

Legionella K-SeT



www.corisbio.com

IFU-5815/FR/07

Fabricant:

Coris BioConcept
CREALYS Science Park
Rue Guillaume Fouquet, 11
5032 GEMBLOUX
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Produit en BELGIQUE

Test de Diagnostic Rapide *in vitro* pour la détection des antigènes de *Legionella pneumophila* dans les échantillons d'urine

USAGE *IN VITRO*

POUR USAGE PROFESSIONNEL UNIQUEMENT

Références: K-1215, 20 tests par kit

K-1515, 20 tests par kit, contrôle fournis

FR

I. INTRODUCTION

La maladie du légionnaire ou légionellose est une pneumopathie grave causée par une bactérie du genre *Legionella* appartenant à la famille des *Legionellaceae*. Cette famille compte actuellement 48 espèces et 60 groupes sérologiques, 20 de ces espèces sont pathogènes pour l'homme. La majorité des infections à *Legionella* sont dues à *L. pneumophila*. La légionellose est la principale manifestation clinique des infections à *Legionella* bien qu'il existe des infections extra-pulmonaires et des maladies plus bénignes comme la fièvre de Pontiac. Cette maladie a été découverte en 1976, lors d'un Congrès de l'American Legion. Approximativement 90% des infections sont causées par *L. pneumophila*, dont 80% par le sérotype 1. Les légionelles sont des bactéries en forme de bâtonnets, Gram négatives avec un flagelle polaire. La bactérie *Legionella* a une distribution répandue aussi bien dans les eaux naturelles que dans les habitats aquatiques de type artificiels. Elle se retrouve facilement dans l'eau courante, dans les tours de refroidissement ainsi que dans les systèmes d'eau potable. Ces organismes peuvent survivre dans une large gamme de conditions et la température est un facteur critique de prolifération. Les infections nosocomiales sont particulièrement associées à la colonisation par *Legionella* du système d'eau chaude des hôpitaux.

La durée d'incubation après exposition aux bactéries est de 2 à 10 jours. La plupart des patients admis à l'hôpital présentent une fièvre, souvent très forte (39,5°C). La toux peut également être l'une des premières manifestations d'une infection pulmonaire. D'autres symptômes communs sont les maux de tête, les douleurs musculaires, l'essoufflement ainsi que des douleurs intestinales.

La maladie du légionnaire (LD) n'est pas contagieuse. La contamination se fait par inhalation de fines particules d'eau infectées par des légionelles. Par contre, la contamination de personne à personne n'a jamais pu être mise en évidence. Les populations à risque sont les personnes immunodéprimées, notamment les transplantés, les personnes âgées, les fumeurs et les personnes présentant des insuffisances respiratoire ou rénale.

Le diagnostic des légionelloses peut être difficile car les signes et les symptômes sont non-spécifiques et il est difficile de distinguer une infection à *L. pneumophila* d'une autre cause de pneumonie. Les infections à *Legionella pneumophila* sont considérées comme assez répandues mais elles sont mal diagnostiquées et de ce fait, sous-estimées. Il est donc intéressant de disposer d'une méthode de diagnostic rapide, facile, spécifique et sensible.

Le Legionella K-SeT détecte des antigènes de *Legionella pneumophila* du sérotype 1 contenus dans l'urine.

II. PRINCIPE DU TEST

Le test est prêt à l'emploi et repose sur l'utilisation d'un système sur membrane avec des particules d'or. Le test permet la détection du LPS de *Legionella pneumophila* dans les échantillons d'urine. La sensibilité du Legionella K-SeT est assurée par des réactifs de type polyclonaux et monoclonaux anti-*Legionella*. Certains anticorps sont conjugués à des particules d'or colloïdale, le tout étant séché sur un absorbant dédié. Chaque tigette est sensibilisée avec des anticorps anti-*Legionella* et un anticorps de contrôle (ligne de contrôle de migration).

Quand l'échantillon entre en contact avec la tigette, le conjugué solubilisé migre par diffusion passive en même temps que l'échantillon. Si l'échantillon contient des antigènes urinaires de *L. pneumophila*, un complexe entre le conjugué anti-*L. pneumophila* et les antigènes de *L. pneumophila* se forme et se fixe sur le réactif spécifique adsorbé sur la nitrocellulose. Le résultat apparaît en 15 minutes sous la forme d'une ligne rouge.

La solution continue à migrer et rencontre un réactif de contrôle qui fixe le conjugué de contrôle, générant une seconde ligne rouge qui atteste le bon fonctionnement du test

III. REACTIFS ET MATERIELS

1. Legionella K-SeT (20)

Pochettes scellées contenant une cassette et un dessicant. Chaque cassette contient une tigette sensibilisée.

