



V-TEST

GRAVITY

Solo para uso informativo – No para ser usado en el desarrollo del ensayo.
Refiérase al inserto que acompaña al kit.

Legionella V-Test

(C-1915, C-1815)



Prueba de diagnóstico rápido in vitro para la detección de antígeno LPS de legionella pneumophila en muestras de orina.

PARA USO IN VITRO

Referencia: C-1915, 20 pruebas por kit.
C-1815, 10 pruebas por kit

I.INTRODUCCIÓN

La legionelosis es una seria neumonía causada por la bacteria de género Legionella asignada a la familia Legionellaceae. Esta familia ahora incluye 48 especies y más de 60 serogrupos. Aproximadamente 20 especies están relacionadas con la enfermedad en seres humanos. La impactante mayoría de infecciones por Legionella son causadas por *Legionella pneumophila*. La enfermedad de los legionarios es la mayor manifestación clínica de infección por Legionella aunque infección extra-pulmonar y enfermedad no-neumónica como fiebre Pontiac puede presentarse. El nombre Legionella pneumophila fue derivado del dramático brote en la Convención de la Legión Americana en Philadelphia de 1976. La Legionella pneumophila es responsable de aproximadamente 90% de infecciones, y de estas, más del 80% se deben a un único serogrupo 1. Las bacterias Legionella son pequeñas manchas claras de bacilos gran negativos con flagelos polar. Las bacterias Legionella tienen una amplia distribución en hábitats acuáticas tanto naturales como artificiales. Son fácilmente encontradas en agua fresca, torres de refrescamiento y sistemas de agua potable. Estos organismos pueden sobrevivir en un amplio rango de condiciones, y la temperatura es un determinante crítico en la proliferación de la Legionella. La infección nosocomial está particularmente asociada con la contaminación con Legionella del sistema de agua potable del hospital.

El periodo de incubación de la enfermedad de los legionarios después de ser expuestas a la bacteria es de dos a diez días. La mayoría de los pacientes que son admitidos en el hospital presentan alta fiebre usualmente mayor a 39.5°C (103°F). Tos puede ser la primera señal de infección pulmonar. Otros síntomas comunes incluyen dolores de cabeza, dolores musculares, dolor en el pecho y dificultades de respiración. Síntomas gastrointestinales suelen ser comunes.

La enfermedad de los legionarios (EL) no es contagiosa. Esta enfermedad es transmitida por aerosol y no hay evidencia de transmisión directa persona-a-persona. Personas propensas son aquellas cuyo sistema inmune está comprometido, incluyendo recibidores de trasplantes, ancianos, fumadores, o aquellos que muestran obstrucción pulmonar crónica o enfermedades renales crónicas.

El diagnóstico de legionelosis puede ser difícil porque las señales y los síntomas no son específicos y no se distinguen de infecciones de *L. pneumophila* de otras causas de neumonía. Infecciones de *L. pneumophila* son consideradas como bastante comunes; pero son probablemente no diagnosticadas y no reportadas. El no diagnóstico de legionelosis puede, en parte, ser atribuido a la necesidad de un método de prueba diagnóstico rápido, específico y sensible.

El Test-V Legionella detecta antígeno soluble de serogrupo 1 de *L. pneumophila* en orina.

II. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Esta es una prueba de membrana lista para usar basada en partículas coloidales de oro. Esta prueba permite la detección de *Legionella pneumophila* LPS en muestras de orina. La especificidad y la sensibilidad del Test-V Legionella provienen de anticuerpos anti-*Legionella* monoclonales y policlonales. Algunos anticuerpos son conjugados a partículas coloidales de oro y secados en una almohadilla absorbente del conjugado. Cada tira es sintetizada con anticuerpos anti-*Legionella* a la línea superior y con un anticuerpo control en la línea de fondo (control de migración).

