

INSTRUCCIONES DE USO



ES

Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA

REF 3Z15051
SM3Z15051

IVD

CE

Rx Only

Σ 96

APLICACIÓN

El Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA es un sistema de prueba basado en ELISA diseñado para la detección cualitativa de anticuerpos totales (IgG/IgM/IgA) contra los serogrupos 1-6 de la *Legionella pneumophila* en suero humano. Esta prueba es para uso diagnóstico in vitro.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

En 1977 los científicos identificaron *L. pneumophila* como el microorganismo causante de la legionelosis (neumonía por *Legionella* o enfermedad del legionario) (1). En la actualidad, hay más de 25 especies y 33 serogrupos pertenecientes a la familia *Legionellaceae*, de las cuales al menos 18 especies se asocian a neumonía y justifican aproximadamente entre el uno y el cinco por ciento de todos los casos de neumonía (2). *L. pneumophila* muestra varias morfologías diferentes, como bacilos, cocobacilos y fusiformes alargados. Aunque suele resultar difícil de llevar a cabo, la coloración de Gram debería ser gram-negativa.

La respuesta de los anticuerpos frente a la *L. pneumophila* puede ser tanto específica como no específica, puesto que el paciente puede tener otros anticuerpos contra antígenos parecidos de otras bacterias gram-negativas. La época óptima para la recolección de muestras parece ser la primera semana de enfermedad, o tan pronto como sea posible una vez que se haya declarado la enfermedad (muestra de paciente agudo), y como mínimo 3 semanas después de que surja la enfermedad (muestra de convaleciente) (3). Mediante el método IFA, un resultado mayor o igual que 1:256 se considera como prueba para presuponer la existencia de infección por legionella. Según varios informes, los títulos de diagnósticos están ausentes en hasta un 25% de los pacientes (4) pero la utilización de diferentes especies de legionella (5,6) como fuente del antígeno y un conjugado polivalente dirigido contra los anticuerpos de tipo IgG, IgM e IgA (7) maximiza la exactitud de los procedimientos serológicos.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA











El Anti-*L. pneumophila* IgG/IgM/IgA está diseñado para detectar anticuerpos contra *L. pneumophila* en suero humano. La creación de los pocillos sensibilizados de las tirillas de micropocillos de plástico se llevó a cabo mediante adsorción pasiva con antígeno de *Legionella*. El procedimiento de la prueba comprende tres pasos de incubación:

1. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de antígeno. Los anticuerpos contra antígeno específico que existan en la muestra se fijarán al antígeno inmovilizado. La placa se lava para eliminar el anticuerpo no fijado y otros componentes séricos.
2. Se agrega anti-IgG/IgA/IgM humana de cabra conjugada con peroxidasa a los pocillos y se incuba la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo inmovilizado en la fase sólida del paso 1. Se lavan los micropocillos para eliminar el conjugado que no haya reaccionado.
3. Los micropocillos que contienen conjugado de peroxidasa inmovilizado se incuban con solución de sustrato de peroxidasa. La hidrólisis del sustrato por la peroxidasa produce un cambio de color. Transcurrido un tiempo, se detiene la reacción y se mide fotométricamente la intensidad del color de la solución. La intensidad del color de la solución depende de la concentración de anticuerpos en la muestra original analizada.

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA:** los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): controles, calibrador y SAVE Diluent®.

