

**CHORUS**

**Legionella Urinary  
Antigen**



**DIESSE**

DIESSE Diagnostica Senese  
S.p.A.  
Strada dei Laghi, 39  
53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italy

**REF 81301**





## ISTRUZIONI PER L'USO

### **CHORUS Legionella Urinary Antigen**

#### **Per la determinazione qualitativa dell'antigene urinario Legionella pneumophila**

#### **Solo per uso diagnostico in vitro**

##### **1. UTILIZZAZIONE**

Metodo immunoenzimatico per la determinazione qualitativa dell'antigene urinario Legionella pneumophila nelle urine umane con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

##### **2. INTRODUZIONE**

La legionellosi è una malattia infettiva grave, a letalità elevata, maggiore per le infezioni nosocomiali che per quelle comunitarie.

La specie più frequentemente coinvolta nelle patologie umane è la *Legionella pneumophila*, anche se altre specie sono state isolate. La più severa forma di legionellosi è la cosiddetta Malattia dei Legionari, caratterizzata da polmonite acuta che si manifesta dopo 2-10 giorni dall'esposizione all'agente infettivo. Un altro caratteristico quadro clinico è la Febbre di Pontiac, una affezione febbrile acuta extrapolmonare.

L'infezione può colpire tutta la popolazione. Sono considerati più a rischio i soggetti di sesso maschile, di età avanzata, fumatori, consumatori di alcool, affetti da malattie croniche (broncopneumopatie ostruttive, malattie cardiovascolari e renali, diabete, ecc.), soggetti con immunodeficienza acquisita in seguito ad interventi terapeutici (trapianti d'organo, terapia con steroidi e antitumorali, ecc.) o infezione da HIV.

Di tutti i casi di legionellosi riportati, l'80% sono attribuibili alla *Legionella pneumophila* sierogruppo 1.

Nel 1979 Berdal dimostrò la presenza di un antigene solubile altamente specifico nelle urine dei pazienti affetti da Legionellosi. L'urina dei pazienti rappresenta quindi un campione ideale per la ricerca dell'antigene negli stadi precoci o tardivi della malattia.

##### **3. PRINCIPIO DEL METODO**

Il dispositivo Chorus Legionella Urinary Antigen è pronto all'uso per la determinazione dell'antigene urinario Legionella pneumophila, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Anticorpi monoclonali, altamente specifici per l'antigene, vengono legati alla fase solida.

Per incubazione con l'urina umana, l'antigene si lega al pozzetto. Dopo lavaggi, per eliminare le proteine che non

hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato, costituito da anticorpi monoclonali anti-*Legionella pneumophila* coniugati con perossidasi di rafano.

Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel campione in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Index (OD campione/OD cut-off).

#### **4. PRECAUZIONI**

##### **SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.**

Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

**Smaltimento dei residui: i campioni, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.**

##### **Avvertenze per la sicurezza personale**

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.

Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

##### **Avvertenze analitiche**

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

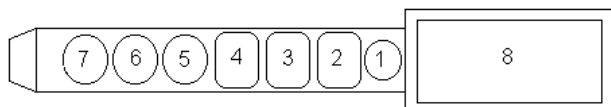
1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
11. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

## 5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 12 determinazioni

**DD** DISPOSITIVI 2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



**Posizione 8:** Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

**Posizione 7:** Vuota

**Posizione 6:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpi monoclonali anti-Legionella pneumophila altamente purificati

**Posizione 5:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

**Posizione 4:** SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stabilizzati in tampone.

**Posizione 3:** ANTICORPI MONOCLONALI

Contenuto: Anticorpi anti-Legionella pneumophila marcati con Biotina in tampone TRIS.

**Posizione 2:** CONIUGATO

Contenuto: soluzione di Streptavidina marcata con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

**Posizione 1:** POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il campione non diluito.

**Uso:** equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e sigillare premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

**CALIBRATOR** CALIBRATORE 1 x 0.350 ml

Contenuto: Cellule di Legionella pneumophila inattivate in tampone fosfato e conservante. Liquido, pronto all'uso.

**CONTROL +** CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.850 ml

Contenuto: Cellule di Legionella pneumophila inattivate in tampone fosfato e conservante. Liquido, pronto all'uso

## ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

## 6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il controllo positivo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

|                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| DISPOSITIVI        | 8 settimane a 2/8°C |
| CALIBRATORE        | 8 settimane a 2/8°C |
| CONTROLLO POSITIVO | 8 settimane a 2/8°C |

## 7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da urina umana da maneggiare come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Il campione deve essere raccolto in contenitore sterile d'uso comune e può essere mantenuto per 24 ore a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

## 8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 125 µl di campione non diluito da analizzare. Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

## 9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in Index (OD campione/OD cut-off).

Il test sul campione in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 1.0

NEGATIVO: quando il risultato è < 1.0

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è = 1.0

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo.

## 11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

## 12. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Emoglobina (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Glucosio (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Acido ascorbico (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Ossalato di calcio (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Albumina (40 mg/dl – 160 mg/dl)

La presenza nel campione in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

## 13. CROSS-REATTIVI

20 campioni, positivi a Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

## 14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 104 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

|        |        | Riferimento |    |        |
|--------|--------|-------------|----|--------|
|        |        | +           | -  | Totale |
|        |        |             |    |        |
| Diesse | +      | 44          | 0  | 44     |
|        | -      | 8           | 52 | 60     |
|        | Totale | 52          | 52 | 104    |

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.84.

## 15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

| Campione | All'interno della seduta |      | Tra sedute    |      |
|----------|--------------------------|------|---------------|------|
|          | Media (Index)            | CV%  | Media (Index) | CV%  |
| 1        | 0.4                      | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 2        | 0.3                      | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 3        | 0.6                      | 6.7  | 0.6           | 13.3 |
| 4        | 0.8                      | 10.0 | 0.6           | 11.7 |
| 5        | 1.2                      | 9.2  | 1.1           | 10.0 |
| 6        | 2.1                      | 2.4  | 2.1           | 5.2  |
| 7        | 8.3                      | 8.8  | 7.7           | 6.4  |
| 8        | 4.0                      | 3.3  | 3.8           | 5.0  |
| 9        | 4.4                      | 4.3  | 4.3           | 3.7  |

| Campione | Tra lotti     |      | Tra strumenti |      |
|----------|---------------|------|---------------|------|
|          | Media (Index) | CV%  | Media (Index) | CV%  |
| 1        | 0.4           | 15.0 | 0.4           | 15.0 |
| 2        | 0.3           | -    | 0.3           | -    |
| 3        | 0.5           | -    | 0.5           | -    |
| 4        | 0.6           | 10.0 | 0.6           | 10.0 |
| 5        | 1.2           | 5.0  | 1.2           | 5.0  |
| 6        | 2.4           | 9.6  | 2.3           | 6.5  |
| 7        | 9.3           | 8.2  | 9.4           | 3.4  |
| 8        | 3.4           | 14.4 | 3.4           | 1.8  |
| 9        | 4.4           | 10.2 | 4.4           | 7.0  |

**16. BIBLIOGRAFIA**

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J Infect Dis.* 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J Clin Microbiol.* May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**





## INSTRUCTIONS FOR USE

### **CHORUS Legionella Urinary Antigen**

**For the qualitative determination of Legionella pneumophila urinary antigen**

**For *In Vitro* Diagnostic Use Only**

#### **1. INTENDED USE**

Immunoenzymatic method for the qualitative determination of *Legionella pneumophila* urinary antigen in human urine, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

#### **2. INTRODUCTION**

Legionnaire's disease is a serious infectious disease with a high mortality rate.

The species most frequently involved in human pathologies is *Legionella pneumophila*, although other species have been isolated. The most serious form of *Legionella* infection is the so-called Legionnaire's disease, characterized by acute pneumonia which becomes evident 2-10 days after contact with the bacteria. Another characteristic clinical picture is Pontiac fever, an acute extra-pulmonary infection.

The infection can affect the whole population. The subjects considered to be most at risk are elderly males who are smokers, consumers of alcohol, affected by chronic diseases (obstructive bronchopulmonary infections, cardiovascular and renal disorders, diabetes, etc.), and those with acquired immunodeficiency following therapy (organ transplant, treatment with steroids and anti-tumoral drugs, etc.), or affected by HIV.

80% of all the cases of legionellosis reported can be attributed to *Legionella pneumophila* serotype 1.

In 1979 Berdal demonstrated the presence of a highly specific soluble antigen in the urine of patients affected by Legionnaire's disease. Therefore the urine of these patients represents the ideal sample for the detection of the antigen in the precocious or late stages of the disease.

#### **3. PRINCIPLE OF THE METHOD**

The Chorus Legionella Urinary Antigen device is ready to use for the detection of *Legionella pneumophila* urinary antigen, in the Chorus/ Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Monoclonal antibodies, highly specific for the antigen, are bound to the solid phase.

The antigen is bound to the well through incubation with the human urine.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-*Legionella pneumophila* monoclonal antibodies conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added. The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The results are expressed in Index (OD sample/OD cut-off).

