



# Legionella

(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,9775 B2)

## A Rapid Immunoassay for the Detection of *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Antigens in Human Urine Specimens

REF 751930

IVD

Rx Only

### INTENDED USE

The Tru Legionella assay is an in vitro, rapid, lateral-flow immunoassay for the qualitative detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in human urine specimens. It is designed to test specimens from patients with symptoms of pneumonia. Test results are to be used as an aid in diagnosis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 infection. A negative result does not preclude infection with *Legionella pneumophila* serogroup 1. Test results are to be used in conjunction with information obtained from the patient's clinical evaluation and other diagnostic procedures.

### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

The genus Legionella was first described in 1976 after an outbreak of severe pneumonia at an American Legion Convention in Philadelphia.<sup>3</sup> Since then over 50 species within the Legionella genus have been described, with over 24 species associated with human disease.<sup>1</sup> Human disease caused by Legionella can range from severe pneumonia (Legionnaires' disease or LD) to a milder influenza-like syndrome (Pontiac Fever). Legionella spp. are important causes of community-acquired, nosocomial and travelers-associated disease and can occur both sporadically and in outbreak settings. Over 90% of the cases of LD are attributed to *Legionella pneumophila* serogroup 1 when the organism is isolated in culture.<sup>2</sup> The most common reservoirs for human infection with Legionella are man-made water systems. Person to person transmission of Legionella has never been demonstrated.<sup>1</sup> The pneumonia associated with LD cannot readily be distinguished from pneumonia caused by other microorganisms based solely on clinical parameters, hence clinicians rely on laboratory tests for the detection of LD. Laboratory tests available for the detection of LD include bacterial culture, DFA, serology and the urine antigen assay. Urine antigen tests are highly specific, moderately sensitive, rapid and can direct antibiotic therapy. They have become the most common assay used for the detection of LD.<sup>4</sup>

### BIOLOGICAL PRINCIPLES

Tru Legionella is a single use capture immunoassay to detect *Legionella pneumophila* serogroup 1 in human urine specimens. The test consists of a Conjugate Tube, a Test Strip, and Sample Diluent/Negative Control. The Conjugate Tube contains a lyophilized bead of colloidal gold-linked polyclonal antibody to *Legionella pneumophila* serogroup 1 detector antibody and polyclonal donkey anti-chicken IgY control detector antibody. The Test Strip carries a nitrocellulose membrane with dried capture antibodies placed at a designated Test Line for Legionella. The Test Strip holder caps the Conjugate Tube during testing and subsequent disposal to reduce exposure to potential pathogens.

The conjugate bead is first rehydrated in the Conjugate Tube with the Sample Diluent/Negative Control. Patient sample is then added, the contents mixed and the Test Strip added. *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigens, if present, bind to the antibody-colloidal gold conjugate. When the sample migrates up the Test Strip to the Test Line, the antigen-conjugate complex is bound to the capture antibody, yielding a pink-red line. When no antigen is present, no complexes are formed and no pink-red line appears at the Test Line. An internal control line helps determine whether the test has been executed properly and that adequate flow has occurred through the Test Strip during a test run. A visible pink-red line at the Control position of the Test Strip should be present each time a specimen or control is tested. If no pink-red control line is seen, the test is considered invalid.

### REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

*The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.*

1. **Test Strip:** A test strip attached to a plastic holder enclosed in a foil pouch with desiccant. The test strip carries anti-*Legionella pneumophila* serogroup 1 capture antibody for the test line. The holder is used to stopper the Conjugate Tube. The strip frame portion of the holder indicates where test and control lines should appear. Store the pouch at 2-27 C when not in use. Do not use a device if the desiccant indicator (line in center of desiccant) has changed from blue to pink.
2. **Conjugate Tube:** A capped plastic tube containing a conjugate bead. The tube is enclosed in a foil pouch. The conjugate consists of gold-conjugated anti-*Legionella pneumophila* serogroup 1, which serves as the detector antibody and polyclonal donkey anti-chicken IgY control detector antibody. Store the foil pouch at 2-27 C when not in use. Do not store in the freezer. Do not remove the cap until just before use.
3. **Sample Diluent/Negative Control:** A buffered protein solution provided in a plastic vial. Sodium azide (0.094%) added as a preservative. Use as supplied. Store at 2-27 C when not in use.
4. **Positive Control:** Inactivated *Legionella pneumophila* serogroup 1 in a buffered diluent containing sodium azide (0.094%) as a preservative. The reagent is supplied ready to use. Store at 2-27 C when not in use.
5. **Plastic transfer pipettes** (with 100, 200 and 300 µL volume marks).

### MATERIALS NOT PROVIDED

1. Disposable latex gloves (urine samples are considered potentially hazardous biological material.)
2. Vortex for suspending the specimen in the Sample Diluent (optional)
3. Interval timer
4. Marking pen
5. Optional: Urine preservative containing boric acid, such as the BD Vacutainer® C&S Preservative Plus Urine Tube

### PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. DO NOT interchange the Test Strips, Conjugate Tubes and Positive Control reagents from different kit lot numbers. The Sample Diluent/Negative Control can be interchanged between kits providing the reagents are within their expiration periods. Do not use any reagent beyond its labeled expiration date.
3. Do not use components that lack a label, lot number, or an expiration date.
4. Do not use any reagent if it is discolored or turbid. Discoloration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
5. Allow reagents to warm to 19-27 C before use.
6. All reagents should be mixed gently before use.
7. The Positive Control reagent vial should be held vertically when dispensing drops to ensure consistent drop size and delivery.
8. The transfer pipettes provided with the kit must be used for specimen preparation and transfer. Use one per specimen.
9. Any deviation below or above set incubation times may affect sensitivity and specificity and should be avoided.
10. Test Strips and Conjugate Tubes are packaged in foil pouches that exclude moisture during storage. Inspect each foil pouch before use. Do not use Test Strips or Conjugate Tubes in pouches that have holes or where the pouch has not been completely sealed. Do not use the Test Strip if the desiccant indicator has changed from blue to pink. The change in the desiccant color is an indicator the Test Device has been exposed to moisture. False-negative reactions may result if Test Strips or Conjugate Tubes are exposed to moisture.
11. All urine samples must be mixed thoroughly before testing to ensure a representative sample prior to pipetting.
12. *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigens may be relatively unstable. Care should be taken to store samples as indicated in this procedure. Even when samples are stored in the frozen state, the rate at which antigen deterioration occurs varies from sample to sample and cannot be predicted.
13. Sample Diluent/Negative Control must be added to the Conjugate Tube within one minute after removing the cap from the tube.

### WARNINGS

1. Patient specimens may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potential biohazards.
2. Dispose of all used test materials in an appropriate container. Treat waste as a potential biohazard.
3. Positive Control contains inactivated *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen but should be handled as if it were potentially infectious. This reagent contains 0.094% sodium azide. Sodium azide is a skin irritant. Avoid skin contact. Disposal of reagents containing sodium azide into drains consisting of lead or copper plumbing can result in the formation of explosive metal oxides. Eliminate build-up of oxides by flushing drains with large volumes of water during disposal.

### HAZARDS and PRECAUTIONARY STATEMENTS

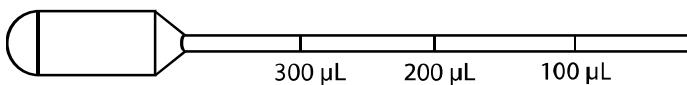
There are no known hazards associated with this product.

### SHELF LIFE AND STORAGE

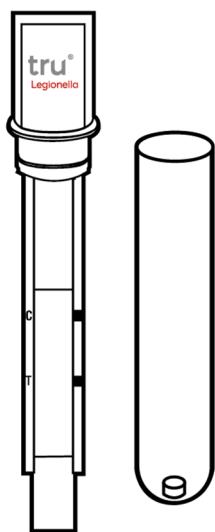
The kit expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-27 C.

## PROCEDURAL NOTES

The Tru Legionella transfer pipette is diagrammed below.



The Tru Legionella Test Strip and Conjugate Tube are diagrammed below.



## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

**Human urine samples, unpreserved:** Samples should be received in an airtight transport container and stored at 2-8 C prior to testing. Samples should be tested as soon as possible, but may be held up to seven days at 2-8 C. Samples that will not be tested within seven days should be frozen immediately upon receipt and stored at ≤ -20 C until tested. Samples may be frozen and thawed up to two times after storage at ≤ -20 C prior to testing.

**Human urine samples, boric acid preserved:** Samples should be received in an airtight Boric Acid Urine Tube and stored at 2-8 C prior to testing. Samples should be tested as soon as possible, but may be held up to seven days at 2-8 C. (See SPECIMEN PREPARATION section for instructions on boric acid preserved urine.) Samples that will not be tested within seven days should be frozen immediately upon receipt and stored at ≤ -20 C until tested. Samples may be frozen and thawed up to two times after storage at ≤ -20 C prior to testing.

## SPECIMEN PREPARATION

Mix urine thoroughly prior to pipetting. Bring specimens and reagents to room temperature (19-27 C) before testing.

### 1. Human urine samples, unpreserved and preserved:

- a. Remove one Conjugate Tube from its foil pouch and discard the pouch. Label the tube with the patient's name.
- b. Remove the cap from the Conjugate Tube and discard the cap.
- c. Using a transfer pipette supplied with the kit, immediately add 100 μL (first mark from the tip of the pipette) of Sample Diluent/Negative Control to the Conjugate Tube. Dispense directly into the center of the tube. Vortex or swirl the contents of the Conjugate Tube for 10 seconds.\*
- d. Mix patient sample thoroughly. Use one of the transfer pipettes supplied with the kit to mix the sample gently but thoroughly by squeezing the pipette bulb three times. Alternatively, mix for at least 10 seconds using a vortex mixer.
- e. Using the same pipette, draw 100 μL of specimen (first mark from the end of the pipette) and add it to the Conjugate Tube.
- f. Using the same pipette, mix the sample and conjugate thoroughly but gently by squeezing the pipette bulb three times. Alternatively, mix for at least 10 seconds using a vortex mixer. Discard the pipette.

\*Warning: Dilution errors may affect test performance. Failure to add sufficient urine sample to the Sample Diluent/Negative Control may result in falsely negative tests. Failure to add the full amount of Sample Diluent/Negative Control may result in falsely positive tests. Addition of too much sample may result in invalid test results due to the inhibition of proper sample flow.

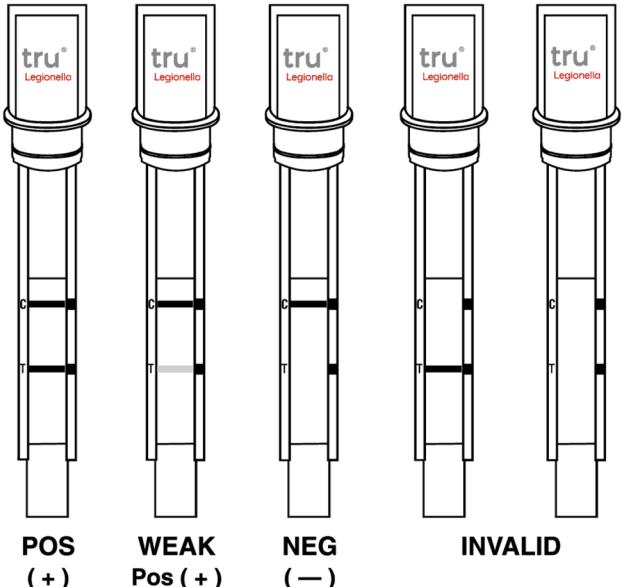
## TEST PROCEDURE

1. Remove the Test Strip from its foil pouch and discard the pouch. Visually inspect Test Strip. Do not use Test Strip if a green line is present.
2. Insert the narrow end of the Test Strip into the Conjugate Tube and firmly press down on the cap to close the tube.
3. Incubate at 19-27 C in an upright position in a rack for 20 minutes.
4. Read the results on the test strip within 1 minute. Do not read results beyond this period. (NOTE: Remove the Test Strip from the Conjugate Tube if Test or Control Lines are difficult to read. Recap the Conjugate Tube with the Test Strip holder and discard when testing is completed.)

## EXTERNAL CONTROL TESTS

1. Bring all test components, reagents and samples to room temperature (19-27 C) before testing.
2. Use 1 Conjugate Tube and 1 Test Strip for Positive Control testing and 1 Conjugate Tube and 1 Test Strip for Sample Diluent/Negative Control testing.
3. Remove the Conjugate Tubes from their foil pouches and label accordingly. Discard the pouches.
4. Remove the caps from the Conjugate Tubes and discard the caps.
5. Add exactly 5 drops of the Positive Control reagent to the Conjugate Tube marked for the Positive Control. The drops should be dispensed directly into the center of the tube.
6. Using 1 of the transfer pipettes supplied with the kit, add 200 μL (second mark from the end of the pipette tip) of Sample Diluent/Negative Control to the Conjugate Tube marked for the Negative Control. Add directly to the center of the tube.
7. Vortex or swirl the contents of the tubes for 10 seconds.
8. Remove 2 Test Strips from their foil pouches and discard the pouches.
9. Insert the narrow end of a Test Strip to each Conjugate Tube and firmly press down on the caps to close each tube.
10. Incubate both tubes at 19-27 C for 20 minutes.
11. Read the results on the test strip within 1 minute. Do not read results beyond this period. (NOTE: Remove the Test Strip from the Conjugate Tube if test or control lines are difficult to read. Recap the Conjugate Tube with the Test Strip holder and discard when testing is completed.)

## INTERPRETATION OF RESULTS



**Negative test:** A PINK-RED band at the Control Line position. No other bands are present.

**Positive test:** PINK-RED band of any color intensity at the Control and Legionella Test Line positions. The color of the Test Line can be lighter than that of the Control Line. Test Lines may appear strongly visible or may appear less strongly visible.

### Invalid test results:

1. No band at the designated position for the Control Line. The test is invalid since the absence of a control band indicates the test procedure was performed improperly.
2. A PINK-RED band appearing at the Test Line position of the device after 21 minutes of incubation, or a band of any color other than PINK-RED. Falsely positive results may occur if tests are incubated too long. Bands with colors other than PINK-RED may indicate reagent deterioration.

If any result is difficult to interpret, the test should be repeated with the same sample to eliminate the potential for error. Obtain a new sample and retest when the original sample repeatedly produces unreadable results.

## QUALITY CONTROL

### This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing or leakage. Do not use contaminated or suspect reagents.

### Internal procedural controls: Internal procedural controls are contained within the Test Strip and therefore are evaluated with each test.

1. A PINK-RED band appearing at the Control Line serves as a procedural control indicates the test has been performed correctly, and that proper flow occurred.
2. A clean background around the Control or Test Lines also serves as a procedural control. Control or Test Lines that are obscured by heavy background color may invalidate the test and may be an indication of reagent deterioration, use of an inappropriate sample or improper test performance.

### External Control reagents should be tested according to the requirements of the laboratory or applicable local, state or accrediting agencies.

1. See section EXTERNAL CONTROL TESTS for instructions on performing these control tests.
2. The reactivity of each new lot and each new shipment of Tru Legionella should be verified on receipt using external Positive and Negative Control reagents. The number of additional tests performed with external controls will be determined by the requirements of local, state or federal regulations or accrediting agencies.
3. The external controls are used to monitor reagent reactivity. Failure of the controls to produce the expected results can mean that one of the reagents or components is no longer reactive at the time of use, the test was not performed correctly, or that reagents or samples were not added. If the Positive or Negative External Controls fail, do not report test results to the clinician.
4. The results expected with the Controls are described in the section on INTERPRETATION OF RESULTS.
5. The kit should not be used if control tests do not produce the correct results. If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If the control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
6. Positive and Negative Control reagents manufactured for this assay are prepared in the matrix of the Sample Diluent/Negative Control, which may not mimic test specimens. If control materials that are identical in composition to test specimens are preferred, the user can prepare those by diluting known positive and negative specimens in Sample Diluent/Negative Control according to the SPECIMEN PREPARATION section of this insert.

Note: The positive and negative controls reagents (Cat. No. 7949 and 7950) provided with the Tru Legionella kit have been internally validated. The manufacturer is not responsible for results obtained using this device with any other not validated control.

## EXPECTED VALUES

*Legionella pneumophila* serogroup 1 is an important cause of travel, community and hospital acquired pneumonia worldwide. Legionnaires' disease (LD) is known to occur sporadically and in outbreak settings. Recent data indicates that 0.5-5.0% of adults hospitalized for pneumonia has LD. Approximately 8,000-18,000 cases of LD occur each year in the USA.<sup>2,3</sup>

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the intensity of the positive Test Line when reporting the result.
2. Tru Legionella cannot be used as the sole means of determining *Legionella pneumophila* infection. Test results must be used in conjunction with information available from the patient clinical evaluation and other diagnostic procedures.
3. Overincubation of tests may lead to an increase in false-positive test results. Conversely, incubation for periods less than those defined in this insert can result in an increase in false-negative tests. Follow incubation times defined in this insert.
4. Tru Legionella detects both viable and non-viable *Legionella pneumophila* serogroup 1. The appearance of Tru Legionella positive tests depends on the antigen load in the specimen; therefore a Tru Legionella positive test may not always correlate with the results of bacterial culture.
5. The antibodies used in the test may not detect all antigenic variants or new strains of *Legionella pneumophila* serogroup 1.
6. A negative test result does not exclude infection with *Legionella pneumophila* serogroup 1 nor does it rule out other microbial-caused respiratory infections or disease caused by serogroups of *Legionella pneumophila* other than serogroup 1. A positive test result does not rule out coinfection with other microbes.
7. The Tru Legionella assay is prescription use only.
8. The Tru Legionella is intended for use with urine specimens. Use of this assay is not recommended with other specimens.
9. A positive result implies the presence of antigen to *Legionella pneumophila* serotype 1, however, all test results should be reviewed in light of other clinical data by the physician.
10. The Tru Legionella assay is not intended for monitoring therapy.
11. Performance characteristics are not established for patients younger than 21 years of age.
12. The performance of the Tru Legionella assay has only been established for manual reading and/or visual result determination.

#### SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance characteristics for the Tru Legionella assay were established in 2011. A total of 350 qualified patient samples were evaluated; 227 specimens were retrospective frozen samples and 123 specimens were prospective samples. One hundred and forty two (142) retrospective frozen samples were from a well-characterized specimen panel, collected from patients with confirmed Legionnaires Disease and previously confirmed non-Legionella cases; the remaining retrospective samples were from patient samples that had been previously submitted for Legionella testing. Samples were collected from males (63.4%) and females (36.6%). No differences in test performance were observed based on gender. Specimens were collected from patients with an age range from 23 years to 96 years. Table 1 compares the performance of the Tru Legionella assay for all specimens to the predicate assay. Table 2 compares the performance of the Tru Legionella assay to the predicate assay for retrospective specimens only. Table 3 compares the performance of the Tru Legionella assay to the predicate assay for prospective specimens only.

