

Instructions for use/
Instrucciones de uso

IMMUVIEW®

S. pneumoniae and *L. pneumophila*
Urinary Antigen Test

para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*
Prueba de detección de antígenos
en orina

EN/ES

Combined lateral flow test for qualitative detection of
S. pneumoniae and *L. pneumophila* antigens in urine
and *S. pneumoniae* in cerebrospinal fluid

Prueba combinada de flujo lateral para la detección cualitativa
de antígenos de *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* en orina y
de *S. pneumoniae* en líquido cefalorraquídeo



IMMUVIEW® *S. PNEUMONIAE* AND *L. PNEUMOPHILA* URINARY ANTIGEN TEST

For *in vitro* diagnostic use

Intended use

1. The ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is an *in vitro* rapid lateral flow test, also known as a lateral flow immunochromatographic assay. The assay is intended for qualitative detection of *Streptococcus (S.) pneumoniae* and *Legionella (L.) pneumophila* antigens in urine specimens from patients with symptoms of pneumonia. The ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test can be read visually or used in conjunction with the ImmuView® reader.

The assay is intended to aid in diagnosis of *S. pneumoniae* and of *L. pneumophila* serogroup 1 infections. The assay is further intended to aid in the diagnosis of *S. pneumoniae* infections by detection of *S. pneumoniae* antigen in cerebrospinal fluid (CSF). Results from the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test should be interpreted in conjunction with the patient's clinical evaluation and other diagnostic methods.

Description

ImmuView *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is a rapid lateral flow test for qualitative detection of *S. pneumoniae* in human urine and CSF samples, and *L. pneumophila* (primarily serogroup 1) antigens in human urine samples. The test is effective in presumptive diagnosis of pneumococcal pneumonia caused by *S. pneumoniae* or *Legionella* pneumonia (Legionnaires' disease) caused by *L. pneumophila*, in conjunction with culture and other

methods. Correct and early treatment is vital for the prognosis of both diseases and therefore quick methods to confirm both diseases in the initial phase are very important in order to initiate the proper treatment as soon as possible. ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is for use by laboratory professionals and/or healthcare professionals only.

Principle

ImmuView *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is a rapid lateral flow test for detection of *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* using the same test.

Precautions

- Ensure that the running buffer is added to all the test tubes. False positive results can occur if no running buffer is added to the test tubes.
- The presence of partial lines and dots represents invalid test results. The patient sample should be re-tested.
- Test results should be read within the recommended reading time.
- Let the kit components equilibrate to room temperature before testing.
- Three grey/purple lines indicate plasma/protein present in the urine. The sample should be boiled for 5 minutes before retesting the sample.
- The intensity of a test line is not related to the antigen level in the sample.

- Do not mix the components of the specific kit lot with components from other kits.
- Do not use the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test after the expiry date.
- Inspect the tests and vials before use to ensure they are intact. Any damaged vials/tests should be discarded.
- Thioglycolate as a preservative can result in a cross-reaction, potentially causing false positive *S. pneumoniae* results.

Materials provided

- 2. • 1 tube with 22 tests
- 4. • 0.5 mL combined positive control for *S. pneumoniae* and *L. pneumophila*
- 0.5 mL combined negative control for *S. pneumoniae* and *L. pneumophila*
- 2.5 mL running buffer
- 1 tweezer
- 22 transfer pipettes
- 22 test tubes
- 1 cardboard test tube holder
- 1 scorecard

Quick guide can be found on the inside of the box and on page 9.

Materials required but not provided

- Timer
- Sterile standard urine or CSF collection containers/transport tubes

Storage and stability

Please find the information on the box and labels. This product does not require any additional storage conditions. Do not freeze the product.

Preservatives

The use of boric acid or piperazine-N,N'-bis (2-ethanesulfonic acid) (PIPES) do not interfere with the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test.