2. Pipettes de transfert jetables (20)

Pipettes de transfert jetables pour déposer un volume fixe (100 µL) d'échantillon dans le Legionella K-SeT

3. Notice d'utilisation (1)

4. Matériel fourni avec le kit K-1515 :

Contrôle positif Legionella (0,8 mL; SUN-3P15) : Extrait de *L. pneumophila*

Contrôle négatif (1 mL; CTR-1000) : Solution prête à l'emploi constituée de bactéries inactivées de *S. pyogenes*

IV. PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Les composants de la trousse sont à utiliser en diagnostic *in vitro*, uniquement.
- Ouvrir la pochette avec précaution
- Eviter de toucher directement la nitrocellulose.
- Porter des gants pendant la manipulation des échantillons.
- Ne jamais mélanger les constituants de trousses différentes.
- Les sites d'adsorption des immunoréactifs sont signalés par les bandes vertes. La couleur verte disparaît pendant la réaction.
- La qualité des réactifs est garantie seulement jusqu'à leur date de péremption et s'ils ont été conservés dans les conditions indiquées dans cette notice.

V. ELIMINATION DES DECHETS

- Eliminer tous les consommables utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit assurer l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

VI. STOCKAGE

- Une trousse non ouverte doit être conservée entre 4 et 30°C et utilisée avant la date de péremption indiquée sur l'emballage. Une fois la pochette ouverte, démarrer le test immédiatement.
- Les cassettes et le tampon ne doivent pas être congelés.

VII. PRELEVEMENTS

Les échantillons à tester doivent être obtenus et traités par des méthodes standard pour le prélèvement d'urine. Les échantillons d'urine doivent être prélevés dans des récipients standards. L'utilisation d'acide borique comme conservateur a été validée avec le Legionella K-SeT.

Les échantillons doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement. Si nécessaire, ils peuvent être conservés pendant 1 semaine entre 2 et 8 °C ou entre -10°C et -20°C pour des périodes plus longues.

Bien que cela rallonge la procédure, l'antigène présent dans l'urine peut être concentré 25 fois au moyen d'un concentrateur à usage unique (Miniplus) ou d'un système de centrifugation (Centricon).

VIII. PROCEDURE

PRÉPARATION:

Laisser les réactifs, dans leur emballage fermé, et les échantillons s'équilibrer à température ambiante (15-30°C) avant de débiter le test.

Ouvrir la pochette et ôter la cassette. Lorsque la pochette a été ouverte, utiliser la cassette le plus rapidement possible. Marquer les numéros des prélèvements sur la cassette (une cassette par échantillon).

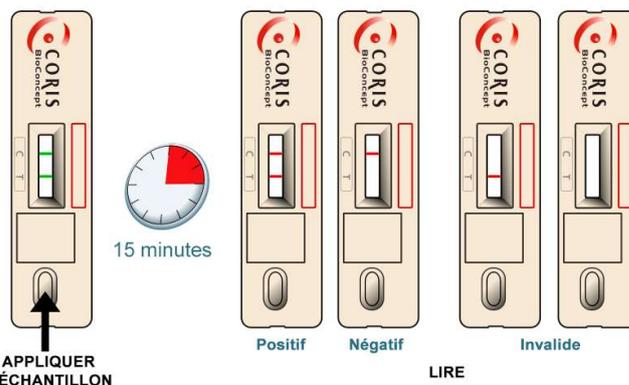
PROCÉDURE DE PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS:

1. Mélanger doucement l'échantillon avant de procéder au test.
2. Déposer lentement 100 µL d'échantillon d'urine dans le puits de la cassette comme illustré ci-après (utiliser une pipette de transfert jetable fournie ou une pipette de laboratoire).
3. Laisser réagir 15 minutes. Les résultats s'observent dans la fenêtre de lecture de la cassette. Un résultat positif peut être déclaré plus tôt dès l'instant où la ligne de contrôle et la ligne de test apparaissent.

Les résultats doivent être lus sur une tigette encore humide.

IX. INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats doivent être interprétés comme suit:



Test négatif : une bande pourpre apparaît dans la fenêtre de lecture au niveau de la ligne Contrôle (C). Aucune autre ligne n'est présente.

Test positif : la ligne pourpre de Contrôle (C) et la ligne pourpre de Test (T) sont toutes deux visibles. L'intensité des lignes tests peut varier en fonction de la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Un signal faible sur une ligne Test (T) doit être interprété comme un résultat positif.

Test invalide : aucune bande pourpre n'apparaît au niveau de la ligne Contrôle (C). L'absence de la ligne contrôle (C) rend le résultat ininterprétable. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec une nouvelle cassette.

Note : après séchage, une très légère ombre peut apparaître au niveau de la ligne test. Il ne faut pas en tenir compte dans l'interprétation des résultats.

X. CONTROLE DE QUALITE

Selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire, il est recommandé de s'assurer régulièrement de la performance du test en fonction des exigences du laboratoire.