**Table 1: Percent agreement of Tru Legionella to Predicate Assay for Retrospective and Prospective Specimens from Patients > 21 years of age**

		Predicate Assay		
Tru Legionella		Positive	Negative	Total
	Positive	106	0	106
	Negative	5	239	244
	Total	111	239	350
				<b>95% CI</b>
<b>Positive Agreement</b>		106/111	95.5%	89.9 – 98.1%
<b>Negative Agreement</b>		239/239	100.0%	98.4 – 100.0%
<b>Overall Agreement</b>		345/350	98.8%	97.3 – 99.5%

**Table 2: Percent agreement of Tru Legionella to Predicate Assay for Retrospective Specimens from Patients > 21 years of age**

		Predicate Assay		
Tru Legionella		Positive	Negative	Total
	Positive	101	0	101
	Negative	5	121	126
	Total	106	121	227
				<b>95% CI</b>
<b>Positive Agreement</b>		101/106	95.3%	89.4 – 98.0%
<b>Negative Agreement</b>		121/121	100.0%	96.9 – 100.0%
<b>Overall Agreement</b>		222/227	97.8%	94.9 – 99.1%

**Table 3: Percent agreement of Tru Legionella to Predicate Assay for Prospective Specimens from Patients > 21 years of age**

		Predicate Assay		
Tru Legionella		Positive	Negative	Total
	Positive	5	0	5
	Negative	0	118	118
	Total	5	118	123
				<b>95% CI</b>
<b>Positive Agreement</b>		5/5	100.0%	56.6 – 100.0%
<b>Negative Agreement</b>		118/118	100.0%	96.8 – 100.0%
<b>Overall Agreement</b>		123/123	100.0%	97.0 – 100.0%

#### REPRODUCIBILITY

Assay precision, intra-assay variability, and inter-assay variability were assessed with a reference panel prepared from pools of negative samples spiked with *L. pneumophila* antigen. The reproducibility panel consisted of moderately positive (n=3), low positive (n=3), high negative (n=3), and negative (n=1) specimens. The low positive and high negative specimens were prepared near the assay cutoff. Each sample was evaluated twice per day for five days by three different laboratories. Reproducibility was 100% with no inter-assay or intra-assay variability for samples prepared above or below the limit of detection for this assay.

#### CROSSREACTIVITY STUDIES

Crossreactivity studies were performed with positive and negative urine specimens inoculated with bacterial or fungal organisms to a final concentration of  $1.2 \times 10^8$  CFU/mL or viral concentration greater than  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL. None of the following organisms in urine reacted with Tru Legionella:

*Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemani*, *Legionella dumoffii*, *Legionella feeleii*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila* serogroup 2 Togus, *Legionella pneumophila* serogroup 3 Bloomington, *Legionella pneumophila* serogroup 4, *Legionella pneumophila* serogroup 5, *Legionella pneumophila* serogroup 6, *Morganella morganii*, *Moraxella osloensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* groups A, B, D, F, G, *Streptococcus pneumoniae*, Adenovirus, Coxsackievirus, Influenza A, Influenza B, Parainfluenza Virus, Respiratory Syncytial Virus A, Respiratory Syncytial Virus B.

#### ASSAY SPECIFICITY

The following *L. pneumophila* stock cultures from different sources were tested and produced positive reactions at a minimum concentration of  $4.8 \times 10^6$  CFU/mL with the Tru Legionella assay:

Pontiac subgroup: CCUG 13395; NCTC 12024, Allentown 1; NCTC 12006, Benidorm; CCUG 33058, Knoxville; NCTC 12007, France.

Non-Pontiac subgroup: NCTC 12008, OLDA; NCTC 12098, Camperdown; NCTC 12025, Heysham; NCTC 12009, Oxford.

#### ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of the Tru Legionella assay was assessed using two strains of *L. pneumophila*. The organisms tested and the analytical sensitivities are listed in the table below.

Strain ID	Limit of Detection (LoD)
Philadelphia strain (Pontiac subgroup; ATCC 33152)	$3.76 \times 10^5$ CFU/mL
Bellingham strain (non-Pontiac subgroup; NCTC 11404)	$5.2 \times 10^5$ CFU/mL

#### TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances, at the specified saturated solvent/diluent concentrations, do not interfere with the test results in the final concentrations listed:

Amphotericin B (0.22 mg/mL), Antihistamine [Diphenhydramine HCl (0.22 mg/mL)], Ascorbic acid (1.0 mg/mL), Beet Juice Powder (0.01%), Bilirubin (0.2 mg/mL), Boric acid (2.63 mg/mL), Caffeine, purified (0.4%), Chlorophyll (0.81 mg/mL), Ciprofloxacin (0.22 mg/mL), Cold/flu tablets [Acetaminophen (50 mg/mL), Chlorpheniramine maleate (0.2 mg/mL), Phenylephrine hydrochloride (0.5 mg/mL)], Cough drops [Menthol (0.22 mg/mL)], Cough syrup [Dextromethorphan HBr (0.20 mg/mL), Guifenesin (2.0 mg/mL)], Decongestant [Phenylephrine HCl (0.22 mg/mL)], Erythromycin (0.067 mg/mL), Glucose (20 mg/mL), Itraconazole (0.22 mg/mL), Miconazole (5%), Oxalic acid (0.01%), Prednisone (0.22 mg/mL), Protein [BSA (5 mg/mL)], Pseudoephedrine [Pseudoephedrine HCl (0.01 mg/mL)], Rifampicin (0.09 mg/mL), Tobacco (0.4%), Urea (20 mg/mL), Vaginal contraceptive gel containing 4% Nonoxynol-9 (5% v/v), Water-based personal lubricant (K-Y®) (5% v/v), White blood cells (10%), and Whole blood (10%).



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,9775 B2)

**Test immunologico rapido per la rilevazione degli antigeni di *Legionella pneumophila* Sierogruppo 1 nei campioni di urina umana**

REF 751930

IVD

Rx Only

**FINALITÀ D'USO**

Tru Legionella è un test immunologico a flusso laterale, rapido, in vitro, per la rilevazione qualitativa dell'antigene di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 nei campioni di urina umana. È stato ideato per analizzare i campioni di pazienti che manifestano sintomi di polmonite. I risultati dei test utilizzati sono da utilizzarsi come ausilio nella diagnosi delle infezioni da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1. Un risultato negativo non preclude l'infezione da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1. I risultati dei test devono essere utilizzati insieme alle informazioni ottenute dalla valutazione clinica del paziente e ad altre procedure diagnostiche.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST**

Il genere *Legionella* fu descritto per la prima volta nel 1976 in seguito ad uno scoppio di gravi casi di polmonite durante il Congresso della Legione Americana a Filadelfia.<sup>3</sup> Da allora sono state descritte oltre 50 diverse specie di *Legionella* e oltre 24 specie sono state associate a patologie umane.<sup>1</sup> Le patologie umane provocate da *Legionella* comprendono gravi casi di polmonite (la Malattia del Legionario o LD) come pure sindromi simili ad una leggera influenza (Febbre di Pontiac). Il microrganismo *Legionella* spp è responsabile di patologie acquisite in comunità, malattie nosocomiali e malattie legate ai viaggi e può manifestarsi sia in casi sporadici che in casi epidemici. Oltre il 90% dei casi di LD è attribuibile a *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 quando l'organismo viene isolato in coltura.<sup>2</sup> I più comuni focolai di infezione da *Legionella* nei casi umani sono gli impianti idrici fabbricati dall'uomo. Non è stato mai dimostrato che la *Legionella* possa trasmettersi per contagio da un soggetto ad un altro.<sup>1</sup> Poiché non si possono distinguere i casi di polmonite associata a LD dai casi dovuti ad altri microrganismi basandosi solo su parametri clinici, per la rilevazione di LD il clinico fa affidamento sui test di laboratorio. I test di laboratorio disponibili per la rilevazione di LD comprendono test di coltura batterica, DFA, sierologia e test dell'antigene urinario. I test dell'antigene urinario sono altamente specifici, moderatamente sensibili, rapidi e possono indirizzare una terapia a base di antibiotici. Sono infatti diventati i test di uso più comune per la rilevazione di LD.<sup>4</sup>

**PRINCIPI BIOLOGICI**

Tru Legionella è un test monouso di cattura utilizzato per la rilevazione di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 nei campioni di urina umana. Il dispositivo test consiste in una provetta di coniugato, una striscia reattiva e un diluente per campioni/controllo negativo. La provetta del coniugato contiene un granulo ricoperto di gocce d'oro legato all'anticorpo policlonale rilevatore di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 e all'anticorpo di controllo policlonale IgY di asino anti-pollo. La striscia reattiva contiene una membrana di nitrocellulosa con anticorpi di cattura a secco disposti lungo la linea definita per il test Legionella. Il portastriscia serve a sigillare la provetta del coniugato durante le analisi e il successivo smaltimento per limitare l'esposizione a potenziali agenti patogeni.

Il granulo di coniugato viene prima idratato nella provetta di coniugato utilizzando il diluente per campioni/controllo negativo. Quindi viene aggiunto il campione del paziente, il tutto viene mescolato e viene aggiunta la striscia reattiva. Se gli antigeni *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sono presenti, si legano al complesso coniugato anticorpo-oro colloide. Quando il campione migra verso l'alto attraverso la striscia reattiva sino a raggiungere la linea di analisi, il complesso antigeno-coniugato si lega all'anticorpo di cattura producendo una linea rosa-rossa. Quando l'antigene non è presente, non si formano complessi e non appare la linea rosa-rossa. La linea di controllo interna aiuta a stabilire se il test è stato eseguito correttamente e se durante il test si è ottenuto un flusso adeguato sulla striscia reattiva. Ogni qualvolta viene analizzato un campione, o un controllo, appare una linea rosa-rossa lungo la posizione del controllo sulla striscia reattiva. Se tale linea di controllo non appare, il test non è valido.

**REAGENTI/MATERIALI FORNITI**

**Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.**

- Striscia reattiva:** striscia reattiva fissata ad un portastriscia di plastica racchiusa in un sacchetto di alluminio contenente desiccante. La striscia reattiva contiene un anticorpo di cattura anti-*Legionella pneumophila* sierogruppo 1 in corrispondenza alla linea di analisi. Il portastriscia viene usato per chiudere la provetta del coniugato. Il portastriscia indica il punto dove devono apparire le linee di analisi e di controllo. Quando non viene utilizzato conservare il sacchetto a 2-27 C. Non usare nessun dispositivo se l'indicatore del desiccante (una linea al centro del desiccante) cambia colore da blu a rosa.
- Provetta del coniugato:** provetta di plastica munita di cappuccio contenente un granulo di coniugato. La provetta è racchiusa in un sacchetto di alluminio. Il coniugato consiste in un anticorpo anti-*Legionella pneumophila* sierogruppo 1 coniugato con oro colloide, che funge da anticorpo rilevatore e all'anticorpo di controllo policlonale IgY di asino anti-pollo. Quando non viene utilizzato conservare il sacchetto a 2-27 C. Non congelare. Non togliere il cappuccio sino al momento dell'uso.
- Diluente per campioni/Controllo negativo:** soluzione proteica tamponata contenuta in una fiala di plastica. È stato aggiunto sodio azide (0,094%) come conservante. Utilizzare il prodotto come è stato fornito. Quando non viene utilizzato conservare il prodotto a 2-27 C.
- Controllo positivo:** *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 inattivata in diluente tamponato contenente sodio azide (0,094%) come conservante. Il reattivo è pronto per l'uso. Quando non viene utilizzato conservare il prodotto a 2-27 C.
- Pipette da trasferimento in plastica** (con tacche volumetriche da 100, 200 e 300 µL).

**MATERIALI NON FORNITI**

- Guanti di lattice monouso (i campioni di urine sono considerati materiale biologico potenzialmente pericoloso)
- Vortex per la sospensione dei campioni nel Diluente per campioni (opzionale)
- Timer
- Pennarello
- Opzionale: conservante per urine contenente acido borico, come ad esempio la provetta per urine BD Vacutainer® C&S Preservative Plus

**PRECAUZIONI**

- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- NON scambiare le strisce reattive, le provette del coniugato e i reagenti di controllo positivo con quelli provenienti da lotti diversi. Il diluente per campioni/controllo negativo possono essere scambiati purché usati entro la data di scadenza. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Non utilizzare componenti sprovvisti di etichetta che non indicano il lotto del regente o la data di scadenza.
- Non utilizzare i reagenti che appaiono scoloriti o torbidi. Scolorimento o torbidità potrebbero essere segni di contaminazione micobica.
- Lasciare che i reagenti raggiungano la temperatura di 19-27 C prima dell'uso.
- Mescolare delicatamente i reagenti prima dell'uso.
- Il flacone di Controllo Positivo va tenuto in posizione verticale quando si dispensa il prodotto per essere sicuri che le gocce fuoriescano tutte con la stessa dimensione e con lo stesso ritmo di somministrazione.
- Le pipette di trasferimento fornite con il kit vanno utilizzate per la preparazione e il trasferimento dei campioni. Usare una pipetta per ogni campione.
- Qualsiasi deviazione al di sopra o al di sotto dei tempi di incubazione impostati potrebbe pregiudicare la sensibilità e la specificità del test e pertanto vanno evitate.
- Le strisce reattive e le provette di coniugato sono racchiuse in sacchetti di alluminio che proteggono dall'umidità durante la conservazione. Controllare ogni sacchetto di alluminio prima dell'uso. Non usare le strisce test o le provette con coniugato se le buste di alluminio presentano fori o non appaiono completamente sigillate. Non usare la striscia per le analisi se l'indicatore dell'essiccatore ha cambiato colore, da blu a rosa. Il cambiamento di colore del desiccante indica che il dispositivo per il test è stato esposto all'umidità. Se le strisce reattive o le provette di coniugato vengono esposte all'umidità potrebbero verificarsi reazioni falso-negative.
- I campioni di urine devono essere mescolati a fondo prima delle analisi per garantire un campione rappresentativo prima di pipettare.
- Gli antigeni *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 possono essere relativamente instabili. Conservare con cura i campioni come indicato in questa procedura. Anche quando i campioni vengono conservati congelati, la velocità con cui l'antigene si deteriora varia da un campione all'altro e non può essere prevista.
- Il Diluente per campioni/Controllo negativo deve essere aggiunto alla provetta del coniugato entro un minuto dopo aver tolto il cappuccio dalla provetta.

**AVVERTENZE**

- I campioni dei pazienti potrebbero contenere agenti infettivi e pertanto vanno maneggiati e smaltiti come sostanze a potenziale rischio biologico.
- Smaltire tutti i materiali usati per le analisi in un apposito contenitore. Trattare i rifiuti come materiali a potenziale rischio biologico.
- Il Controllo positivo contiene antigene *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 inattivato, tuttavia deve essere maneggiato come se fosse potenzialmente infettivo. Questo reagente contiene sodio azide allo 0,094%. Il sodio azide irrita la pelle. Evitare il contatto cutaneo. Lo smaltimento dei reagenti contenenti sodio azide negli scarichi con impianti idraulici di piombo o rame può provocare la formazione di ossidi di metallo esplosivi. Eliminare gli accumuli di ossidi facendo scorrere grosse quantità d'acqua negli scarichi durante lo smaltimento.

**DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA**

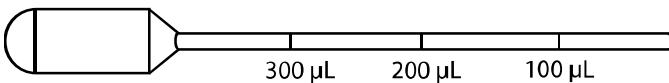
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

**STABILITÀ E CONSERVAZIONE**

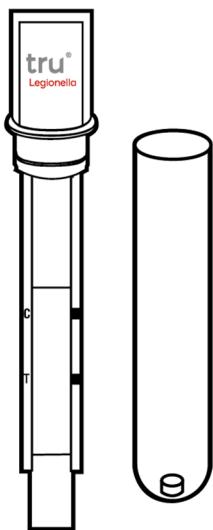
La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-27 C.

## NOTE PROCEDURALI

La pipetta di trasferimento Tru Legionella è di seguito raffigurata.



La striscia reattiva Tru Legionella e la provetta del coniugato sono di seguito raffigurate.



## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

**Campioni di urina umana, senza conservanti:** I campioni devono essere consegnati in un contenitore da trasporto con chiusura ermetica e conservati a 2-8 °C prima delle analisi. I campioni devono essere analizzati il più presto possibile, ma possono essere mantenuti fino a sette giorni a 2-8 °C. I campioni che non saranno analizzati entro sette giorni dovranno essere congelati immediatamente al momento della consegna e conservati a ≤ -20 °C fino all'esecuzione delle analisi. I campioni possono essere congelati e scongelati massimo due volte dopo essere stati conservati a ≤ -20 °C prima dell'analisi.

**Campioni di urina umana, con acido borico come conservante:** I campioni devono essere consegnati in una provetta per urina con acido borico e conservati a 2-8 °C prima delle analisi. I campioni devono essere analizzati il più presto possibile, ma possono essere mantenuti fino a sette giorni a 2-8 °C. (vedi la sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI per le istruzioni relative alle urine conservate con acido borico). I campioni che non saranno analizzati entro sette giorni dovranno essere congelati immediatamente al momento della consegna e conservati a ≤ -20 °C fino all'esecuzione delle analisi. I campioni possono essere congelati e scongelati massimo due volte dopo essere stati conservati a ≤ -20 °C prima dell'analisi.

## PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Miscelare a fondo l'urina prima di pipettare. Portare i campioni e i reagenti a temperatura ambiente (19-27 °C) prima di eseguire le analisi.

### 1. Campioni di urina umana, senza conservanti e con conservanti:

- a. Estrarre una provetta di coniugato dal sacchetto di alluminio e gettare il sacchetto. Applicare un'etichetta con il nome del paziente sulla provetta.
- b. Togliere il cappuccio dalla provetta del coniugato e gettare il cappuccio.
- c. Utilizzando la pipetta di trasferimento fornita con il kit, aggiungere immediatamente 100 µL (prima tacca dalla punta della pipetta) di Diluente per campioni/Controllo Negativo nella provetta del coniugato. Dispensare direttamente nel centro della provetta. Agitare con il vortex o mescolare il contenuto della provetta del coniugato per 10 secondi.\*
- d. Mescolare a fondo il campione. Utilizzare una delle pipette di trasferimento fornite con il kit per mescolare il campione delicatamente, ma a fondo, stringendo il bulbo della pipetta tre volte. Alternativamente, si può mescolare il campione per almeno 10 secondi utilizzando un miscelatore vortex.
- e. Utilizzando la stessa pipetta, prelevare 100 µL di campione (prima tacca dal fondo della pipetta) e aggiungerlo alla provetta del coniugato.
- f. Utilizzando la stessa pipetta, mescolare a fondo, ma delicatamente, il campione e il coniugato stringendo il bulbo della pipetta tre volte. Alternativamente, mescolare per almeno 10 secondi utilizzando un miscelatore vortex. Gettare la pipetta.

\*Avvertenza: Errori di diluizione potrebbero pregiudicare le prestazioni del test. Aggiungendo una quantità insufficiente di urina al Diluente per campioni/Controllo negativo si potrebbero ottenere risultati falso negativi. Aggiungendo una quantità insufficiente di Diluente per campioni/Controllo negativo si potrebbero ottenere risultati falso positivi. Aggiungendo una quantità eccessiva di campione si potrebbero ottenere risultati non validi dovuti all'inibizione di un corretto flusso del campione.

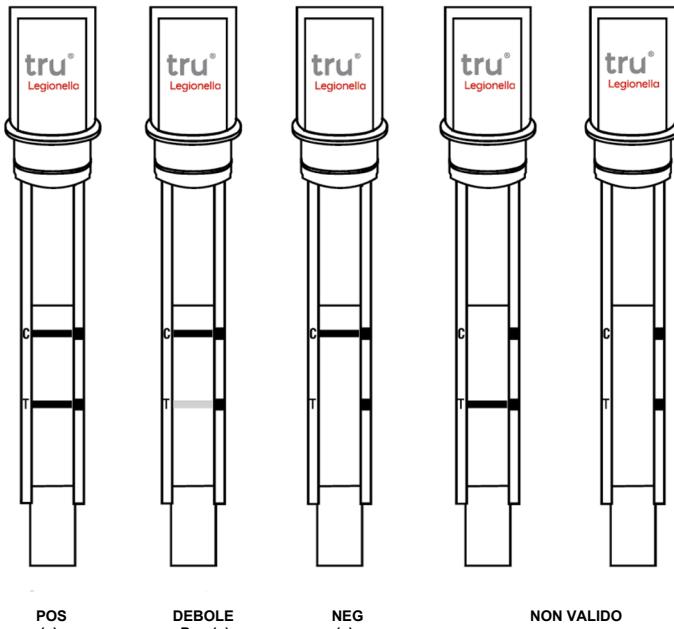
## PROCEDURA DEL TEST

1. Estrarre la striscia reattiva dal sacchetto di alluminio e gettare il sacchetto. Controllare visivamente la striscia reattiva. Non usare la striscia se è presente una linea verde.
2. Inserire l'estremità più stretta della striscia reattiva nella provetta del coniugato e spingere il cappuccio per chiudere la provetta.
3. Incubare per 20 minuti a 19-27 °C in posizione verticale in un porta-provette.
4. Leggere i risultati sulla striscia entro 1 minuto. Non leggere i risultati oltre questo lasso di tempo. (NOTA: estrarre la striscia reattiva dalla provetta del coniugato se le linee di analisi o di controllo sono difficili da leggere. Rimettere il cappuccio sulla provetta del coniugato utilizzando il portastriscia e gettare via quando il test è stato completato.)