Cuando la muestra de orina migra a través de la almohadilla recolectora, el conjugado es rehidratado y migra con la muestra. Si antígenos urinarios de *L. pneumophila* están presentes en la muestra, se forma un complejo entre los conjugados de anti-*L. pneumophila* y los antígenos *L. pneumophila* el cual será capturado por el reactivo específico anti-*L. pneumophila* cubierto en la tira. Los resultados aparecerán en 15 minutos en forma de una línea roja que se desarrolla en la tira (línea superior)

La solución continúa migrando hasta encontrar el reactivo control (en la línea de fondo) que se une al conjugado control, de tal modo se produce una segunda línea roja (control de migración)

III. REACTIVOS Y MATERIALES

Cada kit contiene:

1. Legionela V-test

Cada tira es sintetizada con anticuerpos anti- *L. pneumophila* en la línea superior y con un reactivo control en la línea de fondo. Los conjugados anti- *L. pneumophila* son producidos con anticuerpos dirigidos contra antígenos de *Legionela pneumophila*. Estos reactivos son conjugados a partículas coloidales de oro. Cada tira es contenida dentro un dispositivo que recibe directamente la muestra de orina sin dilución.

Los dispositivos son empacados individualmente en paquetes de cinco en bolsas selladas al vacío.

2. Instrucciones para el uso (1)

3. Dispositivo contenedor de V-test

4. Control positivo para Legionela V-test (1 vial; C-1095); bacterias de suspensión de *L. pneumophila* inactivadas por calor contenidas en un volumen fijo (0.7 ml)

5. Control negativo para Legionela V-test (1 vial; C-1000); bacterias de suspensión de *S. pyogenes* inactivadas por calor contenidas en un volumen fijo (1,2 ml)

6. Pipetas de transferencia: volumen fijo (110µl) pipetas de transferencia usadas para agregado de muestras al dispositivo (solo con kits de prueba C-1815, 10).

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

Todas las operaciones relacionadas con el uso de la prueba deben ser desarrolladas de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio.

El Legionela V-test es para uso de diagnóstico in-vitro solamente.

Evite tocar la nitrocelulosa, con los dedos, a través de la ventana de lectura. Use guantes cuando manipule la muestra.

No doble el dispositivo antes de desarrollar la prueba.

Deseche los guantes, hisopos y el dispositivo de la prueba de acuerdo a las Buenas Prácticas de Laboratorio.

La bolsa de Legionela V-test debe ser abierta con cuidado para evitar el daño del dispositivo.

Dos delgadas líneas verdes indican los sitios de adsorción de los inmunoreactivos. La línea más baja es la línea de control de migración y la línea más alta es la línea de prueba de *L. pneumophila*. El color verde desaparece durante el curso de la prueba.

La calidad de los reactivos no puede ser garantizada después de sus fechas de vida y tampoco si son almacenados en condiciones inapropiadas.

Resultados inválidos pueden presentarse cuando un volumen inadecuado de orina es añadido al dispositivo de la prueba. Use una micro pipeta de 110 µl o la pipeta de transferencia (110 µl) proporcionada con el kit.

V. ALMACENAMIENTO

Una bolsa de Legionela V-test no abierta puede ser almacenada entre 4°C y 30 °C y usada hasta la fecha de vida indicada en el empaque.

El kit de Legionela V-test no debe ser congelado.

La estabilidad en tiempo real y a largo plazo está bajo evaluación. Resultados intermedios están disponibles en Coris-BioConcept.

VI. MUESTRAS

- Las muestras a analizar deberían ser obtenidas y manipuladas a través métodos estándar para la recolección de muestras de orina. Las muestras de orina deberían ser recolectadas en contenedores estándar.
- El uso de medios de transporte no ha sido validado con el Legionela V-test.
- Las muestras de orina deben ser analizadas tan pronto sean recolectadas. Si es necesario, pueden ser almacenadas entre 2°C y 8°C por un máximo de una semana antes del análisis con el kit Legionela V-test o entre 10°C y 20°C por periodos de tiempo más largo.
- Aunque se requiere añadir tiempo de procesamiento, los antígenos presentes en la orina pueden ser concentrados con un concentrador desechable (Miniplus) o un sistema de centrifugación (centricon).