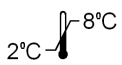
Componente del kit	Cantidad	Descripción
		
	1	Placa: 96 micropocillos distribuidos en doce tirillas de 1x8 micropocillos recubiertos con una preparación de antígenos de <i>L. pneumophila</i> (grupos 1-6) desactivados con calor. Las tirillas se suministran envasadas en un soporte y selladas en un sobre con desecante.
	1	Conjugado: anti-IgG/IgM/IgA humana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano. Vial de 15 ml con tapón blanco. Listo para usar.
	1	Control positivo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón rojo. Concentrado 21X.
	1	Calibrador (suero humano): vial de 0,5 ml con tapón azul. Concentrado 21X.
	1	Control negativo (suero humano): vial de 0,35 ml con tapón verde. Concentrado 21X.
	1	Diluyente SAVe Diluent®: frasco de 30 ml con tapón verde con Tween 20, albúmina sérica bovina y solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. NOTA: El diluyente SAVe Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.
	1	TMB: frasco de 15 ml de color ámbar con tapón ámbar que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para usar.
	1	Solución para detener la reacción: frasco de 15 ml con tapón rojo con H ₂ SO ₄ 1 M y HCl 0,7 M. Listo para usar.
	1	Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Frasco de 100 ml con tapón transparente que contiene solución salina tamponada con fosfato concentrada 10X y Tween 20 (solución azul). NOTA: la solución 1X tendrá un pH de 7,2 ± 0,2.

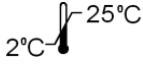
NOTA: Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS: TMB, solución para detener la reacción y tampón de lavado. El diluyente SAVe Diluent® se puede usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas ELISA de ZEUS utilizando el n.º de producto 005CC.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Lector de micropocillos ELISA capaz de leer a una longitud de onda de 450 nm. **NOTA: Se podrá usar un lector de longitud de onda única (450 nm) o doble (450/620 - 650 nm). Es preferible la longitud de onda doble, puesto que el filtro de referencia adicional está configurado para disminuir posibles interferencias derivadas de anomalías capaces de absorber luz.**
- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud entre 50 y 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Frasco de lavado o sistema de lavado de micropocillos.
- Agua destilada o desionizada.
- Probeta graduada de un litro.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipeta desechables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar las etapas de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Tirillas de micropocillos revestidos: vuelva a sellar inmediatamente las tirillas sobrantes con el secante y devuélvalas al lugar adecuado de almacenamiento. Una vez abiertas, las tirillas son estables durante 60 días siempre y cuando las tirillas indicadoras del envase del desecante permanezcan de color azul.
---	---

	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, calibrador, control positivo, control negativo, TMB y diluyente SAVe Diluent® sin abrir
	Solución para detener la reacción: 2 - 25°C Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25°C o durante 30 días entre 2 y 8°C. Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No inhale los vapores. Deshágase de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales.
3. Los micropocillos de la placa ELISA no contienen microorganismos viables. No obstante, considere las tirillas **material con potencial riesgo biológico** y manipúlelas de manera acorde.
4. Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (13).
5. Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. **Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20-25 °C) antes de comenzar el ensayo.** Los reactivos no utilizados deben devolverse a temperatura de refrigeración inmediatamente después de su uso.
6. Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado o el sustrato. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
7. El diluyente SAVe Diluent®, los controles, y el calibrador contienen azida sódica en una concentración de <0,1% (p/v). Se ha descrito la formación de azidas de plomo o cobre a partir de la azida de sodio en tuberías de laboratorio, lo cual puede causar explosiones al martillar las tuberías. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
8. La solución para detener la reacción es TÓXICA por inhalación, por contacto con la piel o en caso de ingestión. Provoca quemaduras. En caso de accidente o si se siente mal, solicite asistencia médica inmediatamente.
9. La solución de TMB es NOCIVA. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
10. La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
11. Limpie el fondo de la placa de todo residuo de líquido o huellas de los dedos que puedan alterar las lecturas de la densidad óptica (DO).
12. La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
13. No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
14. La solución de TMB debe ser incolora o de color amarillo muy claro, verde muy claro o azul muy claro al utilizarla. La contaminación de TMB con el conjugado u otros oxidantes hará que la solución cambie de color prematuramente. No utilice la solución de TMB si tiene un color azul intenso.
15. Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
16. Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
17. La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
18. Los instrumentos de vidrio reutilizables se deben lavar y enjuagar cuidadosamente para eliminar cualquier residuo de detergente.
19. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
20. No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación.
21. Permita que las tirillas de micropocillos y su soporte alcancen la temperatura ambiente antes de abrir el sobre protector, a fin de evitar la condensación en los micropocillos.
22. Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: 10 % de lejía de uso doméstico - 0,5 % de hipoclorito de sodio) Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
23. Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
24. No utilice la placa ELISA si la tirilla indicadora del sobre de desecante ha cambiado de azul a rosado.