## TEST DI CONTROLLO ESTERNO

1. Prima di eseguire le analisi, portare a temperatura ambiente (19-27 °C) tutti i componenti del test, reagenti e campioni.
2. Utilizzare 1 provetta di coniugato e 1 striscia reattiva per le analisi con il Controllo positivo e 1 provetta di coniugato e 1 striscia reattiva per le analisi con il Diluente per campioni/Controllo negativo.
3. Estrarre le provette di coniugato dai sacchetti di alluminio e applicare l'etichetta appropriata. Gettare i sacchetti.
4. Togliere i cappucci dalle provette del coniugato e gettare i cappucci.
5. Aggiungere esattamente 5 gocce di reagente Controllo positivo alla provetta del coniugato contrassegnata per il Controllo positivo. Le gocce devono essere dispensate direttamente nel centro della provetta.
6. Utilizzando 1 delle pipette di trasferimento fornite con il kit, aggiungere 200 µL (seconda tacca dall'estremità della punta della pipetta) di Diluente per campioni/Controllo negativo nella provetta del coniugato contrassegnata per il Controllo negativo. Aggiungere direttamente nel centro della provetta.
7. Agitare con il vortex o mescolare il contenuto delle provette per 10 secondi.
8. Estrarre 2 strisce reattive dai sacchetti di alluminio e gettare i sacchetti.
9. Inserire l'estremità più stretta di una striscia reattiva in ogni provetta di coniugato e spingere i cappucci per chiudere le provette.
10. Incubare entrambe le provette a 19-27 °C per 20 minuti.
11. Leggere i risultati sulla striscia entro 1 minuto. Non leggere i risultati oltre questo lasso di tempo. (NOTA: estrarre la striscia reattiva dalla provetta del coniugato se le linee di analisi o di controllo sono difficili da leggere. Rimettere il cappuccio sulla provetta del coniugato con portastriscia e gettare via il tutto quando il test è stato completato.)

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



**Test negativo:** Una banda ROSA-ROSSA sulla posizione della linea di controllo. Non sono presenti altre bande.  
**Test positivo:** Una banda di qualsiasi intensità ROSA-ROSSA sulle posizioni della linea di controllo e di analisi Legionella. Il colore della linea di analisi può essere più chiaro di quello della linea di controllo. Le linee di analisi positive possono apparire molto intense ed evidenti o deboli e meno evidenti.

### Risultati di analisi non validi:

1. Non appare alcuna banda sulla posizione designata alla linea di controllo. Il test non è valido in quanto l'assenza di una banda di controllo indica che la procedura di analisi è stata eseguita in modo non corretto.
2. Appare una banda ROSA-ROSSA, o una banda di un colore diverso, sulla posizione della linea di analisi del dispositivo dopo 21 minuti di incubazione. Se i test vengono incubati troppo a lungo si possono ottenere risultati falso positivi. Le bande con colori diversi dal ROSA-ROSSO potrebbero indicare il deterioramento dei reagenti.

**Se i risultati sono difficili da interpretare, ripetere l'analisi utilizzando lo stesso campione per eliminare eventuali errori. Quando però il campione originale produce ripetutamente risultati illeggibili, procurarsi un nuovo campione ed eseguire una nuova analisi.**

### CONTROLLO QUALITÀ

**Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, statali, nazionali o dagli enti di accreditamento.**

Ogni volta, prima dell'uso, esaminare i componenti del kit e verificare che non vi siano segni di contaminazione microbica, di congelamento o perdite. Non utilizzare reagenti contaminati o sospetti.

### Controlli procedurali interni: I controlli procedurali interni sono integrati all'interno della striscia reattiva e pertanto vengono valutati con ciascuna analisi.

1. La comparsa di una banda ROSA-ROSSA sulla linea di controllo funge da controllo procedurale indica che il test è stato eseguito correttamente, e che si è registrato un flusso adeguato.
2. Anche uno sfondo chiaro intorno alle linee di controllo o di analisi funge da controllo procedurale. Le linee di controllo o di analisi che sono oscurate da uno sfondo pesantemente colorato potrebbero invalidare il test e potrebbero indicare il deterioramento dei reagenti, l'uso di un campione inadeguato o un'incorrecta prestazione del test.

### I reagenti di controllo esterno devono essere analizzati osservando i requisiti stabiliti dal laboratorio o dai competenti enti locali, statali o dagli enti di accreditamento.

1. Vedi la sezione TEST DI CONTROLLO ESTERNO per le istruzioni relative alla procedura di questi test di controllo.
2. La reattività di ogni nuovo lotto e di ogni nuova spedizione di Tru Legionella dovrebbe essere verificata al momento della consegna utilizzando reagenti di controllo positivi e negativi. Il numero di test addizionali che saranno eseguiti con i controlli esterni sarà determinato in base ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, statali, nazionali o dagli enti di accreditamento.
3. I controlli esterni vengono impiegati per monitorare la reattività dei reagenti. Se i controlli non producono i risultati attesi vuol dire che uno dei reagenti, o dei componenti, non era più reattivo al momento dell'uso, che il test non è stato eseguito correttamente, o che non sono stati aggiunti i reagenti o i campioni. Se i controlli esterni positivi o negativi non forniscono i risultati attesi, non è possibile riportare i risultati delle analisi sui campioni al personale clinico.
4. I risultati attesi con i controlli sono descritti nella sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI.
5. Il kit non deve essere utilizzato se i test di controllo non producono i risultati corretti. **Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo.**

**Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale, (in Italia +390331433636).**

6. I reagenti di controllo positivi e negativi prodotti per questi test sono stati preparati nella matrice del Diluente dei campioni/Controllo negativo, che potrebbe non replicare esattamente i campioni reali da analizzare. Se si preferisce usare materiali di controllo che hanno la stessa identica composizione dei campioni, l'utente può prepararli diluendo campioni noti positivi e negativi nel Diluente dei campioni/Controllo negativo secondo le istruzioni indicate nella sezione PREPARAZIONE DEI CAMPIONI in questo inserto illustrativo.

**Nota:** I reagenti di controllo positivo e negativo (n. cat. 7949 e 7950) forniti con il kit Tru Legionella sono stati convalidati internamente. Il produttore non sarà responsabile dei risultati ottenuti utilizzando questo dispositivo con qualsiasi altro controllo non convalidato.

### VALORI ATTESI

*Legionella pneumophila* sierogruppo 1 è una tra le principali cause di polmoniti contratte durante i viaggi, in comunità o in ospedale. La Malattia del Legionario (LD) è nota per manifestarsi sia in casi sporadici che in casi epidemici. Dati recenti indicano che lo 0,5-5,0% degli adulti ricoverati in ospedale per polmonite ha contratto la LD. Negli Stati Uniti ogni anno si registrano circa 8.000-18.000 casi di LD.<sup>2,3</sup>

### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test è qualitativo, pertanto quando si riportano i risultati non si devono formulare interpretazioni quantitative in merito all'intensità della linea di analisi.
2. Il test Tru Legionella non può essere utilizzato come unico mezzo per determinare le infezioni di *Legionella pneumophila*. I risultati delle analisi devono essere utilizzati insieme alle informazioni ottenute dalla valutazione clinica del paziente e da altre o procedure diagnostiche.
3. Tempi eccessivi di incubazione possono determinare un incremento dei risultati falso positivi delle analisi. Al contrario, tempi di incubazione inferiori a quelli indicati in questo inserto possono determinare un incremento dei risultati falso negativi. Attenersi ai tempi di incubazione indicati in questo inserto.
4. Il test Tru Legionella rileva la *Legionella pneumophila* sierogruppo 1 sia vitale che non vitale. La comparsa di test positivi di Tru Legionella dipende dalla concentrazione di antigene nel campione; pertanto un test positivo di Tru Legionella non sempre potrebbe correlarsi ai risultati di una coltura batterica.
5. Gli anticorpi impiegati nel test potrebbero non rilevare tutte le varianti antigeniche o nuovi ceppi di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1.
6. I risultati negativi di un test non escludono le infezioni da *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, né escludono altre infezioni respiratorie di origine microbica o malattie causate da sierogruppi di *Legionella pneumophila* diversi dal sierogruppo 1. I risultati positivi di un test non escludono la coinfezione causata da altri microbi.
7. Il test Tru Legionella è da utilizzarsi in seguito a richiesta del medico.
8. Il test Tru Legionella è da utilizzarsi solo per l'analisi di campioni urinari. L'utilizzo su altri tipi di campioni non è raccomandato.
9. Un risultato positivo implica la presenza di antigene di *Legionella pneumophila* sierogruppo 1, comunque tutti i risultati dei test dovrebbero essere valutati dal medico alla luce dai dati clinici disponibili.
10. Il test Tru Legionella non deve essere utilizzato per il monitoraggio della terapia.
11. Le prestazioni del test non sono state stabilite per pazienti di età inferiore ai 21 anni.
12. Le prestazioni del test Tru Legionella sono state determinate solo con l'utilizzo manuale e la lettura visiva.

## PRESTAZIONI SPECIFICHE

Le prestazioni caratteristiche del test Tru Legionella sono state stabilite nel 2011. Sono stati esaminati 350 campioni di pazienti; tutti i campioni erano stati precedentemente congelati; 227 erano campioni retrospettivi congelati, 123 erano campioni prospettici. Centoquarantadue (142) campioni retrospettivi congelati provenivano da un pannello ben caratterizzato, ottenuto da pazienti con Malattia del Legionario e da pazienti precedentemente confermati come non affetti. I rimanenti campioni retrospettivi provenivano da pazienti precedentemente sottoposti a test per Legionella. I campioni sono stati raccolti da pazienti maschi (63,4%) e femmine (36,6%). Non è stata notata nessuna differenza nelle prestazioni del test in base al sesso dei pazienti. I campioni sono stati raccolti da pazienti di età compresa tra 23 e 96 anni. La Tabella 1 compara le prestazioni del test Tru Legionella rispetto al test di riferimento per tutti i campioni. La Tabella 2 compara le prestazioni del test Tru Legionella rispetto al test di riferimento per i soli campioni retrospettivi. La Tabella 3 compara le prestazioni del test Tru Legionella rispetto al test di riferimento per i soli campioni prospettici.

**Tabella 1: Percentuali di concordanza del test Tru Legionella con il test di riferimento - campioni retrospettivi e prospettici di pazienti di età superiore a 21 anni**

Tru Legionella	Test di Riferimento		
	Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	106	
	Negativo	5	
<b>Totale</b>	111	239	350
<b>Concordanza Positiva</b>	106/111	95,5%	89,9 – 98,1%
<b>Concordanza Negativa</b>	239/239	100,0%	98,4 – 100,0%
<b>Concordanza globale</b>	345/350	98,8%	97,3 – 99,5%

**Tabella 2: Percentuali di concordanza del test Tru Legionella con il test di riferimento - campioni retrospettivi di pazienti di età superiore a 21 anni**

Tru Legionella	Test di Riferimento		
	Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	101	
	Negativo	5	
<b>Totale</b>	106	121	227
<b>Concordanza Positiva</b>	101/106	95,3%	89,4 – 98,0%
<b>Concordanza Negativa</b>	121/121	100,0%	96,9 – 100,0%
<b>Concordanza globale</b>	222/227	97,8%	94,9% – 99,1%

**Tabella 3: Percentuali di concordanza del test Tru Legionella con il test di riferimento - campioni prospettici di pazienti di età superiore a 21 anni**

Tru Legionella	Test di Riferimento		
	Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	5	
	Negativo	0	
<b>Totale</b>	5	118	123
<b>Concordanza Positiva</b>	5/5	100,0%	56,6 – 100,0%
<b>Concordanza Negativa</b>	118/118	100,0%	96,8 – 100,0%
<b>Concordanza globale</b>	123/123	100,0%	97,0 – 100,0%

## RIPRODUCIBILITÀ

La precisione del test, la variabilità intra-saggio e quella inter-saggio sono state valutate con un pannello di riferimento ricavato da un pool di campioni negativi inoculati con l'antigene *L. pneumophila*. Il pannello di riproducibilità comprendeva campioni moderatamente positivi (n=3), basso positivi (n=3), alto negativi (n=3) e negativi (n=1). I campioni basso positivi e alto negativi sono stati preparati vicino al limite di rilevazione del test. Ciascun campione è stato valutato due volte al giorno per cinque giorni in tre diversi laboratori. La riproducibilità è risultata del 100% senza variabilità inter-saggio o intra-saggio per i campioni preparati al di sopra o al di sotto del limite di rilevazione del test.

## CROSS-REATTIVITÀ

Gli studi di cross-reactività sono stati eseguiti con campioni di urine positivi e negativi inoculati con batteri o organismi fungini ad una concentrazione finale di  $1,2 \times 10^8$  CFU/mL o una concentrazione virale maggiore di  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL. Nessuno dei seguenti organismi presenti nelle urine ha reagito con il test Tru Legionella:

*Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemani*, *Legionella dumoffii*, *Legionella feeleii*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila* sierogruppo 2 Togus, *Legionella pneumophila* sierogruppo 3 Bloomington, *Legionella pneumophila* sierogruppo 4, *Legionella pneumophila* sierogruppo 5, *Legionella pneumophila* sierogruppo 6, *Morganella morganii*, *Moraxella osloensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Noxardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* gruppi A, B, D, F, G, *Streptococcus pneumoniae*, Adenovirus, Coxsackievirus, Influenza A, Influenza B, Virus della para-influenza, Virus respiratorio sinciziale A, Virus respiratorio sinciziale B.

## SPECIFICITÀ DEL TEST

Le colture stock di *L. pneumophila* qui indicate, di diversa provenienza, sono state tutte analizzate con il test Tru Legionella producendo reazioni positive ad una concentrazione minima di  $4,8 \times 10^6$  CFU/mL:

Sottogruppo Pontiac: CCUG 13395; NCTC 12024, Allentown 1; NCTC 12006, Benidorm; CCUG 33058, Knoxville; NCTC 12007, France.

Sottogruppo non-Pontiac: NCTC 12008, OLDA; NCTC 12098, Camperdown; NCTC 12025, Heysham; NCTC 12009, Oxford.

## SENSIBILITÀ ANALITICA

La sensibilità analitica del test Tru Legionella è stata valutata utilizzando due ceppi di *L. pneumophila*. Gli organismi analizzati e le sensibilità analitiche sono elencate nella tabella in basso.

ID ceppo	Limite di rilevamento (LoD)
Ceppo Filadelfia (sottogruppo Pontiac; ATCC 33152)	$3,76 \times 10^5$ CFU/mL
Ceppo Bellingham (sottogruppo non-Pontiac; NCTC 11404)	$5,2 \times 10^5$ CFU/mL

## ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI

Le seguenti sostanze, alle concentrazioni di solvente saturo/diluente qui indicate, non interferiscono con i risultati dei test alle concentrazioni finali elencate:  
 Amfotericina B (0,22 mg/mL), Antistamina [Difenidramina HCl (0,22 mg/mL)], Acido Ascorbico (1,0 mg/mL), Succo di barbabietola (0,01%), Bilirubina (0,2 mg/mL), Acido Borico (2,63 mg/mL), Caffeina purificata (0,4%), Clorofilla (0,81 mg/mL), Ciprofloxacin (0,22 mg/mL), Compresse per influenza [Acetaminofene (50 mg/mL), Clorofeniramina maleato (0,2 mg/mL), Fenilefrina cloridrato (0,5 mg/mL)], Gocce per la tosse [Mentolo (0,22 mg/mL)], Sciroppo per la tosse [Dextromethorphan HBr (0,20 mg/mL), Guifenesina (2,0 mg/mL)], Decongestionante fenilefrina HCl (0,22 mg/mL), Eritromicina (0,067 mg/mL), Glucosio (20 mg/mL), Itraconazolo (0,22 mg/mL), Miconazolo (5%), Acido Ossalico (0,01%), Prednisone (0,22 mg/mL), Proteine [BSA (5 mg/mL)], Pseudoefedrina [Pseudoefedrina HCl (0,01 mg/mL)], Rifampicina (0,09 mg/mL), Tabacco (0,4%), Urea (20 mg/mL), Gel vaginali contraccettivi contenenti 4% Nonoxynol-9 (5% v/v), Lubrificanti personali a base di acqua (K-Y®) (5% v/v), Globuli bianchi (10%), e Sangue intero (10%).



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,9775 B2)

**Un immunodosage rapide pour la détection des antigènes urinaires de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1**

REF 751930

IVD

Rx Only

**BUT DE LA METHODE**

Tru Legionella est une méthode immunochromatographique in vitro, qualitative, rapide, à flux latéral, pour la détection de l'antigène de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 dans les échantillons d'urine humaine. Il est destiné à tester les échantillons de patients présentant les symptômes d'une pneumonie. Les résultats du test sont utilisés comme aide au diagnostic d'une infection par la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1. Un test négatif n'exclut pas une infection par la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1. Les résultats du test doivent être interprétés en fonction des informations provenant de l'évaluation du patient et d'autres décisions de gestion clinique.

**RESUME ET EXPLICATION DU TEST**

Le genre *Legionella* a été décrit pour la première fois en 1976 après une épidémie de pneumonies sévères lors d'un congrès de la légion américaine à Philadelphie.<sup>3</sup> Depuis ce temps, plus de 50 espèces au sein du genre *Legionella pneumophila* ont été décrites incluant plus de 24 espèces pathogènes chez l'homme.<sup>1</sup> Chez l'homme, la pathologie causée par la *Legionella* va d'une pneumonie sévère (la maladie des légionnaires ou ML) à des symptômes grippaux légers (fièvre de Pontiac). Les espèces *Legionella* sont une cause importante des maladies associées aux voyages, intra-familiales ou bien nosocomiales; elles peuvent apparaître sporadiquement ou par un pic épidémique. Plus de 90 % des cas de ML sont attribués à la *Legionella pneumophila* de sérogroupe 1 par mise en culture.<sup>2</sup> Les réservoirs les plus communs en ce qui concerne l'infection humaine par la *Legionella* sont les systèmes d'eau artificiels. La transmission de la *Legionella* de personne à personne n'a jamais été démontrée.<sup>1</sup> En ne se basant que sur les paramètres cliniques, la pneumonie associée à la ML ne se distingue pas facilement de la pneumonie causée par d'autres micro-organismes, c'est pourquoi les cliniciens se fient à des analyses de laboratoire pour détecter la ML. Les tests de laboratoire disponibles pour la détection de la ML sont la culture bactérienne, le test d'immunofluorescence directe (DFA), la sérologie et la recherche d'antigènes urinaires. Les tests des antigènes urinaires sont hautement spécifiques, modérément sensibles et rapides, ils permettent d'orienter l'antibiothérapie. Ils sont devenus le dosage le plus fréquemment utilisé pour la détection de la ML.<sup>4</sup>

**PRINCIPE DU TEST**

Tru Legionella est une méthode immunochromatographique par capture à usage unique pour la détection de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 dans les échantillons d'urine humaine. Le test consiste en un tube de conjugué, une bandelette réactive et un diluant pour échantillon/contrôle négatif. Le tube de conjugué contient une bille, lyophilisat d'anticorps polyclonaux anti-*Legionella pneumophila* de sérogroupe 1 conjugués à l'or colloïdal et en un anticorps polyclonal anti-IgY anti-poulet d'âne. La bandelette réactive est faite d'une membrane en nitrocellulose sur laquelle sont immobilisés les anticorps de capture disposés sur la ligne de test Legionella. La porte-bandelette sert à boucher le tube de conjugué pendant le test et lors de la mise au rebut, réduisant ainsi une exposition aux pathogènes potentiels.