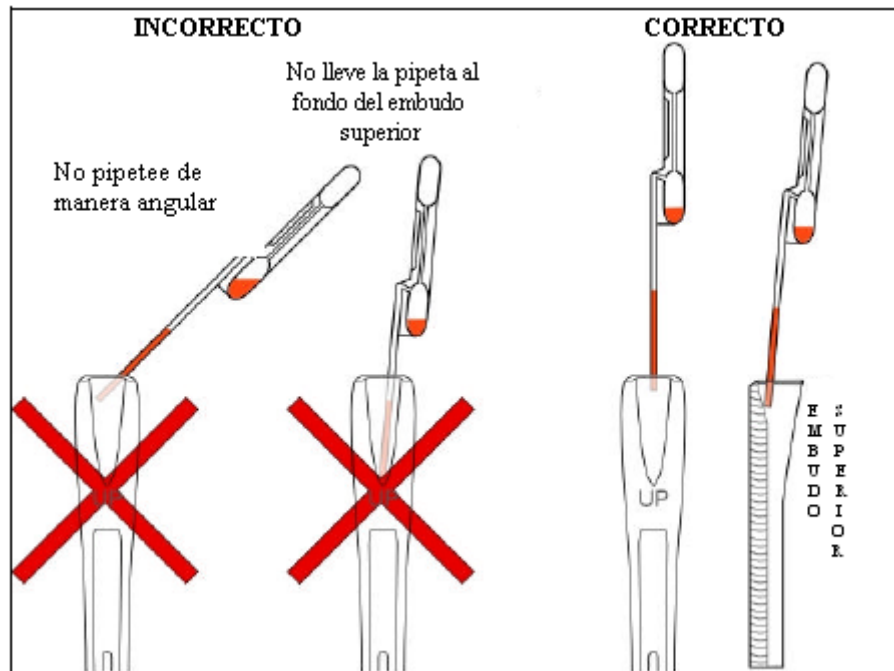
VII. PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN:

- Si el kit Legionela V-test fue almacenado a 4°C, deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de abrir la bolsa y proceder con la prueba.
- Escriba el numero de la muestra en el dispositivo (un dispositivo por muestra)
- Coloque el dispositivo marcado verticalmente, en la base, con la abertura hacia arriba.

PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Permita que la muestra alcance la temperatura ambiente antes de analizar.
2. Agite suavemente para mezclar, antes de analizar.
3. Añada 100 μl de orina en la abertura de la parte superior del dispositivo
Preste atención al cargar la muestra de orina verticalmente en la parte superior del embudo como mostrado en la figura abajo. Cualquier depósito hecho oblicuamente en el dispositivo o en el fondo del embudo puede llevar a migración no pareja.