#### **4. WARNINGS AND PRECAUTIONS**

##### **FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY**

As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

**Waste disposal: samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.**

##### **Health and Safety Information**

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

##### **Analytical Precautions**

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**

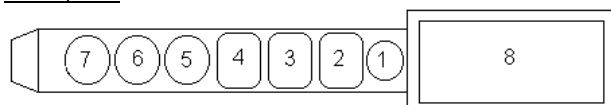
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. Do not use the device after the expiry date.
11. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606).**

#### 5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 12 tests.

**DD** DEVICES 2 packages each containing 6 devices

Description:



**Position 8:** Space for application of bar code label

**Position 7:** Empty

**Position 6:** MICROPLATE WELL

Coated with highly purified anti-*Legionella pneumophila* monoclonal antibodies

**Position 5:** Uncoated MICROPLATE WELL

**Position 4:** TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine and  $H_2O_2$  stabilized in buffer.

**Position 3:** MONOCLONAL ANTIBODIES

Contents: anti-*Legionella pneumophila* antibodies labelled with Biotin in TRIS buffer.

**Position 2:** CONJUGATE

Contents: Streptavidin solution labelled with horseradish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

**Position 1:** EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted sample

**Use:** equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and seal by pressing the closure. Store at 2-8°C.

**CALIBRATOR** CALIBRATOR 1 x 0.350 ml

Contents: Inactivated *Legionella pneumophila* cells in phosphate buffer and preservative. Liquid, ready for use.

**CONTROL +** POSITIVE CONTROL 1 x 0.850 ml

Contents: Inactivated *Legionella pneumophila* cells in phosphate buffer and preservative. Liquid, ready for use.

#### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

#### 6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the positive control (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

|                  |                  |
|------------------|------------------|
| DEVICES          | 8 weeks at 2/8°C |
| CALIBRATOR       | 8 weeks at 2/8°C |
| POSITIVE CONTROL | 8 weeks at 2/8°C |

#### 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of human urine to be handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

The sample must be collected in a common sterile container and can be maintained for 24 hours at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

The sample be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

#### 8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 125 µl of undiluted sample in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.

4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

### 9. TEST VALIDATION

Use the positive control to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the positive control has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the positive control continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

### 10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in Index (OD sample/OD cut-off).

The test on the examined sample can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is  $> 1.0$

NEGATIVE: when the result is  $< 1.0$

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is  $= 1.0$

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new sample.

### 11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

The test, indeed, can not be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

### 12. ANALYTICAL SPECIFICITY

5 samples (2 Negative, 1 Cut-Off and 2 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Bilirubin (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Hemoglobin (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Glucose (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Ascorbic Acid (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Calcium Oxalate (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Albumin (40 mg/dl – 160 mg/dl)

The presence in the sample of the interfering substances described above does not affect the test result.

### 13. CROSS-REACTIONS

20 samples, positive to *Escherichia coli*, *Proteus*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus B*, *Streptococcus D*, *Lactobacillus*, *KES bacteria*, *Pseudomonas*, *Streptococcus pneumoniae* were tested.

No significant cross-reactions were found.

### 14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 104 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

|  |        | Reference |    |       |
|--|--------|-----------|----|-------|
|  |        | +         | -  | Total |
|  | Diesse | 44        | 0  | 44    |
|  |        | 8         | 52 | 60    |
|  | Total  | 52        | 52 | 104   |

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.84.

### 15. PRECISION AND REPEATABILITY

| Sample | Within-run Precision |      | Between-run precision |      |
|--------|----------------------|------|-----------------------|------|
|        | Mean (Index)         | CV%  | Mean (Index)          | CV%  |
| 1      | 0.4                  | 20.0 | 0.3                   | 16.7 |
| 2      | 0.3                  | 20.0 | 0.3                   | 16.7 |
| 3      | 0.6                  | 6.7  | 0.6                   | 13.3 |
| 4      | 0.8                  | 10.0 | 0.6                   | 11.7 |
| 5      | 1.2                  | 9.2  | 1.1                   | 10.0 |
| 6      | 2.1                  | 2.4  | 2.1                   | 5.2  |
| 7      | 8.3                  | 8.8  | 7.7                   | 6.4  |
| 8      | 4.0                  | 3.3  | 3.8                   | 5.0  |
| 9      | 4.4                  | 4.3  | 4.3                   | 3.7  |

| Sample | Precision between batches |      | Precision between instruments |      |
|--------|---------------------------|------|-------------------------------|------|
|        | Mean (Index)              | CV%  | Mean (Index)                  | CV%  |
| 1      | 0.4                       | 15.0 | 0.4                           | 15.0 |
| 2      | 0.3                       | -    | 0.3                           | -    |
| 3      | 0.5                       | -    | 0.5                           | -    |
| 4      | 0.6                       | 10.0 | 0.6                           | 10.0 |
| 5      | 1.2                       | 5.0  | 1.2                           | 5.0  |
| 6      | 2.4                       | 9.6  | 2.3                           | 6.5  |
| 7      | 9.3                       | 8.2  | 9.4                           | 3.4  |
| 8      | 3.4                       | 14.4 | 3.4                           | 1.8  |
| 9      | 4.4                       | 10.2 | 4.4                           | 7.0  |

**16. REFERENCES**

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. *J Infect Dis.* 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J Clin Microbiol.* May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**





## NÁVOD NA POUŽITÍ

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

## PRO kvalitativní STANOVENÍ MOČOVÉHO ANTIGENU Legionella pneumophila

### Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

#### 1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda ke kvalitativnímu stanovení močového antigenu Legionella pneumophila v lidské moči za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

#### 2. ÚVOD

Legionářská nemoc je závažné infekční onemocnění s vysokou mírou úmrtnosti.

Nejčastěji nacházeným druhem u patologie člověka je *Legionella pneumophila*, ačkoliv byly izolovány i druhy jiné. Nejzávažnější formou legionelové infekce je tzv. legionářská nemoc, pro kterou je charakteristická akutní pneumonie objevující se 2–10 dní po kontaktu s bakterií. Dalším typickým klinickým obrazem je Pontiac horečka, akutní mimoplicní infekce.

Infekce může zasáhnout celou populaci. Mezi nejrizikovější osoby patří starší muži, kteří kouří, konzumují alkohol a jsou postiženi chronickými onemocněními (obstrukční bronchopulmonární infekce, kardiovaskulární a renální poruchy, diabetes atd.), a dále lidé se získaným imunodeficitem následkem léčby (transplantace orgánu, léčba steroidy a protinádorovými léky atd.) nebo postižení HIV.

80% všech případů legionelózy má na svědomí *Legionella pneumophila* serotyp 1.

V roce 1979 Berdal prokázal přítomnost vysoce specifického rozpustného antigenu v moči pacientů trpících legionářskou nemocí. Moč pacientů tedy představuje ideální vzorek pro stanovení antigenu v časných nebo pozdních fázích onemocnění.

#### 3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus Legionella Urinary Antigen je určen ke stanovení antigenu Legionella pneumophila v moči, v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Monoklonální protilátky, vysoce specifické pro tento antigen, jsou vázané na pevnou fázi.

Pro inkubaci s lidskou močí je antigen navázaný v jamce. Po promytí, kterým se odstraní nenavázané proteiny, se provede inkubace s konjugátem tvořeným monoklonálními protilátkami

anti-Legionella pneumophila konjugovanými s křenovou peroxidázou.

Dochází k eliminaci nevázaného konjugátu a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagensie potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako Index (OD vzorku/OD cut-off).

#### 4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

##### URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: S použitými vzorky, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

##### Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagensů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevkládejte do autoklávy.

##### Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) a použijte je do 60 min.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**

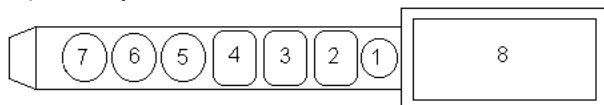
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagentie a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagentie, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus/Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
5. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
8. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
11. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer REF 83606.**

## 5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 12 stanovení.

**DD** NÁSTROJE 2 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



**Pozice 8:** Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

**Pozice 7:** prázdná

**Pozice 6:** MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená vysoce purifikovanými monoklonálními protilátkami anti-Legionella pneumophila

**Pozice 5:** Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

**Pozice 4:** TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stabilizovaná v pufru

**Pozice 3:** MONOKLONÁLNÍ PROTILÁTKY

Obsah: Protilátky anti-Legionella pneumophila značené biotinem v pufru TRIS.

**Pozice 2:** KONJUGÁT

Obsah: Roztok streptavidinu značený peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox.

**Pozice 1:** PRAZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neředěný vzorek.

**Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu,** otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a **uzavřete** stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8 °C.

**CALIBRATOR** KALIBRÁTOR 1 x 0.350 ml

**Obsahuje:** Buňky Legionella pneumophila deaktivované ve fosfátovém pufru a konzervantu. Kapalný, připravený k použití.

**CONTROL +** POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.850 ml

**Obsahuje:** Buňky Legionella pneumophila deaktivované ve fosfátovém pufru a konzervantu. Kapalná, připravená k použití.

## POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Zařízení Chorus / Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

## 6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagentie je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagentie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí pozitivní kontroly (viz bod 9, Validace testu).

**Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.**

Reagentie mají po otevření omezenou stabilitu:

|               |                            |
|---------------|----------------------------|
| NÁSTROJE      | 8 týdnů při teplotě 2–8 °C |
| KALIBRÁTOR    | 8 týdnů při teplotě 2–8 °C |
| POZ. KONTROLA | 8 týdnů při teplotě 2–8 °C |

## 7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Typově se jedná o vzorek lidské moči, se kterým je třeba nakládat v souladu se standardními laboratorními postupy.

Vzorek se odebírá do běžné sterilní nádoby a lze jej uchovávat po dobu 24 hodin při teplotě 2/8°C; nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C.

Rozmrazovat se smí maximálně 3 krát.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

## 8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Vložte 125 µl neředěného testovaného vzorku do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.