Sample collection and storage

Collect the urine sample in a sterile standard container (with or without boric acid preservative). If the sample is run within 24 hours, it can be stored at room temperature. Alternatively, the sample can be stored at 2-8 °C for 1 week or frozen at -20 °C (avoid multiple freeze/thaw cycles). Make sure that samples always reach room temperature before testing. CSF samples should be tested as soon as possible after sampling or be stored frozen until testing is possible. Follow your laboratory procedures for long term storage of CSF samples.

Quality control

The positive and negative controls provided with ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test function as the kit quality control.

The positive and negative controls should follow the same procedure as if they were urine or CSF samples. The positive control should be visible at the control test line and both the *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* test lines. The negative control should only be visible at the control line.

Before use check the vials to ensure there is no damage and/or leak. In case of damage or leak discard the vial.

Before using a new lot of a kit, or a new shipment of the same lot, or if the test is performed by a new operator, please perform quality control testing before testing clinical samples. Follow your local or state requirements for frequency of quality control testing.

Procedure

1. Bring the patient urine or CSF sample to room temperature. Whirl sample prior to testing.*
2. Apply a test tube in the cardboard holder.
3. Fill the transfer pipette with urine or CSF and add 3 drops (120 μ L) of sample to the test tube (hold the pipette vertically).
4. Add 2 drops (90 μ L) of running buffer to the test tube (hold the buffer bottle vertically).
5. Whirl the test tube gently.
6. Take the container with tests, open it and take out the number of tests needed, and close it firmly afterwards.
7. Insert the test into the test tube.
3. 8. Wait 15 minutes.
9. Lift the test out of the test tube. Read the result within 5 minutes.**
10. Discard the test after interpretation of the result.

* If the urine sample contains visible blood, please confirm a positive result by boiling^{1,2} the sample at ≥ 95 °C for 5 minutes (e.g. heating block) and retest.

** Otherwise, the test result may be inaccurate.

Quick guide

Sample addition



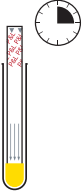
3 drops
(120 µL)

**Add running buffer
and whirl gently**



2 drops
(90 µL)

**Add test and wait
15 minutes**



Result interpretation

1



A
B
C

Legionella and
S. pneumoniae
positive

2



A
B
C

Legionella
positive

3



A
B
C

S. pneumoniae
positive

4



A
B*
C*

Legionella and
S. pneumoniae
positive*

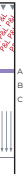
5



A
B
C

Three grey/purple
lines - boil
and retest

6



A
B
C

Negative

*** Look closely.**
The intensity of the lines B and C may vary from very clear to faint.

Invalid test

7



A
B
C

No control -
retest sample

8



A
B
C

No control -
retest sample

9



A
B
C

Incomplete line -
retest sample

Interpretation of results

The control line in the top of the test will appear purple/grey but can also be more blue or red depending on whether the sample is positive for either *S. pneumoniae* or *L. pneumophila*.

A positive sample for *S. pneumoniae* and *L. pneumophila*:

A pink/red line for *S. pneumoniae* and a blue line for *L. pneumophila* and a purple/grey control line (see test results number 1 and/or number 4, page 9).

A positive sample for *L. pneumophila*:

A blue line and a purple/grey control line at the top of the test (see test result 2, page 9). A positive result for *L. pneumophila* in CSF should be investigated further, if repeatedly positive for *Legionella*.

A positive sample for *S. pneumoniae*:

A pink/red line and a purple/grey control line at the top of the test (see test result 3, page 9).

Look closely. Even if there is a very faint line for either *Legionella* or *S. pneumoniae* or both, the test result is positive (see test result number 4, page 9). The enclosed “Scorecard” can help to determine if the test result is positive or negative.

Note: Three grey/purple test lines do not indicate a positive result (see test result number 5, page 9). There can be colour differences between line A (the control line) and B/C (*S. pneumoniae*/*L. pneumophila*). If line B and C are the same colour, boil for approximately five (5) minutes and retest. Remember to let the urine sample cool down to room temperature before retesting the sample.^{1,2}

Boiling can also be used for confirmation of a positive result as *Legionella* and *S. pneumoniae* antigens are heat stable.

