

Legionella K-SeT



www.corisbio.com

IFU-5815/ES/05

In vitro Test Rápido para la detección de Antígenos de *Legionella pneumophila* en orina

PARA USO IN VITRO

SOLO PARA USO PROFESIONAL

Referencias: K-1215, 20 tests por kit

K-1515, 20 tests por kit, controles suministrados

Fabricado por:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Somet 4A
B - 5032 GEMBLOUX
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Produced in BELGIUM

ES

I. INTRODUCCIÓN

La legionelosis es una grave neumonía causada por bacterias del género *Legionella* asignado a la familia *Legionellaceae*. Esta familia incluye 48 especies y más de 60 serogrupos. Aproximadamente 20 especies están implicadas en las enfermedades humanas. La inmensa mayoría de las infecciones por *Legionella* son causadas por *Legionella pneumophila*. La Enfermedad del legionario es la principal manifestación clínica de la infección por *Legionella*, aunque también puede producir enfermedades extra-pulmonares e infecciones no neumónicas como fiebre de Pontiac. El nombre de *Legionella pneumophila* se deriva del dramático brote de 1976 en la Convención Americana de Legionarios en Filadelfia. *Legionella pneumophila* es responsable de aproximadamente el 90% de las infecciones, y de estas, más del 80% se deben a un solo serogrupo, el serogrupo 1. Las Legionellas son pequeñas bacterias ligeramente manchadas, bacilos Gram-negativos con flagelos polares. Las bacterias de *Legionella* tienen una distribución extensa en hábitats acuáticos naturales y artificiales. Se encuentran fácilmente en torres de refrigeración de agua dulce y en sistemas de agua potable. Estos organismos pueden sobrevivir en una amplia gama de condiciones, siendo la temperatura un factor determinante para la proliferación de *Legionella*. La Infección nosocomial por *Legionella* se encuentra particularmente asociadas a la colonización de sistemas de agua caliente en hospitales.

El período de incubación de la enfermedad del Legionario tras la exposición a las bacterias es de dos a diez días. La mayoría de los pacientes que requieren cuidado hospitalario desarrollan fiebre alta, a menudo por encima de 39.5°C (103°F). La tos puede ser la primera manifestación de una infección del pulmón. Otros síntomas comunes incluyen dolores de cabeza, dolores musculares, dolor de pecho, y dificultad al respirar. Los síntomas gastrointestinales son comunes.

La enfermedad de Legionario no es contagiosa. La enfermedad es transmitida en forma de aerosol, y no hay evidencia de transmisión personal directa. Las personas de riesgo son aquellas cuyo sistema inmune se encuentra comprometido, como los pacientes trasplantados, personas de edad avanzada, fumadores, o aquellos que presentan enfermedad pulmonar obstructiva crónica o enfermedad renal crónica.

El diagnóstico de la legionelosis suele ser en ocasiones difícil de distinguir de otras causas comunes causantes de pulmonía ya que los signos y los síntomas mostrados no son específicos. Las infecciones por *L. Pneumophila* se consideran bastante comunes pero son infra diagnosticados en muchas ocasiones. El infra diagnóstico de la legionelosis puede atribuirse en parte a la necesidad de un rápido, específico y sensible método de ensayo de diagnóstico.

El kit Legionella K-SeT Detecta Antígenos Solubles de *L. pneumophila* serogrupo 1 en orina.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Se trata un test de membrana listo para su uso basado en partículas de oro coloidal. Esta prueba permite la detección de antígenos LPS de la *Legionella pneumophila* en muestras de orina. La sensibilidad y la especificidad del Legionella K-SeT es asegurada mediante el empleo de anticuerpos monoclonales y policlonales frente a la *Legionella*. Los anticuerpos son conjugados con las partículas de oro coloidal y fijados en una almohadilla absorbente. Cada tira se sensibiliza frente a anticuerpos de *Legionella* y con un anticuerpo de control (control de migración).

Cuando la muestra de la orina emigra, el conjugado es re-hidratado y avanza junto con la muestra. Si los antígenos urinarios de *L. pneumophila* están presentes en la muestra, el complejo formado entre el conjugado anti-*L. Pneumophila* y el antígeno *L. pneumophila* avanzará a lo largo del dispositivo fijándose en la zona test donde se encuentran adheridos anticuerpos específicos contra *L.pneumophila*. Los resultados aparecen en 15 minutos bajo la forma de línea roja en la tira.

La solución continúa emigrando hasta encontrar un reactivo control donde se fijará al conjugado control, produciendo una segunda línea roja (control de la migración).