La bille de conjugué est réhydratée dans le tube avec le diluant pour échantillon/contrôle négatif. L'échantillon du patient est alors ajouté et le contenu du tube est bien mélangé. La bandelette réactive est ensuite introduite dans le mélange. Les antigènes de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1, s'ils sont présents, se lient au conjugué anticorps-or colloïdal alors que l'échantillon migre. Le complexe antigènes-conjugué se lie à l'anticorps de capture à la position de test, faisant apparaître une ligne rose-rouge. Si aucun antigène n'est présent, aucun complexe ne se forme et aucune ligne rose-rouge n'apparaît au niveau de la ligne de test. Une ligne de contrôle interne permet de déterminer si le test a été correctement exécuté si le flux a bien traversé la bandelette réactive durant l'analyse. Une ligne rose-rouge visible doit être présente au niveau de la ligne de contrôle de la bandelette réactive chaque fois qu'un échantillon ou un contrôle est testé. Si aucune ligne de contrôle rose-rouge n'est visible, le test est considéré non valide.

**MATERIEL FOURNI**

**Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.**

- 1. Bandelette réactive:** bandelette réactive fixée sur un support en plastique et emballée dans une pochette en aluminium avec un dessiccatif. La ligne de test de la bandelette réactive contient des anticorps de capture dirigés contre la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1. Le porte-bandelette est utilisé comme capuchon pour le tube de conjugué. Sur le cadre du support de la bandelette réactive se trouvent des repères indiquant où les lignes de test et de contrôle doivent apparaître. Conserver la pochette entre 2 et 27 °C lorsqu'elle n'est pas utilisée. Ne pas utiliser un dispositif si l'indicateur du dessiccatif (ligne au centre du dessiccatif) a viré du bleu au rose.
- 2. Tube de conjugué:** tube en plastique bouché contenant une bille de conjugué. Le tube est emballé dans une pochette en aluminium. Le conjugué consiste en un anticorps anti-*Legionella pneumophila* sérogroupe 1 conjugué à l'or colloïdal et en un anticorps polyclonal anti-IgY anti-poulet d'âne. Conserver la pochette en aluminium entre 2 et 27 °C lorsqu'elle n'est pas utilisée. Ne pas congeler. Ne pas retirer le bouchon avant emploi.
- 3. Diluant pour échantillon/contrôle négatif:** solution protéique tampon contenue dans un flacon en plastique. Conservateur ajouté: azoture de sodium (0,094 %). Prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 27 °C lorsqu'il n'est pas utilisé.
- 4. Contrôle positif:** *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 inactivée dans un diluant tamponné contenant de l'azoture de sodium (0,094 %) comme conservateur. Le réactif est prêt à l'emploi. Conserver entre 2 et 27 °C lorsqu'il n'est pas utilisé.
- 5. Pipettes de transfert en plastique** comportant trois repères de volume: 100, 200 et 300 µL.

**MATERIEL NON FOURNI**

- Gants jetables en latex (les échantillons d'urine sont considérés comme une matière biologique potentiellement dangereuse).
- Mélangeur vortex pour la mise en suspension de l'échantillon dans le diluant pour échantillon (optionnel).
- Minuterie
- Crayon feutre
- Optionnel: conservateur pour urine contenant de l'acide borique tel que le tube pour urine BD Vacutainer® C&S Preservative Plus.

**PRECAUTIONS D'EMPLOI**

- Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
- NE PAS mélanger les bandelettes réactives, les tubes de conjugué et les réactifs de contrôle positif provenant de coffrets ayant différents numéros de lot. Le diluant échantillon/contrôle négatif peut être pris dans différents coffrets, à condition qu'ils ne soient pas périmés. Ne pas utiliser de réactifs après la date de péremption figurant sur les étiquettes.
- N'utiliser aucun élément ne portant pas d'étiquette, de numéro de lot ou de date de péremption.
- N'utiliser aucun réactif qui soit décoloré ou trouble. La décoloration ou la turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
- Laisser les réactifs atteindre 19 à 27 °C avant utilisation.
- Tous les réactifs doivent être mélangés doucement avant utilisation.
- Tenir le flacon de réactif de contrôle positif à la verticale lors de la distribution pour assurer que les gouttes ont une taille correcte et qu'elles sont distribuées régulièrement.
- Les pipettes de transfert fournies avec ce coffret doivent être utilisées pour la préparation et le transfert des échantillons. Utiliser une pipette par échantillon.
- Toute déviation de la durée d'incubation indiquée peut avoir un effet sur la sensibilité et la spécificité et doit être évitée.
- Les bandelettes réactives et les tubes de conjugué sont emballés sous pochette en aluminium qui exclut l'humidité durant le stockage. Inspecter chaque pochette avant usage. Ne pas utiliser les bandelettes réactives ou les tubes de conjugué si leur pochette est trouée ou si elle n'est pas entièrement scellée. Ne pas utiliser la bandelette réactive si l'indicateur du dessiccatif a viré du bleu au rose. Si l'indicateur a changé de couleur, le dispositif de test a été exposé à l'humidité. Une exposition à l'humidité des bandelettes réactives ou des tubes de conjugué peut entraîner des réactions faussement négatives.
- Tous les échantillons d'urine doivent être extrêmement bien mélangés avant le pipetage afin d'obtenir un échantillon représentatif.
- Les antigènes de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 peuvent être relativement instables. Prendre soin de bien conserver les échantillons comme indiqué dans la procédure décrite dans ce document. Même lorsque les échantillons sont conservés congelés, le taux de détérioration des antigènes varie d'un échantillon à l'autre et ne peut être prédit.
- Le diluant pour échantillon/contrôle négatif doit être ajouté au tube de conjugué dans la minute qui suit le débouchage du tube.

**ATTENTION**

- Les échantillons de patients peuvent contenir des agents infectieux; ils doivent être manipulés et éliminés comme s'ils étaient biologiquement dangereux.
- Jeté tout le matériel ayant servi au test dans un conteneur approprié. Traiter les déchets comme une matière biologique potentiellement dangereuse.
- Même si le contrôle positif contient un antigène inactif de la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1, il doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Ce réactif contient 0,094 % d'azoture de sodium. L'azoture de sodium est un irritant cutané. Eviter tout contact cutané. Vider les réactifs contenant de l'azoture de sodium dans les canalisations faites de plomb ou de cuivre peut entraîner la formation d'oxydes métalliques explosifs. Eviter la formation d'oxydes en rinçant les canalisations à grandes eaux durant l'élimination.

**DANGER ET MISES EN GARDE**

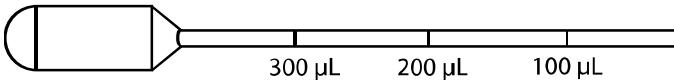
A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

**DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE**

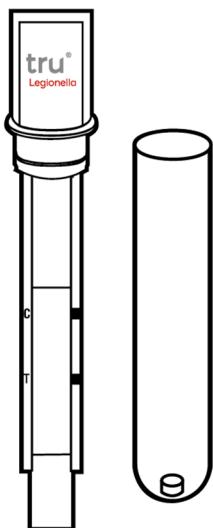
La date de péremption du coffret est indiquée sur l'étiquette du coffret. Conserver le coffret entre 2 et 27 °C.

## REMARQUES SUR LA PROCÉDURE

Ci-dessous, un schéma de la pipette de transfert Tru Legionella.



Ci-dessous, un schéma de la bandelette réactive et du tube de conjugué Tru Legionella.



## PRELEVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

**Échantillons d'urine humaine, sans conservateur:** les échantillons doivent être reçus dans un récipient de transport étanche et conservés entre 2 et 8 °C avant l'analyse. Les échantillons doivent être analysés le plus tôt possible, mais peuvent être conservés jusqu'à sept jours entre 2 et 8 °C. Les échantillons qui ne seront pas analysés dans les sept jours doivent être congelés dès réception et conservés congelés à ≤ -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Dans ce cas, les échantillons peuvent subir jusqu'à deux cycles de congélation/décongélation.

**Échantillons d'urine humaine conservés avec de l'acide borique:** les échantillons doivent être reçus dans un tube pour urine étanche contenant de l'acide borique et conservés entre 2 et 8 °C avant l'analyse. Les échantillons doivent être analysés le plus tôt possible, mais peuvent être conservés pendant sept jours entre 2 et 8 °C. (voir la section *PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS* pour les instructions concernant l'urine conservée dans l'acide borique). Les échantillons qui ne seront pas analysés dans les sept jours doivent être congelés dès réception et conservés congelés à ≤ -20 °C jusqu'au moment de l'analyse. Dans ce cas, les échantillons peuvent subir jusqu'à deux cycles de congélation/décongélation.

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Mélanger avec soin l'urine avant de la pipetter. Amener tous les échantillons et réactifs à température ambiante (19-27 °C) avant le test.

### 1. Échantillons d'urine humaine, avec ou sans conservateur:

- a. Retirer un tube de conjugué de sa pochette en aluminium et jeter la pochette. Incrire le nom du patient sur le tube.
- b. Retirer et jeter le capuchon du tube de conjugué.
- c. A l'aide de la pipette de transfert fournie avec le coffret, ajouter immédiatement 100 µL (1<sup>er</sup> repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon/contrôle négatif au tube de conjugué. Ajouter le diluant directement au centre du tube. Passer au vortex ou agiter par rotation le contenu du tube de conjugué pendant 10 secondes\*.
- d. Mélanger l'échantillon de patient avec soin. A l'aide d'une des pipettes de transfert fournies avec le coffret, bien mélanger doucement l'échantillon en pressant sur la poire de la pipette trois fois. On peut aussi mélanger l'échantillon en le passant au vortex pendant au moins 10 secondes.
- e. A l'aide de la même pipette, aspirer 100 µL d'échantillon (1<sup>er</sup> repère à partir de l'extrémité de la pipette) et les ajouter au tube de conjugué.
- f. A l'aide de la même pipette, bien mélanger doucement l'échantillon et le conjugué en pressant sur la poire de la pipette trois fois. On peut aussi mélanger l'échantillon en le passant au vortex pendant au moins 10 secondes.

\*Attention: les erreurs de dilution peuvent influer la performance du test. L'ajout d'une quantité insuffisante d'échantillon d'urine au diluant pour échantillon/contrôle négatif peut entraîner un faux négatif. Le fait de ne pas ajouter toute la quantité de diluant pour échantillon/contrôle négatif peut entraîner des tests faussement positifs. L'ajout d'une quantité excessive d'échantillon peut produire des résultats de test non valides du fait de la restriction du flux de l'échantillon nécessaire.

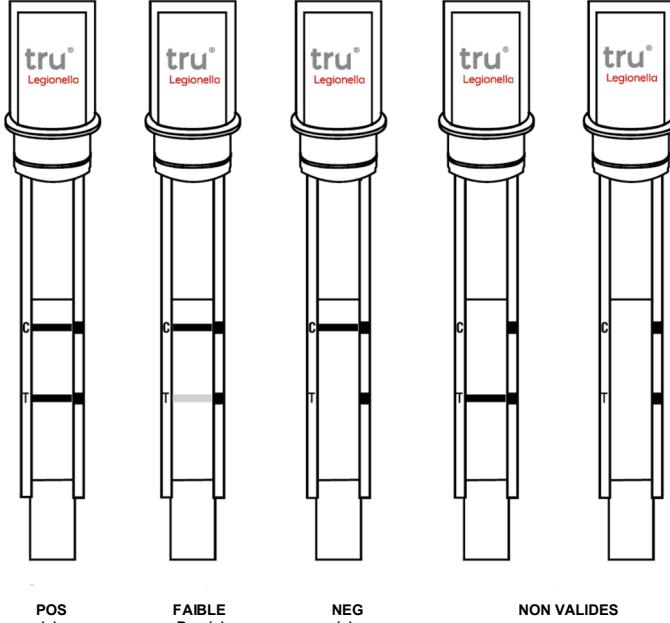
## PROCÉDURE DE TEST

1. Retirer une bandelette réactive de sa pochette en aluminium et jeter la pochette. L'inspecter visuellement. En présence d'une ligne verte, ne pas utiliser la bandelette réactive.
2. Insérer l'extrémité étroite de la bandelette réactive dans le tube de conjugué et bien appuyer sur le capuchon pour fermer le tube.
3. Incuber les tests en position verticale dans le portoir, entre 19 et 27 °C, pendant 20 minutes.
4. Lire les résultats sur la bandelette réactive dans la minute qui suit. Ne pas lire les bandelettes au-delà de cette période. (REMARQUE: retirer la bandelette réactive du tube de conjugué s'il est difficile de lire les lignes de test ou de contrôle. Reboucher le tube de conjugué avec le support de la bandelette réactive et jeter une fois le test fini.)

## TESTS DE CONTRÔLE EXTERNE

1. Amener tous les éléments de test, les réactifs et les échantillons à température ambiante (19-27 °C) avant le test.
2. Utiliser 1 tube de conjugué et 1 bandelette réactive pour le test de contrôle positif et 1 tube de conjugué et 1 bandelette réactive pour le diluant pour échantillon/contrôle négatif.
3. Retirer les tubes de conjugué de leur pochette en aluminium et les étiqueter comme il se doit. Jeter les pochettes.
4. Retirer et jeter les capuchons des tubes de conjugué.
5. Ajouter exactement 5 gouttes de réactif de contrôle positif au tube de conjugué étiqueté pour le contrôle positif. Ajouter les gouttes directement au centre du tube.
6. A l'aide d'une des pipettes de transfert fournies avec le coffret, ajouter 200 µL (2<sup>er</sup> repère à partir de l'extrémité de la pipette) de diluant pour échantillon/contrôle négatif au tube de conjugué étiqueté pour le contrôle négatif. Ajouter le diluant directement au centre du tube.
7. Passer au vortex ou agiter par rotation le contenu des tubes pendant 10 secondes.
8. Retirer 2 bandelettes réactives de leur pochette en aluminium et jeter les pochettes.
9. Insérer l'extrémité étroite d'une bandelette réactive dans chaque tube de conjugué et bien appuyer sur le capuchon pour fermer chaque tube.
10. Incuber les deux tubes entre 19 et 27 °C pendant 20 minutes.
11. Lire les résultats sur la bandelette réactive dans la minute qui suit. Ne pas lire les bandelettes au-delà de cette période. (REMARQUE: retirer la bandelette réactive du tube de conjugué s'il est difficile de lire les lignes de test ou de contrôle. Reboucher le tube de conjugué avec le support de la bandelette et jeter le tout une fois le test fini.)

## INTERPRETATION DES RESULTATS



**Test négatif:** ligne ROSE-ROUGE à la position de contrôle. Aucune autre ligne n'est présente.

**Test positif:** ligne ROSE-ROUGE, quelque soit l'intensité de la couleur, aux positions de contrôle et de test Legionella. La couleur de la ligne de test peut être plus claire que celle de la ligne de contrôle. Les lignes de test peuvent être très visibles ou bien moins visibles.

### Resultats de test non valides:

1. Aucune ligne n'apparaît à la position désignée du contrôle. Le test est non valide, l'absence d'une ligne de contrôle indique une réalisation incorrecte du test.
2. Une ligne ROSE-ROUGE apparaissant à la position test du dispositif après 21 minutes d'incubation ou une ligne d'une couleur autre que ROSE-ROUGE apparaît. Des résultats faussement positifs peuvent être obtenus si le test incube trop longtemps. Les bandes d'une couleur autre que ROSE-ROUGE peuvent indiquer une détérioration du réactif.

**S'il est difficile d'interpréter un résultat, refaire le test avec le même échantillon pour éliminer le potentiel d'erreur. Prélever un nouvel échantillon et tester de nouveau si l'échantillon original donne de façon répétée des résultats non lisibles.**

### CONTROLE DE QUALITE

**Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.**

A chaque utilisation, examiner visuellement le contenu du coffret pour vérifier qu'il ne présente pas de signes évidents de contamination microbienne, de congélation ou de fuite. Ne pas utiliser de réactifs contaminés ou douteux.

### Contrôles internes procéduraux: des contrôles internes procéduraux sont contenus dans la bandelette réactive et sont donc évalués à chaque test.

1. Une bande ROSE-ROUGE qui apparaît au niveau de la ligne de contrôle sert de contrôle procédural. Elle indique que le test a été effectué correctement, et que la migration s'est réalisée correctement.
2. Un fond clair autour des lignes de contrôle ou de test sert aussi de contrôle procédural. Des lignes de contrôle ou de test qui sont cachées par une couleur de fond importante peuvent rendre le test non valide; cela peut aussi indiquer une détérioration d'un réactif, l'utilisation d'un échantillon non approprié ou une mauvaise performance du test

### Les réactifs de contrôles externes doivent être testés selon les exigences du laboratoire ou celles des réglementations applicables locales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation.

1. Voir la section TESTS DE CONTROLE EXTERNE pour des explications concernant l'exécution de ces tests de contrôle.
2. La réactivité de chaque lot et de chaque nouvel arrivage de Tru Legionella doit être vérifiée lors de sa réception en utilisant les contrôles positifs et négatifs externes. Le nombre de tests supplémentaires à effectuer avec les contrôles externes est déterminé d'après les exigences des réglementations locales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation.
3. Les contrôles externes sont utilisés pour surveiller la réactivité des réactifs. Si les contrôles ne produisent pas les résultats attendus, cela peut signifier qu'un des réactifs ou des éléments n'est plus réactif au moment de son utilisation, que le test n'a pas été effectué correctement ou que les réactifs ou échantillons n'ont pas été ajoutés. Si les contrôles positif ou négatif échouent, ne pas rapporter les résultats de laboratoire au clinicien.
4. Les résultats attendus pour les contrôles sont décrits dans la section INTERPRETATION DES RESULTATS.
5. Ne pas utiliser le coffret si les tests de contrôle ne produisent pas les résultats corrects. **Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.**
6. Les réactifs des contrôles positif et négatif fabriqués pour ce dosage sont préparés dans la matrice du diluant pour échantillon/contrôle négatif, ils ne simulent pas forcément les échantillons testés. Si des contrôles de composition identique aux échantillons testés sont préférés, l'utilisateur peut les préparer en diluant des échantillons positifs et négatifs connus dans le diluant pour échantillon/contrôle négatif selon la section PREPARATION DES ECHANTILLONS de cette notice.

Remarque : Les réactifs des contrôles positif et négatif (No. de réf. 7949 et 7950) fournis avec le kit Tru Legionella ont été validés en interne. Le fabricant n'est pas responsable des résultats obtenus si ce dispositif est utilisé avec un autre contrôle quelconque non validé.