25. No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
26. No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recolección de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (8, 9). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
4. Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8 °C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20 °C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del laboratorio individual usar todas las referencias disponibles o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad para su laboratorio (14).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
2. Determine el número de micropocillos necesarios. Calcule seis determinaciones de control o calibrador (un blanco de reactivo, un control negativo, tres calibradores y un control positivo) por serie. En cada prueba se debe analizar un blanco de reactivo. Compruebe que las configuraciones de controles y calibrador sean correctas en los requisitos del programa y del lector. Devuelva las tirillas no usadas a la bolsa resellable con desecante, séllela y devuélvala a su almacenamiento entre 2 y 8 °C.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Blanco	Paciente 3
B	Control negativo	Paciente 4
C	Calibrador	etc.
D	Calibrador	
E	Calibrador	
F	Control positivo	
G	Paciente 1	
H	Paciente 2	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10 µl de suero + 200 µl de diluyente SAVe Diluent®) del control negativo, del calibrador, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: el diluyente SAVe Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.**
4. A cada micropocillo se añaden 100 µl de cada control diluido, calibrador y muestra de paciente. Compruebe que las muestras estén bien mezcladas. Utilice una punta de pipeta diferente para cada muestra.
5. Añada 100 µl de diluyente SAVe Diluent® al micropocillo A1 como blanco de reactivo. Compruebe que la configuración del micropocillo del blanco de reactivo sea correcta en los requisitos del programa y del lector.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
7. Lave las tirillas de micropocillos 5 veces.
 - a. **Procedimiento de lavado manual:**
 1. Agite la placa para eliminar el líquido de todos los micropocillos.
 2. Llene cada micropocillo con solución tampón de lavado. Asegúrese de que no queden burbujas de aire atrapadas en los micropocillos.
 3. Repita los pasos 1. y 2. para un total de 5 lavados.

4. Agite la placa para eliminar la solución de lavado de todos los micropocillos. Invierta la placa sobre una toalla de papel y dele unos golpes secos para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos. Inspeccione visualmente la placa para asegurarse de que no queden residuos de la solución de lavado. Recoja la solución de lavado en un recipiente desechable y trátela con desinfectante al final de la jornada de trabajo.
- b. **Procedimiento de lavado automático:**
Si está utilizando un sistema automático de lavado, ajuste el volumen dispensado en 300-350 µl/micropocillo. Ajuste el ciclo de lavado para 5 lavados, sin interrupción entre los mismos. En caso necesario, se puede extraer la placa de micropocillos del lavador, invertirla sobre una toalla de papel y golpearla con firmeza para eliminar cualquier residuo de solución de lavado de los micropocillos.
8. Agregue 100 µl de conjugado a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
9. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 25 ± 5 minutos.
10. Lave los micropocillos siguiendo el procedimiento descrito en el paso 7.
11. Agregue 100 µl de TMB a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregaron las muestras.
12. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) entre 10 y 15 minutos.
13. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de la solución para detener la reacción a cada micropocillo, incluido el micropocillo del blanco de reactivo, a la misma velocidad y en el mismo orden en que se agregó la TMB. Las muestras positivas cambiarán de azul a amarillo. Después de agregar la solución para detener la reacción, dé unos cuantos golpes secos a la placa para asegurarse de que las muestras estén bien mezcladas.
14. Ajuste la longitud de onda del lector de micropocillos a 450 nm y mida la densidad óptica (DO) de cada micropocillo con respecto al blanco de reactivo. Lea la placa en los 30 minutos posteriores a la adición de la solución para detener la reacción.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA ABREVIADO

1. Diluya el suero 1:21.
2. Añada la muestra diluida al micropocillo - 100 µl/micropocillo.
3. \longrightarrow *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
4. Lave.
5. Añada el conjugado - 100 µl/micropocillo.
6. \longrightarrow *Incube durante 25 ± 5 minutos.*
7. Lave.
8. Añada la TMB - 100 µl/micropocillo.
9. \longrightarrow *Incube durante 10 - 15 minutos.*
10. Añada la solución para detener la reacción - 50 µl/micropocillo - Mezcle.
11. LEA en el transcurso de 30 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. El calibrador se debe analizar por triplicado cada vez que se realiza esta prueba. También se deben incluir un blanco de reactivo, el control negativo y el control positivo.
2. Calcule la media de los micropocillos de los tres calibradores. Si alguno de los tres valores difiere de la media más del 15%, deséchelo y calcule la media de los dos valores restantes.
3. El valor medio de la DO del calibrador, del control negativo y del control positivo deben quedar dentro de los intervalos siguientes:

Intervalo de DO

Control negativo	≤ 0,250
Calibrador	≥ 0,300
Control positivo	≥ 0,500

- a. El valor de la DO para el control negativo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≤ 0,9.
- b. El valor de la DO para el control positivo dividido entre la media de la DO del calibrador debe ser ≥ 1,25.
- c. Si no se cumplen las condiciones anteriores, la prueba no se debe considerar válida y se debe repetir.
4. Los controles negativo y positivo sirven para verificar fallos sustanciales de los reactivos, pero no aseguran la precisión en el límite de referencia de la prueba.
5. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas.

6. Consulte el documento C24 del CLSI: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Control de calidad estadístico para procedimientos de determinación cuantitativa) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Cálculos

- a. *Factor de corrección*: El fabricante ha determinado un valor de DO como límite de referencia para las muestras positivas y lo ha correlacionado con el calibrador. El factor de corrección (FC) permite calcular el límite de referencia de las muestras positivas. Asimismo, permite corregir las pequeñas variaciones cotidianas de los resultados de las pruebas. El factor de corrección se determina para cada lote de componentes del kit y está impreso en la etiqueta de componentes que se encuentra en la caja del sistema de pruebas.
- b. *Límite de referencia de la DO*: Para obtener el límite de referencia de la DO, multiplique el FC por la media de la DO del calibrador determinado anteriormente.
($FC \times \text{media de DO del calibrador} = \text{límite de referencia de la DO}$)
- c. *Valores índice/cocientes de DO*: Calcule el valor índice/cociente de DO de cada muestra dividiendo su valor de DO por el límite de referencia de la DO del paso b.

Ejemplo: DO media del calibrador	=	0,793
Factor de corrección (FC)	=	0,25
Límite de referencia de la DO	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
DO de muestra desconocida	=	0,432
Valor índice/cociente de DO de la muestra	=	$0,432/0,198 = 2,18$

2. **Interpretaciones:** Los valores índice/cocientes de DO se interpretan como se indica a continuación:

	Valor índice/cociente de DO
Muestras negativas	$\leq 0,90$
Muestras dudosas	0,91 a 1,09
Muestras positivas	$\geq 1,10$

- a. Un cociente de DO $\leq 0,90$ indica que no se ha detectado una cantidad significativa de anticuerpos de tipo IgG/IgM/IgA contra *L. pneumophila*. Un resultado no reactivo puede ser equivalente a un título $< 1:256$ mediante IFA. Un resultado negativo no excluye la infección por Legionella.
- b. Un cociente de DO $\geq 1,10$ indica que se han detectado anticuerpos IgG/IgM/IgA específicos contra *L. pneumophila*, y sugiere que ha existido infección por Legionella en algún momento y puede ser equivalente a un título $> 1:256$ mediante IFA. Pueden ser necesarios otros procedimientos de laboratorio u otros datos clínicos para establecer un diagnóstico.
- c. Las muestras con cociente de DO en el margen de resultado dudoso (0,91-1,09) deberán volver a analizarse por duplicado. Documente cualesquiera dos de los tres resultados que concuerden. Repita la evaluación de las muestras dudosas utilizando un método serológico alternativo y/o repita la evaluación extrayendo otra muestra entre una y tres semanas más tarde.