4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus/zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

### 9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota pozitivní kontroly pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba opakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

### 10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus / Chorus TRIO vyjadřuje výsledky formou indexu (OD vzorku/OD cut-off).

Test na zkoumaném vzorku lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 1.0  
NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 1.0  
SPORNÝ/NEJASNÝ: je-li výsledek = 1.0

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/nejednoznačný, seberte nový vzorek.

### 11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

### 12. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 5 vzorků (2 negativní, 1 Cut-Off a 2 pozitivní) obsahujících následující rušivé substance.

Bilirubin (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Hemoglobin (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Glukóza (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Kyselina askorbová (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Šťavelan vápenatý (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Albumin (40 mg/dl – 160 mg/dl)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku nezměnila výsledky testu.

### 13. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Bylo testováno 20 vzorků pozitivních na Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae.

**NEBYLY ZJISTĚNY ŽADNÉ VÝZNAMNÉ ZKŘÍŽENÉ REAKCE.**

### 14. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 104 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

|        |        | Reference |    |        |
|--------|--------|-----------|----|--------|
|        |        | +         | –  | Celkem |
|        |        |           |    |        |
| Diesse | +      | 44        | 0  | 44     |
|        | –      | 8         | 52 | 60     |
|        | Celkem | 52        | 52 | 104    |

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Negativní shoda v procentech (~ diagnostická specifita):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s Cohenovou Kappa dosahující 0.84.

### 15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

| Vzorek | Přesnost v rámci měření |      | Přesnost mezi měřeními |      |
|--------|-------------------------|------|------------------------|------|
|        | Průměr (Index)          | CV % | Průměr (Index)         | CV % |
| 1      | 0.4                     | 20.0 | 0.3                    | 16.7 |
| 2      | 0.3                     | 20.0 | 0.3                    | 16.7 |
| 3      | 0.6                     | 6.7  | 0.6                    | 13.3 |
| 4      | 0.8                     | 10.0 | 0.6                    | 11.7 |
| 5      | 1.2                     | 9.2  | 1.1                    | 10.0 |
| 6      | 2.1                     | 2.4  | 2.1                    | 5.2  |
| 7      | 8.3                     | 8.8  | 7.7                    | 6.4  |
| 8      | 4.0                     | 3.3  | 3.8                    | 5.0  |
| 9      | 4.4                     | 4.3  | 4.3                    | 3.7  |

| Vzorek | Přesnost mezi šaržemi |      | Přesnost mezi nástroji |      |
|--------|-----------------------|------|------------------------|------|
|        | Průměr (Index)        | CV % | Průměr (Index)         | CV % |
| 1      | 0.4                   | 15.0 | 0.4                    | 15.0 |
| 2      | 0.3                   | -    | 0.3                    | -    |
| 3      | 0.5                   | -    | 0.5                    | -    |
| 4      | 0.6                   | 10.0 | 0.6                    | 10.0 |
| 5      | 1.2                   | 5.0  | 1.2                    | 5.0  |
| 6      | 2.4                   | 9.6  | 2.3                    | 6.5  |
| 7      | 9.3                   | 8.2  | 9.4                    | 3.4  |
| 8      | 3.4                   | 14.4 | 3.4                    | 1.8  |
| 9      | 4.4                   | 10.2 | 4.4                    | 7.0  |

### 16. REFERENČNÍ LITERATURA

- Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. [Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia](#). N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.

2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese**  
**S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**





## GEBRAUCHSANLEITUNG

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

#### Zur qualitativen Bestimmung des Legionella pneumophila Antigens im Urin

#### Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

##### 1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunassay-Verfahren zur qualitativen Bestimmung des Legionella pneumophila Antigens im menschlichen Urin mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

##### 2. EINLEITUNG

Die Legionellose ist eine schwere Infektionskrankheit mit hoher Letalität. Letztere ist häufiger bei Nosokomial-Infektionen als bei ambulant erworbenen Infektionen zu beobachten.

Die Art, die am häufigsten eine Rolle bei menschlichen Pathologien spielt, ist *Legionella pneumophila*, obwohl auch andere Arten isoliert wurden. Die schwerste Form der Legionellose ist die so genannte Legionärskrankheit, die sich 2–10 Tage nach der Exposition mit dem infektiösen Erreger durch eine akute Pneumonie äußert. Ein weiteres charakteristisches klinisches Erscheinungsbild ist das Pontiac-Fieber, eine akute fieberhafte Erkrankung ohne Pneumonie.

Die Infektion kann die gesamte Bevölkerung treffen. Ein höheres Risiko tragen Männer, Menschen fortgeschrittenen Alters, Raucher, Alkoholiker, Menschen mit chronischen Krankheiten (obstruktive Bronchopneumopathien, kardiovaskuläre und renale Erkrankungen, Diabetes, usw.) und Menschen mit erworbener Immundefizienz nach therapeutischen Eingriffen (Organtransplantationen, Therapie mit Steroiden, antitumorale Therapie, usw.) oder HIV-Infizierte. Von allen gemeldeten Legionellose-Fällen können 80% dem Typ *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 zugeordnet werden. 1979 belegte Berdal die Präsenz eines löslichen, hoch spezifischen Antigens im Urin von Patienten, die an Legionellose erkrankt waren. Der Urin von Patienten stellt daher das geeignete Medium für die Suche nach dem Antigen sowohl in frühen als auch in späteren Stadien der Erkrankung dar.

##### 3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Legionella Urinary Antigen ist gebrauchsfertig für die Bestimmung des Legionella pneumophila Antigens im Urin in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Monoklonale Antikörper, die hoch spezifisch für das Antigen sind, werden an die feste Phase gebunden.

Bei der Inkubation des menschlichen Urins bindet sich das Antigen an die Vertiefung. Nach dem Spülen zum Entfernen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem aus monoklonalen Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* und Meerrettichperoxidase bestehenden Konjugat.

Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der blauen Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper in der untersuchten Probe.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Index (OD-Wert Probe/OD-Wert Cut-off).

##### 4. VORSICHTSMASSNAHMEN

#### AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Proben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

#### Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem

Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.

Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

### **Warnhinweise zur Analyse**

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

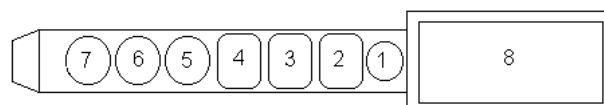
1. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
5. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
11. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

### **5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**

Der Testsatz reicht für 12 Bestimmungen.

**DD** TESTMODULE 2 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



**Position 8:** Platz für Strichcode-Etikett

**Position 7:** Leer

**Position 6:** MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit hoch gereinigten monoklonalen Antikörpern gegen *Legionella pneumophila* sensibilisiert

**Position 5:** MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

**Position 4:** TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin und  $H_2O_2$ , stabilisiert in puffer

**Position 3:** MONOKLONALE ANTIKÖRPER

Inhalt: mit Biotin in TRIS-Puffer markierte Antikörper gegen *Legionella pneumophila*

**Position 2:** KONJUGAT

Inhalt: mit Peroxidase markierte Streptavidin-Lösung in Phosphatpufferlösung mit 0.05 % Phenol und 0.02 % Bronidox

**Position 1:** LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener die unverdünnte Probe füllen

**Gebrauch:** Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss versiegeln. Bei 2–8 °C aufbewahren.

**CALIBRATOR** KALIBRATOR 1 x 0.350 ml

Inhalt: inaktivierte *Legionella pneumophila*-Zellen in Phosphatpuffer und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

**CONTROL +** POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.850 ml

Inhalt: inaktivierte *Legionella pneumophila*-Zellen in Phosphatpuffer und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

### **WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:**

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

### **6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN**

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die

**Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe der positiven Kontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).**

**Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.**

**Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:**

|                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| TESTMODULE         | 8 Wochen bei 2–8 °C |
| KALIBRATOR         | 8 Wochen bei 2–8 °C |
| POSITIVE KONTROLLE | 8 Wochen bei 2–8 °C |

## 7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probenart ist menschlicher Urin, der unter Einhaltung der Standard-Laborprozeduren zu handhaben ist.

Die Probe muss in einem gewöhnlichen sterilen Behälter gewonnen werden und kann 24 Stunden bei 2/8°C aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20°C eingefroren.

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

## 8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 125 µl der zu analysierenden, unverdünnten Probe geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

## 9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses il controllo positivo verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis als Index (OD-Wert der Probe/OD-Wert des Cut-off).

Der Test der untersuchten Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis >1.0

NEGATIV: bei Ergebnis < 1.0

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis = 1.0

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt bzw. mehrdeutig ist. Bleibt das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig, die Probenahme wiederholen.

## 11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

## 12. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 5 Proben (2 negative, 1 mit Cut-Off und 2 positive) getestet, denen folgende Interferenzen beigelegt wurden:

Bilirubin (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Hämoglobin (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Glucose (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Ascorbinsäure (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Calciumoxalat (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Albumin (40 mg/dl – 160 mg/dl)

Die Präsenz der oben genannten Interferenzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

## 13. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 20 positive Proben Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae getestet.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

## 14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 104 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

|        |           | Referenz |    | Insgesamt |
|--------|-----------|----------|----|-----------|
|        |           | +        | -  |           |
|        |           |          |    |           |
| Diesse | +         | 44       | 0  | 44        |
|        | -         | 8        | 52 | 60        |
|        | Insgesamt | 52       | 52 | 104       |



53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italien

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Negative Übereinstimmung: (~Diagnostische Sensitivität):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Der Grad der Übereinstimmung der beiden Methoden erweist sich als optimal mit einem K-Wert (Konstante nach Cohen) von 0.84.

