUE

Le Latex Legionella Dryspot est un test d'agglutination pour l'identification des *Legionella* isolées de patients suspects de légionellose ou à partir de l'environnement. Le Latex Legionella Dryspot permet l'identification de *Legionella pneumophila* sérogroupe 1, sérogroupes 2 à 14 et de 7 autres espèces impliquées en pathologie humaine.

2. PRINCIPE DU TEST

On a montré que *Legionella pneumophila* est une cause majeure de pneumopathie et l'agent étiologique d'une maladie fébrile aigüe appelée fièvre de Pontiac. Les souches de *Legionella pneumophila* et des autre espèces de *Legionella* sont isolées le plus souvent de patients atteints de pneumopathie ou à partir de l'eau.

L. pneumophila est la cause la plus fréquente de la Maladie des Légionnaires. 14 sérotypes sont connus actuellement et le sérogroupe 1 représente 90% des cas.

De rares souches ont été isolées d'autres sites tels que les plaies. Le réservoir principal des *Legionella* est l'eau, l'air conditionné, les tours de refroidissement et la robinetterie.

Le Latex Legionella Dryspot est constitué d'un latex bleu sensibilisé par des anticorps et déshydraté à la surface des cartes de réaction. Le latex agglutine en présence d'antigène spécifique de la paroi des *Legionella* pour former des agrégats bien visibles. Ce test permet un screening rapide et simple pour la mise en évidence des *Legionella* et des différents sérotypes.[1,2]

3. COMPOSITION DU KIT

DR0200M **Coffret pour Legionella pneumophila sérogroupe 1**

DR0201M Cartes test pour *Legionella pneumophila* sérogroupe 1.

Une suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées par un anticorps de lapin spécifique de l'antigène de *L. pneumophila* sérogroupe 1, déshydratées sur des cartes (zone de réaction).

Suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives (zone de réaction de contrôle).

2 sachets contenant chacun 10 cartes et un dessicateur. Sur chaque carte, il y a 3 zones test et 3 zones de réaction, soit 60 tests au total.

DR0205M Bandes de contrôle positif (10 bandes – spots roses).

Rose – Extrait antigénique polyvalent inactivé de *L. pneumophila* 1 déshydraté sur les bandes.

DR0240M Bandes de contrôle négatif (10 bandes – spots verts).

Vert – Extrait antigénique inactivé de *L. moravica* et *L. birminghamensis* déshydratés sur les bandes.

DR0230M Tampon pour Legionella Dryspot

Pastettes de mélange

Clip de fermeture des sachets

Fiche d'instruction.

DR0210M **Coffret pour Legionella pneumophila sérogroupes 2 à 14**

DR2011M Cartes test pour *Legionella pneumophila* sérogroupes 2 à 14.

Une suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées par un anticorps de lapin spécifique de l'antigène de *L. pneumophila* sérogroupes 2 à 14, déshydratées sur des cartes (zone de réaction).

Suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives (zone de réaction de contrôle).

2 sachets contenant chacun 10 cartes et un dessicateur. Sur chaque carte, il y a 3 zones test et 3 zones de réaction, soit 60 tests au total.

DR0215M Bandes de contrôle positif (10 bandes – spots roses).

Rose – Extrait antigénique polyvalent inactivé de *L. pneumophila* sérogroupes 2 à 14 déshydraté sur les bandes.

DR0240M Bandes de contrôle négatif (10 bandes – spots verts).

Vert – Extrait antigénique inactivé de *L. moravica* et *L. birminghamensis* déshydratés sur les bandes.

DR0230M Tampon pour Legionella Dryspot

Pastettes de mélange

Clip de fermeture des sachets

Fiche d'instruction.

DR0220M **Coffret pour autres espèces de Legionella**

DR0221M Cartes test pour autres espèces de *Legionella*.

Une suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées par un anticorps de lapin spécifique des espèces suivantes et sérotypes: *L. longbeachae* 1 et 2, *L. bozemanii* 1 et 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa,* déshydratées sur des cartes (zone de éaction).

Suspension de particules de latex synthétique bleu sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives (zone de réaction de contrôle).

2 sachets contenant chacun 10 cartes et un dessicateur. Sur chaque carte, il y a 3 zones test et 3 zones de réaction, soit 60 tests au total.

DR0225M Bandes de contrôle positif (10 bandes – spots roses).

Rose – Extrait antigénique polyvalent inactivé des autres espèces de Legionella déshydraté sur les bandes.

DR0240M Bandes de contrôle négatif (10 bandes – spots verts).