NOTA: La magnitud del resultado medido por encima del límite de referencia no es indicativo de la cantidad total de anticuerpos presente y no puede correlacionarse con títulos de procedimiento IFA.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

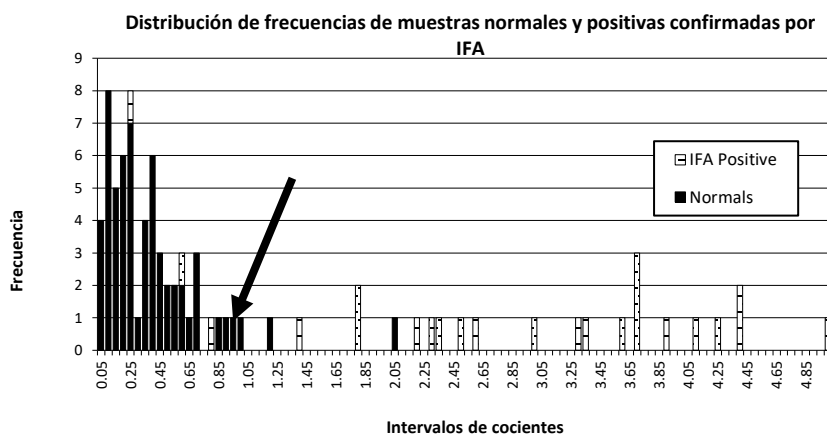
- No se debe emitir un diagnóstico que se base exclusivamente en los resultados de la prueba anti-Legionella. Los médicos deben interpretar los resultados de la prueba anti-Legionella de forma conjunta con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos de diagnóstico.
- Un resultado positivo sugiere la infección con una o varias especies de los grupos 1-6; no obstante, no es posible distinguir entre las diferentes especies exclusivamente mediante esta prueba ELISA.
- Evite el uso de muestras hemolíticas, lipémicas, contaminadas con bacterias o inactivadas por el calor. Esto puede ocasionar resultados erróneos.
- Puede producirse reactividad cruzada en sueros infectados con otras especies de Legionella.
- Un resultado negativo no descarta completamente la posibilidad de infección por Legionella. Las muestras de suero tomadas demasiado temprano en la evolución de la infección pueden no contar aún con títulos de anticuerpos significativos. Algunos casos positivos de Legionella en cultivos no desarrollan anticuerpos contra la Legionella (12).
- Los resultados positivos pueden deberse a la reactividad cruzada con anticuerpos generados por otra infección que no sea la Legionella. Existen informes de reactividad cruzada con *P. aeruginosa*, varias especies de Rickettsia, *Coxiella burnetii*, bastoncillos entéricos gram-negativos, especies de *Bacteroides*, especies de *Hemophilus*, *Citrobacter freundii* y *Campylobacter jejuni* (10). Por

este motivo, un resultado positivo no indica por sí solo la existencia de infección por Legionella. Además, algunos informes (11) indican que determinados individuos aparentemente saludables pueden ser portadores de anticuerpos contra los diferentes tipos de Legionella; no obstante, un resultado positivo acompañado de indicios y síntomas clínicos puede indicar una posible infección por Legionella. Es posible que para establecer un diagnóstico sean necesarias otras pruebas serológicas adicionales, como análisis por pares mediante IFA, u otras pruebas clínicas como la detección directa del antígeno y los cultivos.

7. Las características de funcionamiento del ensayo no se han establecido para otras matrices que no sean suero.
8. No se ha determinado la afinidad ni la avidéz del conjugado anti-IgG/IgM/IgA.
9. Aunque el conjugado está diseñado para detectar anticuerpos humanos de tipo IgG, IgM y/o IgA, el ensayo no permite determinar cuál de los anticuerpos está presente.
10. Una terapia antibiótica temprana puede suprimir la respuesta de los anticuerpos y algunos individuos pueden no desarrollar anticuerpos por encima de unos límites detectables.
11. Un solo resultado positivo indica únicamente una exposición inmunológica anterior. No use el nivel de respuesta de los anticuerpos para determinar la existencia de una infección activa.
12. No se ha establecido la utilización de los serogrupos 1-6 para evaluar la respuesta de los anticuerpos ante diferentes especies de Legionella y de serogrupos. Determinados pacientes infectados pueden no tener niveles de anticuerpos detectables con este ensayo. Es posible que sean necesarias entre cuatro y ocho semanas para detectar una respuesta de los anticuerpos, y los niveles de éstos pueden reducirse a niveles indetectables al mes de la infección.