A negative sample:

A purple/grey control line at the top of the test (see test result 6, page 9).

Invalid sample

If no control line is observed the test is invalid and the sample should be retested (see test results number 7 and 8, page 9).

Only a full line indicates a positive result - dots and half lines do not indicate a positive result (see test result number 9, page 9).

Disposal

Follow local procedures and/or guidelines from national authorities for disposal of biological materials.

Limitations

- ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test has not been validated to be used with urine samples from children under 8 years.
- ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test has been validated using urine and CSF specimens only. Other specimens (e.g. serum, plasma or other body fluids) have not been evaluated and should not be used.

- The ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is only validated for *S. pneumoniae* detection in CSF samples. A positive result for *L. pneumophila* in CSF should be investigated further.
- A negative result for the *Legionella* line does not exclude the possibility of a *Legionella* infection, as it can be caused by other serogroups and *Legionella* species. There is no single satisfactory laboratory test for Legionnaires' disease. Therefore, culture results, PCR, serology, and/or antigen detection methods should be used in conjunction with clinical findings to make an accurate diagnosis.
- A negative result for the *S. pneumoniae* line does not exclude an *S. pneumoniae* infection. The result of this test as well as culture, serology or other antigen detection methods should be used in conjunction with clinical findings to make an accurate diagnosis.
- *S. pneumoniae* vaccine may cause false positive results up to 10 days after vaccination.
- Administration of antibiotics might influence the test results for *S. pneumoniae*.
- False results may occur from highly basic ($\text{pH} \geq 9$) urine and give false positive *S. pneumoniae* results.
- High levels ($\geq 5\%$) of water-based personal lubricant might result in false positive or grey *L. pneumophila* lines.

Clinical sensitivity and specificity for urine samples

(Retrospective study)

The clinical sensitivity of the *S. pneumoniae* test line was obtained by testing retrospective urine samples from patients with a blood culture positive sample for *S. pneumoniae*.

The clinical sensitivity of the *L. pneumophila* test line was obtained by testing retrospective urine samples from patients with a confirmed Legionnaires' disease according to the ECDC criteria.³

The clinical specificity of the *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* test lines was obtained by testing urine samples from patients with urinary tract infections and blood culture negative samples.³

No cross-reaction between *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* serogroup 1 urine samples was detected. Sensitivity values were calculated using a two-sided Wilson 95% confidence interval.

ImmuView®	Sensitivity
<i>S. pneumoniae</i>	85% (60/71 CI: 74-91%)
<i>L. pneumophila</i>	89% (88/99 CI: 81-94%)
Comparator	Sensitivity
<i>S. pneumoniae</i>	77% (55/71 CI: 66-86%)
<i>L. pneumophila</i>	72% (71/99 CI: 62-80%)

ImmuView®	Specificity
<i>S. pneumoniae</i>	99% (75/76 CI: 93-100%)
<i>L. pneumophila</i>	100% (76/76 CI: 95-100%)
Comparator	Specificity
<i>S. pneumoniae</i>	100% (76/76 CI: 95-100%)
<i>L. pneumophila</i>	100% (76/76 CI: 95-100%)

Positive agreement with another urinary antigen test

S. pneumoniae positive agreement was made in a sample population containing blood culture positive samples. *L. pneumophila* positive agreement was made in a sample population containing culture and/or PCR positive samples. The positive agreement was calculated in accordance with a two-sided Wilson confidence interval 95%.

<i>S. pneumoniae</i> blood culture positive samples		<u>Comparator</u>		
		Positive	Negative	Total
ImmuView®	Positive	58	5	63
	Negative	2	11	13
Total		60	16	76
Positive agreement		97% (CL: 89-99%)		

<i>L. pneumophila</i> culture and/or PCR positive		<u>Comparator</u>		
		Positive	Negative	Total
ImmuView®	Positive	64	10	74
	Negative	1	8	9
Total		65	18	83
Positive agreement		98% (CL: 92-100%)		

Negative agreement with another urinary antigen test

S. pneumoniae negative agreement was made in a sample population containing non-pneumococcal cases (n = 90 bacteremic samples and n = 6 non-bacteremic). *L. pneumophila* negative agreement was made in a sample population pre-screened with urinary antigen EIA. All samples included in the pool showed a negative result when using the comparator (urinary antigen EIA).