Vert – Extrait antigénique inactivé de *L. moravica* et *L. birminghamensis* déshydratés sur les bandes.

DR0230M Tampon pour Legionella Dryspot

Pastettes de mélange

Clip de fermeture des sachets

Fiche d'instruction.

4. MATÉRIEL NÉCESSAIRE, MAIS NON FOURNI

Oese stérile

Désinfectant (ex: hypochlorite de sodium >1,3% p/v).

5. PRÉCAUTIONS

IVD

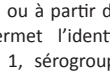
Usage *in vitro* uniquement.

Les échantillons peuvent contenir des germes pathogènes et doivent être manipulés avec précaution.

Les réactifs contiennent 0,1% d'azoture de sodium comme agent de conservation.

L'azoture de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb ou en cuivre pour former des azotures metalliques hautement explosifs. Pour prévenir une accumulation d'azoture dans la tuyauterie, évacuer avec un grand volume d'eau.

6. CONSERVATION



Le coffret doit être conservé entre 2 et 25°C. S'il est conservé au froid, s'assurer que les sachets reviennent à température ambiante avant de les ouvrir pour éviter la formation de condensation sur les cartes. Les réactifs Dryspot détériorés par l'humidité peuvent donner des résultats faux.

Ouvrir les sachets en coupant avec des ciseaux juste sous le scellage.

Une fois ouvert, sortir le nombre de cartes nécessaires pour une utilisation immédiate (c'est-à-dire dans les 10 minutes) et refermer le sachet immédiatement avec le clip fourni.

Il est possible de découper les cartes de réaction selon les pointillés et remettre la partie non utilisée dans le sachet.

Les bandes de contrôle sont aussi fournies dans un sachet imperméable à l'humidité. S'assurer que les mêmes précautions sont prises pour éviter la condensation.

Dans ces conditions, les réactifs sont valables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

7. PROCÉDURE DE CONTRÔLE

Les bandes de contrôle doivent être utilisées pour vérifier les réactifs au latex avant leur utilisation.

Ajouter une goutte de Tampon Legionella Dryspot (DR0230M) sur le petit cercle situé à la base de la zone ovale de réaction. Sortir une bande de contrôle positif (DR0205M, DR0215M ou DR0225M selon le cas) du sachet en évitant de toucher les spots déshydratés. Refermer les sachets interne et externe. Placer la bande sur la carte de façon à ce que le spot coloré soit en contact avec le liquide. Mélanger par un mouvement circulaire pendant 10 secondes pour réhydrater le réactif, puis continuer d'utiliser cette bande pour mélanger avec le latex test jusqu'à ce qu'il soit parfaitement homogène. Imprimer à la carte un mouvement de rotation et observer l'agglutination. Répéter cette procédure avec le contrôle négatif (DR0240M).

Le contrôle positif doit montrer une agglutination avec le réactif déshydraté en 1 minute.

Le contrôle négatif ne doit pas montrer d'agglutination en 1 minute.

Ne pas utiliser les réactifs si les contrôles sont incorrects.

8. REMARQUES IMPORTANTES

Ne pas toucher les cercles des cartes de réaction pour éviter toute contamination.

Dans une atmosphère à haut degré d'humidité, ne pas laisser les sachets ouverts plus de 2 minutes. S'il y a trace d'humidité, ne pas utiliser les spots.

Ne pas ajouter la goutte de Tampon directement sur les spots de latex desséché.

Les clips des sachets peuvent être réutilisés. Bien que devant être conservés à température ambiante, le coffret ou les sachets ne doivent pas être conservés près d'une source de chaleur, ni exposés à la lumière, celle-ci pouvant provoquer une hausse de température.

9. RECUEIL DES ÉCHANTILLONS ET TRAITEMENT

Les échantillons de l'environnement ou cliniques peuvent être cultivés sur des milieux pour *Legionella* sélectifs ou non sélectifs. Le schéma classique d'isolement est donné dans les références 3 et 4. Pour confirmer qu'il s'agit bien d'une Legionella, mettre en évidence le besoin en chlorhydrate de L-cystéine. Cette confirmation peut être réalisée avant ou après le test au latex.

Les milieux OXOID suivants peuvent être utilisés pour la culture des *Legionella*:

BCYE (CM0655 + SR0110), BMPAα (CM0655 + SR0110 + SR0111), MWY (CM0655 + SR0110 + SR0118), GVPC (CM0655 + SR0110 + SR0152). Pour plus de détails sur ces produits s'il vous plaît consulter votre distributeur local .

Pour plus de détails, nous consulter.

