

LEGIONELLA PNEUMOPHILA PLUS - CARD

Per uso diagnostico in Vitro

Test immunocromatografico su card per la determinazione qualitativa dell'antigene della Legionella pneumophila sierogruppo 1 in campioni di urina

I. DESTINAZIONE D'USO

Legionella pneumophila Plus Card Mascia Brunelli è un test immunocromatografico rapido su card per la determinazione qualitativa dell'antigene del sierogruppo 1 della Legionella pneumophila in campioni di urina di pazienti con sintomi di polmonite. Il suo scopo è quello di essere di ausilio in caso di presunta infezione da Legionella (malattia del Legionario) causata da Legionella pneumophila sierogruppo 1, insieme alle colture e ad altri metodi.

II. SINTESI

La specie più frequentemente coinvolta in casi umani è *Legionella pneumophila*. La **Malattia dei Legionari** è la forma più severa dell'infezione, con una letalità media del 10-15%, che può arrivare fino al 30-50% nel caso di infezioni ospedaliere, e si presenta come una polmonite acuta difficilmente distinguibile da altre forme di infezioni respiratorie acute delle basse vie aeree. La malattia si manifesta dopo un'incubazione di 2-10 giorni con disturbi simili all'influenza come malessere, mialgia e cefalea cui seguono febbre alta, tosse non produttiva, respiro affannoso e sintomi comuni ad altre forme di polmonite. A volte possono essere presenti complicanze come ascesso polmonare ed insufficienza respiratoria. Inoltre possono comparire sintomi extrapolmonari utili ad indirizzare la diagnosi, quali manifestazioni neurologiche, renali e gastrointestinali.

La **Febbre di Pontiac** è una forma simil-influenzale che si presenta come una malattia acuta autolimitante che non interessa il polmone: dopo un periodo di incubazione di 24-48 ore compaiono febbre, malessere generale, mialgia, cefalea ed a volte tosse e gola arrossata. La prima epidemia di Febbre di Pontiac è stata causata da *L.pneumophila* di sierogruppo 1 mentre epidemie successive sono state attribuite a *L. feeleii*, *L. anisa* e *L. micdadei*.

L'infezione può manifestarsi anche in **forma subclinica**, cioè senza comparsa di sintomi clinici, e si evidenzia solo con il riscontro di anticorpi anti-*Legionella* spp in assenza di episodi di polmonite e/o forme simil-influenzali.

La malattia si può presentare come un focolaio di due o più casi in seguito ad una limitata esposizione temporale e spaziale ad una singola fonte, o come una serie di casi indipendenti in un'area in cui è altamente endemica o come casi sporadici senza nessun legame evidente temporale o geografico. I focolai si trovano per lo più in edifici quali hotel ed ospedali.

La Legionella pneumophila Card Mascia Brunelli consente la diagnosi precoce dell'infezione da Legionella pneumophila sierogruppo 1 attraverso la determinazione di un antigene solubile specifico presente nell'urina dei pazienti colpiti dalla malattia del legionario. È possibile rilevare l'antigene del sierogruppo 1 della Legionella pneumophila in urina fin da tre giorni dopo l'inizio dei sintomi. È un test rapido, che fornisce un risultato in 15 minuti. L'uso dell'urina come campione permette una facilità di raccolta e di trasporto del campione stesso oltre a consentire la rilevazione dell'infezione sia ai primi stadi che in stadi più avanzati della malattia.

III. PRINCIPIO

La Legionella pneumophila Card Mascia Brunelli è un test su membrana immunocromatografica per determinare l'antigene solubile della Legionella pneumophila, sierogruppo 1, in urine umane. La banda test (T) e la banda di controllo (C) sono costituite rispettivamente da un anticorpo Anti-Legionella pneumophila sierogruppo 1 e da altri anticorpi adsorbiti sulla membrana di nitrocellulosa. Gli anticorpi Anti-Legionella pneumophila sierogruppo 1 sono coniugati alle particelle colorate che sono essiccate su un supporto assorbente inerte (coniugato anticorpo-particelle colorate).

Il campione, aggiunto nella finestra circolare (S), migra lungo la membrana e l'eventuale presenza dell'antigene determina un legame con gli anticorpi del coniugato colorato. Questo complesso reagisce con gli anticorpi pre-adsorbiti sullamembrana a livello della zona "T" producendo una banda rossa. In assenza dell'antigene specifico non comparirà alcuna banda nella zona "T". Il campione continua la migrazione lungo la membrana filtrante fino alla zona "C", dove è legato anche un substrato generico capace di legare il secondo anticorpo marcato, dando luogo ad una banda rossa che dimostra il corretto funzionamento dei reattivi.