96 non-pneumococcal cases		Comparator		
		Positive	Negative	Total
ImmuView®	Positive	3	0	3
	Negative	0	93	93
Total		3	93	96
Negative agreement		100% (CL: 96-100%)		

Negative urinary antigen EIA directed at <i>L. pneumophila</i> sg. 1		Comparator		
		Positive	Negative	Total
ImmuView®	Positive	0	0	0
	Negative	0	456	456
Total		0	456	456
Negative agreement		100% (CL: 96-100%)		

Analytical studies - urine

Specificity (cross-reactivity)

To determine the analytical specificity of the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test urines were spiked with whole cell bacteria and different inactivated viruses (N=143). The whole cell bacterial panel was tested in a concentration of 10^7 CFU/mL diluted from a stock solution. The viral panel had a concentration of 10^5 TCID₅₀/mL. The panel was also tested in negative urine.

Organisms tested for interference

<i>Acinetobacter</i> spp. (4)	<i>Lactobacillus</i> sp.
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella osloensis</i>
<i>Candida albicans</i> (4)	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (3)
<i>Cornyebacterium</i> sp.	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Cornyebacterium uralyticum</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> (3)	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Escherichia coli</i> (10)	<i>Proteus mirabilis</i> (2)
<i>Enterococcus faecalis</i> (7)	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4)
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. (2)
<i>Haemophilus influenzae</i> type a-f and non-caps (11)	<i>Salmonella</i> Bredeney
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Salmonella</i> Thompson
Adenovirus 2	<i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (2)	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Cytomegalovirus	<i>Salmonella</i> Glostrup
Enterovirus D68	<i>Streptococcus mutans</i> (2)
Herpes Simplex 1,2	<i>Streptococcus parasanguis</i>

Organisms tested for interference	
Influenza A (H1N1 and H3N2) virus	<i>Streptococcus sanguinis</i>
Influenza B Virus	<i>Streptococcus aureus</i> (6)
Parainfluenza virus 1,2,3 (3)	<i>Streptococcus epidermidis</i> (5)
Respiratory Syncytial Virus A	<i>Streptococcus saprophyticus</i> (3)
<i>Klebsiella oxytoca</i> (2)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	<i>Streptococcus</i> Gr. A, B, C, F, L and G (16)
<i>Lactobacillus cateniforme</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	

All of the above bacterial isolates were negative when using ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test. The only potential cross-reactivity was 1 of 3 isolates of *E. cloacea* which was positive for *L. pneumophila*. This was confirmed on re-testing of that one isolate.

A total of 19 urine samples from patients with urinary tract infection were tested. Previously, culture results had shown that eight (8) of them were infected with *Escherichia coli*, five (5) with *Staphylococcus aureus*, five (5) with *Streptococcus agalactiae* Gr. B and one (1) with *Candida albicans*. None showed any cross reactions with the ImmuView® test.

Sensitivity (limit of detection (LoD))

The limit of detection for the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test is 62.5 pg/mL for purified *S. pneumoniae* CWPS antigen (native). For LPS specific for *L. pneumophila* SG1 (Philadelphia) the limit of detection is 25 ng/mL. Whole cell *S. pneumoniae* bacteria can be detected at a limit of detection at 10^5 CFU/mL and *L. pneumophila* SG1 (Philadelphia) has a limit of detection at 10^4 CFU/mL. Boiling or urine preservatives did not change these results.