RESULTADOS ESPERADOS

Algunos investigadores han informado de la existencia de niveles elevados de incidencia de respuesta de los anticuerpos, entre el 1 y el 3%, en preparaciones de antígenos fijados con formol y en una población normal (11). En una evaluación de sueros de 60 donantes normales realizada en nuestros laboratorios, una muestra ofreció resultados dudosos (1,7%), dos muestras fueron positivas (3,3%) y las muestras restantes (57/60 ó 95%) fueron negativas. A continuación, se muestra la distribución de frecuencias de los resultados de un grupo de 60 muestras de donantes normales y 24 muestras positivas confirmadas por IFA.



CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

1. Estudios comparativos

Se ha realizado un estudio comparativo para demostrar la equivalencia sustancial del Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA con otro sistema de pruebas ELISA comercial y con un sistema de pruebas IFA Legionella. Se ha evaluado el funcionamiento del Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA en una investigación clínica desarrollada en tres laboratorios. Un laboratorio clínico comparó el funcionamiento del Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA con otro sistema de pruebas ELISA comercial. En un segundo laboratorio clínico se comparó el Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA con el sistema de pruebas IFA Legionella de ZEUS. En un tercer laboratorio clínico se comparó el Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA con un sistema de pruebas IFA Legionella comercial. En el estudio se analizaron un total de 240 muestras. Las muestras clínicas analizadas en los laboratorios uno y dos incluían principalmente muestras rutinarias que se enviaron a un laboratorio de referencia en el nordeste de EE.UU. para análisis serológico normal de Legionella. Se incluyeron algunas muestras de repositorio que se habían analizado anteriormente y que dieron resultados positivos para el anticuerpo contra la Legionella. Las muestras analizadas en el tercer laboratorio clínico incluían 22 muestras por pares (de pacientes agudos y de convalecientes) de casos confirmados de infección por Legionella. Las Tablas 1, 2 y 3 muestran un resumen de las investigaciones comparativas. Las muestras con resultados dudosos se excluyeron del análisis.

Tabla 1: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia; laboratorio uno

		Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			
		Positivo	Negativo	Dudoso	Total
Sistema de pruebas ELISA comercial	Positivo	12	1	2	15
	Negativo	5	67	10	82
	Dudoso	11	0	1	12
	Total	28	68	13	109

Sensibilidad relativa = $12/13 = 92,3\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 77,8 a 100%)

Especificidad relativa = $67/72 = 93,1\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 87,2 a 98,9%)

Concordancia relativa = $79/85 = 92,9\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 85,7 a 98,4%)

* Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método exacto.

Tabla 2: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia; laboratorio dos

		Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			
		Negativo	Dudoso	Positivo	Total
Sistema de pruebas IFA Legionella de ZEUS	< 1:128	56	2	7	65
	1:128	0	1	4	5
	≥1:256	1	0	16	17
	Total	57	3	27	87

Sensibilidad relativa = $16/17 = 94,1\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 82,9 a 100%)

Especificidad relativa = $56/63 = 88,9\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 81,1 a 96,6%)

Concordancia relativa = $72/80 = 90,0\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 83,4 a 96,6%)

* Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método exacto.

Tabla 3: Cálculo de sensibilidad relativa, especificidad y concordancia: laboratorio tres del estudio (Resultados individuales para pruebas de muestras de pacientes agudos y convalecientes)

		Anti-L. pneumophila IgG/IgM/IgA			
		Negativo	Dudoso	Positivo	Total
Sistema de pruebas Legionella IFA comercial	<1:128	16	0	1	17
	1:128	3	1	1	5
	≥1:256	3	0	19	22
	Total	22	1	21	44

Sensibilidad relativa = $19/22 = 86,4\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 72 a 100%)

Especificidad relativa = $16/17 = 94,1\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 89,2 a 100%)

Concordancia relativa = $35/39 = 89,7\%$ (Intervalo de confianza de 95%* = de 80,2 a 99,2%)

* Los intervalos de confianza de 95% se calcularon según el método exacto.

