

LEGIONELLA PNEUMOPHILA 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 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 sulla membrana 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 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 Pneumophila Card (25 pezzi). Le card sono confezionate in buste sigillate contenenti un essiccante e una pipetta gocciolatrice.
2. Tampone. 1 flacone da 2,5 ml
3. Tubi per dosaggio da 2 ml (25 pezzi)
4. Istruzioni per l'Uso (1 pz)

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

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

Reattivi ausiliari (non forniti con questo kit)

Controllo positivo e negativo (Mascia Brunelli Cod. UD80035).

VI. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni di urina devono 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.

Se necessario, i campioni di urina devono 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 μ L (3 gocce) di urina da testare e 50 μ L (1 goccia) di Tampone; miscelare. (Fig. 1 e 2)
2. Dispensare, con la pipetta gocciolatrice, 3 gocce di campione (100-150 μ L) nella finestra circolare della card (S), far partire il cronometro. (Fig. 3)
3. Attendere 15 minuti quindi osservare la comparsa di bande colorate nella finestra di lettura contrassegnata con "T" e "C".



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

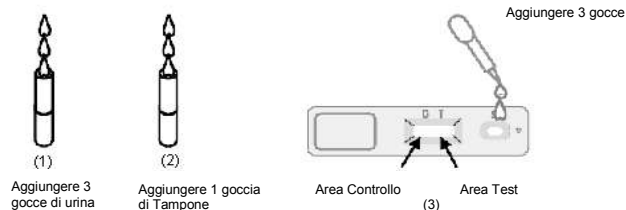
Positivo: appaiono due bande colorate all'interno della finestra di lettura. Una blu nella zona del controllo (C) e una rossa nella zona test (T). Report suggerito: presunto positivo per antigene *L. pneumophila* sierogruppo 1 nel campione, indice di infezione in corso o pregressa.

Negativo: appare solo una banda colorata di blu all'interno della finestra di lettura in corrispondenza della zona del controllo (C). Nessuna banda colorata appare nella zona test (T). Report suggerito: presunto negativo per antigene *L. pneumophila* sierogruppo 1 nel campione indicativo di nessuna infezione in corso o nessuna infezione recente.

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.



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 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 sono state determinate confrontando il Legionella pneumophila Card con un altro test immunocromatografico presente sul mercato (Binax Now® Legionella Urinary Antigen – Alere). Il test presenta Sensibilità 100%, Specificità 99.20%, PPV 96.90% e NPV 100% dopo aver testato 149 campioni di urina.

Cross-reattività: Non sono state riscontrate cross-reattività con campioni di urina positivi per *Streptococcus pneumoniae*.

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

1. Legionella pneumophila 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).
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Le prestazioni di Legionella pneumophila Card Mascia Brunelli su urina dopo trattamento con diuretici non è stata valutata.
6. La Legionella pneumophila Card Mascia Brunelli è stata valutata solo su pazienti ospedalizzati. Una popolazione di pazienti esterni non è stata esaminata.
7. Sebbene il test sia compatibile con l'acido bórico, la sua presenza aumenta la reattività e potrebbe dare luogo a risultati falsi positivi, pertanto se ne sconsiglia l'uso come conservante.

XIII. BIBLIOGRAFIA

1. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et al. Comparative study of Legionella pneumophila and other nosocomial-acquired pneumonias. Chest. 1991;99:344-50.
2. 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.
3. White A., et al. Rapad diagnosis of Legionnaires' disease. Trans Am Clin. Climatol. Assoc. 1982;93:50-62
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. E.Piccoli, S. Barnini, B. Fabiani, M. Campa. Confronto tra test rapidi per la diagnosi microbiologica di Legionellosi. SIM 2013

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 test)

Card (con pipetta)
Tampone
Tubi per dosaggio da 2 ml
Istruzioni per l'uso

Ref. VQ84100

25 pezzi
1 x 2,5 ml
25 pezzi
1 pezzo