## 15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

| Probe | Innerhalb eines Durchlaufs |      | Zwischen Durchläufen |      |
|-------|----------------------------|------|----------------------|------|
|       | Mittelwert (Index)         | CV % | Mittelwert (Index)   | CV % |
| 1     | 0.4                        | 20.0 | 0.3                  | 16.7 |
| 2     | 0.3                        | 20.0 | 0.3                  | 16.7 |
| 3     | 0.6                        | 6.7  | 0.6                  | 13.3 |
| 4     | 0.8                        | 10.0 | 0.6                  | 11.7 |
| 5     | 1.2                        | 9.2  | 1.1                  | 10.0 |
| 6     | 2.1                        | 2.4  | 2.1                  | 5.2  |
| 7     | 8.3                        | 8.8  | 7.7                  | 6.4  |
| 8     | 4.0                        | 3.3  | 3.8                  | 5.0  |
| 9     | 4.4                        | 4.3  | 4.3                  | 3.7  |

| Probe | Zwischen Chargen   |      | Zwischen Analysatoren |      |
|-------|--------------------|------|-----------------------|------|
|       | Mittelwert (Index) | CV % | Mittelwert (Index)    | CV % |
| 1     | 0.4                | 15.0 | 0.4                   | 15.0 |
| 2     | 0.3                | -    | 0.3                   | -    |
| 3     | 0.5                | -    | 0.5                   | -    |
| 4     | 0.6                | 10.0 | 0.6                   | 10.0 |
| 5     | 1.2                | 5.0  | 1.2                   | 5.0  |
| 6     | 2.4                | 9.6  | 2.3                   | 6.5  |
| 7     | 9.3                | 8.2  | 9.4                   | 3.4  |
| 8     | 3.4                | 14.4 | 3.4                   | 1.8  |
| 9     | 4.4                | 10.2 | 4.4                   | 7.0  |

## 16. LITERATUR

- Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. [Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia](#). N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
- Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
- Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.

**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
Strada dei Laghi 39





## ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

**Για τον ποιοτικό προσδιορισμό του αντιγόνου  
της Legionella pneumophila στα ούρα**

**Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro***

#### 1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποιοτικό προσδιορισμό του αντιγόνου της Legionella pneumophila στα ανθρώπινα ούρα με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

#### 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λεγιονέλλωση είναι μια σοβαρή μολυσματική ασθένεια, υψηλής θνησιμότητας, κυρίως για τις νοσοκομειακές παρά για τις κοινοτικές λοιμώξεις.

Τα είδος που συχνότερα εμπλέκεται σε ανθρώπινες νόσους είναι η Legionella pneumophila, αν και άλλα είδη που έχουν απομονωθεί. Η πιο σοβαρή μορφή λεγιονέλλωσης είναι γνωστή ως η Νόσος των Λεγεωναρίων, η οποία χαρακτηρίζεται από οξεία πνευμονία που εκδηλώνεται μετά από 2-10 ημέρες από την έκθεση στο μολυσματικό παράγοντα. Μια άλλη χαρακτηριστική κλινική εικόνα είναι ο Πυρετός του Pontiac, μια οξεία εμπύρετη εξωπνευμονική πάθηση.

Η μόλυνση μπορεί να επηρεάσει το σύνολο του πληθυσμού. Θεωρούνται ότι βρίσκονται περισσότερο σε κίνδυνο άνδρες προχωρημένης ηλικίας, καπνιστές, καταναλωτές οινόπνευματος, προσβεβλημένοι από χρόνιες παθήσεις (οξείες βρογχοπνευμονοπάθειες, καρδιαγγειακές και νεφρικές νόσοι, διαβήτη, κ.λπ.) και με επίκτητη ανοσοποιητική ανεπάρκεια, μετά από θεραπευτικές παρεμβάσεις (μεταμοσχεύσεις οργάνου, θεραπεία με στεροειδή και αντικαρκινικά, κλπ.) ή λοίμωξη με τον ιό HIV.

Από όλες τις αναφερθείσες περιπτώσεις της νόσου των λεγεωναρίων, το 80% μπορεί να αποδοθεί στη Legionella pneumophila οροομάδας 1.

Το 1979, ο Berdal απέδειξε την παρουσία ενός διαλυτού αντιγόνου υψηλής ειδικότητας στα ούρα ασθενών που έπασχαν από λεγιονέλλωση. Έκτοτε, τα ούρα των ασθενών συνιστούν ιδανικό δείγμα για την ανίχνευση του αντιγόνου στα πρώιμα ή όψιμα στάδια της νόσου.

#### 3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus Legionella Urinary Antigen είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό του αντιγόνου της Legionella pneumophila στα ούρα με τις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Μονόκλωνα αντισώματα, με υψηλή ειδικότητα έναντι του αντιγόνου, δεσμεύονται στη στερεά φάση.

Κατόπιν επώασης με ανθρώπινα ούρα, το αντιγόνο δεσμεύεται στην κυψελίδα. Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονόκλωνα ανθρώπινα αντισώματα έναντι Legionella pneumophila συζευγμένα με υπεροξειδάση ραφανιδών.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα που εξετάζεται.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ, όταν εφαρμόζονται στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους Δείκτης (Index) (DO δείγμα/DO cut-off).

#### 4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

##### ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσμένο. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να τα χειρίζεστε όλα σύμφωνα με τους κανονισμούς ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

**Διάθεση καταλοίπων:** τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και επομένως να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

##### Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε προσεκτικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ συμβουλευέστε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμη κατόπιν αιτήματος).
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγραφεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή

πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

### Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σετ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

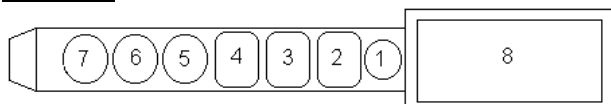
1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ιδίου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
11. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.**

### **5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς.

**DD** ΣΕΤ 2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



**Θέση 8:** Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

**Θέση 7:** Κενή

**Θέση 6:** ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαίσθητοποιημένη με μονόκλωνα αντισώματα έναντι Legionella pneumophila υψηλής καθαρότητας

**Θέση 5:** ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαίσθητοποιημένη.

**Θέση 4:** ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα.

**Θέση 3:** ΜΟΝΟΚΛΩΝΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: αντισώματα έναντι Legionella pneumophila σημασμένα με βιοτίνη σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS.

**Θέση 2:** ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: διάλυμα στρεπταβιδίνης σημασμένης μαρκαρισμένα με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

**Θέση 1:** ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Σε αυτή την κυψελίδα ο χρήστης πρέπει να βάλει τον μη διαλυμένο δείγμα.

**Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος,** ανοίξτε τη σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε** πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

**CALIBRATOR** ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.350 ml

Περιεχόμενο: κύτταρα Legionella pneumophila αδραντοποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φωσφορικά και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

**CONTROL +** ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ 1 x 0.850 ml

Περιεχόμενο: κύτταρα Legionella pneumophila αδραντοποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει φωσφορικά και συντηρητικό. Υγρό, έτοιμο για χρήση

**ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:**

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα.

### **6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του θετικού ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ). Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συστατικό μέρος και πάνω στην εξωτερική επικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία:

|                 |                         |
|-----------------|-------------------------|
| ΣΕΤ             | 8 εβδομάδες στους 2/8°C |
| ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ    | 8 εβδομάδες στους 2/8°C |
| ΘΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ | 8 εβδομάδες στους 2/8°C |

## 7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος του δείγματος είναι ανθρώπινα ούρα για επεξεργασία σύμφωνα με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Το δείγμα πρέπει να συλλέγεται σε στείρο περιέκτη κοινής χρήσης και μπορεί να διατηρηθεί για 24 ώρες στους 2/8 °C. Για μεγαλύτερη χρονική περίοδο καταψύξτε στους -20°C.

Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί το πολύ 3 φορές.

Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για την διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από την μικροβιακή μόλυνση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

## 8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Βάλτε στην κυψελίδα αρ. 1 του κάθε σετ, 125 µl μη αραιωμένο δείγμα για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστην της συσκευής.

## 9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε το θετικό υλικό ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. Αν η συσκευή προειδοποιήσει ότι το θετικό υλικό ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτού ορίου, χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του θετικού υλικού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Φαξ: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

## 10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε Index (DO δείγμα/DO cut-off).

Το τεστ στον δείγμα υπό εξέταση μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 1.0

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 1.0

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα = 1.0

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο/ασαφές επαναλάβετε την αιμοληψία.

## 11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδιασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

## 12. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 5 δείγματα (2 Αρνητικά, 1 στο Cut-Off και 2 Θετικά) στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Χολερυθρίνη (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Αιμοσφαιρίνη (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Γλυκόζη (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Ασκορβικό οξύ (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Οξαλικό ασβέστιο (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Λευκωματίνη (40 mg/dl – 160 mg/dl)

Η παρουσία των προαναφερθέντων παρεμβατικών ουσιών στον εξεταζόμενο δείγμα δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα του τεστ.

## 13. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Έχουν εξετασθεί 20 δείγματα, θετικά σε Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae.

Δεν έχουν διαπιστωθεί σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

## 14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 104 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

Τηλ.: 0039 0577 319554

Αναφορά

|        |        | +  | -  | Σύνολο |
|--------|--------|----|----|--------|
| Diesse | +      | 44 | 0  | 44     |
|        | -      | 8  | 52 | 60     |
|        | Σύνολο | 52 | 52 | 104    |

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (σταθερά του Cohen) 0.84.