Content	LoD
<i>S. pneumoniae</i> antigen	62.5 pg/mL
<i>L. pneumophila</i> SG 1 (Philadelphia) antigen	0.025 µg/mL
<i>L. pneumophila</i> SG 1 (Bellingham) antigen	0.5 µg/mL
<i>S. pneumoniae</i> (serotype 1)	10^5 CFU/mL
<i>L. pneumophila</i> SG1 (Philadelphia)	10^4 CFU/mL
<i>L. pneumophila</i> SG 1 (Bellingham)	10^5 CFU/mL

Strain reactivity

Isolates from different *S. pneumoniae* serotypes were also tested positive with the ImmuView® assay including serotype three (3), five (5) and thirty-seven (37). Different species of *L. pneumophila* were also found to be positive using the assay. Within serogroup one (1) these includes Philadelphia, Knoxville, OLDA/Oxford, Allentown/France, and Benidorm-Strain Lens. In addition, previous studies have found other *Legionella* serogroups to be positive such as serogroup three (3), six (6) and twelve (12).⁴

<i>S. pneumoniae</i>		
Serotype	Antigen (µg/mL)	Whole organism (CFU/mL)
1	ND	10 ⁴
3	0.001	10 ⁴
5	0.010	10 ⁵
37	0.0001	ND

<i>L. pneumophila</i> serogroup one (1)			
Pontiac/non-Pontiac	Species	Antigen (µg/mL)	Whole cells (CFU/mL)
Pontiac	Knoxville	0.100	10 ⁵
Pontiac	Allentown/France	0.005	ND
Pontiac	Benidorm	ND	10 ⁴
Pontiac	Philadelphia	0.010	10 ⁴
Non-Pontiac	OLDA/Oxford	0.001	ND
Non-Pontiac	Camperdown	0.315	ND
Non-Pontiac	Heyman	1.250	ND

<i>L. pneumophila</i> non-serogroup one (1) detected by ImmuView ⁴
Serogroup; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 14 and 15

Interfering substances

ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test was tested with forty-seven (47) interfering agents at different concentrations in urine samples.

Agent	Concentration	Agent	Concentration
Acetaminophen	0.1mg/mL	Leucocytes	>250 cells/μL
Acetylsalicylic acid	0.1mg/mL	Miconazole	5%
Amantadine	0.03mg/mL	Mix (pH, whole blood, protein and glucose)	N/A
Amoxicillin	0.075mg/mL	Mucin	0.086mg/mL
Amphotericin B	0.22mg/mL	Oseltamivir (Tamiflu)	0.03mg/mL
Antihistamine	0.22mg/mL	Oxalic acid	0.01%
Ascorbic acid (C-Vitamin)	1mg/mL	pH (acidic)	4
Augmentin (Amoxicillin Clavulanate)	0.22mg/mL	pH (neutral)	7
Azithromycin	0.012mg/mL	pH (basic)	9
Beet root (H)	20%	Plasma	90%
Beet root (M)	1.17%	Plasma	50%
Beet root (L)	0.01%	Plasma	10%
Bilirubin	0.2mg/mL	Prednisone	0.22mg/mL
Bromhexin/cough drops/cough syrup	0.22mg/mL	Protein (albumin) (H)	10mg/mL
Caffeine	15mg/mL	Protein (albumin) (M)	5mg/mL
Chlorophyll (H)	0.11mg/mL	Protein (albumin) (L)	0.6mg/mL
Chlorophyll (M)	0.04mg/mL	Pyridium	1mg/mL
Chlorophyll (L)	0.01mg/mL	Rifampicin	0.09mg/mL
Ciprofloxacin	0.22mg/mL	Spinach	1%
Decongestant	0.22mg/mL	Tobacco purified	0.4mg/mL
Corticosterone (Corticosteroids)	0.015mg/mL	Triglycerides	4mg/mL
Erythromycin	0.067mg/mL	Urea	20mg/mL
Glucose (H)	20mg/mL	Vaginal contraceptive gel	5%
Glucose (M)	10mg/mL	Vancomycin	0.1mg/mL
Glucose (L)	3mg/mL	Water-based personal lubricant	5%
Hemoglobin	5mg/mL	White blood cells	10%
Human albumin	35mg/mL	Whole blood	10%
Human red blood cells 10% Washed pooled cells	10%	Whole blood	15%
Ibuprofen	0.1mg/mL		
Itraconazole	0.22mg/mL		

High concentration of plasma in urine may result in grey test lines. Additionally, basic ($\text{pH} \geq 9$) conditions in urine can give false positive *S. pneumoniae* lines. Water-based personal lubricant might result in false positive or grey *L. pneumophila* lines, however, this outcome seems dose-related.