### VALEURS ATTENDUES

Dans le monde, la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 est une cause importante de pneumonie acquise au cours de voyages, au sein des communautés et à l'hôpital. La maladie des légionnaires (ML) est connue pour survenir de façon sporadique ou par épidémie. De récentes données indiquent que 0,5 à 5 % des adultes hospitalisés pour une pneumonie présente la ML. Chaque année aux Etats-Unis d'Amérique, on compte environ 8,000 à 18,000 cas de ML.<sup>2,3</sup>

### LIMITES DU TEST

1. Le test est de nature qualitative et ne permet pas d'interprétation quantitative. Aucune interprétation basée sur l'intensité de la ligne de test positive ne doit être faite lors du rendu des résultats.
2. Le test Tru Legionella ne peut être utilisé comme le seul moyen de déterminer une infection par *Legionella pneumophila*. Les résultats des tests doivent être interprétés en fonction des informations disponibles suite à l'évaluation clinique du patient et d'autres démarches diagnostiques.
3. Une incubation trop longue des tests peut produire une augmentation de faux positifs. Réciproquement, des périodes d'incubation inférieures à celles définies dans cette notice peuvent entraîner une augmentation de faux négatifs. Il faut respecter les périodes d'incubation définies dans cette notice.
4. Le test Tru Legionella détecte la *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 viable et non viable. L'apparence des tests positifs Tru Legionella dépend de la charge antigénique de l'échantillon, par conséquent, un test Tru Legionella positif peut ne pas toujours corrélérer avec les résultats de la culture bactérienne.
5. Les anticorps utilisés dans le test peuvent ne pas détecter toutes les variantes antigéniques ou les nouvelles souches de *Legionella pneumophila* sérogroupe 1.
6. Un test négatif n'exclut pas une infection par *Legionella pneumophila* sérogroupe 1; il n'exclut pas non plus des infections respiratoires causées par d'autres microbes ou une maladie causée par les sérogroupes de *Legionella pneumophila* autre que le sérogroupe 1. Un résultat positif n'exclut pas une co-infection par d'autres microbes.
7. Le test Tru Legionella ne peut se faire que sur la demande d'un prescripteur.
8. Le test Tru Legionella est destiné à être utilisé avec des échantillons d'urine. L'utilisation de ce test sur d'autres types d'échantillons n'est pas recommandée.
9. Un résultat positif désigne la présence de l'antigène à *Legionella pneumophila* de sérogroupe 1. Cependant, les résultats de tous les tests doivent être revus dans leur contexte et en fonction des données cliniques.
10. Le test Tru Legionella n'est pas destiné pour le suivi thérapeutique.
11. Les performances du test Tru Legionella ne sont pas établies pour une population âgée de moins de 21 ans.
12. Les performances du test Tru Legionella ont été établies par détermination des résultats de façon visuelle uniquement.

## PERFORMANCES DU TEST

Les caractéristiques de performance pour le test Tru Legionella ont été établies en 2011. Un total de 350 échantillons de patient qualifiés a été évalué; 227 des échantillons sont des échantillons rétrospectifs congelés et 123 échantillons étaient des échantillons prospectifs. Cent quarante deux (142) des échantillons rétrospectifs congelés sont issus d'un panel bien documenté, de patients atteints de légionellose confirmée, sans antécédent d'infection à la Legionella. Les échantillons rétrospectifs restants proviennent de patients soumis à des tests de détection Legionella dans le passé. Les échantillons ont été prélevés auprès d'hommes (63,4 %) et de femmes (36,6 %). Aucune différence dans la performance du test n'a été observée concernant le sexe. Les échantillons ont été prélevés chez des patients âgés de 23 à 96 ans. Le Tableau 1 compare la performance du Tru Legionella de tous les échantillons par rapport au Test Commercial. Le Tableau 2 compare la performance du Tru Legionella par rapport au Test Commercial pour les échantillons rétrospectifs seulement. Le Tableau 3 compare la performance du Tru Legionella au Test Commercial pour les échantillons prospectifs seulement.

Tableau 1: Pourcentage de concordance du Tru Legionella par rapport au Test Commercial pour les échantillons rétrospectifs et prospectifs de patients âgés de > 21 ans

Tru Legionella	Test Commercial		
	Positif	Négatif	Total
<b>Positif</b>	106	0	106
<b>Négatif</b>	5	239	244
<b>Total</b>	111	239	350
			<b>IC à 95 %</b>
<b>Concordance positive</b>	106/111	95,5%	89,9 – 98,1%
<b>Concordance négative</b>	239/239	100,0%	98,4 – 100,0%
<b>Corrélation globale</b>	345/350	98,8%	97,3 – 99,5%

Tableau 2: Pourcentage de concordance du Tru Legionella par rapport au Test Commercial pour les échantillons rétrospectifs de patients âgés de > 21 ans

Tru Legionella	Test Commercial		
	Positif	Négatif	Total
<b>Positif</b>	101	0	101
<b>Négatif</b>	5	121	126
<b>Total</b>	106	121	227
			<b>95% CI</b>
<b>Concordance positive</b>	101/106	95,3%	89,4 – 98,0%
<b>Concordance négative</b>	121/121	100,0%	96,9 – 100,0%
<b>Corrélation globale</b>	222/227	97,8%	94,9 – 99,1%

Tableau 3: Pourcentage de concordance du Tru Legionella par rapport au Test Commercial pour les échantillons prospectifs de patients âgés de > 21 ans

Tru Legionella	Test Commercial		
	Positif	Négatif	Total
<b>Positif</b>	5	0	5
<b>Négatif</b>	0	118	118
<b>Total</b>	5	118	123
			<b>95% CI</b>
<b>Concordance positive</b>	5/5	100,0%	56,6 – 100,0%
<b>Concordance négative</b>	118/118	100,0%	96,8 – 100,0%
<b>Corrélation globale</b>	123/123	100,0%	97,0 – 100,0%

## REPRODUCTIBILITÉ DU TEST

La précision du test, la variabilité intra- et interdosage ont été évaluées avec un panel de référence préparé à partir d'échantillons négatifsensemencés avec l'antigène *L. pneumophila*. Le panel de reproductibilité consistait en des échantillons modérément positifs (n=3), faiblement positifs (n=3), négatifs élevés (n=3), et négatif (n=1). Les échantillons faiblement positifs et fortement négatifs ont été préparés pour se trouver près du seuil du dosage. L'évaluation de chaque échantillon a été faite deux fois par jour par trois laboratoires différents. La reproductibilité observée était de 100%, sans variabilité intra- et interdosage, pour les échantillons préparés au-dessus ou en-dessous du seuil de détection de ce dosage.

## REACTIONS CROISEES

Des études de réaction croisée ont été effectuées avec des échantillons d'urine positifs et négatifs inoculés avec des organismes bactériens ou fongiques pour obtenir une concentration finale de  $1,2 \times 10^8$  UFC/mL ou virale supérieure à  $1 \times 10^6$  DICT<sub>50</sub>/mL. Aucun des organismes suivants, présents dans les urines, n'a réagi avec le dosage Tru Legionella: *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemani*, *Legionella dumoffii*, *Legionella feeleii*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micadai*, *Legionella pneumophila* sérogroupe 2 Togus, *Legionella pneumophila* sérogroupe 3 Bloomington, *Legionella pneumophila* sérogroupe 4, *Legionella pneumophila* sérogroupe 5, *Legionella pneumophila* sérogroupe 6, *Morganella morganii*, *Moraxella osloensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* groupes A, B, D, F, G, *Streptococcus pneumoniae*, adénovirus, virus Coxsackie, grippe A, grippe B, virus para-influenza, virus respiratoire syncytial A, virus respiratoire syncytial B.

## SPECIFICITE DU TEST

Les souches de *L. pneumophila* suivantes, provenant de différentes sources, ont été testées et ont donné des réactions positives à une concentration limite de  $4,8 \times 10^6$  UFC/mL avec le dosage Tru Legionella.

Sous-groupe Pontiac: CCUG 13395; NCTC 12024, Allentown 1; NCTC 12006, Benidorm; CCUG 33058, Knoxville; NCTC 12007, France.

Sous-groupe non Pontiac: NCTC 12008, OLDA; NCTC 12098, Camperdown; NCTC 12025, Heysham; NCTC 12009, Oxford.

## SENSIBILITE ANALYTIQUE

La sensibilité analytique du dosage Tru Legionella a été établie à l'aide de deux souches de *L. pneumophila*. Les organismes testés et les sensibilités analytiques sont listés dans le tableau ci-dessous.

Souche	Limite de détection
Souche Philadelphie (sous-groupe Pontiac; ATCC 33152)	$3,76 \times 10^5$ UFC/mL
Souche Bellingham (sous-groupe non Pontiac; NCTC 11404)	$5,2 \times 10^5$ UFC/mL

## TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances suivantes, aux concentrations solvant/diluant saturées spécifiées, n'interfèrent pas avec les résultats de test dans les concentrations finales listées:

Amphotéricine B (0,22 mg/mL), Antihistamine [Diphenhydramine HCl (0,22 mg/mL)], l'acide ascorbique (1,0 mg/mL), poudre de jus de betterave (0,01%), la bilirubine (0,2 mg/mL), l'acide borique (2,63 mg/mL), la caféine purifiée (0,4%), la chlorophylle (0,81 mg/mL), la ciprofloxacine (0,22 mg/mL), les comprimés contre le rhume et la grippe [Acetaminophen (50 mg/mL), Chlorpheniramine malate (0,2 mg/mL), hydrochlaurate de phénylephrine (0,5 mg/mL)], les pastilles contre la toux [Menthol (0,22 mg/mL)], le sirop contre la toux [Dextromethorphan HBr (0,20 mg/mL), Guafenesin (2,0 mg/mL)], un décongestionnant [Phenylephrine HCl (0,22 mg/mL)], l'érythromycine (0,067 mg/mL), le glucose (20 mg/mL), l'Itraconazole (0,22 mg/mL), le miconazole (5%), l'acide oxalique (0,01%), la prednisone (0,22 mg/mL), protéines [BSA (5 mg/mL)], Pseudoephedrine [Pseudoephedrine HCl (0,01 mg/mL)], la rifampicine (0,09 mg/mL), le tabac (0,4%), l'urée (20 mg/mL), un gel vaginal contraceptif gel contenant du nonoxynol-9 à 4%/5% v/v, un lubrifiant à base d'eau (K-Y®) (5% v/v), les globules blancs (10%), et le sang total (10%).



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,9775 B2)

**Un inmunoensayo rápido para la detección de antígenos de *Legionella pneumophila* serogrupo1 en muestras de orina humana**

REF 751930

IVD

Rx Only

**USO INDICADO**

La prueba Tru Legionella es un inmunoensayo rápido e in vitro de flujo-lateral, para la detección cualitativa del antígeno serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* en muestras de orina humana. Ésta está diseñada para analizar muestras de pacientes con síntomas de neumonía. Los resultados de la prueba deben usarse como ayuda para diagnosticar la infección por *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Un resultado negativo en la prueba no excluye la infección por *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Los resultados de la prueba deben usarse conjuntamente con la información obtenida a partir de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos diagnósticos.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

El género Legionella inicialmente fue descrito en 1976 después de un brote de neumonía grave que ocurrió en una convención de la Legión Americana en Filadelfia.<sup>3</sup> A partir de esto, se han descrito más de 50 especies dentro del género Legionella, de las cuales 24 especies se han asociado con enfermedad en humanos.<sup>1</sup> La enfermedad en humanos por causa de Legionella puede variar desde una neumonía grave (Enfermedad de los legionarios (LD en inglés)) hasta un síndrome como de gripe leve (Fiebre del Pontiac). Las especies de Legionella son un agente causal de alta incidencia en enfermedades adquiridas en la comunidad, en hospitales y en viajes, que pueden ocurrir de forma esporádica o a manera de brotes. Más de un 90 % de casos de LD se atribuyen a infección por *Legionella pneumophila* serogrupo 1 cuando este organismo logra aislarse en cultivo.<sup>2</sup> Los reservorios más comunes para la infección entre humanos son los sistemas de acueductos hechos por el hombre. Jamás se ha demostrado la transmisión de Legionella persona a persona.<sup>1</sup> La neumonía que ocurre en la enfermedad LD no puede distinguirse fácilmente de la neumonía que causan otros microorganismos tomando como base única los parámetros clínicos; por lo tanto, los médicos utilizan pruebas de laboratorio para diagnosticar la enfermedad de los legionarios. Las pruebas de laboratorio disponibles para detectar la LD incluyen el cultivo bacteriano, pruebas de inmunofluorescencia directa, de serología y la prueba de antígenos en orina. Las pruebas de antígeno en orina son altamente específicas, moderadamente sensibles, rápidas y pueden servir para evaluar la terapia con antibióticos. Estas se han convertido en la prueba más común para la detección de la enfermedad de los legionarios.<sup>4</sup>

**PRINCIPIOS BIOLÓGICOS**

La prueba Tru Legionella es un inmunoensayo de captura de uso único para detectar la *Legionella pneumophila* serogrupo 1 en muestras de orina humana. La prueba consiste de un Tubo con Conjugado, una Tira de prueba y un Diluyente de Muestra / Control Negativo. El Tubo con Conjugado contiene una perla liofilizada de anticuerpo polyclonal ligado a oro coloidal contra el anticuerpo de detección de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 y anticuerpo detector de control polyclonal de asno anti-pollo IgY. La Tira de Prueba contiene una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos secos de captura localizados en una línea que se ha llamado línea de test (Test Line) para Legionella. El soporte de la tira de prueba tapa el Tubo con Conjugado durante la prueba y luego cuando éste se desecha, con el objeto de disminuir la exposición a microorganismos potencialmente patógenos.

La perla con el conjugado se hidrata primero en el Tubo con Conjugado con el Diluyente para Muestras / Control Negativo. Luego se añade la muestra del paciente, se mezcla el contenido y se añade la Tira de Prueba. Si hay antígenos de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 presentes, éstos se unen al conjugado de anticuerpo coloidal y oro. Cuando la muestra migra ascendiendo por la Tira de Prueba hacia la línea de prueba Test Line, el complejo antígeno-conjugado es ligado por el anticuerpo de captura y se genera una línea de color rosado a rojo. Cuando no hay antígeno presente, no se forman complejos y no aparecerá ninguna línea rosada a rojo en el lugar de la línea de prueba Test Line. Una línea que sirve de control interno ayuda a determinar si la prueba se realizó correctamente y si hubo flujo adecuado por la Tira de Prueba durante la prueba. Una línea de color rosado a rojo en la posición Control de la tira de prueba deberá estar presente cada vez que se analiza una muestra o un control. Si no se ve una línea de control de color rosado a rojo la prueba se considera inválida.

**REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS**

*El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.*

1. **Tira de prueba:** Una tira de prueba adherida a un soporte plástico que viene dentro de una bolsa metálica con desecante. La tira de prueba contiene el anticuerpo de captura anti-*Legionella pneumophila* serogrupo 1 necesario para la línea de prueba. El soporte se usa para tapón el Tubo con Conjugado. El marco del soporte para la tira indica el lugar donde deben aparecer las líneas de Test y de control. Almacene la bolsa entre 2 y 27 C cuando no la esté usando. No use el dispositivo si el indicador del desecante (la línea en el medio del desecante) cambia de color azul a rosado.
2. **Tubo con Conjugado:** Un tubo plástico con tapón que contiene una perla de conjugado. El tubo viene dentro de una bolsa metálica. El conjugado consiste de un anticuerpo de detección anti-*Legionella pneumophila* serogrupo 1 conjugado con oro y anticuerpo detector de control polyclonal de asno anti-pollo IgY. Almacene la bolsa entre 2 y 27 C cuando no la esté usando. No la almaceñe en el congelador. No remueva el tapón sino justo antes de usarlo.
3. **Diluyente de Muestra / Control Negativo:** Una solución proteica tamponada provista en un vial de plástico. Azida de sodio al 0,094 % añadida como agente conservante. Listo para usar. Almacene de 2 y 27 C cuando no se esté usando.
4. **Control Positivo:** Antígeno inactivado de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 en un diluyente tamponado que contiene azida de sodio al 0,094 % como agente conservante. El reactivo se suministra listo para usar. Almacene de 2 y 27 C cuando no se esté usando.
5. **Pipetas de transferencia plásticas** (con marcas de volumen para 100, 200 y 300 µL).

**MATERIALES NO PROPORCIONADOS**

1. Guantes de látex desechables (las muestras de orina se consideran material biológico potencialmente nocivo).
2. Un vórtex para suspender la muestra en el Diluyente para Muestra.
3. Cronómetro de intervalos
4. Lápiz marcador
5. Opcional: Agente conservante para orina que contenga ácido bórico tal como el de BD Vacutainer® C&S Preservative Plus Urine Tube.

**PRECAUCIONES**

1. Todos los reactivos son sólo para el diagnóstico in vitro.
2. NO intercambie Las Tiras de Prueba, los Tubos con Conjugado y el Control Positivo con diferentes lotes de equipo. El Diluyente de Muestra/Control Negativo puede ser intercambiado con otros lotes de equipo siempre y cuando los reactivos estén dentro de su fecha de caducidad. No use ningún reactivo pasado la fecha de caducidad indicada.
3. No use componentes que no tienen etiqueta, número de lote o fecha de caducidad.
4. No use ningún reactivo si éste está decolorado o turbio. La decoloración o turbidez pueden ser una señal de contaminación microbiana.
5. Permita que los reactivos alcancen una temperatura entre 19-27 C antes de usarlos.
6. Todos los reactivos deben mezclarse suavemente antes de usarse.
7. Con el objeto de asegurar consistencia en el tamaño y administración de la gota, el vial del reactivo de Control positivo debe mantenerse en posición vertical al dispensar las gotas.
8. Las pipetas de transferencia proporcionadas con el equipo deben usarse en la preparación y transferencia de la muestra. Usa una por cada muestra que va a analizar.
9. Debe evitarse cualquier desviación ya sea un aumento o disminución en los tiempos de incubación señalados, puesto que esto puede afectar la sensibilidad y especificidad de la prueba.
10. Las Tiras de Prueba y los Tubos con Conjugado vienen empacados en bolsas metálicas que eliminan la humedad durante el almacenamiento. Revisa cada bolsa metálica antes de usarla. No utilice Tiras de Prueba o Tubos con Conjugado que estén en bolsas con agujeros o que estén en bolsas que no hayan sido selladas por completo. No use la Tira de Prueba si el indicador del desecante ha cambiado de color azul a color rosado. El cambio en el color del desecante es un indicador que muestra que el Dispositivo de Prueba ha sido expuesto a la humedad. Pueden ocurrir reacciones negativas falsas si las Tiras de prueba o los Tubos con Conjugado se exponen a la humedad.
11. Todas las muestras de deben mezclarlo minuciosamente antes de realizar la prueba, con el objeto de asegurar la obtención de una muestra representativa antes de pipeteárla.
12. Los antígenos de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 pueden ser relativamente inestables. Se debe tener cuidado de almacenar las muestras como se indica en este procedimiento. Inclusive cuando las muestras se almacenan en estado congelado, la velocidad con la cual ocurre el deterioro del antígeno varía de muestra a muestra y no puede predecirse.
13. El Diluyente para Muestras / Control Negativo debe añadirse al Tubo con Conjugado en un plazo máximo de un minuto después de quitarle la tapa al tubo.

**ADVERTENCIAS**

1. Las muestras de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deben manejarse y desecharse como material biológico potencialmente nocivo.
2. Deseche todos los materiales usados en la prueba en un recipiente apropiado para ello. Trate el material de desecho como si éste fuera potencialmente nocivo.
3. El Control positivo contiene antígeno inactivado de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 pero debe manejarse como si fuera potencialmente material infeccioso. Este reactivo contiene azida de sodio al 0,094 %. La azida de sodio es irritante para la piel. Evite el contacto con la piel. Desechar reactivos que contienen azida de sodio en desagües que están hechos de tuberías de plomo o de cobre puede causar la formación de óxidos metálicos explosivos. Elimine la acumulación de óxidos enjuagando los desagües con cantidades abundantes de agua al desechar estos reactivos.

**DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN**

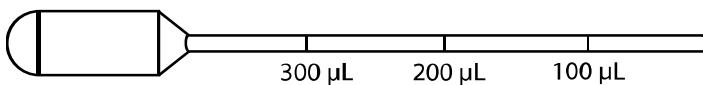
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

**VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO**

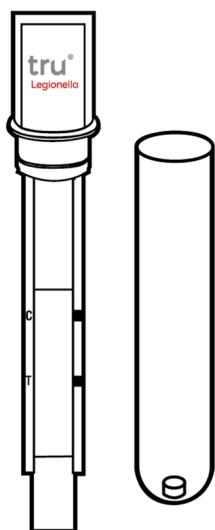
La fecha de caducidad del equipo está indicada en el rótulo del mismo. Almacene el equipo entre 2-27 C.

## NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

Abajo se muestra un diagrama de la pipeta de transferencia Tru Legionella.



Abajo se muestra un diagrama de la Tira de Prueba y el Tubo con Conjunto de la prueba Tru Legionella.



### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

**Muestras de orina humana no conservada:** Las muestras deben recibirse en un recipiente hermético para su transporte y almacenarse de 2-8 C hasta antes de ser analizadas. Las muestras deben analizarse lo más pronto posible, pero pueden guardarse hasta por un plazo máximo de siete días a una temperatura de 2-8 C. Las muestras que no van a analizarse en un plazo de siete días deben congelarse inmediatamente se reciben y almacenarse a una temperatura ≤ -20 C hasta ser analizadas. Las muestras pueden ser congeladas y descongeladas hasta dos veces luego de ser almacenadas a ≤ -20 C antes de correr la prueba.

**Muestras de orina humana conservadas con ácido bórico:** Las muestras deben recibirse dentro de un tubo hermético para orina que contenga ácido bórico y almacenarse entre 2-8 C hasta antes de ser analizadas. Las muestras deben analizarse lo más pronto posible, pero pueden guardarse hasta por siete días a una temperatura de 2-8 C. (Ver la sección de PREPARACIÓN DE LA MUESTRA que contiene instrucciones para muestras de orina conservadas con ácido bórico). Las muestras que no van a ser analizadas en un plazo de siete días deben congelarse inmediatamente se reciben y almacenarse a una temperatura ≤ -20 C hasta que sean analizadas. Las muestras pueden ser congeladas y descongeladas hasta dos veces luego de ser almacenadas a ≤ -20 C antes de correr la prueba.

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Mezcle la orina antes de pipeteárla. Permita que tanto las muestras como los reactivos alcancen una temperatura de 19-27 C antes de realizar la prueba.

#### 1. Muestras de orina humana no conservada y conservada:

- a. Retire un Tubo con Conjunto de su bolsa metálica correspondiente y deseche la bolsa. Marque el tubo con el nombre del paciente.
- b. Quitele la tapa al Tubo con Conjunto y deseche la.
- c. Usando una de las pipetas de transferencia provistas con el equipo, añada inmediatamente 100 µL (hasta la primera marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente para Muestras / Control negativo al Tubo con Conjunto. Dispense directamente en el centro del tubo. Mezcle con un agitador mecánico (vortex) o rotando el Tubo con Conjunto en forma circular durante 10 segundos.\*
- d. Mezcle la muestra del paciente con atención y detenimiento. Use una de las pipetas de transferencia suministradas con el equipo de prueba para mezclar la muestra suave pero concienzudamente aplastando la parte superior (pera) de la pipeta 3 veces. De otro modo, mezcle durante por lo menos 10 segundos con un agitador (vortex) mecánico.
- e. Usando la misma pipeta, aspire 100 µL de muestra (hasta la primera marca desde la punta de la pipeta) y añádala al Tubo con Conjunto.
- f. Usando la misma pipeta, mezcle la muestra y el conjugado concienzuda pero suavemente oprimiendo la pera de la pipeta 3 veces. De otro modo, mezcle durante por lo menos 10 segundos con un agitador (vortex) mecánico. Deseche la pipeta.

\*Advertencia: Los errores de dilución pueden afectar el desempeño de la prueba. El no añadir una cantidad suficiente de muestra de orina al Diluyente para Muestra / Control Negativo puede ocasionar resultados negativos falsos. El no añadir la cantidad completa de Diluyente para Muestras / Control Negativo puede ocasionar resultados positivos falsos. Si se añade muestra en exceso puede obtenerse un resultado inválido debido a la inhibición del flujo apropiado de la muestra.

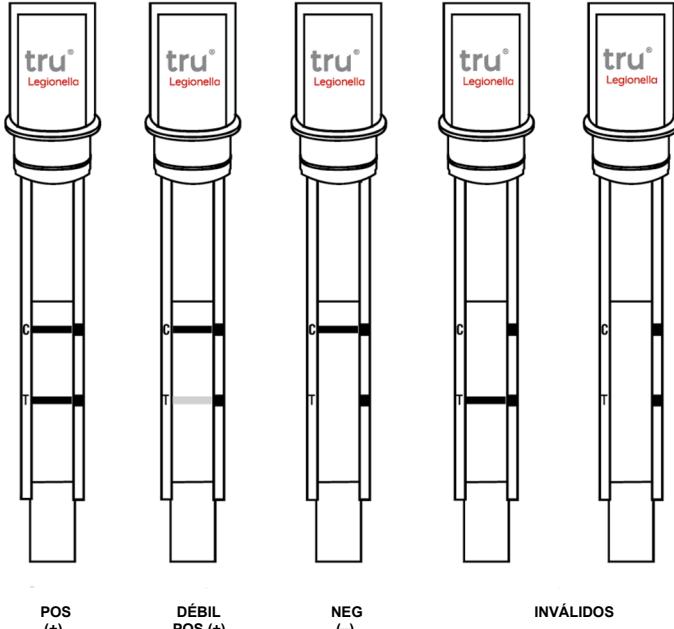
### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire la Tira de Prueba de la bolsa metálica en que viene y deseche la bolsa. Mire muy bien la Tira de prueba. No use la Tira de Prueba si presenta una línea verde.
2. Inserte el extremo angosto de la Tira de Prueba dentro del Tubo con Conjunto y presione firmemente el tapón para cerrar el tubo.
3. Incube en posición vertical durante 20 minutos a una temperatura de 19-27 C.
4. Lea los resultados sobre la tira de prueba dentro de un plazo de 1 minuto. No interprete los resultados pasado este tiempo. (NOTA: Retire la Tira de Prueba del Tubo con Conjunto si las líneas de test o de control son difíciles de leer. Vuelva a tapar el Tubo con Conjunto con el soporte de la Tira de Prueba y deseche el cuando haya concluido la prueba.)

### PRUEBAS DE CONTROL EXTERNO

1. Permita que todos los componentes de la prueba, los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (19-27 C) antes de realizar la prueba.
2. Use 1 Tubo con Conjunto y 1 Tira de Prueba para evaluar el Control positivo y 1 Tubo con Conjunto y 1 Tira de Prueba para evaluar el Control negativo / Diluyente para Muestras.
3. Saque los Tubos con Conjunto de las bolsas metálicas en que vienen y márquelos apropiadamente. Deseche las bolsas metálicas.
4. Quitele las tapas a los Tubos con Conjunto y deseche las.
5. Añada exactamente 5 gotas del reactivo de Control positivo al Tubo con Conjunto que está marcado para el Control positivo. Las gotas deben dispensarse directamente en el centro del tubo.
6. Usando una de las pipetas de transferencia suministradas con el equipo de prueba, añada 200 µL (hasta la segunda marca desde la punta de la pipeta) de Diluyente para Muestra / Control Negativo al Tubo con Conjunto marcado para el Control negativo. Añada directamente al centro del tubo.
7. Mezcle con un agitador mecánico (vortex) o rotando los tubos en forma circular durante 10 segundos.
8. Retire las dos Tiras de Prueba de las bolsas metálicas en que vienen y deseche las bolsas.
9. Inserte el extremo angosto de una Tira de Prueba dentro de cada Tubo con Conjunto y presione firmemente el tapón hacia abajo para cerrar cada tubo.
10. Incube ambos tubos durante 20 minutos a una temperatura entre 19 y 27 C.
11. Lea los resultados sobre la tira de prueba dentro de un plazo de 1 minuto. No interprete los resultados pasado este tiempo. (NOTA: Retire la Tira de Prueba del Tubo con Conjunto si las líneas de test o de control no se pueden leer con facilidad. Vuelva a tapar el Tubo con Conjunto con el soporte de la Tira de Prueba y deseche el cuando haya concluido la prueba.)

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



**Prueba Negativa:** Una banda de color ROSADO A ROJO en la posición de Línea de Control. Ninguna otra banda está presente.

**Prueba positiva:** Una línea de color ROSADO A ROJO de cualquier intensidad de color en las posiciones de Control y línea de test (Test Line) para Legionella. El color de la línea de Test puede ser más pálido que el de la línea de Control. Las líneas de Test pueden verse muy bien o con menos intensidad.

### Resultados inválidos de la prueba:

1. No hay banda en la posición designada para la línea de Control. La prueba es inválida puesto que la ausencia de una banda de control indica que el procedimiento de la prueba no se realizó correctamente.
2. Una banda de color ROSADO A ROJO que aparece en la línea de Test después de 21 minutos de incubación, o una banda de cualquier color que no sea de ROSADO A ROJO. Pueden ocurrir resultados falsos si las pruebas se incuban por demasiado tiempo. Las bandas de otros colores que no sean Rosado a Rojo pueden indicar el deterioro de los reactivos.

*Si cualquier resultado es difícil de interpretar, la prueba debe repetirse con la misma muestra para eliminar el potencial de error. Obtenga una nueva muestra y vuelva a hacer la prueba cuando la muestra original produce repetidamente resultados que no se pueden leer.*

### CONTROL DE CALIDAD

**Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.**

En el momento en que van a usarse los componentes de cada equipo de prueba (kit), deben examinarse a simple vista para determinar la presencia de señales obvias de contaminación microbiana, congelamiento o derrame. No use reactivos contaminados o que se sospeche que lo están.

### Controles internos del procedimiento: Los controles internos del procedimiento están incorporados en la Tira de Prueba y por lo tanto son evaluados con cada prueba.

1. Una banda de color ROSADO A ROJO que aparece en la línea de Control sirve como control del procedimiento, indica que la prueba se realizó correctamente, y que ésta fluyó adecuadamente.
2. Un fondo incoloro alrededor de las líneas de Control o de Test también sirven como control del procedimiento. Las líneas de Test o de Control que se ven oscurecidas por un fondo turbio pueden invalidar la prueba y ser indicativas del deterioro de los reactivos, del uso de una muestra inadecuada o de un funcionamiento inadecuado de la prueba.

### Los reactivos de control externos deben analizarse de acuerdo con los requisitos del laboratorio, o de aquellas agencias locales, estatales o de acreditación que sean aplicables.

1. Véase la sección PRUEBAS DE CONTROL EXTERNO para obtener instrucciones sobre cómo realizar estas pruebas de control.

2. La reactividad de cada lote nuevo y de cada envío nuevo de Legionella Tru debe verificarse al ser recibidos usando reactivos de Control externo, tanto positivo como negativo. El número de pruebas adicionales que se realizan con los controles externos será determinado por los requisitos de las reglamentaciones locales, estatales o nacionales o de las agencias de acreditación.

3. Los controles externos se usan para monitorizar la reactividad de los reactivos. Cuando los controles no generan los resultados esperados esto puede significar que uno de los reactivos o componentes ha perdido su reactividad al momento de usarse, que la prueba no se realizó correctamente o que los reactivos o muestras no fueron añadidos. Si los Controles externos positivo o negativo fallan, no reporte los resultados al médico.

4. Los resultados que se espera ver con los Controles están descritos en la sección INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

5. El equipo de prueba no debe usarse si las pruebas de control no producen los resultados correctos. **Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.**

6. Los reactivos de Control positivo y Control negativo que se fabrican para este ensayo se preparan usando como matriz el Diluyente para Muestras / Control negativo que probablemente no imita las muestras utilizadas en la prueba. Si se prefieren materiales de control cuya composición sea idéntica a la de las muestras a ser analizadas, el usuario los puede preparar diluyendo muestras con un resultado positivo y negativo conocidos en Diluyente para Muestras / Control negativo de acuerdo con la descripción hecha en la sección de PREPARACIÓN DE LA MUESTRA de este inserto.

Nota: Los reactivos de control positivo y negativo (n.º ref. 7949 y 7950) suministrados con el kit Tru Legionella se han validado internamente. El fabricante no asume ninguna responsabilidad por los resultados que se obtengan al usar este dispositivo con cualquier otro control que no haya sido validado.

### VALORES ESPERADOS

La *Legionella pneumophila* serogrupo 1 es un agente causal de alta incidencia a nivel mundial de neumonía adquirida en la comunidad, en los hospitales y durante viajes. La enfermedad de los legionarios (LD en inglés) puede ocurrir de manera esporádica o en brotes. Los datos recientes indican que un 0,5-5,0 % de los adultos hospitalizados por neumonía tienen LD. Cada año ocurren aproximadamente 8,000 a 18,000 casos de LD en los E.U.A.<sup>2,3</sup>

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba es cualitativa y no debe hacerse ninguna interpretación cuantitativa con respecto a la intensidad de la línea de Test positiva al reportar el resultado.
2. La prueba Tru Legionella no puede usarse como único recurso para determinar una infección por *Legionella pneumophila*. Los resultados de la prueba deben usarse en conjunto con la información disponible a partir de la evaluación clínica del paciente y de otros procedimientos diagnósticos.
3. La incubación de la prueba por más tiempo del requerido puede causar resultados positivos falsos. Por el contrario, los períodos de incubación por menos tiempo del que se indica en este inserto pueden causar resultados negativos falsos. Clífase a los tiempos de incubación que se indican en este inserto.
4. La prueba Tru Legionella detecta *Legionella pneumophila* serogrupo 1 tanto viable como no viable. La aparición de resultados positivos en la prueba Tru Legionella depende de la carga antigenica presente en la muestra; por lo tanto, una prueba Tru Legionella positiva puede no siempre tener correlación con los resultados del cultivo bacteriano.
5. Los anticuerpos que se usan en la prueba pueden no detectar todas las variantes antigenicas o cepas nuevas de *Legionella pneumophila* serogrupo 1.
6. Un resultado negativo en la prueba no excluye una infección por *Legionella pneumophila* serogrupo 1 ni tampoco excluye otras infecciones respiratorias de origen microbiano o la enfermedad por causa de serogrupos de *Legionella pneumophila* distintos al serogrupo 1. Un resultado positivo en la prueba no excluye la posibilidad de una coinfección con otros microbios.
7. La prueba de Tru Legionella solamente puede ser ordenada por el médico.
8. Tru Legionella es para uso con muestras de orina. No se recomienda el uso de este ensayo con otro tipo de muestra.
9. Un resultado positivo indica la presencia de antígenos para *Legionella pneumophila* serotipo 1, pero, todos los resultados deben ser revisados por el médico en relación al cuadro clínico.
10. El uso de la prueba Tru Legionella no es para el monitoreo de terapia.
11. Las características de ejecución no han sido establecidas para pacientes menores de 21 años de edad.
12. La ejecución de la prueba de Tru Legionella ha sido solamente establecida para determinación por lectura manual y/o visual.

## CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento de la prueba Tru Legionella fueron establecidas en el 2011. Se evaluó un total de 350 muestras de pacientes calificados; 227 eran muestras retrospectivas congeladas y 123 eran muestras prospectivas. Ciento cuarenta y dos (142) muestras retrospectivas congeladas pertenecían a un panel de muestras que ha sido caracterizado, obtenido de pacientes con Enfermedad de los Legionarios confirmada y pacientes confirmados de no tener Legionella. Las restantes muestras retrospectivas pertenecen a pacientes que se sometieron anteriormente a pruebas de Legionella. Se recolectaron muestras de hombres (63,4 %) y de mujeres (36,6 %). No se observaron diferencias en el funcionamiento de la prueba relacionadas con el sexo. Se obtuvieron muestras de pacientes entre 23 a 96 años de edad. El Cuadro 1 compara el funcionamiento de todas las muestras con Tru Legionella y el ensayo predecesor. El Cuadro 2 compara el funcionamiento de las muestras retrospectivas con Tru Legionella y el ensayo predecesor. El Cuadro 3 compara el funcionamiento de las muestras prospectivas con Tru Legionella y el ensayo predecesor.

**Cuadro 1: Porcentaje de concordancia entre las pruebas Tru Legionella y el Ensayo Predecesor para Muestras Retrospectivas y Prospectivas de Pacientes > 21 años de edad.**

Tru Legionella	Ensayo Predecesor		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	106	0
	Negativo	5	239
Total	111	239	350
			IC 95 %
Concordancia Positiva	106/111	95,5%	89,9 – 98,1%
Concordancia Negativa	239/239	100,0%	98,4 – 100,0%
Concordancia En General	345/350	98,8%	97,3 – 99,5%

**Cuadro 2: Porcentaje de concordancia entre las pruebas Tru Legionella y el Ensayo Predecesor para Muestras Retrospectivas de pacientes > 21 años de edad.**

Tru Legionella	Ensayo Predecesor		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	101	1
	Negativo	5	121
Total	106	121	227
			95% CI
Concordancia Positiva	101/106	95,3%	89,4 – 98,0%
Concordancia Negativa	121/121	100,0%	96,9 – 100,0%
Concordancia En General	222/227	97,8%	94,9 – 99,1%

**Cuadro 3: Porcentaje de concordancia entre las pruebas Tru Legionella y el Ensayo Predecesor para Muestras Prospectivas de pacientes > 21 años de edad.**

Tru Legionella	Ensayo Predecesor		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	5	0
	Negativo	0	118
Total	5	118	123
			95% CI
Concordancia Positiva	5/5	100,0%	56,6 – 100,0%
Concordancia Negativa	118/118	100,0%	96,8 – 100,0%
Concordancia En General	123/123	100,0%	97,0 – 100,0%

## REPRODUCIBILIDAD

La precisión de la prueba, variabilidad dentro de la misma prueba y variabilidad entre prueba y prueba fueron evaluadas con un panel de referencia preparado a partir de una mezcla de muestras negativas a las cuales se les añadió el antigeno *L. pneumophila*. La reproducibilidad del panel consistió en muestras moderadamente positivas (n=3), positivas bajas (n=3), negativas altas (n=3) y negativas (n=1). Las muestras con resultado positivo bajo y negativo alto se prepararon cerca del límite de detección. Cada muestra fue evaluada dos veces al día durante cinco días, por tres laboratorios distintos. La reproducibilidad del ensayo fue 100% sin variabilidad en muestras de inter-ensayo e intra-ensayo preparadas por encima y por debajo del límite de detección para este ensayo.

## REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras de orina positivas y negativas inoculadas con organismos bacterianos o fúngicos a una concentración final de  $1,2 \times 10^8$  UFC/mL o a una concentración viral mayor que  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL. Ninguno de los siguientes organismos en orina reaccionaron en la prueba Tru Legionella:

*Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemani*, *Legionella dumoffii*, *Legionella feeleii*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila* serogrupo 2 Togus, *Legionella pneumophila* serogrupo 3 Bloomington, *Legionella pneumophila* serogrupo 4, *Legionella pneumophila* serogrupo 5, *Legionella pneumophila* serogrupo 6, *Morganella morganii*, *Moraxella osloensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* grupos A, B, D, F, G, *Streptococcus pneumoniae*, Adenovirus, Coxsackievirus, Influenza A, Influenza B, Virus de la Parainfluenza, virus respiratorio sincitial A, y virus respiratorio sincitial B.

## ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

Los siguientes cultivos patrón obtenidos a partir de distintas fuentes fueron analizados y estos generaron resultados positivos a una concentración mínima de  $4,8 \times 10^6$  UFC/mL cuando se corrieron en la prueba Tru Legionella:

Subgrupo Pontiac: CCUG 13395; NCTC 12024, Allentown 1; NCTC 12006, Benidorm; CCUG 33058, Knoxville; NCTC 12007, France.

Subgrupo no-Pontiac: NCTC 12008, OLDA; NCTC 12098, Camperdown; NCTC 12025, Heysham; NCTC 12009, Oxford.

## SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica de la prueba Tru Legionella fue evaluada usando dos cepas de *L. pneumophila*. Los organismos analizados y las sensibilidades analíticas están anotadas en el cuadro que aparece a continuación:

Identificación de la cepa	Límite de detección (LD)
Cepa Philadelphia (subgrupo Pontiac; ATCC 33152)	$3,76 \times 10^5$ UFC/mL
Cepa Bellingham (subgrupo no-Pontiac; NCTC 11404)	$5,2 \times 10^5$ UFC/mL

## PRUEBAS PARA SUBSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes substancias, a las concentraciones saturadas de solvente / diluyente especificadas, no demostraron interferencia con los resultados de la prueba a las concentraciones finales anotadas:

Amfotericina B (0,22 mg/mL), antihistamina [Diphenhydramine HCl (0,22 mg/mL)], ácido ascorbico (1,0 mg/mL), raíz de remolacha (0,01%), bilirrubina (0,2 mg/mL), ácido borico (2,63 mg/mL), Cafeína, purificada (0,4%), Clorofila (0,81 mg/mL), Ciprofloxacina (0,22 mg/mL), tabletas para la gripe y el resfriado [Acetaminofeno (50 mg/mL), Chlorpheniramine maleato (0,2 mg/mL), Phenylephrine hydrochloride (0,5 mg/mL)] tabletas de chupar para la tos con [mentol (0,22 mg/mL)], jarabe para la tos [Dextromethorphan HBr (0,20 mg/mL), Guafenesin (2,0 mg/mL)], descongestionante [Phenylephrine HCl (0,22 mg/mL)], eritromicina (0,067 mg/mL), glucosa (20 mg/mL), itraconazol (0,22 mg/mL), miconazol (5%), ácido oxálico (0,01%), prednisona (0,22 mg/mL), albúmina bovina sérica proteína [BSA (5 mg/mL)], Pseudoephedrine [Pseudoephedrine HCl (0,01 mg/mL)], rifampicina (0,09 mg/mL), Tabaco, purificado (0,4%), urea (20 mg/mL), jalea vaginal contraceptiva con nonoxinol-9, 4% (5% v/v), lubricante personal a base de agua (KY Jelly) (5% v/v), glóbulos blancos (10%), y sangre completa (10%).



(US Patent No. US D560,281S; US D561,344S; US 744,9775 B2)

**Ein schneller Immunoassay für den Nachweis von *Legionella pneumophila*- Antigenen der Serogruppe 1 in Humanurinproben**

REF 751930

IVD

Rx Only

**VERWENDUNGSZWECK**

Der Tru Legionella-Test ist ein schneller In-vitro-Immunoassay mit lateraler Flussrichtung für den qualitativen Nachweis von *Legionella pneumophila*- Antigenen der Serogruppe 1 in Humanurinproben. Er ist für das Testen der Proben von Patienten mit Pneumonie-Symptomen konzipiert. Die Testergebnisse sollen zur Unterstützung der Diagnose einer Infektion mit *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 herangezogen werden. Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 nicht aus. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.

**ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS**

Die Gattung *Legionella* wurde erstmals 1976 beschrieben, und zwar nach einem Ausbruch schwerer Pneumonie bei einem Kongress US-amerikanischer Kriegsveteranen (American Legion Convention) in Philadelphia, USA.<sup>3</sup> Seitdem wurden mehr als 50 Spezies der Gattung *Legionella* beschrieben, von denen über 24 Spezies mit Erkrankungen beim Menschen assoziiert sind.<sup>1</sup> Durch *Legionella pneumophila* verursachte Erkrankungen beim Menschen können von schwerer Pneumonie (Legionärskrankheit) bis hin zu einem mildernden grippähnlichen Syndrom (Pontiac-Fieber) reichen. Die *Legionella*-Spezies sind bedeutende Krankheitserreger, die im täglichen Umgang nosokomial und mit Reisen verbunden erworben werden. Sie können sowohl sporadisch als auch ausbruchsweise auftreten. Bei Isolierung des Organismus aus Kulturen sind über 90 % der LD-Fälle auf *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 zurückzuführen.<sup>2</sup> Die häufigsten Quellen von *Legionella*-Infektionen beim Menschen sind künstliche Wassersysteme. Eine *Legionella*-Übertragung von Mensch zu Mensch wurde noch nie nachgewiesen.<sup>1</sup> Die Differenzierung einer mit Legionärskrankheit assoziierten Pneumonie von einer Pneumonie, die durch andere Mikroorganismen verursacht wurde, ist schwierig, wenn sie ausschließlich auf klinischen Parametern basiert. Daher verlassen sich Kliniker beim Nachweis der Legionärskrankheit auf Labortests. Zu den für den Nachweis der Legionärskrankheit verfügbaren Labortests zählen Bakterienkultur, DFA, Serologie und der Urin-Antigenassay. Urin-Antigentests sind hochspezifisch, mäßig empfindlich, schnell und für die angemessene Gestaltung einer Antibiotikatherapie heranziehbar. Sie haben sich zu dem für den Legionärskrankheit-Nachweis am häufigsten eingesetzten Assay entwickelt.<sup>4</sup>

**BIOLOGISCHE PRINZIPIEN**

Tru Legionella ist ein Einmal-Erfassungsimmunoassay für den Nachweis von *Legionella pneumophila*- Antigenen der Serogruppe 1 in Humanurinproben. Der Test umfasst ein Konjugatröhrchen, einen Teststreifen und Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle. Im Konjugatröhrchen ist eine lyophilisierte Kugel aus Goldgel gebundenen polyclonalen Antikörpern gegen *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 (Nachweisantikörper) bestellt und Esel-anti-Huhn polyclonale Antikörper der Klasse IgY als Kontroll-Detektor-Antikörper. Der Teststreifen besitzt eine Nitrozellulose-Membran, auf der in einer entsprechend ausgewiesenen Legionella-Testlinie getrocknete Erfassungsantikörper vorliegen. Der Teststreifenhalter dient während der Testdurchführung und bei der anschließenden Entsorgung als Konjugatröhrchen-Verschluss, um den Kontakt mit möglichen Krankheitserregern zu reduzieren.

Die Konjugat-Kugel wird zunächst im Konjugatröhrchen mit Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle rehydriert. Anschließend wird die Patientenprobe hinzugegeben, der Inhalt gemischt und der Teststreifen eingebbracht. Eventuell vorhandene *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1-Antigene werden an das Konjugat aus Antikörpern und Goldgel gebunden. Wenn die Probe am Teststreifen entlang zur Test-Linie migriert, wird der Antigen-Konjugat-Komplex an den Erfassungsantikörper gebunden, wobei sich eine rosa-rote Linie ergibt. Liegt kein Antigen vor, kommt es nicht zur Komplexbildung und es erscheint keine rosa-rote Linie an der Test-Linie. Eine interne Kontrolllinie dient als Hilfsmittel für die Überprüfung der ordnungsgemäßen Testdurchführung, und des angemessenen Flusses durch den Teststreifen beim Testlauf. Bei jedem Testen einer Probe oder Kontrolle sollte eine sichtbare rosa-rote Linie an der Kontroll-Position des Teststreifens vorliegen. Ist keine rosa-rote Kontrolllinie zu sehen, ist der Test als ungültig zu erachten.

**REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN**

**Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Außenseite der Packung angegeben.**

- Teststreifen:** Ein an einem Kunststoffhalter sitzender Teststreifen in einem Folienbeutel mit Trockenmittel. Auf dem Teststreifen befinden sich Anti-*Legionella pneumophila*-Serogruppe 1-Erfassungsantikörper für die Bildung der Testlinie. Der Halter dient zum Verschließen des Konjugatröhrchens. Der Streifenrahmen des Halters weist aus, wo die Test- und Kontrolllinien erscheinen sollten. Den Beutel bis zum Gebrauch bei 2–27 °C lagern. Das Gerät nicht verwenden, wenn der Trockenmittelindikator (die Linie in der Mitte des Trockenmittels) von Blau nach Rosa umgeschlagen ist.
- Konjugatröhrchen:** Ein mit einer Kappe versehenes Kunststoffröhrchen mit einer Konjugat-Kugel. Das Röhrchen ist in einem Folienbeutel verpackt. Das Konjugat besteht aus Gold konjugiertem Antikörper gegen *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1, der als Nachweisantikörper dient und Esel-anti-Huhn polyclonale Antikörper der Klasse IgY als Kontroll-Detektor-Antikörper. Den Folienbeutel bis zum Gebrauch bei 2–27 °C lagern. Nicht im Gefrierschrank lagern. Die Kappe erst unmittelbar vor dem Gebrauch entfernen.
- Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle:** Eine gepufferte Proteinlösung in einem Kunststofffläschchen. Enthält Natriumazid (0,094 %) als Konservierungsmittel. Im Lieferzustand zu verwenden. Bis zum Gebrauch bei 2–27 °C lagern.
- Positivkontrolle:** Inaktivierte *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 in einem gepufferten Verdünnungsmittel mit Natriumazid (0,094 %) als Konservierungsmittel. Das Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert. Bis zum Gebrauch bei 2–27 °C lagern.
- Transferpipetten aus Kunststoff** (mit Volumenskalierung für 100, 200 und 300 µL).

**BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN**

- Einmal-Handschuhe aus Latex (Urinproben sind als potenziell biologisch gefährliches Material anzusehen.)
- Vortexmixer für das Suspensions der Proben im Probenverdünnungsmittel (optional)
- Intervallzeitgeber
- Stift zur Beschriftung
- Optional: Urin-Konservierungsprodukt mit Borsäure, wie bspw. BD Vacutainer® C&S Preservative Plus Urine Tube

**VORSICHTSMASSNAHMEN**

- Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Teststreifen, Konjugatröhrchen und Positivkontrolle aus Testkits verschiedener Chargennummern NICHT untereinander austauschen. Das Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle ist kitchargenübergreifend verwendbar solange das Verfallsdatum nicht abgelaufen ist. Die Kitkomponenten nicht über das in der Kit kennzeichnung angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
- Keine Komponenten ohne Etikett, Chargennummer oder Verfallsdatum verwenden.
- Reagenzien bei Verfärbung oder Trübe nicht verwenden. Verfärbung oder Trübe können Anzeichen einer mikrobiellen Kontaminierung sein.
- Reagenzien vor Gebrauch auf 19–27 °C aufwärmen lassen.
- Alle Reagenzien vor Gebrauch behutsam mischen.
- Das Positivkontrolle-Reagenzienfläschchen bei der Tropfenabgabe senkrecht halten, um eine einheitliche Tropfengröße und Abgabe zu gewährleisten.
- Für Probenbereitung und -transfer müssen die im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten verwendet werden (je eine pro Probe).
- Alle Abweichungen (nach oben oder unten) von den festgelegten Inkubationszeiten können sich auf die Empfindlichkeit und die Spezifität auswirken und sind zu vermeiden.
- Die Teststreifen und Konjugatröhrchen sind in Folienbeuteln verpackt, die bei der Lagerung als Feuchtigkeitsschutz dienen. Jeden einzelnen Folienbeutel vor Gebrauch inspizieren. Teststreifen oder Konjugatröhrchen, deren Folienbeutel Löcher aufweisen bzw. deren Beutel nicht vollständig verschlossen sind, nicht verwenden. Teststreifen, deren Trockenmittelindikator von Blau nach Rosa umgeschlagen ist, nicht verwenden.. Das Umschlagen der Trockenmittelfarbe ist ein Anzeichen dafür, dass das Testgerät Feuchtigkeit ausgesetzt war. Wenn Teststreifen oder Konjugatröhrchen Feuchtigkeit ausgesetzt waren, kann es zu falsch-negativen Reaktionen kommen.
- Alle Urinproben sind vor dem Test gut zu mischen, um von den Pipettieren repräsentative Proben zu gewährleisten.
- Legionella pneumophila*-Antigene der Serogruppe 1 können relativ labil sein. Die Proben müssen so gelagert werden, wie in dieser Verfahrensbeschreibung ausgeführt. Selbst wenn die Proben in gefrorenem Zustand gelagert werden, kann die Geschwindigkeit des Antigen-Zerfalls von Probe zu Probe unterschiedlich und nicht vorhersehbar sein.
- Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle ist innerhalb von einer Minute nach dem Entfernen des Röhrchenverschlusses in das Konjugatröhrchen zu geben.

**WARNINGS**

- Patientenproben können Krankheitserreger enthalten und sind daher als potenziell biogefährliche Substanzen zu handhaben und zu entsorgen.
- Alle gebrauchten Testmaterialien in einem geeigneten Behälter entsorgen. Abfälle sind als potenziell biogefährliche Substanzen zu erachten.
- Die Positivkontrolle enthält inaktiviertes *Legionella pneumophila*-Antigen der Serogruppe 1 und ist jedoch als potenziell infektiös zu handhaben. Dieses Reagenz enthält 0,094 % Natriumazid. Natriumazid reizt die Haut. Berührung mit der Haut vermeiden. Beim Entsorgen von Natriumazid enthaltenden Reagenzien in Abflussteilungen aus Blei oder Kupfer kann es zur Bildung von explosiven Metalloxiden kommen. Daher müssen die Röhrchen reichlich mit Wasser nachgespült werden, um das Metalloxid herauszulösen.

**GEFÄHREN UND SICHERHEITSHINWEISE**

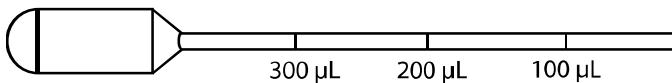
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

**HALTBARKEIT UND LAGERUNG**

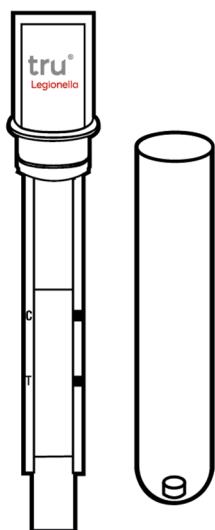
Das Kit-Verfallsdatum ist auf dem Kit-Etikett angegeben. Den Kit bei 2–27 °C lagern.

## HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Tru Legionella-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet.



Tru Legionella-Teststreifen und -Konjugatröhrchen sind im Folgenden abgebildet.



## PROBENNAHME UND - VORBEREITUNG

**Humanurinproben, ohne Konservierungsmittel:** Die Proben müssen in luftdicht verschlossenen Transportbehältern eingegeben werden und bis zum Testen bei 2–8 °C gelagert werden. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 °C bis zu sieben Tage lang aufbewahrt werden. Proben, die voraussichtlich nicht innerhalb von sieben Tagen getestet werden, sind unmittelbar nach Eingang einzufrieren und bis zum Testen bei ≤ -20 °C zu lagern. Wenn die Proben vor dem Testen bei ≤ -20 °C gelagert wurden, können sie bis zu zwei Mal eingefroren und aufgetaut werden.

**Humanurinproben, mit Borsäure als Konservierungsmittel:** Die Proben müssen in luftdicht verschlossenen Urinröhren mit Borsäure (Boric Acid Urine Tube) eingegeben werden und bis zum Testen bei 2–8 °C gelagert werden. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 °C bis zu sieben Tage lang aufbewahrt werden. (Siehe Anweisungen für Urin mit Borsäure als Konservierungsmittel im Abschnitt PROBENVORBEREITUNG.) Proben, die voraussichtlich nicht innerhalb von sieben Tagen getestet werden, sind unmittelbar nach Eingang einzufrieren und bis zum Testen bei ≤ -20 °C zu lagern. Wenn die Proben vor dem Testen bei ≤ -20 °C gelagert wurden, können sie bis zu zwei Mal eingefroren und aufgetaut werden.

## PROBENVORBEREITUNG

Den Urin vor dem Pipettieren gründlich durchmischen. Proben und Reagenzien vor dem Testen auf Zimmertemperatur (19–27 °C) bringen.

### 1. Humanurinproben, ohne oder mit Konservierungsmittel:

- Ein Konjugatröhrchen aus seinem Folienbeutel nehmen und den Beutel entsorgen. Das Röhrchen mit dem Namen des Patienten beschriften.
- Die Kappe vom Konjugatröhrchen abnehmen und entsorgen.
- Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten unverzüglich 100 µL (erste Markierung von der Pipettenspitze) Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle in das Konjugatröhrchen geben. Unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben. Den Inhalt des Konjugatröhrchens 10 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen bzw. schwenken.\*
- Patientenprobe gründlich mischen. Die Probe mit Hilfe einer der im Kit enthaltenen Transferpipetten behutsam jedoch gründlich mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Alternativ hierzu kann die Probe auch mindestens 10 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden.
- Mit derselben Pipette 100 µL Probe (erste Markierung vom Pipetten-Ende) aspirieren und in das Konjugatröhrchen hinzugeben.
- Mit Hilfe derselben Pipette Probe und Konjugat gründlich, jedoch behutsam mischen; hierzu den Pipettenbalg dreimal zusammendrücken. Alternativ hierzu kann das Gemisch auch mindestens 10 Sekunden lang mit einem Vortexmischer gemischt werden. Die Pipette entsorgen.

\*Warnung: Verdünnungsfehler können die Testleistung beeinträchtigen. Die Zugabe einer unzureichenden Urinprobenmenge zu Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle kann ein falsch-negatives Testergebnis zur Folge haben. Die Zugabe einer zu geringen Menge an Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle kann falsch-positive Testergebnisse zur Folge haben. Die Zugabe einer zu großen Probenmenge kann auf Grund der Hemmung des einwandfreien Probenflusses zu ungültigen Testergebnissen führen.

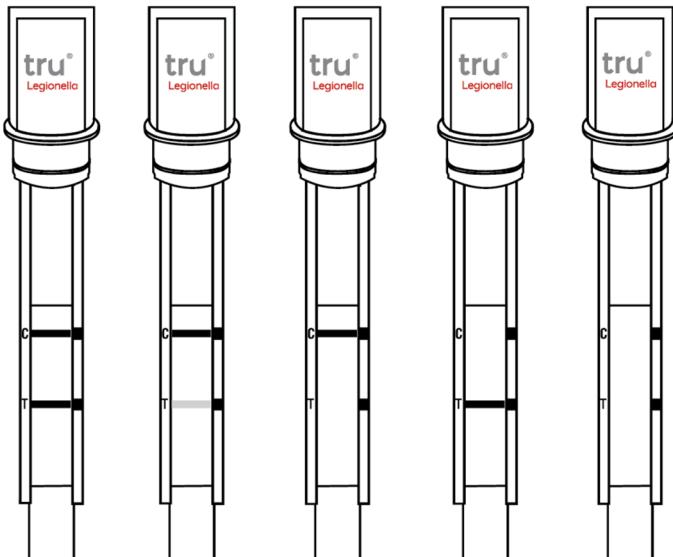
## TESTDURCHFÜHRUNG

- Den Teststreifen aus seinem Folienbeutel nehmen und den Beutel entsorgen. Den Teststreifen sichtprüfen. Den Teststreifen nicht verwenden, wenn eine grüne Linie vorhanden ist.
- Das schmale Ende des Teststreifens in das Konjugatröhrchen einführen und das Röhrchen durch festes Aufdrücken der Kappe verschließen.
- In aufrechter Position in einem Gestell 20 Minuten lang bei 19–27 °C inkubieren.
- Die Ergebnisse innerhalb von 1 Minute vom Teststreifen ablesen. Nach diesem Zeitraum keine Ergebnisse mehr ablesen. (HINWEIS: Sollte das Ablesen der Test- bzw. Kontroll-Linie schwierig sein, den Teststreifen aus dem Konjugatröhrchen nehmen. Das Konjugatröhrchen wieder mit dem Teststreifenhalter verschließen und nach Testabschluss entsorgen.)

## EXTERNE KONTROLLTESTS

- Alle Testkomponenten, Reagenzien und Proben vor dem Testen auf Zimmertemperatur (19–27 °C) bringen.
- Zum Testen der positiven Kontrolle sowie zum Testen der negativen Kontrolle jeweils ein Konjugatröhrchen und einen Teststreifen verwenden.
- Die Konjugatröhrchen aus ihren Folienbeuteln entnehmen und entsprechend auszeichnen. Die Beutel entsorgen.
- Die Kappen von den Konjugatröhrchen abnehmen und entsorgen.
- Exakt 5 Tropfen Positivkontrolle in das für die Positivkontrolle gekennzeichnete Konjugatröhrchen geben. Die Tropfen unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben.
- Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten 200 µL (zweite Markierung vom Ende der Pipettenspitze) Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle in das für die Negativkontrolle gekennzeichnete Konjugatröhrchen geben. Unmittelbar in die Röhrchenmitte abgeben.
- Den Röhrcheninhalt 10 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen bzw. schwenken.
- Zwei Teststreifen aus ihren Folienbeuteln nehmen und die Beutel entsorgen.
- In jedes Konjugatröhrchen das schmale Ende eines Teststreifens einführen und die Röhrchen durch festes Aufdrücken der Kappen verschließen.
- Beide Röhrchen 20 Minuten lang bei 19–27 °C inkubieren.
- Die Ergebnisse innerhalb von 1 Minute vom Teststreifen ablesen. Nach diesem Zeitraum keine Ergebnisse mehr ablesen. (HINWEIS: Sollte das Ablesen der Test- bzw. Kontroll-Linie schwierig sein, den Teststreifen aus dem Konjugatröhrchen nehmen. Das Konjugatröhrchen wieder mit dem Teststreifenhalter verschließen und nach Testabschluss entsorgen.)