Les cultures peuvent être testées à n'importe quel stade à condition que les colonies aient une taille suffisante. Néanmoins, des cultures trop vieilles peuvent provoquer des réactions filamenteuses et rendre l'interprétation difficile.

10. MÉTHODOLOGIE

1. Ajouter une goutte de Tampon Legionella Dryspot (DR230M) sur le petit cercle situé à la base de la zone ovale de réaction, sur la zone test et la zone de contrôle en s'assurant que le liquide ne se mélange pas avec le latex à ce stade.
2. A l'aide d'une oese stérile (ou d'une des pastettes fournies), prélever une colonie suspecte (d'au moins 2 mm) à partir d'une boîte de pétri et émulsionner soigneusement dans le Tampon. S'assurer que la suspension est bien homogène.
3. A l'aide d'une pastette, mélanger la suspension avec le latex déshydraté jusqu'à ce que le mélange soit homogène. Couvrir toute la surface de réaction. Eliminer l'oese ou la pastette de façon appropriée.
4. A l'aide d'une oese ou d'une pastette, suivre la même procédure pour le latex de contrôle.
5. Imprimer à la carte un mouvement de rotation pendant 60 secondes et observer l'agglutination sous une lumière normale. Ne pas utiliser de loupe.
6. Lorsque le test est terminé, éliminer les cartes de réaction de façon appropriée.

11. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Le test est positif s'il apparaît une agglutination en moins d'1 minute. Ceci indique la présence de *Legionella*.

Résultat négatif
Le test est négatif si aucune agglutination n'apparaît en 1 minute et si la suspension demeure uniformément bleue sur la zone test.

Les réactions qui apparaissent après 1 minute, ne doivent pas être prises en compte.

12. RÉSULTAT ININTERPRÉTABLE

Le test est ininterprétable si le latex de contrôle montre une agglutination. Ceci indique que la culture provoque une autoagglutination.

13. RÉACTION GRANULEUSE OU FILAMENTEUSE

Des réactions granuleuses ou filamenteuses peuvent se produire; elles sont dues à la nature de la culture testée. Lorsque de telles réactions apparaissent, elles doivent être interprétées de la manière suivante:

– le résultat est (+) lorsque le fond bleu du réactif test est plus clair que celui du réactif de contrôle,
– le résultat est (–) lorsqu'il n'y a pas de différence d'éclaircissement du fond bleu entre le réactif test et le réactif de contrôle.

14. LIMITES

Les pastettes de mélange ne sont pas stériles. Elles peuvent être autoclavées si nécessaire.

Le test au latex donne un résultat présomptif qui doit être confirmé par des tests biochimiques.[5]

Le test a pour but de différencier les espèces et les sérotypes de *Legionella*. Il faut donc s'assurer que ce sont bien des bacilles gram négatif qui ne poussent qu'en présence de cystéine.

Un test d'agglutination au latex négatif ne signifie pas que la culture n'est une *Legionella*. Il indique seulement que la culture n'est pas *L. pneumophila* sérogroupe 1 (quand elle est testée avec le kit *L. pneumophila* sérogroupe 1), ni *L. pneumophila* sérogroupes 2 à 14 (quand elle est testée avec le coffret pour *L. pneumophila* sérogroupes 2 à 14) et ni *L. longbeachae* 1 et 2, *L. bozemanii* 1 et 2, *L. dumoffii*, *L. gormanii*, *L. jordanis*, *L. micdadei*, *L. anisa* quand elle est testée avec le coffret pour les autres espèces de Legionella.[6]

Une réaction croisée peut se produire entre *L. pneumophila* sérogroupes 1 et 9, due à une communauté antigénique naturelle. Si les deux réactifs agglutinent *L. pneumophila* 1 et 2–14, une telle réaction croisée doit être suspectée.

Des réactions croisées avec les réactifs pour les autres espèces de Legionella ont été rapportées occasionnellement (ex. *L. parisiensis*, *L. sainthelensi*, *L. steigerwaltii*, *L. wadsworthii*, *L. santicrucis*, *L. tusconensis*, *L. gratiana*, *L. cincinatiensis*).[6]

15. PERFORMANCES

Les réactifs des 3 coffrets d'agglutination au latex Legionella OXOID ont été testés vis-à-vis d'un panel de souches listées ci- dessous. Aucune réaction croisée n'a été observée avec ces germes

L. cherri	*L. fairfieldensis*
L. birminghamensis	*L. brunensis*
L. rubrilucens	*L. spiritensis*
L. maceachernii	*Pseudomonas fluorescens*
L. oakridgensis	*Pseudomonas cepacia*
L. erythra	*Pseudomonas aeruginosa*
L. feelei	*Aeromonas hydrophila*
L. hackeliae	*Stentotrophomonas maltophilia*
L. israeliensis	*Bacillus subtilis*
L. jamestowniensis	*Citrobacter freundii*
L. quinlivanii	*Escherichia coli*
L. moravica	*Serratia marcescens*

Le Latex Legionella Dryspot a été évalué dans un laboratoire traitant les échantillons cliniques et les échantillons de l'environnement.