En lo que respecta a la Tabla 3, de los 22 pares de muestras de pacientes agudos y convalecientes, 17/22 fueron negativos en los agudos y positivos en los convalecientes, mediante pruebas ELISA. De los cinco pares restantes, 3/22 fueron negativos tanto en los pacientes agudos como para los convalecientes, y 2/22 fueron positivos tanto en los pacientes agudos como en los convalecientes. **NOTA:** Tenga en cuenta que el término relativo se refiere a la comparación de los resultados de este ensayo con los de un ensayo similar. No se ha intentado correlacionar los resultados de ninguno de los ensayos con la ausencia o la presencia de enfermedad.

2. Precisión y reproducibilidad:

Se evaluaron seis muestras para demostrar la reproducibilidad de los resultados de los ensayos dentro de un mismo laboratorio: dos muestras con un título de IFA < 1:128, dos con un título de IFA 1:512, y dos con un título de IFA 1:1024. Se preparó un total de cinco viales para cada muestra, lo que supone un total de 30 viales. Los 30 viales se ordenaron aleatoriamente y se numeraron del 1 al 30. El panel se analizó en nuestros laboratorios y en otros dos. El estudio demostró una excelente reproducibilidad dentro de un mismo laboratorio, con una concordancia del 100% entre los tres laboratorios. La precisión se evaluó según se describe en el documento del CLSI/NCCLS número EP5-T2: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices – Second Edition (Evaluación de la precisión funcional de los dispositivos químicos clínicos – Segunda edición). Los estudios de reproducibilidad se llevaron a cabo en los dos laboratorios clínicos y se utilizaron las mismas ocho muestras: dos relativamente fuertes para positivo, dos cercanas al límite de referencia y otras dos que eran claramente negativas; además, se incluyeron los controles negativo y positivo del kit. Durante cada día de las pruebas, cada una de estas ocho muestras se sometió a ensayo por duplicado y el ensayo se realizó dos veces; una vez por la mañana y otra por la tarde, lo que supone un total de cuatro duplicados diarios para cada muestra. Este estudio de reproducibilidad se llevó a cabo durante un periodo de veinte días, con un total de 80 observaciones para cada uno de los ocho componentes del panel. La Tabla 4 que aparece a continuación resume los datos:

Tabla 4: Resumen de pruebas de precisión realizadas en los laboratorios uno y dos

Muestra	Laboratorio	Cociente medio	Resultado	DEA*	DET**	Días	Observaciones totales	% CV global
L-1	1	2,264	Positivo	0,204	0,249	19	76	10,99
	2	2,517		0,138	0,438	19	76	17,42
L-2	1	2,277	Positivo	0,101	0,209	18	72	9,20
	2	2,435		0,123	0,357	20	80	14,67
L-3	1	0,479	Negativo	0,024	0,040	18	72	8,45
	2	0,245		0,023	0,049	20	80	19,91
L-4	1	0,281	Negativo	0,013	0,032	19	76	11,24
	2	0,077		0,020	0,027	20	80	35,33
L-5	1	1,055	Cerca del límite	0,081	0,199	19	76	11,32
	2	0,757		0,049	0,091	20	80	12,07
L-6	1	0,845	Cerca del límite	0,033	0,079	19	76	9,36
	2	0,606		0,060	0,095	20	80	15,72
Control positivo	1	6,414	Positivo	0,114	0,297	20	80	4,64
Control negativo	1	0,270	Negativo	0,019	0,033	20	80	12,14

*Estimación puntual de la desviación estándar de la precisión dentro de un mismo ensayo.

**Estimación puntual de la desviación estándar de la precisión total.










NOTA: los resultados de reproducibilidad ilustrados en la Tabla 4 se presentan solamente como ejemplo de los resultados obtenidos durante el estudio clínico, en condiciones ideales en lo que respecta a entorno, equipamiento y técnica. Cada laboratorio deberá evaluar la reproducibilidad, y puede variar en función de las condiciones del laboratorio.