## 15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

| Δείγμα | Κατά την διαδικασία |      | Μεταξύ διαδικασιών |      |
|--------|---------------------|------|--------------------|------|
|        | Μέση Τιμή (Index)   | CV%  | Μέση Τιμή (Index)  | CV%  |
| 1      | 0.4                 | 20.0 | 0.3                | 16.7 |
| 2      | 0.3                 | 20.0 | 0.3                | 16.7 |
| 3      | 0.6                 | 6.7  | 0.6                | 13.3 |
| 4      | 0.8                 | 10.0 | 0.6                | 11.7 |
| 5      | 1.2                 | 9.2  | 1.1                | 10.0 |
| 6      | 2.1                 | 2.4  | 2.1                | 5.2  |
| 7      | 8.3                 | 8.8  | 7.7                | 6.4  |
| 8      | 4.0                 | 3.3  | 3.8                | 5.0  |
| 9      | 4.4                 | 4.3  | 4.3                | 3.7  |

| Δείγμα | Μεταξύ παρτίδων   |      | Μεταξύ συσκευών   |      |
|--------|-------------------|------|-------------------|------|
|        | Μέση Τιμή (Index) | CV%  | Μέση Τιμή (Index) | CV%  |
| 1      | 0.4               | 15.0 | 0.4               | 15.0 |
| 2      | 0.3               | -    | 0.3               | -    |
| 3      | 0.5               | -    | 0.5               | -    |
| 4      | 0.6               | 10.0 | 0.6               | 10.0 |
| 5      | 1.2               | 5.0  | 1.2               | 5.0  |
| 6      | 2.4               | 9.6  | 2.3               | 6.5  |
| 7      | 9.3               | 8.2  | 9.4               | 3.4  |
| 8      | 3.4               | 14.4 | 3.4               | 1.8  |
| 9      | 4.4               | 10.2 | 4.4               | 7.0  |

## 16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. [Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia](#). N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.

**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
Strada dei Laghi 39



**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
Italy



## INSTRUCCIONES DE USO

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

#### Para la determinación cualitativa del antígeno urinario *Legionella pneumophila*

#### Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

##### 1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cualitativa del antígeno urinario *Legionella pneumophila* en orina humana con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

##### 2. INTRODUCCIÓN

La legionelosis es una enfermedad infecciosa grave con alta tasa de mortalidad.

La especie más frecuentemente implicada en las patologías humanas es *Legionella pneumophila*, aunque se han aislado otras especies también. La forma más severa de legionelosis es la conocida como "Enfermedad del Legionario", que se caracteriza por neumonía con fiebre alta que aparece 2 – 10 días después de la exposición al agente infeccioso. Otra forma clínica característica es la "Fiebre de Pontiac", que se manifiesta como un síndrome febril agudo y autolimitado, extra-pulmonar.

La infección puede afectar a cualquier población. Se encuentran en mayor riesgo los sujetos de sexo masculino de edad avanzada fumadores, consumidores de alcohol, los afectados por enfermedades crónicas (bronconeumopatías obstructivas crónicas, enfermedades cardíacas y renales, diabetes, etc), y pacientes con inmunodeficiencia adquirida como consecuencia de intervenciones terapéuticas (transplante de órganos, tratamiento con esteroides y antitumorales, etc) o con infección por VIH.

El 80% de los casos de legionelosis informados pueden ser atribuidos a serogrupo 1 de *Legionella pneumophila*.

En 1979, Berdal demostró que los pacientes con legionelosis presentaban un antígeno soluble altamente específico en la orina. La orina de los pacientes es la muestra perfecta para detectar antígenos en fases precoces o tardías de la enfermedad.

##### 3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Legionella Urinary Antigen está listo para su uso para la detección del antígeno urinario *Legionella pneumophila*, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Anticuerpos monoclonales

elevadamente específicos para el antígeno, están unidos a la fase sólida.

Después de incubación con orina humana, el antígeno se une al pocillo.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no han reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos monoclonales anti-*Legionella pneumophila* conjugadas con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se haya unido se elimina y se añade el sustrato de la peroxidasa. El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El resultado se expresa en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y lo del Cut-Off).

##### 4. PRECAUCIONES

#### PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

**Desecho de los residuos: las muestras, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.**

#### Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como

residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

### Precauciones analíticas

Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

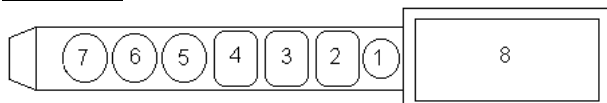
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
11. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

### 5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 12 determinaciones.

**DD** DISPOSITIVOS 2 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



**Posición 8:** Espacio para etiquetas con código de barras

**Posición 7:** libre

**Posición 6:** POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-Legionella elevadamente purificados

**Posición 5:** POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

**Posición 4:** SUSTRATO TMB

**Contenido:** Tetrametilbenzidina y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estabilizados en tampón

**Posición 3:** ANTICUERPOS MONOCLONALES

**Contenido:** Anticuerpos anti-Legionella pneumophila marcados con biotina en tampón TRIS.

### Posición 2: CONJUGADO

**Contenido:** solución de estreptavidina marcada con peroxidasa, en una solución fosfato tamponada con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

### Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra sin diluir.

**Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente,** abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

### **CALIBRATOR** CALIBRADOR 1 x 0.350 ml

**Contenido:** Células de Legionella pneumophila inactivadas en tampón de fosfato y conservante. Líquido listo para usar.

### **CONTROL +** CONTROL POSITIVO 1 x 0.850 ml

**Contenido:** Células de Legionella pneumophila inactivadas en tampón de fosfato y conservante. Líquido listo para usar.

### MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

### 6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del control positivo (ver capítulo 9, “Validación de la prueba”).

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

|                  |                   |
|------------------|-------------------|
| DISPOSITIVOS     | 8 semanas a 2/8°C |
| CALIBRADOR       | 8 semanas a 2/8°C |
| CONTROL POSITIVO | 8 semanas a 2/8°C |

### 7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de orina humana que debe tratarse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

La muestra debe recogerse en un contenedor estéril normal y puede permanecer guardado durante 24 horas a 2/8°C de temperatura; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

La muestra se puede descongelar hasta un máximo de 3 veces.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

## 8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 125 µl de muestra no diluida en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

## 9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en Index (relación entre el valor en D.O. de la muestra y el del Cut-Off).

La prueba de la muestra examinada se puede interpretar de la manera siguiente:

POSITIVO cuando el resultado es > 1.0

NEGATIVO cuando el resultado es < 1.0

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado es = 1.0

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado continúa siendo dudoso/equívoco, tomar una nueva muestra.

## 11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

## 12. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

5 muestras (2 Negativas, 1 de Cut-Off y 2 Positivas) fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Bilirrubina (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)  
Hemoglobina (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)  
Glucosa (30 mg/dl – 120 mg/dl)  
Ácido ascórbico (5 mg/dl – 20 mg/dl)  
Oxalato de calcio (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)  
Albumina (40 mg/dl – 160 mg/dl)

La presencia en la muestra de las sustancias interferentes antes mencionadas no afecta el resultado del test.

## 13. REACCIONES CRUZADAS

20 muestras, positivas en *Escherichia coli*, *Proteus*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus B*, *Streptococcus D*, *Lactobacillus*, *KES bacteria*, *Pseudomonas*, *Streptococcus pneumoniae* fueron testadas.

No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

## 14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 104 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

|        |       | Referencia |    |       |
|--------|-------|------------|----|-------|
|        |       | +          | -  | Total |
| Diesse | +     | 44         | 0  | 44    |
|        | -     | 8          | 52 | 60    |
|        | Total | 52         | 52 | 104   |

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y, con un valor de K (constante de Cohen) de 0.84.

**15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD**

| Muestra | INTRA-ENSAYO  |      | ENTRE ENSAYOS |      |
|---------|---------------|------|---------------|------|
|         | Media (Index) | CV%  | Media (Index) | CV%  |
| 1       | 0.4           | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 2       | 0.3           | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 3       | 0.6           | 6.7  | 0.6           | 13.3 |
| 4       | 0.8           | 10.0 | 0.6           | 11.7 |
| 5       | 1.2           | 9.2  | 1.1           | 10.0 |
| 6       | 2.1           | 2.4  | 2.1           | 5.2  |
| 7       | 8.3           | 8.8  | 7.7           | 6.4  |
| 8       | 4.0           | 3.3  | 3.8           | 5.0  |
| 9       | 4.4           | 4.3  | 4.3           | 3.7  |

| Muestra | ENTRE LOTES   |      | ENTRE EQUIPOS |      |
|---------|---------------|------|---------------|------|
|         | Media (Index) | CV%  | Media (Index) | CV%  |
| 1       | 0.4           | 15.0 | 0.4           | 15.0 |
| 2       | 0.3           | -    | 0.3           | -    |
| 3       | 0.5           | -    | 0.5           | -    |
| 4       | 0.6           | 10.0 | 0.6           | 10.0 |
| 5       | 1.2           | 5.0  | 1.2           | 5.0  |
| 6       | 2.4           | 9.6  | 2.3           | 6.5  |
| 7       | 9.3           | 8.2  | 9.4           | 3.4  |
| 8       | 3.4           | 14.4 | 3.4           | 1.8  |
| 9       | 4.4           | 10.2 | 4.4           | 7.0  |

**16. BIBLIOGRAFÍA**

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**





## INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

#### Pour la détermination qualitative de l'antigène urinaire *Legionella pneumophila*

#### Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

##### 1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination qualitative de l'antigène urinaire *Legionella pneumophila* dans les urines humaines en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

##### 2. INTRODUCTION

La légionellose est une maladie infectieuse grave, à forte mortalité, plus fréquente par infections nosocomiales que par celles communautaires.