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



**POS  
(+)**

**SCHWACH  
Pos (+)**

**NEG  
(-)**

**UNGÜLTIGE**

**Negativer Test:** Eine ROSA-ROTE Linie an der Kontroll-Linienposition. Keine sonstigen Linien.

**Positiver Test:** ROSA-ROTE Linie jeglicher Farbintensität an den Kontroll- und Legionella-Test-Linienpositionen. Die Färbung der Test-Linie kann heller sein als die der Kontroll-Linie. Test-Linien können stark oder schwach ausgeprägt sein.

### Ungültige Testergebnisse:

1. Keine Linie an der als Kontrolllinie vorgesehenen Position. Der Test ist ungültig, da das Fehlen einer Kontrolllinie bedeutet, dass das Testverfahren nicht korrekt durchgeführt wurde.
2. Eine ROSA-ROTE Linie an der Test-Linienposition des Geräts nach 21 Minuten langer Inkubation oder eine andere Linienfärbung außer ROSA-ROT. Zu falsch-positiven Ergebnissen kann es kommen, wenn Tests zu lange inkubiert werden. Linienfärbungen außer ROSA-ROT können auf einen Reagenzienzerrfall hinweisen.

**Lässt sich ein Ergebnis nur schwer interpretieren, ist der Test mit derselben Probe zu wiederholen, um die Möglichkeit eines Fehlers auszuschließen. Eine neue Probe einholen und erneut testen, falls die ursprüngliche Probe wiederholt nicht ablesbare Ergebnisse erbringt.**

### QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

Die Kitkomponenten vor jedem Gebrauch auf offensichtliche Anzeichen von Mikrobenkontamination, Gefrieren oder Flüssigkeitsaustritt sichtprüfen. Kontaminierte oder fragwürdige Reagenzien nicht verwenden.

### Interne Verfahrenskontrollen: Interne Verfahrenskontrollen sind in den Teststreifen integriert und werden daher bei jedem Test durchgeführt.

1. Das Erscheinen einer ROSA-ROten Kontrolllinie dient als Verfahrenskontrolle, und bedeutet, dass der Test korrekt durchgeführt wurde, und dass der Probenfluss einwandfrei war.
2. Ein farbloser Hintergrund um die Kontroll- oder Test-Linie dient ebenfalls als Verfahrenskontrolle. Durch eine dunkle Hintergrundfarbe unkenntlich gemachte Kontroll- oder Test-Linien können den Test ungültig machen und ein Anzeichen von Reagenzienzerrfall, Heranziehung einer inadäquaten Probe oder fehlerhafter Testdurchführung sein.

### Externe Kontrollreagenzien sind gemäß den Labrvorschriften oder den einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder zulassungsbehördlichen Auflagen zu testen:

1. Anweisungen zur Durchführung dieser Kontrolltests enthält der Abschnitt EXTERNE KONTROLLTESTS.
  2. Die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Tru Legionella Lieferung sollte nach Erhalt unter Heranziehung externer Positivkontrolle und Negativkontrolle-Reagenzien bestätigt werden. Die Anzahl der zusätzlich durchzuführenden Tests mit externen Kontrollen ist abhängig von den lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen.
  3. Die externen Kontrollen dienen zur Überwachung der Reagenzienreakтивität. Erbringen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, kann dies bedeuten, dass eines der Reagenzien bzw. eine der Komponenten zum Zeitpunkt der Verwendung nicht mehr reaktionsfähig war, dass der Test nicht ordnungsgemäß durchgeführt wurde, oder dass Reagenzien oder Proben nicht hinzugegeben wurden. Bei Versagen der externen Positivkontrolle oder Negativkontrolle die Testergebnisse nicht an den Kliniker ausgeben.
  4. Die für die Kontrollen zu erwartenden Ergebnisse sind im Abschnitt AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE erläutert.
  5. Den Kit nicht verwenden, wenn die Kontrolltests keine korrekten Ergebnisse erbringen. Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltests. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.
  6. Die für diesen Assay hergestellten Positivkontrolle- und Negativkontrolle-Reagenzien werden in der Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle-Matrix zubereitet, die evtl. nicht den Testproben gleicht. Falls die Zusammensetzung der Kontrollmaterialien mit der der Testproben identisch sein soll, kann der Anwender dies durch Verdünnen bekannter positiver und negativer Proben in Probenverdünnungsmittel/Negativkontrolle gemäß dem Abschnitt PROBENVORBEREITUNG dieser Packungsbeilage erreichen.
- Hinweis: Die positiven und negativen Kontrollreagenzien (Bestellnr. 7949 und 7950), die im Lieferumfang des Kits Tru Legionella enthalten sind, wurden intern validiert. Der Hersteller ist nicht für Ergebnisse verantwortlich, die unter Anwendung dieses Geräts mit einer nicht validierten Kontrolle ermittelt wurden.

### ERWARTETE WERTE

*Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 ist ein weltweit bedeutender Erreger der auf Reisen oder im täglichen Umgang oder im Krankenhaus zu einer Pneumonie führen kann. Es ist bekannt, dass die Legionärskrankheit sporadisch und ausbruchweise auftreten kann. Jüngeren Daten zufolge leiden 0,5–5,0 % der mit Pneumonie ins Krankenhaus aufgenommenen Erwachsenen an Legionärskrankheit. In den USA gibt es jedes Jahr ca. 8,000–18,000 Fälle von Legionärskrankheit.<sup>2,3</sup>

### EINSCHRÄNKUNGEN

1. Es handelt sich um einen qualitativen Test, und es darf bei der Ergebnisausgabe keine quantitative Interpretation der Intensität der positiven Test-Linie gemacht werden.
2. Tru Legionella darf nicht als einzige Nachweismethode für eine *Legionella pneumophila*-Infektion herangezogen werden. Die Testergebnisse sind in Verbindung mit den verfügbaren Daten aus der klinischen Untersuchung des Patienten und anderen Diagnostikverfahren heranzuziehen.
3. Eine übermäßige Testinkubation kann vermehrt zu falsch positiven Testergebnissen führen. Dagegen können kürzere Inkubationsdauern als in dieser Packungsbeilage angegeben vermehrt zu falsch negativen Testergebnissen führen. Die in dieser Packungsbeilage angegebenen Inkubationsdauern sind einzuhalten.
4. Mit Tru Legionella lassen sich sowohl lebensfähige als auch nicht lebensfähige Angehörige der *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 nachweisen. Das Erscheinen von positiven Tru Legionella-Testergebnissen ist abhängig von der Antigenbelastung der Probe; es ist daher möglich, dass ein positiver Tru Legionella-Test nicht immer mit den Bakterienkultur-Ergebnissen korreliert.
5. Die Antikörper die in diesem Test benutzt werden, können nicht alle Antigenvarianten oder neuen Stämme der *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 nachweisen.
6. Ein negatives Testergebnis schließt eine Infektion mit *Legionella pneumophila*-Serogruppe 1 nicht aus und schließt auch keine anderen mikrobiellen Atemwegsinfektionen oder -erkrankungen aus, die durch *Legionella pneumophila*-Serogruppen verursacht wurden, bei denen es sich nicht um Serogruppe 1 handelt. Ein positives Testergebnis schließt eine durch andere Mikroben verursachte Begleitinfektion nicht aus.
7. Der Tru Legionella Test muss ärztlich verschrieben werden.
8. Der Tru Legionella Test soll nur mit Urinproben verwendet werden. Es wird nicht empfohlen andere Proben zu testen.
9. Positive Ergebnisse lassen die Anwesenheit von *Legionella pneumophila* Antigene der Serogruppe 1 vermuten. Allerdings müssen alle Testergebnisse von einem Arzt in Verbindung mit dem klinischen Befund bewertet werden.
10. Der Tru Legionella Test ist nicht zur Therapieüberwachung geeignet.
11. Die Leistungsmerkmale des Tru Legionella-Tests wurden nicht mit Proben von Patienten unter 21 Jahren evaluiert.
12. Die Leistungsmerkmale des Tru Legionella-Tests wurden nur ermittelt durch visuelle Ergebnisauswertung.

## LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale des Tru Legionella-Tests wurden 2011 ermittelt. Insgesamt wurden 350 ausgewählte Patientenproben untersucht; 227 Proben waren gefrorene Retrospektivproben und 123 waren Prospektivproben. Ein hundert-zwei-und-vierzig (142) gefrorene Retrospektivproben stammten von einem gut charakterisierten Probenpanel. Die Proben stammten von Patienten mit bestätigter Legionärskrankheit und von Patienten, die schon vorher als keine Legionella-Fälle bestätigt wurden. Die restlichen Patientenretrospektivproben wurden schon vorher dem Legionella-Test unterzogen. Die Proben stammten von männlichen (63,4 %) und weiblichen (36,6 %) Personen. Es zeigten sich keine auf das Geschlecht zurückzuführenden Testleistungsunterschiede. Die Proben stammten von Patienten im Alter von 23 bis 96 Jahren. In Tabelle 1 werden für alle Proben die Leistungsmerkmale des Tru Legionella Tests mit dem kommerziellen Test verglichen. In Tabelle 2 werden die Leistungsmerkmale des Tru Legionella Tests mit dem kommerziellen Test nur für die Retrospektivproben verglichen. In Tabelle 3 werden die Leistungsmerkmale des Tru Legionella Tests mit dem kommerziellen Test nur für die Prospektivproben verglichen.

**Tabelle 1: Prozentuale Übereinstimmung von Tru Legionella mit dem kommerziellen Test für Retrospektiv-und Prospektivproben von Patienten > 21 Jahren**

Tru Legionella	Kommerzieller Test		
	Positiv	Negativ	Gesamt
	106	0	106
<b>Positiv</b>	106	0	106
<b>Negativ</b>	5	239	244
<b>Gesamt</b>	111	239	350
			<b>95%-VI</b>
<b>Übereinstimmung, positiv</b>	106/111	95,5%	89,9 – 98,1%
<b>Übereinstimmung, negativ</b>	239/239	100,0%	98,4 – 100,0%
<b>Gesamte Übereinstimmung</b>	345/350	98,8%	97,3 – 99,5%

**Tabelle 2: Prozentuale Übereinstimmung von Tru Legionella mit dem kommerziellen Test für Retrospektivproben von Patienten > 21 Jahren**

Tru Legionella	Kommerzieller Test		
	Positiv	Negativ	Gesamt
	101	0	101
<b>Positiv</b>	101	0	101
<b>Negativ</b>	5	121	126
<b>Gesamt</b>	106	121	227
			<b>95% VI</b>
<b>Übereinstimmung, positiv</b>	101/106	95,3%	89,4 – 98,0%
<b>Übereinstimmung, negativ</b>	121/121	100,0%	96,9 – 100,0%
<b>Gesamte Übereinstimmung</b>	222/227	97,8%	94,9 – 99,1%

**Tabelle 3: Prozentuale Übereinstimmung von Tru Legionella mit dem kommerziellen Test für Prospektivproben von Patienten > 21 Jahren**

Tru Legionella	Kommerzieller Test		
	Positiv	Negativ	Gesamt
	5	0	5
<b>Positiv</b>	5	0	5
<b>Negativ</b>	0	118	118
<b>Gesamt</b>	5	118	123
			<b>95% VI</b>
<b>Übereinstimmung, positiv</b>	5/5	100,0%	56,6 – 100,0%
<b>Übereinstimmung, negativ</b>	118/118	100,0%	96,8 – 100,0%
<b>Gesamte Übereinstimmung</b>	123/123	100,0%	97,0 – 100,0%

## REPRODUZIERBARKEIT

Assay-Präzision, Schwankungen innerhalb eines Assays sowie Schwankungen zwischen Assays wurden anhand eines Referenzprofils aus Pools negativer Proben mit *L. pneumophila*-Antigen-Zusatz beurteilt. Das Reproduzierbarkeitsprofil bestand aus mäßig positiven (n=3), schwach positiven (n=3), hochgradig negativen (n=3) und negativen (n=1) Proben. Die schwach positiven und die hochgradig negativen Proben wurden nahe des cutoff Werts vorbereitet. Jede Probe wurde in drei verschiedenen Labors an fünf Tagen zweimal täglich untersucht. Die Wiederholbarkeit betrug bei über oder unter der Analysenempfindlichkeitsgrenze liegenden Probenzubereitungen bei 100%, ohne Schwankungen innerhalb eines Assays bzw. zwischen Assays.

## KREUZREAKTIVITÄT

Es wurden Kreuzreaktivitätsuntersuchungen mit positiven und negativen Urinproben durchgeführt, die mit Bakterien oder Pilzen auf Endkonzentrationen von  $1,2 \times 10^8$  KBE/mL bzw. mit Virenkonzentrationen auf mehr als  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL beimpft waren. Keine der folgenden, im Urin vorhandenen Organismen reagierte mit Tru Legionella:

*Alcaligenes faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemani*, *Legionella dumoffii*, *Legionella feeleii*, *Legionella gormanii*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila*-Serogruppe 2 Togus, *Legionella pneumophila*-Serogruppe 3 Bloomington, *Legionella pneumophila*-Serogruppe 4, *Legionella pneumophila*-Serogruppe 5, *Legionella pneumophila*-Serogruppe 6, *Morganella morganii*, *Moraxella osloensis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus*-Gruppen A, B, D, F, G, *Streptococcus pneumoniae*, Adenovirus, Coxsackievirus, Influenza A, Influenza B, Parainfluenzavirus, RS-Virus (engl.: Respiratory Syncytial Virus A = RSV) und RS-Virus (engl.: Respiratory Syncytial Virus B = RSV).

## ASSAY-SPEZIFITÄT

Die folgenden *L. pneumophila*-Stammkulturen aus verschiedenen Quellen ergaben beim Testen mit dem Tru Legionella-Assay positive Reaktionen bei einer minimalen Konzentration von  $4,8 \times 10^6$  KBE/mL:

Pontiac-Untergruppe: CCUG 13395; NCTC 12024, Allentown 1; NCTC 12006, Benidorm; CCUG 33058, Knoxville; NCTC 12007, France.

Nicht-Pontiac-Untergruppe: NCTC 12008, OLDA; NCTC 12098, Camperdown; NCTC 12025, Heysham; NCTC 12009, Oxford.

## TESTEMPFINDLICHKEIT

Die Testempfindlichkeit des Tru Legionella-Assays wurde anhand von zwei *L. pneumophila*-Stämmen untersucht. Die getesteten Organismen und die Testempfindlichkeitswerte sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Stamm-ID	Nachweisgrenze (LoD)
Philadelphia-Stamm (Pontiac-Untergruppe; ATCC 33152)	$3,76 \times 10^5$ KBE/mL
Bellingham-Stamm (Nicht-Pontiac-Untergruppe; NCTC 11404)	$5,2 \times 10^5$ KBE/mL

## STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die folgenden Substanzen zeigten in den angegebenen gesättigten Lösungen/Verdünnungen und den aufgeführten Endkonzentrationen keine Auswirkungen auf die Testergebnisse:  
 Amphotericin B (0,22 mg/mL), Antihistamin [Diphenhydramine HCl (0,22 mg/mL)], Ascorbinsäure (1,0 mg/mL), Rotebeete Saftpulver (0,01%), Bilirubin (0,2 mg/mL), Borsäure (2,63 mg/mL) gereinigtes Koffein (0,4%), Chlorophyll (0,81 mg/mL), Ciprofloxacin (0,22 mg/mL), Erkältungs-/Grippetabletten [Acetaminophen (50 mg/mL), Chlorpheniramin Maleat (0,2 mg/mL), Phenylephrinhydrochlorid (0,5 mg/mL)], Hustenbonbons [Menthol (0,22 mg/mL)], Hustensaft [Dextromethorphan HBr (0,20 mg/mL), Guaiifenesin (2,0 mg/mL)], Decongestant [Phenylephrine HCl (0,22 mg/mL)], Erythromycin (0,067 mg/mL), Glukose (20 mg/mL), Itraconazol (0,22 mg/mL), Miconazol (5%), Oxalsäure (0,01%), Prednison (0,22 mg/mL), Protein [BSA (5 mg/mL)], Pseudoephedrin [Pseudoephedrin HCl (0,01 mg/mL)], Rifampicin (0,09 mg/mL), Tabak (0,4%), Urea (20 mg/mL), Vaginales Verhütungsgel mit 4% Nonoxynol-9 (5% v/v), Water-based personal lubricant Wasser basiertes Gleitgel (K-Y®) (5% v/v), Weiße Blutzellen (10%), und Vollblut (10%).

## REFERENCES

- Newton HJ, Ang, DKY, vanDriel IR, Hartland EL. Molecular Pathogenesis of Infections Caused by *Legionella pneumophila*. Clin Micro 2010;Rev.23:274-298.
- Diederen B.M.W. *Legionella* spp. and Legionnaires' disease. J Infection 2008;56:1-12.
- Edelstein, PH. Murray PR. et al, eds. *Legionella*. Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> Ed. Washington DC ASM Press 2007:835-849.
- Yu V, Stout J. Rapid Diagnostic Testing for Community-Acquired Pneumonia. Chest. 2009;136:1618-1621.



SN11179

REV. 08/23

 Manufactured By	<p><b>Meridian Bioscience, Inc.</b>          3471 River Hills Drive          Cincinnati, OHIO - 45244 USA  <a href="http://www.meridianbioscience.com">www.meridianbioscience.com</a></p> <p><u>Contacts:</u>          Main Telephone (+1) 513.271.3700          Customer Service/Orders 800.543.1980          Technical Support Center 800.343.3858          Information Fax: 513.272.5432          Ordering Fax: 513.271.0124          E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.com">info@meridianbioscience.com</a></p>
	<p><b>Meridian Bioscience Europe, SRL</b>          Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese          (Milano) ITALY  <a href="http://www.meridianbioscience.com">www.meridianbioscience.com</a></p> <p><u>Contacts:</u>          Main Telephone (+39) 0331.433636          E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.eu">info@meridianbioscience.eu</a>          Technical Support: <a href="mailto:MBE-TechService@meridianbioscience.eu">MBE-TechService@meridianbioscience.eu</a>          Customer Service/Orders:  <ul style="list-style-type: none"> <li>• For Italian Customers: <a href="mailto:ordini@meridianbioscience.com">ordini@meridianbioscience.com</a></li> <li>• For Distributors / International Customers: <a href="mailto:Export.CustomerService@meridianbioscience.eu">Export.CustomerService@meridianbioscience.eu</a></li> </ul> </p>

**INTERNATIONAL SYMBOL USAGE CHART**

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guia de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	<b>CONTROL</b> +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
<b>LOT</b>	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	<b>CONTROL</b> -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	<b>EC REP</b>	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandatarien in der Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfano i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de Conformidad Europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP   PREP   DIL   SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenverdünnungspuffer befindet
	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	<b>BUF RXN</b>	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabbriicato / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	<b>SOLN STOP</b>	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitaion / Limiti di temperatura / Limites de température / Límite de temperatura / Temperaturbegrenzung	<b>CONJ ENZ</b>	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjunto enzimático / enzymkonjugat
	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	<b>CONTROL</b>	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgarät	<b>REAG</b>	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	<b>BUF WASH</b>	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjunto / Konjugat	<b>DIL SPE</b>	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	<b>BUF WASH 20X</b>	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione dil lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	<b>DET REAG</b>	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Détection / Reactivo de Detecção / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	<b>TUBE</b>	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	<b>CH REP</b>	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department 800-543-1980.