III. REACTIVOS Y MATERIALES

1. Legionella K-SeT (20)

Sobres sellados que contienen un dispositivo y un desecante. Cada dispositivo contiene una tira sensible.

2. Instrucciones de Uso (1)

3. Pipetas de dispensación (20)

Volumen fijo (100 µL) que pueden ser utilizadas para la dispensación de muestra en el dispositivo.

4. Material suministrado con los K-1515

Control Positivo (0,7 mL; C-1095): suspensión de bacterias *L. pneumophila* inactivadas por calor

Control Negativo (1 mL; CTR-1000): suspensión de bacterias *S. pyogenes* inactivadas por calor

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- Todos los reactivos son sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- La bolsa debe abrirse con cuidado
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Al manipular las pruebas, utilice guantes.
- No utilice nunca los reactivos de otro kit.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunoreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se puede garantizar tras el vencimiento del período de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.

V. DESECHO DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente.

VI. CONSERVACIÓN

- Un sobre sin abrir se puede mantener entre 4 y 30 °C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase. Una vez abierto el sobre, realice la prueba inmediatamente.
- Evite congelar el estuche (kit).

VII. MUESTRAS

Las muestras a analizar deberán ser obtenidas y manipuladas mediante métodos estándares para la recolección de muestra de orina. Las muestras de orina se deben recoger en envases estándares. Los medios de transporte siguientes se han probado y considerado compatibles con los kits *Legionella K-SeT*: ácido bórico.

La muestra de la orina se deben ensayar lo antes posible tras su recogida. En caso de necesidad, pueden ser conservados a 2-8°C hasta una semana antes de ser ensayado por Legionella K-SeT o a -10°C a -20°C para períodos del tiempo más largos.

Aunque se necesite mas tiempo para llevar a cabo la prueba, el antígeno presente en la orina se puede concentrar por medio de un concentrador desechable (Miniplus) o de un dispositivo de centrifugación (Centricon).

VIII. PROCEDIMIENTO

PREPARACION:

Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de realizar una prueba.

Abra el sobre y extraiga el dispositivo. Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el dispositivo (un dispositivo por muestra).

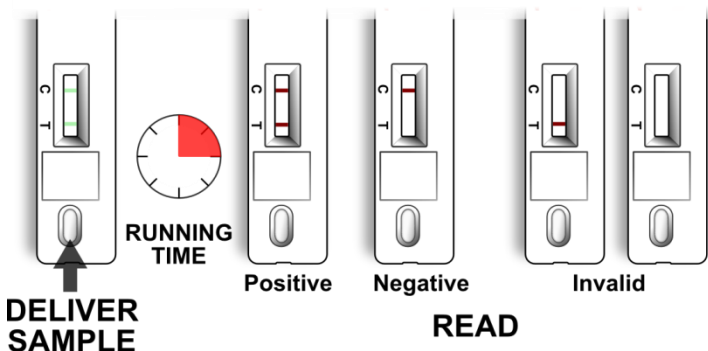
PREPARACION DE LA MUESTRA:

1. Agitar suavemente la muestra de orina antes de llevar a cabo el test
2. Vierta lentamente 100 µL de la muestra en el pocillo para muestras del dispositivo, como se ilustra más adelante (Utilice la pipeta suministrada o utilice la pipeta de laboratorio para tomar exactamente 100 µL)
3. Deje que reaccione durante 15 minutos. Los resultados pueden observarse en la ventana de lectura. Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se deben interpretar del modo siguiente:



Resultado negativo de la prueba: aparece una línea rojiza purpúrea en un extremo de la ventana central de lectura en la posición de la línea de control (C). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda rojiza purpúrea en la línea de control (C), aparece una banda rojiza purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T). La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de

la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea (T) rojiza purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas con un nuevo dispositivo de prueba.

Nota: durante el proceso de secado, a los 60 minutos, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

Respetando las buenas prácticas de laboratorio y las exigencias de su laboratorio, recomendamos de comprobar los resultados de los tests con regularidad.

Los controles positivos y negativos (proporcionados en el kit K-1515) podrán ser utilizados como Controles de Calidad para demostrar una reacción positiva o negativa para asegurarse de que los reactivo de la prueba funcionan bien y que la prueba se realiza correctamente. Los controles positivos y negativos se deben procesar como muestras reales (VIII).