L'espèce la plus souvent impliquée dans les pathologies humaines est la *Legionella pneumophila*, même si d'autres espèces ont été isolées. La forme la plus sévère de légionellose est celle appelée Maladie du Légionnaire, caractérisée par une pneumonie aiguë qui se manifeste 2 à 10 jours après l'exposition à l'agent infectieux. Une autre caractéristique du cadre clinique est la Fièvre de Pontiac, une affection fébrile aiguë extra pulmonaire.

L'infection peut toucher toute la population. Sont considérés plus à risque les sujets de sexe masculin, d'âge avancé, les fumeurs, les consommateurs d'alcool, les porteurs de maladie chronique (broncho-pneumopathies obstructives, maladies cardiovasculaires et rénales, diabète, etc.) et avec immunodéficience acquise suite à des interventions thérapeutiques (transplantation d'organe, thérapie avec stéroïdes et anti-tumoraux, etc.) ou infection par HIV.

De tous les cas de légionellose reportés, 80% sont attribuables à la *Legionella pneumophila* du sérogroupe 1.

En 1979, Berdal a démontré la présence d'un antigène soluble hautement spécifique dans les urines des patients atteints de légionellose. L'urine des patients représente ainsi un échantillon idéal pour la recherche de l'antigène à un stade précoce ou tardif de la maladie.

##### 3. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dispositif Chorus Legionella Urinary Antigen est prêt à l'usage pour la détermination de l'antigène urinaire *Legionella pneumophila*, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Les anticorps monoclonaux hautement spécifiques pour l'antigène, se lient à la phase solide.

Par incubation avec l'urine humaine, l'antigène se lie au puit. Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué de monoclonales anti-*Legionella pneumophila* conjuguées avec du peroxyde de raifort.

Le conjugué qui ne s'est pas lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La couleur bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques présents dans le échantillon en examen.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le résultat est exprimé en Indice – rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off.

##### 4. PRÉCAUTIONS

##### UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

**Mise au rebut des résidus:** les échantillons, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

##### Avertissements pour la sécurité personnelle

7. Ne pas pipeter avec la bouche.
8. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
9. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO.
10. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
11. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
12. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre

en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

### Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+ 18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

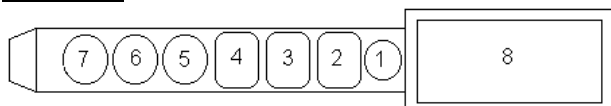
12. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
13. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
14. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
15. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
16. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
17. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
18. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
19. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
20. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
21. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
22. **Contrôler que l'instrument a une connexion au Washing Buffer (Réf. 83606).**

### 5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations.

**DD** DISPOSITIFS 2 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description :



**Position 8** : Espace disponible pour l'étiquette avec le code à barres

**Position 7** : Vide

**Position 6** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec anticorps monoclonaux anti-*Legionella pneumophila* hautement purifiés

**Position 5** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

**Position 4** : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stabilisés dans un tampon.

### Position 3 : ANTICORPS MONOCLONAUX

Contenu : Anticorps anti-*Legionella pneumophila* marqués à la biotine en tampon TRIS.

### Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu: solution de Streptavidine marqués à la peroxydase, dans une solution tampon phosphate contenant du phénol (0.05%) et du Bronidox (0.02%).

### Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le échantillon non dilué.

### Emploi : équilibrer un sachet à température ambiante,

ouvrir le sachet, prélever les dispositifs nécessaires, et replacer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec du gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8 °C.

### CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.350 ml

Contenu : cellules de *Legionella pneumophila* désactivées en tampon phosphate et conservateur. Liquide prêt à l'emploi.

### CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.850 ml

Contenu : cellules de *Legionella pneumophila* désactivées en tampon phosphate et conservateur. Liquide prêt à l'emploi.

### AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants jetables
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

### 6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à + 2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au contrôle positif (voir paragraphe 9 : Validation du test). La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation:

|                  |                     |
|------------------|---------------------|
| DISPOSITIFS      | 8 semaines à 2/8 °C |
| CALIBRATEUR      | 8 semaines à 2/8 °C |
| CONTRÔLE POSITIF | 8 semaines à 2/8 °C |

## 7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est constitué d'urine humaine à manipuler conformément aux procédures standard de laboratoire.

L'échantillon doit être prélevé dans un récipient stérile d'usage courant et peut être conservé pendant 24 heures à 2/8°C; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à - 20 °C. L'échantillon peut subir jusqu'à un maximum de 3 décongelations.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongelation, agiter avec soin avant le dosage.

La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

## 8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser 125 µl de échantillon non dilué dans le puits n°1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

## 9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le contrôle positif présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du contrôle positif n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en Indice (rapport entre la valeur en OD de l'échantillon et celle du Cut-Off).

Le test sur le échantillon examiné peut être interprété de la manière suivante :

POSITIF quand le résultat est > 1.0

NÉGATIF quand le résultat est < 1.0

DOUTEUX/EQUIVOQUE quand le résultat est = 1.0

En cas de résultat douteux/équivoque, refaire le test. Si le résultat reste douteux/équivoque, répéter le prélèvement.

## 11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué conjointement avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

## 12. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

5 échantillons ont été testés (2 négatifs, 1 cut-off et 2 positifs), auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Bilirubine (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)

Hémoglobine (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)

Glucose (30 mg/dl – 120 mg/dl)

Acide ascorbique (5 mg/dl – 20 mg/dl)

Oxalate de calcium (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)

Albumine (40 mg/dl – 160 mg/dl)

La présence dans le sérum examiné des perturbateurs susmentionnés n'altère pas le résultat du test.

## 13. RÉACTIONS CROISÉES

20 échantillons positifs aux Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae ont été testés.

Aucune réaction croisée significative n'a été relevée.

## 14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 104 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

|        |       | Référence |    |       |
|--------|-------|-----------|----|-------|
|        |       | +         | -  | Total |
| Diesse | +     | 44        | 0  | 44    |
|        | -     | 8         | 52 | 60    |
|        | Total | 52        | 52 | 104   |

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.84.

## 15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

| Échantillon | INTRA-SÉANCE    |      | INTER-SÉANCES   |      |
|-------------|-----------------|------|-----------------|------|
|             | Moyenne (Index) | CV % | Moyenne (Index) | CV % |
| 1           | 0.4             | 20.0 | 0.3             | 16.7 |
| 2           | 0.3             | 20.0 | 0.3             | 16.7 |
| 3           | 0.6             | 6.7  | 0.6             | 13.3 |
| 4           | 0.8             | 10.0 | 0.6             | 11.7 |
| 5           | 1.2             | 9.2  | 1.1             | 10.0 |
| 6           | 2.1             | 2.4  | 2.1             | 5.2  |
| 7           | 8.3             | 8.8  | 7.7             | 6.4  |
| 8           | 4.0             | 3.3  | 3.8             | 5.0  |
| 9           | 4.4             | 4.3  | 4.3             | 3.7  |

| Échantillon | INTER-LOTS      |      | INTER-INSTRUMENTS |      |
|-------------|-----------------|------|-------------------|------|
|             | Moyenne (Index) | CV % | Moyenne (Index)   | CV % |
| 1           | 0.4             | 15.0 | 0.4               | 15.0 |
| 2           | 0.3             | -    | 0.3               | -    |
| 3           | 0.5             | -    | 0.5               | -    |
| 4           | 0.6             | 10.0 | 0.6               | 10.0 |
| 5           | 1.2             | 5.0  | 1.2               | 5.0  |
| 6           | 2.4             | 9.6  | 2.3               | 6.5  |
| 7           | 9.3             | 8.2  | 9.4               | 3.4  |
| 8           | 3.4             | 14.4 | 3.4               | 1.8  |
| 9           | 4.4             | 10.2 | 4.4               | 7.0  |

## 16. BIBLIOGRAPHIE

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. [Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia](#). N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italie**





## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

#### Para a determinação qualitativa do antígeno urinário *Legionella pneumophila*

#### Somente para uso diagnóstico *in vitro*

##### 1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação qualitativa do antígeno *Legionella pneumophila* nas urinas humanas com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

##### 2. INTRODUÇÃO

A legionelose é uma doença infecciosa grave, de elevada mortalidade, superior nas infecções nosocomiais do que nas comunitárias.

A espécie mais frequente presente nas patologias humanas é a *Legionella pneumophila*, apesar de terem sido isoladas outras espécies. A forma mais grave de legionelose é a chamada Doença dos Legionários, caracterizada por uma pneumonia aguda que se manifesta 2 a 10 dias após a exposição ao agente infeccioso. Outro quadro clínico característico é a Febre de Pontiac, um estado febril agudo extra-pulmonar.

A infecção pode afectar toda a população. São considerados de maior risco os indivíduos do sexo masculino, mais idosos, fumadores, consumidores de álcool, que sofram de doenças crónicas (broncopneumopatias obstrutivas, doenças cardiovasculares e renais, diabetes, etc.), e com imunodeficiência adquirida após intervenções terapêuticas (transplantes de órgãos, terapia com esteróides e anti-tumorais, etc.) ou infecção por HIV.