Un risultato positivo è letto visivamente in 10-15 minuti o meno a seconda della concentrazione dell'antigene presente nel campione di urina. Un risultato negativo del test della Legionella pneumophila, letto al 15° minuto, indica che l'antigene del sierogruppo 1 della *L. pneumophila* non è stato rilevato nel campione di urina.

Il test si interpreta sulla base della presenza o dell'assenza di bande colorate di rosso visivamente rilevabili. Un risultato positivo comprenderà la rilevazione sia della banda test sia della banda di controllo, mentre un risultato negativo produrrà soltanto la banda di controllo. L'assenza della banda di controllo indica un risultato non valido a prescindere dalla presenza o meno della banda test.

IV. CONSERVAZIONE A STABILITÀ

Conservare le card ed i reattivi chiusi o refrigerati o a temperatura ambiente (2°C-30°C). Le card ed i reattivi sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle buste/etichette e sulla confezione esterna. Non usare il kit oltre la data di scadenza indicata.

V. COMPOSIZIONE DEL KIT

 Ogni kit contiene:

1. **Legionella Pneumofila Card** (25 pezzi) Le card e l'essiccante sono confezionate in buste sigillate, contenenti una pipetta gocciolatrice.
2. **Tampone di estrazione** (1 flacone da 2,5 ml)
3. **Controllo Positivo** (1 x 0.5 mL): N.1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN₃ come conservante.
4. **Tubi per dosaggio** (25 pezzi)
5. **Istruzioni per l'Uso** (1 pz)
6. **Controllo Negativo**: usare il tampone di estrazione.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Contenitore per la raccolta del campione urinario, Guanti in lattice e Timer

VI. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni di urina dovrebbero essere raccolti in contenitori standard. I campioni possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30°C) se analizzati entro 24 ore dalla raccolta. Alternativamente, i campioni possono essere stoccati a 2-8°C fino a 14 giorni o a -10°C/-20°C per i periodi più lunghi prima di essere testati. L'acido boric può essere usato come conservante.

Se necessario, gli esemplari di urina dovrebbero essere spediti in contenitori a perfetta tenuta a 2-8°C o congelati. Portare i campioni a temperatura ambiente prima di processarli.

VII. PROCEDURA TEST

Lasciare che i reagenti e campioni raggiungano temperatura ambiente prima dell'analisi.

1. Utilizzare per ciascun campione un tubo per dosaggio. Aggiungere nel tubo 100-150 µL (3 gocce) di urina da testare e 50 µL (1 goccia) di Tampone; miscelare. (Fig. 1 e 2)



- Dispensare, con la pipetta gocciolatrice, 3 gocce di campione (100-150 µL) nella finestra circolare della card (S), far partire il cronometro. (Fig. 3)
- Attendere 15 minuti quindi osservare la comparsa di bande colorate nella finestra di lettura contrassegnata con "T" e "C".

PROCEDIMENTO PER CONTROLLI: Per il Controllo Positivo e Negativo utilizzare la stessa procedura (dal punto 2 in poi)

VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Positivo: appaiono due bande colorate di rosso all'interno della finestra di lettura Una nella zona del controllo (C) e una nella zona test (T). L'antigene viene rilevato; presunto positivo per antigene *L. pneumophila* sierogruppo 1 nel campione.

Negativo: appare solo una banda colorata di rosso all'interno della finestra di lettura in corrispondenza della zona del controllo (C). Nessuna banda colorata appare nella zona test (T). Presunto negativo per antigene *L. pneumophila* sierogruppo 1 nel campione a suggerire che non è in corso un'infezione o una recente infezione. Tuttavia non è da escludersi un'infezione dovuta ad altri sierogruppi o specie. L'antigene potrebbe non essere presente nelle urine nei primi periodi dell'infezione o presente a livelli più bassi rispetto al limite di rilevazione del test.

Non Valido: all'interno della finestra di lettura si evidenzierà la totale assenza della banda di controllo (C) e questo indipendentemente dalla comparsa o meno della banda test (T).

Un insufficiente volume di campione, una scorretta pratica procedurale o il deterioramento dei reagenti sono le cause più probabili della mancata comparsa della banda di controllo. Verificare la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo.