XI. RESULTADOS

A. Sensibilidad – Especificidad (Correlación):

El kit se evaluó con 109 muestras clínicas en un Laboratorio Nacional de Referencia en España. Se estudiaron 41 muestras de orina de pacientes con EL definida mediante síntomas clínicos y radiológicos de neumonía y confirmados microbiológicamente. Se utilizó el método EIA como evidencia de laboratorio. Las muestras de orina de pacientes con infecciones de las vías respiratorias distintas de la infección con Legionella se probaron de forma parecida con el fin de probar la especificidad del kit.

Legionella K-SeT	EIA	Positivo	Negativo	Total
Positivo		40	0	40
Negativo		1	68	69
Total		41	68	109

95 % Intervalo de confianza¹

Sensibilidad:	97.6 %	(85.6 - 99.9 %)
Especificidad:	100 %	(93.3 - 100 %)
Valor predictivo positivo:	100 %	(89.1 - 100 %)
Valor predictivo negativo:	98.6 %	(91.1 - 99.9 %)
Fiabilidad:	99.1 %	(108/109)

B. Repetitividad/Reproductibilidad

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote, se procesaron 15 veces las mismas muestras positivas y una solución de tampón de kits del mismo lote de producción, bajo las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto.

Para verificar la precisión entre los lotes, se procesaron algunas muestras (positivas y negativas) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron según lo previsto.

C. Interferencias

La reactividad cruzada ha sido evaluada y demostrada negativa utilizando orinas enriquecidas con los siguientes patógenos: Adenovirus, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Haemophilus influenzae*, Influenza A, Influenza B, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumonia*, *Nocardia asteroides*, *Parainfluenzae*, Rhinovirus, RSV, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *E.coli* (different strains), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia hermanni*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella longbeachae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia enterocolitica* (types 3,9), HMPV, *Streptococcus* (Group B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Campylobacter coli*, *S. typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Neisseria meningitidis* (sg C), *Mycoplasma hominis*.

La sangre presente de forma natural en la orina (microhematuria) no afecta al rendimiento de la prueba. Sin embargo, las muestras con sangre (sangre entera al 0,1 %) pueden no fluir adecuadamente, provocando dispersión y haciendo que los resultados de la prueba no sean concluyentes.

XII. LIMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico. Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes.

La prueba del kit es una prueba de detección en fase aguda. Las muestras recogidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo. Si una muestra presenta un resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas relevantes para comprobar la muestra.

XIII. PROBLEMAS TECNICOS/ RECLAMACIONES

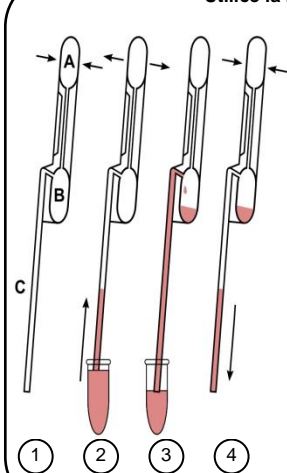
Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- A. B. M.W. Diederer; *Legionella spp. and Legionnaires' disease*; J. Inf. 2008 56:1-12, 2008
- B. J.H. Helbig et al.; *Pan-European study on culture-proven Legionnaires' Disease*; Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2002 21:710-716, 2002
- C. B.S. Fields et al.; *Legionella and Legionnaires' Disease : 25 years of investigation*; Clin. Microbiol. Rev. 2002 15: 506-526, 2002

Utilice la micropipeta suministrada



- 1) Presionar con firmeza el bulbo superior (A).
- 2) Introduzca la punta (C) de la pipeta de transferencia en la muestra de orina y soltar la presión del bulbo superior (A) para que la muestra sea aspirada hasta la zona C de la pipeta.
- 3) Asegúrese de que el tubo C se llena de líquido, la capacidad del tubo C es de 100 µL. La parte excedente de líquido se acumulará en el bulbo B.
- 4) Desplace la pipeta de transferencia hasta el embudo del dispositivo, presione entonces el bulbo superior (A) hasta dispensar el líquido contenido en el tubo C. Asegúrese de que todo el volumen contenido en el tubo C ha sido dispensado y que el exceso de líquido sigue en el bulbo B. No presione nunca el bulbo B.
- 5) Destruya la pipeta. Cada pipeta solamente puede utilizarse una vez. Use solo una pipeta de transferencia por cada muestra de orina.

Última actualización: OCTUBRE 2015

REF	Número de catálogo		Fabricado por
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Límites de temperatura
	Contenido suficiente para <n> pruebas		No reutilizar
	Consulte las instrucciones de uso		Fecha de caducidad
	Mantenga en lugar seco		