De todos os casos de legionelose indicados, 80% podem ser atribuídos à *Legionella pneumophila* grupo serológico 1.

Em 1979 Berdal demonstrou a presença de um antígeno solúvel altamente específico nas urinas dos doentes afectados por Legionelose. A urina dos doentes representa portanto uma amostra ideal para encontrar o antígeno nas fases precoces ou adiantadas da doença.

##### 3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Chorus Legionella Urinary Antigen está pronto para ser utilizado na determinação do antígeno urinário *Legionella pneumophila*, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Anticorpos monoclonais altamente específicos para o antígeno, são ligados à fase sólida.

O antígeno liga-se ao poço por incubação com a urina humana. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado, constituído por monoclonais anti-*Legionella pneumophila* conjugados com peroxidase de rábano.

Elimina-se o conjugado que não se ligou e acrescenta-se o substrato para a peroxidase. A cor azul que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes na amostra analisada.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O resultado é expresso em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

#### 4. PRECAUÇÕES

##### SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Visto que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa em relação à ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infectados. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

**Eliminação de resíduos: as amostras, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.**

##### Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
  2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras.
  3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
  4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
  5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfectados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfectação eficaz.
  6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área.
- Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado.
- Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

**Advertências analíticas**

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem em temperatura ambiente (18-30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

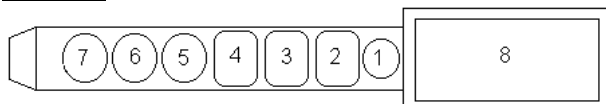
1. Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentem corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
11. Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (Ref. 83606).

## 5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 12 determinações

**DD** DISPOSITIVOS 2 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



**Posição 8:** Espaço livre para rótulo com código de barras

**Posição 7:** livre

**Posição 6:** POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos monoclonais anti-Legionella pneumophila altamente purificados

**Posição 5:** POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

**Posição 4:** SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estabilizados em tampão.

**Posição 3:** ANTICORPOS MONOCLONAIS

Conteúdo: Anticorpos anti-Legionella pneumophila marcados com Biotina em tampão TRIS.

**Posição 2:** CONJUGADO

Conteúdo: solução de Estreptavidina marcada com peroxidase, em solução tampão de fosfato com fenol 0.05% e Bronidox 0.02%.

**Posição 1:** POÇO VAZIO

No qual o utilizador deve dispensar a amostra não diluída.

**Uso:** estabilizar um pacote em temperatura ambiente, abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e fechar o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

**CALIBRATOR** CALIBRADOR 1 x 0.350 mL

Conteúdo: Células de Legionella pneumophila inativadas em tampão fosfato e conservante. Líquido, pronto a utilizar.

**CONTROL +** CONTROLO POSITIVO 1 x 0.850 ml

Conteúdo: Células de Legionella pneumophila inativadas em tampão fosfato e conservante. Líquido, pronto a utilizar.

## OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

## 6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do controlo positivo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

|                   |                         |
|-------------------|-------------------------|
| DISPOSITIVOS      | 8 semanas entre 2 e 8°C |
| CALIBRADOR        | 8 semanas entre 2 e 8°C |
| CONTROLO POSITIVO | 8 semanas entre 2 e 8°C |

## 7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por urina humana a manusear de acordo com os procedimentos standard de laboratório.

A amostra deve ser recolhida em conteúdo estéril de utilização comum e pode ser guardada durante 24 horas a 2/8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C. A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

## 8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 125 µl de amostra não diluída a testar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

## 9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações no Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o controlo positivo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar fora do intervalo de aceitação, contatar o Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em Índice (razão entre o valor em OD da amostra e o do Cut-Off).

O teste da amostra analisada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO quando o resultado for > 1.0

NEGATIVO quando o resultado for < 1.0

INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado for = 1.0

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado. Se o resultado continuar incerto/equivocado, repetir a recolha.

## 11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente.

O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

## 12. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 5 amostras (2 Negativos, 1 Cut-Off e 2 Positivos) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)

Hemoglobina (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)

Glucose (30 mg/dl – 120 mg/dl)

Ácido ascórbico (5 mg/dl – 20 mg/dl)

Oxalato de cálcio (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)

Albumina (40 mg/dl – 160 mg/dl)

A presença, na amostra em análise, das substâncias interferentes acima referidas não altera o resultado do teste.

## 13. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 20 amostras, positivas em *Escherichia coli*, *Proteus*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus B*, *Streptococcus D*, *Lactobacillus*, *KES bacteria*, *Pseudomonas*, *Streptococcus pneumoniae*.

Não foram detectadas reações cruzadas significativas.

## 14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 104 amostras foram analisadas com o kit Diesse e com um outro kit do mercado.

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

|        |       | Referência |    |       |
|--------|-------|------------|----|-------|
|        |       | +          | -  | Total |
| Diesse | +     | 44         | 0  | 44    |
|        | -     | 8          | 52 | 60    |
|        | Total | 52         | 52 | 104   |

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Constante de Cohen) de 0.84.

## 15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

| Amostra | No Ensaio     |      | Entre Ensaios |      |
|---------|---------------|------|---------------|------|
|         | Média (Index) | CV%  | Média (Index) | CV%  |
| 1       | 0.4           | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 2       | 0.3           | 20.0 | 0.3           | 16.7 |
| 3       | 0.6           | 6.7  | 0.6           | 13.3 |
| 4       | 0.8           | 10.0 | 0.6           | 11.7 |
| 5       | 1.2           | 9.2  | 1.1           | 10.0 |
| 6       | 2.1           | 2.4  | 2.1           | 5.2  |
| 7       | 8.3           | 8.8  | 7.7           | 6.4  |
| 8       | 4.0           | 3.3  | 3.8           | 5.0  |
| 9       | 4.4           | 4.3  | 4.3           | 3.7  |

| Amostra | Entre Lotes   |      | Entre Equipamentos |      |
|---------|---------------|------|--------------------|------|
|         | Média (Index) | CV%  | Média (Index)      | CV%  |
| 1       | 0.4           | 15.0 | 0.4                | 15.0 |
| 2       | 0.3           | -    | 0.3                | -    |
| 3       | 0.5           | -    | 0.5                | -    |
| 4       | 0.6           | 10.0 | 0.6                | 10.0 |
| 5       | 1.2           | 5.0  | 1.2                | 5.0  |
| 6       | 2.4           | 9.6  | 2.3                | 6.5  |
| 7       | 9.3           | 8.2  | 9.4                | 3.4  |
| 8       | 3.4           | 14.4 | 3.4                | 1.8  |
| 9       | 4.4           | 10.2 | 4.4                | 7.0  |

## 16. BIBLIOGRAFIA

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5):575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**





## INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

### CHORUS Legionella Urinary Antigen

**Pentru determinarea calitativa a antigenului  
urinar Legionella pneumophila**

**Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro***

#### 1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea calitativa a antigenului urinar *Legionella pneumophila* in urina umana, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

#### 2. INTRODUCERE

Boala lui Legionnaire este o boala infectioasa grava cu o rata crescuta a mortalitatii.

Specia cel mai frecvent intalnita in patologia umana este *Legionella pneumophila*, cu toate ca alte specii au fost izolate. Cea mai severa forma a infectiei cu *Legionella* este aceea asa numita boala lui Legionnaire, caracterizata printr-o pneumonie acuta, care devine evidenta la 2-10 zile dupa contactul cu bacteriile. O alta caracteristica clinica este febra Pontiac, o infectie extra-pulmonara acuta.

Infectia poate afecta intreaga populatie. Persoanele considerate ca fiind cele mai expuse riscului sunt barbatii in varsta care sunt fumatori, consumatori de alcool, cei afectati de boli cronice (infectii bronhopulmonare obstructive, disfunctii cardiovasculare si renale, diabet, etc.), si cei care au dobandit imunodeficienta in urma unei terapii (transplant de organe, tratament cu steroizi si medicamente anti-tumorale, etc.), sau cei afectati de virusul HIV.

80% dintre toate aceste cazuri raportate de legioneloza, pot fi atribuite speciei *Legionella pneumophila* serotip 1.

In 1979 Berdal a demonstrat prezenta antigenului solubil specific in urina pacientilor afectati de boala Legionarilor. Prin urmare, urina acestor pacienti reprezinta prelevatul ideal pentru detectia antigenului in stadiile precoce sau avansate ale bolii.

#### 3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Legionella Urinary Antigen este gata de utilizare pentru detectia antigenului urinar *Legionella pneumophila*, pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay). Anticorpii monoclonali cu specificitate mare pentru antigen, sunt legati la faza solida.

Antigenul este legat de celula prin incubarea cu urina umana. Dupa spalari, pentru a elimina proteinele care nu au reactionat, incubarea se realizeaza cu ajutorul conjugatului compus din

anticorpi anti – *Legionella pneumophila* monoclonal conjugat cu peroxidază de hrean.

Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza. Culoarea albastra care se dezvoltă este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus/ Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in Index (OD proba/ OD cut-off).

#### 4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

##### NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi garantii complete cu privire la absenta agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manevrate ca fiind potential infectioase. In cazul manevrării materialelor de origine umana, trebuie urmate toate masurile de precautie adoptate in mod normal in practica de laborator.