REFERENCIAS

1. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR, and the Laboratory Investigation Team: Legionnaires' disease. Isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N. Engl. J. Med. 297:1197-1203, 1977.
 2. Tilton RC, Balows A, Hohnadel DC, and Reiss RF, Editors: Lower respiratory tract specimens. IN: Clinical Laboratory Medicine, Mosby Year Book, Inc., St. Louis, MO. pp 591-603, 1992.
 3. Wilkinson HW: Manual of Clinical Immunology - Second Edition: Immune Response to *Legionella pneumophila*. Rose NR, Friedman H, editors. pp 500-503 (1980). Cumitech 15, American Society for Microbiology, Washington, DC.
 4. Harrison TG, Taylor AG: Timing of seroconversion in legionnaires' Disease. Lancet (2):795, 1988.
 5. Wilkinson HW, Reingold AL, Brake BJ, McGiboney DL, Gorman GW, Broome CV: Reactivity of serum from patients with suspected Legionellosis against 29 antigens of legionellaceae and Legionella-like organisms by indirect immunofluorescent assay. J. Infect. Dis. 147:23-31, 1983.
 6. McIntyre M, Kurtz JB, Selkon JB: Prevalence of antibodies to 15 antigens of legionellaceae in patients with community-acquired pneumonia. Epidemiol. Infect. 104:39-45, 1990.
 7. Wilkinson HW, Farshy CE, Fikes BJ, Cruce DD, Yealy LP: Measure of immunoglobulin G-, M-, and A-specific titers against *L. pneumophila* and inhibition of titers against non-specific, gram negative bacterial antigens in the indirect immunofluorescent test for legionellosis. J. Clin. Microbiol. 10: 685-689, 1979.
 8. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
 9. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
 10. Edelstein P: Laboratory Diagnosis of Legionnaires Disease; an Update from 1984, pp 7-11. In: Legionella, Current Status and Emerging Perspectives. Barbaree J, *et al*, editors. Published by American Society for Microbiology, 1993.
 11. Paszko-Kolva C, Shahamat M, Keiser J, and Colwell R: Prevalence of Antibodies Against Legionella Species in Healthy and Patient Populations, pp 24-26. In: Legionella, Current Status and Emerging Perspectives. Barbaree J, *et al*, editors. Published by American Society for Microbiology, 1993.
 12. Bangsborg J, *et al*: The *E. coli* Immunosorbent as used in serodiagnosis of legionella infections studied by crossed immunoelectrophoresis. A PMIL 96:177-184, 1988.
 13. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
- Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines - 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos pueden haber sido utilizados en el etiquetado de este producto.

Símbolo	Descripción	Símbolo	Descripción
	Fabricante		Mantener alejado de la luz solar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	PLATE	Placa
REF	Número de catálogo	CONJ	Conjugado
Σ_n	Suficiente para n pruebas	CTRL +	Control positivo
LOT	Código de lote	CTRL -	Control negativo
	Usar antes de	CAL	Calibrador
	Limitaciones de temperatura de almacenamiento	DIL SPE	Diluyente de la muestra
CONT	Contenido	SOLN TMB	TMB
UDI	Identificador único de dispositivo	SOLN STOP	Solución de detención
	Consulte las advertencias y precauciones	WASH 10X	Solución amortiguadora de lavado (10X)
	Consulte las instrucciones electrónicas de uso	ES	Español
	Guardar en posición vertical	Made in the USA	Fabricado en EE. UU.
RX Only	Aplicable en Estados Unidos: Producto de diagnóstico in vitro de prescripción		Corrosivo
	Comunicación de riesgos	EC REP	Representante autorizado de la Comisión Europea
CE	Conformidad con la Directiva 98/79		



ZEUS Scientific

200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
 Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2
 International: +1 908-526-3744
 Fax: +1 908-526-2058
 Website: www.zeusscientific.com



EMERGO EUROPE
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands

Para atención al cliente en EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Para soporte técnico en EE. UU., póngase en contacto con ZEUS Scientific, llame al número gratuito o envíe un correo electrónico a support@zeusscientific.com.

Para consultas de atención al cliente y soporte técnico fuera de EE. UU., póngase en contacto con su filial o distribuidor autorizado de Sebia.

©2025 ZEUS Scientific. Todos los derechos reservados.