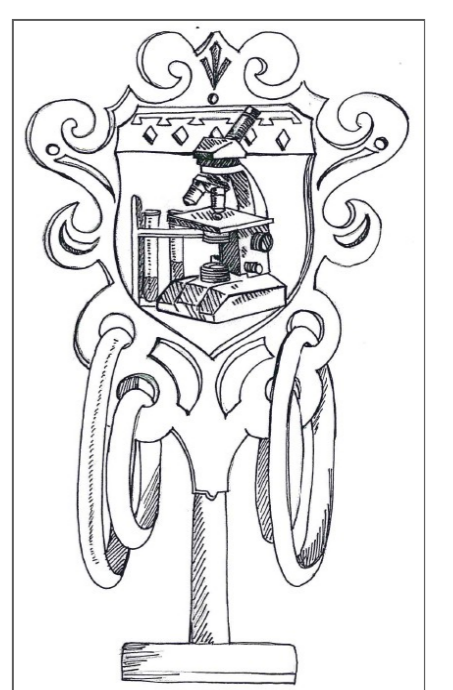




VALUTAZIONE DI UN NUOVO TEST STANDARD™ F LEGIONELLA AG FIA (SD BIOSENSOR) PER LA RILEVAZIONE QUALITATIVA DELL'AG URINARIO DI LEGIONELLA PNEUMOPHILA SIEROTIPO I



F. Congestrì, M. Morotti, R. Vicari, M.F. Pedna, M. Sparacino, A. Torri, S. Bertini, V. Sambri

U.O. Microbiologia, Centro Servizi Laboratorio Unico Area Vasta Romagna P.le Liberazione 60 Pievesestina di Cesena (FC)

INTRODUZIONE E SCOPO

La malattia dei legionari (LD) è una polmonite acuta causata da Legionella spp. Il quadro clinico e i segni radiologici non sono così caratteristici da distinguerla da altre polmoniti batteriche e inoltre la terapia antibiotica cambia radicalmente in base all'agente eziologico. Gli antibiotici beta-lattamici o cefalosporine utilizzate solitamente per una polmonite acquisita in comunità sono del tutto inefficaci in caso di polmonite da *L. pneumophila*. Pertanto una rapida diagnosi di laboratorio è di fondamentale importanza. La rilevazione dell'Ag urinario di *L. pneumophila* (LUA) è ampiamente utilizzata per la diagnosi di LD perchè è un test di facile esecuzione, economico, rapido e la raccolta del campione non è invasiva. L'obiettivo primario dello studio è stato quello di valutare sensibilità e specificità paragonando il test in esame con quello in uso presso il nostro laboratorio (test di riferimento)(Quidel Sofia Legionella FIA). L'obiettivo secondario invece è di stabilire il tasso di concordanza (valore K) tra il test SD BIOSENSOR e Alere BinaxNOW LUA Care utilizzato come "comparative device".

MATERIALI E METODI

Sono stati esaminati 261 campioni di urina (di cui 79 congelati) pervenuti presso il nostro laboratorio per la ricerca dell'Ag urinario di Legionella da Dicembre 2016 ad Agosto 2018. Tutti i campioni appartengono a pazienti con sospetto clinico di polmonite. I tre saggi sono stati eseguiti simultaneamente seguendo le indicazioni dei fornitori. Per aumentare la specificità, ogni volta che il test Sofia produce un risultato positivo, questo deve essere confermato ripetendo test previa bollitura dell'urina. Quidel Sofia Legionella FIA, così come Legionella Ag FIA (SD BIOSENSOR) è un test a flusso laterale basato su immunofluorescenza e lettura automatizzata. Al fine di aumentare la specificità, come indicato dal fornitore, ogni volta che Sofia produce un risultato positivo, questo deve essere confermato ripetendo il test previa bollitura dell'urina. Il passaggio della bollitura non è invece previsto dal saggio Legionella SD BIOSENSOR, caratteristica che rende quest'ultimo saggio di più facile utilizzo rispetto al test Legionella Sofia.

BinaxNOW Legionella invece è un test immunocromatografico a flusso laterale a lettura manuale o strumentale largamente utilizzato. Per tentare di risolvere le discordanze tra le diverse metodiche ci siamo avvalsi del trattamento termico (100°C per 5 min) per eliminare eventuali aspecificità e della concentrazione (15 min a 1000 rpm) per aumentare la sensibilità.



RISULTATI

Dall'analisi dei campioni di urina abbiamo ottenuto 178 risultati negativi, 74 positivi e 9 discrepanti. 8 di questi discrepanti erano Sofia/SD Biosensor positivi, ma Binax negativi. Concentrando e ritestando gli 8 campioni, 5 di questi da Alere negativi sono diventati Alere positivi. Ciò suggerisce una verosimile più alta sensibilità di STANDARD F nei confronti di Alere. Per altri 3 discrepanti rimanenti questa conversione in positivo non è avvenuta. L'ultimo campione discrepante aveva il seguente pattern: SD Biosensor positivo (COI: 4.52), ma Sofia e Alere negativi. E' stato risolto chiedendo un altro campione che dopo 3 giorni si è rilevato essere positivo per tutti e 3 le metodiche (SD Biosensor COI: 9.23). La specificità e sensibilità di STANDARD F paragonati a Sofia sono rispettivamente del 99.40% e 98.77%. Il coefficiente Kappa di Cohen e la % di concordanza di STANDARD F calcolato su Alere Binax Legionella dopo aver risolto le discrepanze (previa concentrazione) sono rispettivamente di 0,973 e di 98,85%.

Urine intere		Legionella Ag FIA (SD Biosensor)	
		positive	negative
Reference test	Sofia Legionella (Quidel) positive	80	1
	negative	1	179

Urine dei campioni discrepanti concentrate		Legionella Ag FIA (SD Biosensor)	
		positive	negative
Comparative device	BinaxNOW Legionella (Alere) positive	79	0
	negative	3	179

Sensibilità: **98.8%**
Specificità: **99.4%**

Tasso di concordanza - K value: **0.97**
(Un buon grado di concordanza prevede un K value > 0.6)
Overall agreement: **98,85%**

CONCLUSIONI

Il test STANDARD F Legionella si è dimostrato essere un ottimo ausilio per la ricerca qualitativa del LUA. Uno dei punti di forza del test è l'aver eliminato la soggettività associata all'operatore durante la lettura e la possibilità di interfacciare lo strumento al sistema LIS eliminando così possibili errori di trascrizione. A differenza del test Sofia non è necessario sottoporre l'urina a bollitura (operazione che con il test Sofia avviene in circa per il 10% dei campioni). Un'altra caratteristica interessante del test STANDARD F è la presenza di uno score denominato COI. Tale coefficiente aumenta proporzionalmente all'aumentare dell'antigene urinario e quando è ≥ 1 il test è positivo. Il COI potrebbe essere un importante strumento nella diagnostica del LUA.