Un totel de 207 isolats ont été testés, couvrant tous les sérogroupes de *L. pneumophila* et les espèces autres que *pneumophila*. Chaque isolat a été confirmé par méthode immunologique.

Les performances du kit ont aussi été comparées avec celles d'un autre coffret de réactif au latex commercialisé. Les résultats sont résumés ci-dessous.[7]

	Legionella Latex Kit/Serology		
		Sensibilité	Spécificité
	Number	%	%
Legionella pneumophila sérogroupe 1	140/140	100	100
Legionella pneumophila sérogroupes 2 à 14	138/140	100	97.8[1]
Autres Legionellae inclus dans le kit	136/141	100	94.4[2]

1 Le réactif *Legionella pneumophila* 2–14 réagissait avec les sérogroupes 15 et 16. Actuellement, les données sur ces sérogroupes sont très limitées. Il a été démontré que les sérogroupes 15 et 16 ont un antigène commun avec les sérogroupes 3 et 4.[8,9]

L. pneumophila sérogroupe 15 n'a pas a été isolé à partir d'échantillons cliniques ou environnementaux dans Europe11 et n'a été isolé une fois dans le USA.10

Ce sérogroupe le plus récent à être désigné ne contient qu'une seule souche (Lansing - 3 (ATCC ® 35251)) . A 16 sérogroupe a été proposé à partir d'études de l' Jena- 1 isolate12 , 13 jusqu'à une analyse plus approfondie a montré que la souche ne forment pas un sérogroupe unique, mais a été membre du sérogroupe 4 L. pneumophila (groupe monoclonal Portland 1) 14,15

Les données internes supplémentaires ont été recueillies qui demonstraites que les sérogroupes pneumophila 2-14 kit de test Dryspot Legionella est capable de détecter la Legionella pneumophila sérogroupe 15 ainsi que la détection de L. pneumophila sérogroupes 2-14 .

Cependant, comme un seul sérogroupe 15 souche est disponible pour les tests , il n'est pas jugé opportun de renommer le réactif latex sérogroupe 2-14 sur la base des résultats d'un seul isolat .

Les kits Legionella bénéficier l'utilisateur en permettant la discrimination des échantillons en trois groupes : L. pneumophila sérogroupe 1 , L. pneumophila sérogroupes 2-15 (avec le réactif 2-14) et d'autres espèces de Legionella dans une procédure de dépistage rapide et simple.

2 Les faux positifs trouvés avec le réactif "autres espèces de Legionella" sont des réactions croisées connues et publiées dans la littérature.

16. RÉFÉRENCES

1. Sedgwick, A. K. and Tilton, R. C. (1983). *J. Clin. Microbiol.*, **17:** 365–368.
2. Ciesielski, C. A., Blaser, M. J. and Wang, W. L. (1986). *Infect. Immun.*, **51:** 397–404.
3. Dennis, P. J. L. (1988). Isolation of Legionellae from Environmental Specimens p. 31–34. In Harrison, T. G. and Taylor, A. G. (eds). A Laboratory Manual for Legionellae. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Data on file, Oxoid Ltd.
8. Brenner, D. J., Steigerwalt, P. E., Epple, P. et al. (1998). *J. Clin. Microbiol.*, **26:** 1695–1703.
9. Luck, P. C., Helbig, J. H., Ehret, W. and Ott, M. (1995). *Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis.*, **282:** 35–39.
10. 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. pascullei subsp. nov. Journal of Clinical Microbiology; 1988; 26: 1695-1703.
11. 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.
12. Lück, C et al. Isolation of a Legionella pneumophila Strain Serologically Distinguishable from all known Serogroups. Zentralblatt fuer Bakteriologie. 1995; 282: 35-39.
13. 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.
14. 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.
15. Helbig, J. H. 2003. Personal Communication.

17. LÉGENDE DES SYMBOLES

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Consulter le mode d'emploi
	Limite de température (température de conservation)
Σ N	Contenu suffisant pour "n" tests
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	A utiliser avant le (date de péremption)
	Fabriqué par

CE

IFU X5782D janvier 2020 révisé

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

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.