Positivo

Negativo

Non valido

IX. VALORI ATTESI

La malattia si presenta sia in forme epidemiche che endemiche, che in casi sporadici e non sono facilmente differenziabili da altre infezioni respiratorie sulla base dei sintomi clinici. Si stima che 25.000 - 100.000 casi di infezione da *Legionella* si verificano annualmente negli Stati Uniti. Il tasso di mortalità risultante, che varia dal 25% al 40%, può essere abbassato se la malattia è diagnosticata precocemente e la terapia antimicrobica adatta è istituita rapidamente.

X. PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico in vitro
- La card è in una confezione protettiva sigillata. Non usare se la confezione è danneggiata o aperta. Rimuovere la card subito prima dell'utilizzo. Non toccare la zona di reazione della striscia.
- Non utilizzare i componenti oltre la relativa data di scadenza.
- Non mischiare i componenti di confezioni di lotti differenti.
- I campioni dei pazienti, i controlli e le strisce reattive devono essere maneggiati come potenzialmente infetti. Osservare le precauzioni stabilite per i rischi biologici.

XI. CARATTERISTICHE DEL TEST

Sensibilità e specificità

La *Legionella pneumophila* Plus Card ha una sensibilità >99 % di risultati concordanti con il kit Binax Now® presente sul mercato, su una casistica di 63 campioni di urina congelati e 9 freschi provenienti da Ospedali Europei. La sensibilità ottenuta su stran ATCC 33152 è di circa 3000 CFU/mL. Specificità >99 % di risultati concordanti con il kit Binax Now®

Cross-reattività

Assenza di cross-reattività con campioni di urina positivi per *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* and *E. Coli*

Riproducibilità

La riproducibilità del Test urinario per la determinazione della *Legionella p.* usando controlli negativi, bassi positivi, medi positivi ed alti positivi testati in 5 replicati ha dato una concordanza dei risultati del 100%.

XII. LIMITI

- Legionella pneumophila* Plus Card Mascia Brunelli è stato validato usando soltanto campioni di urina. Altri campioni (per esempio plasma, siero o altri fluidi fisiologici) che possono contenere l'antigene della *Legionella* non sono stati valutati. Il test non può essere usato su campioni ambientali (per esempio: acqua potabile).
- Questo test non rileverà infezioni causate da altri sierogruppi di *L. pneumophila* o da altre specie di *Legionella*. Un risultato antigenico negativo non esclude l'infezione da *L. pneumophila* di sierogruppo 1. La coltura è suggerita per polmoniti sospette per determinare gli agenti causali tranne la *L. pneumophila* di sierogruppo 1 e per recuperare la *L. pneumophila* di sierogruppo 1 quando l'antigene non è rilevato in urina.
- La diagnosi della malattia del legionario non può essere basata solo su esami clinici o radiologici. Non esiste un test di laboratorio soddisfacente per la malattia del legionario. Di conseguenza, i risultati della coltura, di sierologia e i metodi di rilevazione dell'antigene dovrebbero essere usati insieme con i risultati clinici per fare una diagnosi esatta.
- L'escrezione dell'antigene di *Legionella* in urina può variare in ciascun paziente. L'escrezione dell'antigene può cominciare dai 3 giorni dopo l'inizio dei sintomi e persistere fino a 1 anno. Un risultato positivo del test *Legionella pneumophila* può essere dovuto ad una infezione corrente o passata e quindi una diagnosi di infezione non può essere fatta senza ulteriori conferme.
- Le prestazioni del test su urina dopo trattamento con diuretici non è stata valutata.
- La *Legionella pneumophila* Plus Card Mascia Brunelli è stata valutata solo su pazienti ospedalizzati. Una popolazione di pazienti esterni non è stata esaminata.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest*. 1991;99:344-50.
- Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J. Clin. Microbiol.* 1979;9:575-578.
- White A., et al. Rapid diagnosis of Legionnaires' disease. *Trans Am Clin. Climatol. Assoc.* 1982;93:50-62
- Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:478-482.
- Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J. Clin. Microbiol.* 1986;24:556-558.
- Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:605-607.

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo	Non riutilizzare	Fragile, maneggiare con cura	Tenere lontano dal calore	

CONFEZIONE (25 tests)

Card	25 pezzi
Tampone di estrazione	1 x 2.5 mL
Controllo Positivo	1x0.5 mL
Tubi per dosaggio	25 pezzi
Istruzioni per l'uso	1 pezzo

Ref. VQ84100P

Codice Ramo CND W0105010501