Un contrôle positif et un contrôle négatif (fournis dans la trousse K-1515), peuvent être utilisés de manière à déclencher respectivement une réaction positive et une réaction négative, et ainsi s'assurer du fonctionnement correct du test. Ces contrôles doivent être utilisés comme un échantillon d'urine (voir VIII).

XI. PERFORMANCE

A. Sensibilité - Spécificité

Une évaluation a été menée sur un panel de 85 échantillons cliniques dans un laboratoire national de référence en Espagne. L'étude a été réalisée sur 30 urines de patients atteints de légionellose et présentant des signes radiologiques confirmés par des analyses microbiologiques en laboratoire. La méthode EIA a été utilisée comme référence de laboratoire. Des tests sur des urines de patients présentant des infections respiratoires autres que la *Legionella pneumophila* ont été réalisés de manière similaire pour évaluer la spécificité du kit.

Legionella K-SeT	EIA	Positive	Negative	Total
Positive		27	0	27
Negative		3	55	58
Total		30	55	85

95 % Intervalle de confiance ¹

Sensibilité:	90.0 %	(72.3 à 97.4 %)
Spécificité:	100 %	(91.9 à 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(84.5 à 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	94.8 %	(84.7 à 98.7 %)
Concordance:	96.5 %	(82/85)

B. Répétabilité et reproductibilité

Pour vérifier la répétabilité intra-lot, un échantillon d'urine positive et une urine négative ont été testés 15 fois sur des trousse provenant du même lot de production dans les mêmes conditions expérimentales. Tous les résultats attendus ont été obtenus.

Pour vérifier la reproductibilité inter-lot, les mêmes échantillons (positifs et négatifs) ont été testés sur 3 lots de productions différents. Tous les résultats attendus ont été obtenus.

C. Interférence

La réactivité croisée a été testée sur des échantillons infectés expérimentalement avec les pathogènes suivants : Adenovirus, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Haemophilus influenzae*, Influenza A, Influenza B, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Nocardia asteroides*, *Parainfluenzae*, Rhinovirus, RSV, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *E.coli* (different strains), *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia hermanni*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella longbeachae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia enterocolitica* (types 3,9), HMPV, *Streptococcus* (Group B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Campylobacter coli*, *S. typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Neisseria meningitidis* (sg C), *Mycoplasma hominis*.

Le sang naturellement présent dans l'urine (hématurie) n'affecte pas les performances du test. Toutefois, les échantillons sanguinés (plus de 0.1 % de sang total) migrent plus difficilement, en laissant des traînées sur la membrane et, par conséquent, conduisant à des résultats non concluants.

XII. LIMITES DE LA TROUSSE

Il s'agit d'un test qualitatif qui ne permet pas de quantifier la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Le contexte clinique et tous les autres résultats doivent être pris en considération pour établir le diagnostic.

Un test positif ne permet pas d'éliminer la possibilité de présence d'autres agents pathogènes.

Ce test est un test de dépistage pour les infections en phase aiguë. Les échantillons prélevés après cette phase peuvent contenir de l'antigène en concentration trop faible par rapport au seuil de sensibilité du test. Si un échantillon est trouvé négatif malgré les symptômes observés, le résultat doit être confirmé en effectuant une culture.

XIII. PROBLEMES TECHNIQUES / RECLAMATIONS

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celles indiquées dans cette notice,

1. Notez le N° de lot du kit concerné
2. Si possible, conservez l'échantillon ayant posé problème au congélateur, le temps de la gestion du problème
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

XIV. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

Utilisation de la pipette de transfert

- 1) Appuyer fermement sur le bulbe supérieur (A).
- 2) Plonger l'embout de la pipette (C) dans l'échantillon d'urine et aspirer le liquide en relâchant la pression sur le bulbe supérieur (A) jusqu'à remplir entièrement le tube (C).
- 3) Vérifier que le tube (C) est entièrement rempli. Sa contenance est de 100 µL. Tout volume excédentaire aspiré, sera emprisonné dans le bulbe inférieur (B).
- 4) Déposer le volume d'échantillon dans le *Legionella K-SeT*, en appuyant sur le bulbe supérieur (A) afin de vider tout le contenu du tube (C). Ne pas tenir compte du volume potentiellement restant dans le bulbe inférieur (B). Ne jamais presser le bulbe (B).
- 5) Jeter la pipette de transfert. N'utiliser qu'une seule pipette par échantillon d'urine.

Dernière révision: 20 FEVRIER 2023

REF	Numéro du catalogue		Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limites de température
	Contenu suffisant pour <n> tests	LOT	Code du lot
	Lire la notice d'utilisation		Ne pas réutiliser
	Conserver au sec		Date de péremption
UDI	Identifiant unique des dispositifs	CONT NaN ₃	Contient de l'azote de sodium