**Indepartarea deseurilor: probele, calibratorii si stripurile utilizate trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase si eliminate conform legii.**

##### Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

7. Nu pipetati cu gura.
8. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
9. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/Chorus TRIO.
10. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
11. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
12. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

##### Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

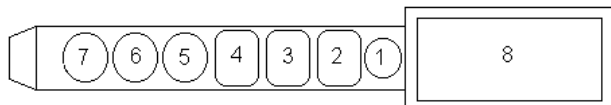
12. **Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
13. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
1. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
2. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
3. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
4. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
5. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
6. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
7. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
8. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
9. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Washing Buffer (Ref. 83606).**

## 5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari.

**DD** DISPOZITIVE 2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive.

Descrierea dispozitivului:



**Pozitia 8:** Spatiu pentru aplicarea codului de bare

**Pozitia 7:** gol

**Pozitia 6:** GODEUL MICROPLACII

Captusit cu anticorpi monoclonali anti - Legionella pneumophila inalt purificati.

**Pozitia 5:** GODEUL MICROPLACII necaptusit

**Pozitia 4:** TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine si H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stabilizat in tampon.

**Pozitia 3:** ANTICORPI MONOCLONALI

Continut: Anticorpi anti - Legionella pneumophila marcati cu Biotin si solutie tampon TRIS.

**Pozitia 2:** CONJUGAT

Continut: Streptavidin solution tapetati cu peroxidaza din hrean in solutie tampon fosfat continand 0.05% fenol si 0.02% Bronidox.

**Pozitia 1:** GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca prelevat nediluat.

**Utilizare:** lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

**CALIBRATOR** CALIBRATOR 1 x 0.350 ml

Continut: Celulele pneumophila Legionella inactivate in tampon fosfat si conservant. Lichid, gata de utilizare.

**CONTROL +** CONTROL POZITIV 1 x 0.850 ml

Continut: Celulele pneumophila Legionella inactivate in tampon fosfat si conservant. Lichid, gata de utilizare.

## MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlariie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

## 6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand controlul pozitiv (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

|                   |                      |
|-------------------|----------------------|
| DISPOZITIVELE     | 8 saptamani la 2/8°C |
| CALIBRATORUL      | 8 saptamani la 2/8°C |
| CONTROLUL POZITIV | 8 saptamani la 2/8°C |

## 7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din urina umana trebuie manipulata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator.

Prelevatul trebuie recoltat intr-un recipient steril obisnuit si poate fi mentinut pe 24 h la 2/8°C, sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori.

Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare.

Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

## 8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 125 µl din proba de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

### 9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati controlul pozitiv pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare al instrumentului. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca, controlul pozitiv are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul controlului pozitiv continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

### 10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in Index (OD proba/ OD cut-off).

Testul pe prelevatul examinat, poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este  $> 1.0$

NEGATIV: cand rezultatul este  $< 1.0$

INCERT/ECHIVOC: cand rezultatul este  $= 1.0$

Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul. Daca ramane incert/ echivoc, colectati o noua proba de ser.

### 11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.

Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

### 12. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 5 probe (2 negative, 1 Cut-Off si 2 pozitive) continand urmatoarele substante interferente:

Bilirubina (0.15 mg/dl – 0.6 mg/dl)

Hemoglobina (0.01 mg/ml – 0.04 mg/ml)

Glucoza (30 mg/dl – 120 mg/dl)

Acid Ascorbic (5 mg/dl – 20 mg/dl)

Oxalat de Calciu (2.5 mg/dl – 10 mg/dl)

Albumina (40 mg/dl – 160 mg/dl)

Prezenta in prelevatul testat a substantelor interferente metionate mai sus, nu au modificat rezultatele testului.

### 13. REACTIVITATEA INCRUCISATA

Au fost testate 20 probe pozitive la: Escherichia coli, Proteus, Streptococcus faecalis, Staphylococcus spp, Streptococcus B, Streptococcus D, Lactobacillus, KES bacteria, Pseudomonas, Streptococcus pneumoniae.

Nu s-a identificat nicio reactie incrucisata semnificativa.

### 14. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 104 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

|        |       | Referinta |    |       |
|--------|-------|-----------|----|-------|
|        |       | +         | -  | Total |
|        |       |           |    |       |
| Diesse | +     | 44        | 0  | 44    |
|        | -     | 8         | 52 | 60    |
|        | Total | 52        | 52 | 104   |

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

84.6% CI<sub>95%</sub>: 72.4 - 91.9

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului):

100% CI<sub>95%</sub>: 93.1 – 99.9

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.84.

### 15. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

| Proba | Precizia in cadrul ciclului de rulare |      | Precizia intre ciclurile de rulare |      |
|-------|---------------------------------------|------|------------------------------------|------|
|       | Media (Index)                         | CV%  | Media (Index)                      | CV%  |
| 1     | 0.4                                   | 20.0 | 0.3                                | 16.7 |
| 2     | 0.3                                   | 20.0 | 0.3                                | 16.7 |
| 3     | 0.6                                   | 6.7  | 0.6                                | 13.3 |
| 4     | 0.8                                   | 10.0 | 0.6                                | 11.7 |
| 5     | 1.2                                   | 9.2  | 1.1                                | 10.0 |
| 6     | 2.1                                   | 2.4  | 2.1                                | 5.2  |
| 7     | 8.3                                   | 8.8  | 7.7                                | 6.4  |
| 8     | 4.0                                   | 3.3  | 3.8                                | 5.0  |
| 9     | 4.4                                   | 4.3  | 4.3                                | 3.7  |

| Proba | Precizia intre loturi |     | Precizia intre instrumente |     |
|-------|-----------------------|-----|----------------------------|-----|
|       | Media (Index)         | CV% | Media (Index)              | CV% |

|   |     |      |     |      |
|---|-----|------|-----|------|
| 1 | 0.4 | 15.0 | 0.4 | 15.0 |
| 2 | 0.3 | -    | 0.3 | -    |
| 3 | 0.5 | -    | 0.5 | -    |
| 4 | 0.6 | 10.0 | 0.6 | 10.0 |
| 5 | 1.2 | 5.0  | 1.2 | 5.0  |
| 6 | 2.4 | 9.6  | 2.3 | 6.5  |
| 7 | 9.3 | 8.2  | 9.4 | 3.4  |
| 8 | 3.4 | 14.4 | 3.4 | 1.8  |
| 9 | 4.4 | 10.2 | 4.4 | 7.0  |

## 16. BIBLIOGRAFIE

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, Harris J, Mallison GF, Martin SM, McDade JE, Shepard CC, Brachman PS. 1977. [Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia](#). N. Engl. J. Med. 297:1189-1197.
2. Reingold AL, Thomason BM, Brake BJ, Thacker L, Wilkinson HW, Kuritsky JN. 1984. Legionella pneumonia in the United States : the distribution of serogroups and species causing human illness. J Infect Dis. 149(5):819.
3. Berdal BP, Farshy CE, Feeley JC. 1979. Detection of Legionella pneumophila antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J Clin Microbiol. May; 9(5) :575-8.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**



|                                                                                     |                                                                                                                                        |                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | EN Date of manufacture<br>ES Fecha de fabricación<br>IT Data di fabbricazione                                                          | FR Date de fabrication<br>GR Ημερομηνία Παραγωγής<br>PT Data de fabrico                                                                            |
|    | EN Use By<br>ES Fecha de caducidad<br>IT Utilizzare entro                                                                              | FR Utiliser jusque<br>GR Ημερομηνία λήξης<br>PT Prazo de validade                                                                                  |
|    | EN Do not reuse<br>ES No reutilizar<br>IT Non riutilizzare                                                                             | FR Ne pas réutiliser<br>GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση<br>PT Não reutilizar                                                                      |
|    | EN Caution, consult accompanying documents<br>ES Atención, ver instrucciones de uso<br>IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso   | FR Attention voir notice d'instructions<br>GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα<br>PT Atenção, consulte a documentação incluída       |
|    | EN Manufacturer<br>ES Fabricante<br>IT Fabbicante                                                                                      | FR Fabricant<br>GR Κατασκευαστής<br>PT Fabricante                                                                                                  |
|    | EN Contains sufficient for <n> tests<br>ES Contenido suficiente para <n> ensayos<br>IT Contenuto sufficiente per "n" saggi             | FR Contenu suffisant pour "n" tests<br>GR Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις<br>PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios                         |
|    | EN Temperature limitation<br>ES Límite de temperatura<br>IT Limiti di temperatura                                                      | FR Limites de température<br>GR Περιορισμοί θερμοκρασίας<br>PT Limites de temperatura                                                              |
|    | EN Consult Instructions for Use<br>ES Consulte las instrucciones de uso<br>IT Consultare le istruzioni per l'uso                       | FR Consulter les instructions d'utilisation<br>GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης<br>PT Consulte as instruções de utilização                     |
|    | EN Biological risks<br>ES Riesgo biológico<br>IT Rischio biologico                                                                     | FR Risques biologiques<br>GR Βιολογικοί κίνδυνοι<br>PT Risco biológico                                                                             |
|   | EN Catalogue number<br>ES Número de catálogo<br>IT Numero di catalogo                                                                  | FR Référence du catalogue<br>GR Αριθμός καταλόγου<br>PT Referência de catálogo                                                                     |
|  | EN In Vitro Diagnostic Medical Device<br>ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro<br>IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro | FR Dispositif médical de diagnostic in vitro<br>GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν<br>PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro |
|  | EN Batch code<br>ES Código de lote<br>IT Codice del lotto                                                                              | FR Code du lot<br>GR Αριθμός Παρτίδας<br>PT Código do lote                                                                                         |