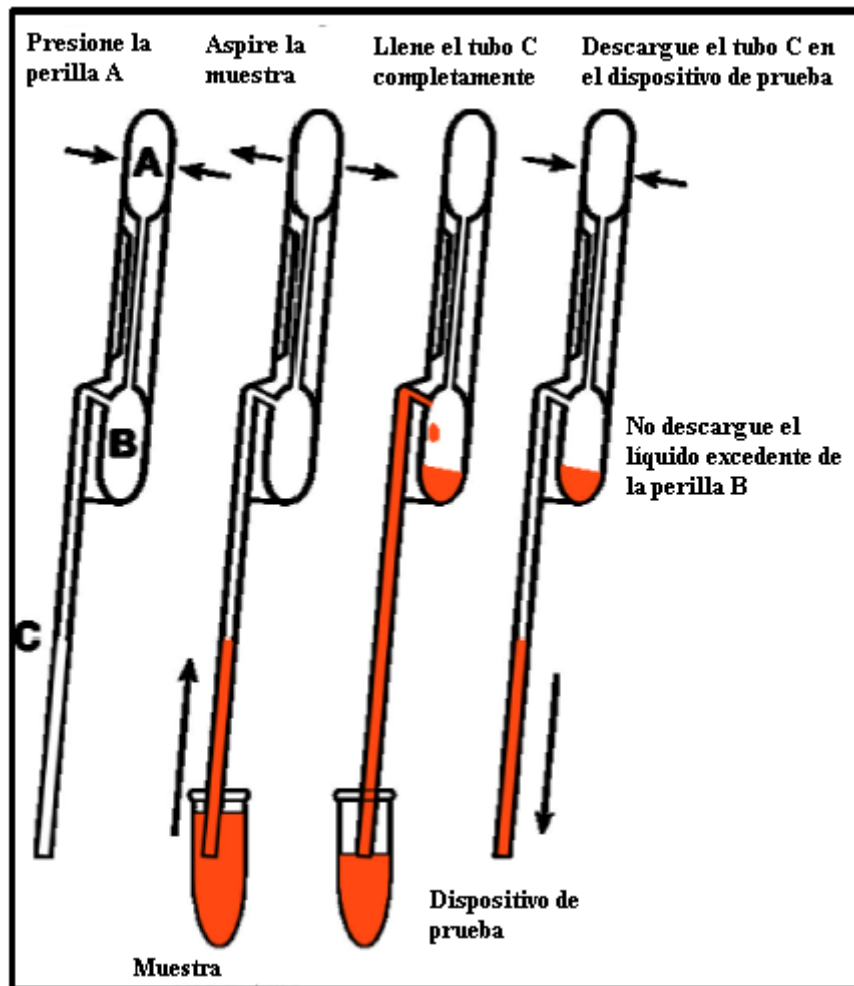
4. Los resultados deben ser leídos de las tiras mojadas después de 15 minutos de incubación. L

USO DEL EXACTO VOLUMEN DE PIPETEO

1. Exprima firmemente la perilla superior (A)
2. Inserte la punta (C) de la pipeta en la muestra y libere la presión de la perilla superior con la finalidad de dejar que el líquido sea arrastrado a la parte C de la pipeta. Asegúrese de que el tubo C este completamente lleno. El volumen de la parte C es de 110 μl . Todo exceso de líquido se moverá hacia la perilla B.

3. Mueva la pipeta hacia el embudo de Legionela V-test, y exprima la perilla superior A para empujar el líquido presente en el tubo C hacia el dispositivo Legionela V-test. Asegúrese de que el tubo C este completamente descargado y que todo exceso de líquido en la perilla B permanezca en la perilla.

4. Deseche la pipeta. Use solo una muestra por pipeta.



VIII. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados deben ser interpretados de la siguiente manera:

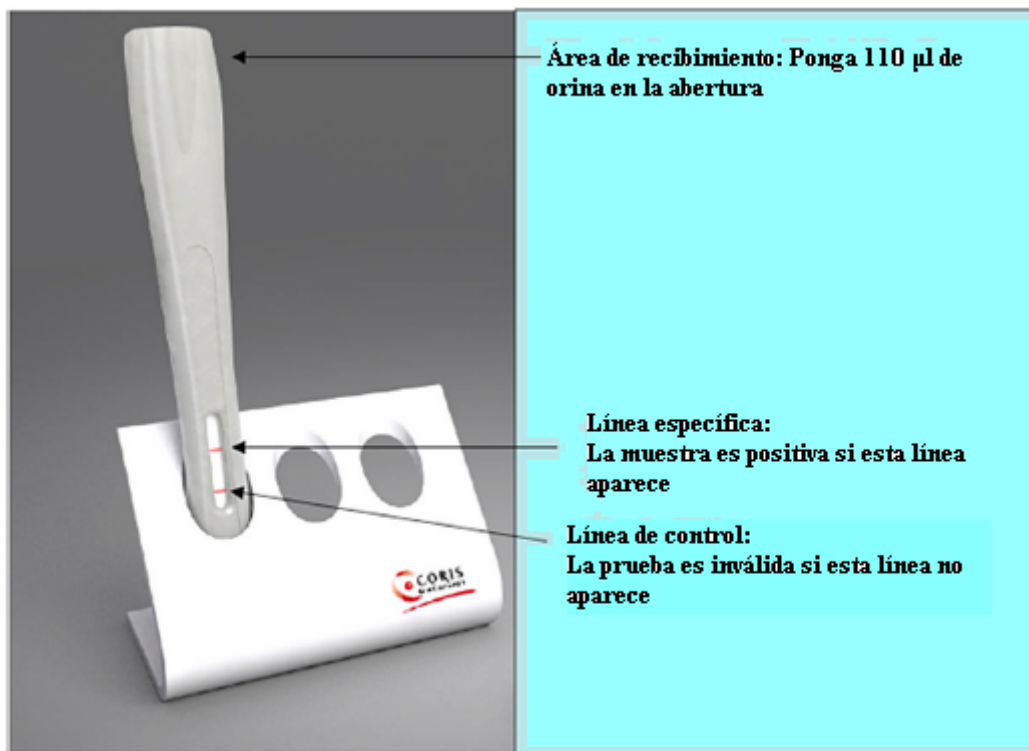
1 línea (más baja) = negativo

2 líneas = positivo

0 línea = inválido*

*La ausencia de la línea de control de migración, que es la línea más baja, hace el resultado inválido. En este caso, la muestra debe ser reanalizada.

Después de 15 minutos, o después de que la tira se haya secado, no tome en cuenta la aparición de color alguno.



IX CONTROL DE CALIDAD (QC)

- Los requerimientos de control de calidad deben ser desarrollados en concordancia con las Buenas prácticas de Laboratorio.
- Controles positivos y negativos (proporcionados en el kit) pueden ser corridos como un (QC) para demostrar una reacción positiva o negativa con la finalidad de asegurarse de que los reactivos de la prueba están funcionando y que la prueba se es desarrollada

correctamente. Los controles positivos y negativos son soluciones listas para usar, y deben ser usados como una muestra.

- Permita que el control positivo y que el control negativo alcancen la temperatura ambiente antes del análisis.

- Añada exactamente tres gotas, **no más**, o 110 µl en la abertura en la parte superior del dispositivo.

- Deje reaccionar por 15 minutos.

Si los resultados esperados de control no son obtenidos, no reporte los resultados del paciente y contacte su representante local de Coris o servicio técnico para asistencia.

X. DESARROLLO

A. Sensibilidad-Especificidad (correlación):

1º) validación en 108 muestras de orina en comparación con un ICT (España)

Competidor ICT Legionela V-TesT	Positivo	Negativo	Total
Positivo	12	0	12
Negativo	0	96	96
Total	12	96	108

Sensibilidad: 100%

Valor Positivo Predictivo: 100%

Especificidad: 100%

Valor Negativo Predictivo: 100%

2º) Evaluación de un panel de 40 muestras clínicas (Holanda)

23 muestras de orina de pacientes con LD definido por signos radiológicos y por evidencia de laboratorio de infección con *L. pneumophila* (aislamiento de bacteria, resultado PCR o métodos EIA).

17 muestras de orina de pacientes con infecciones en el tracto respiratorio diferentes a infecciones con Legionela (principalmente *Streptococcus pneumoniae*) también analizadas de una manera similar para la especificidad de ambos: Legionella V-TesT y el método de referencia ICT Test.

Datos con el Legionela V-TesT:

Estatus LD Legionela V-TesT	Positivo	Negativo	Total
Positivo	20	0	20

Negativo	3	17	20
Total	23	17	40

Sensibilidad: 87% Valor Positivo Predictivo: 100%
Especificidad: 100% Valor Negativo Predictivo: 85%

Datos con el método de referencia ICT Test.

Estatus LD Método de referencia ICT Test	Positivo	Negativo	Total
Positivo	19	0	19
Negativo	4	17	21
Total	23	17	40

Sensibilidad: 82.6% Valor Positivo Predictivo: 100%
Especificidad: 100% Valor Negativo Predictivo: 81%

In conclusión, los resultados indican que el Coris Legionela V-TesT tiene un grado de sensibilidad más alto que el de Método de referencia ICT Test el cual es actualmente usado en el mercado para el diagnóstico de Legionelosis.

A. Repetitividad/Reproductibilidad

Para chequear la precisión dentro del mismo lote (Repetitividad), una muestra positiva de orina y una muestra negativa de orina han sido analizadas 15 veces cada una con Legionela V-TesT del mismo lote de producción en las mismas condiciones experimentales. Todos los análisis con la muestra de orina negativa analizada como negativa y todos los análisis con las muestra de orina positiva analizados como positiva. Para chequear la precisión dentro del mismo lote (reproductibilidad), las mismas muestras (positivas y negativas) han sido procesadas en tres diferentes lotes de producción. Todos los análisis con la muestra de orina negativa analizada como negativa y todos los análisis con la muestra de orina positiva analizada como positiva.

B. Interferencias:

Reactividad cruzada con orinas cargadas con los siguientes patógenos fue analizada y encontrada como negativa en:

VRS, Influenza A, Influenza B MPVH, Rinovirus, Nocardia asteroides, E. coli (diferentes cepas), Streptococcus Aspergillus niger (cepas diferentes), Candida albicans, Haemophilus influenzae, Campylobacter jejuni, Clostridium difficile, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Hermannii Esherichia, Helicobacter pylori, Klebsiella pneumoniae, Neisseria meningitidis, Neisseria sicca, Moraxella catarrhalis, Salmonella enteritidis,

Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Shigella flexneri, Proteus mirabilis, Legionella bozemanii (SG1), lonbeachae Legionella, Yersinia enterocolitica (tipos 1,3,9), Vibrio cholerae, Vibrio parahemolyticus, Holinis mycoplasma, Ureaplasma mycoplasma, Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare, Mycobacterium tuberculosis, Serratia marcescens, Pseudomonas aeruginosa.








XI. LIMITES DEL KIT

Los resultados del kit Legionella V-TesT deben ser comparados con toda la información clínica y de laboratorio disponible. Un análisis positivo no descarta la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes.

La prueba Legionella V-TesT es una prueba de detección de fase aguda. Si se le da resultado negativo a una muestra a pesar de los síntomas observados, se debería empezar un cultivo para chequear la muestra.

XII MANEJO DE LOS DESECHOS

Cada usuario es responsable por cualquier residuo producido incluyendo el dispositivo una vez usado y debe asegurarse de que sea desechado de acuerdo con la legislación aplicable.

	Consultar instrucciones para su uso		No reúse	REF	Número de catalogo		Manufacturado por
	Manténgase seco		Uso por	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico In Vitro		Limitación de temperatura
DIL AS	Ensayo diluyente	CONT NaN ₃	Contiene azida de sodio		Contiene suficiente para <n> pruebas	DIL SPE	Muestra diluyente

XIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

Ultima actualización del empaque del inserto: Marzo, 17 2009

IFU-5715/EN Rev : 11

Manufacturador :

CORIS BIOCONCEPT

Science Park – CREALYS

Rue Jean Sonet 4^a

B – 5032 GEMBLoux

BELGICA

Tel : +32(0)81.719.917

Fax : +32(0)81.719.919

E-mail : info@corisbio.com

<http://www.corisbio.com>