Clinical sensitivity and specificity for CSF

The sensitivity of the *S. pneumoniae* was obtained by testing 12 CSF samples which were culture positive, and 15 CSF samples spiked with *S. pneumoniae*. The specificity of the *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* test lines were obtained by testing 170 negative CSF samples from negative donors.

ImmuView®	Sensitivity	Specificity
<i>S. pneumoniae</i>	100% (27/27)	98.8% (168*/170)
<i>L. pneumophila</i>	N/A	100% (170/170)

* 2 samples were tested positive and confirmed positive with both another lateral flow test for *S. pneumoniae* and ImmuLex *S. pneumoniae* Omni. It was not possible to culture any bacteria from the samples, which can be caused by too many times of freezing and thawing of the sample.

Spiked CSF testing

50 human CSF samples spiked to the limit of detection with *S. pneumoniae* and 10 negative CSF samples were tested with the ImmuView® test and the comparator test. The sensitivity for the ImmuView® test and the comparator test was 50/50 (100%) whereas the negative CSF samples showed 10/10 (100%) for both tests.

60 real human CSF samples			
ImmuView®	<u>Comparator</u>		Total
	Positive	Negative	
Positive	50	0	50
Negative	0	10	10
Positive agreement	100%	95% CI (92.9%-100%)	
Negative agreement	100%	95% CI (72.2%-100%)	

Analytical studies - CSF

Specificity (cross-reactivity)

ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test was tested with a panel of 24 potential cross-reacting agents. No cross-reactions were detected for the *S. pneumoniae* or the *L. pneumophila* test lines.

Organisms not affecting test performance in CSF	
<i>Escherichia coli</i> (5)	<i>Neisseria meningitidis</i> Gr. B, D and W135 (3)
<i>Haemophilus influenzae</i> type a-f and non-caps (7)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> Gr A
Measles	<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS) sg Ia, Ib, II, III (4)
<i>Streptococcus mitis</i>	

Sensitivity (limit of detection (LoD)) in CSF

The analytical sensitivity for the ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test was determined by limit of detection. Two different operators performed the dilutions and the testing. The dilutions were made with whole cell bacteria spiked in human CSF.

CSF	LoD
<i>S. pneumoniae</i>	10 ³ CFU/mL

Interfering substances

ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen Test was tested with forty-seven (47) interfering agents at different concentrations in artificial CSF either negative or spiked with either CWPS (10ng/mL) or *S. pneumoniae* 10⁷ CFU/mL.

Agent in CSF	Concentration	Agent	Concentration
<i>S. pneumoniae</i> (Type 1) 10⁷ CFU/mL		Negative artificial CSF	
Glucose (H)	1mg/mL	Glucose (H)	1mg/mL
Glucose (M)	0.5mg/mL	Glucose (M)	0.5mg/mL
Glucose (L)	0.1mg/mL	Glucose (L)	0.1mg/mL
Red blood cells (H)	15%	Red blood cells (H)	15%
Red blood cells(M)	10%	Red blood cells(M)	10%
Red blood cells (L)	5%	Red blood cells (L)	5%
Protein (H)	60mg/mL	Protein (H)	60mg/mL
Protein (M)	30mg/mL	Protein (M)	30mg/mL
Protein (L)	10mg/mL	Protein (L)	10mg/mL
White blood cells	10.6x10 ⁶ /mL	White blood cells	10.6x10 ⁶ /mL
White blood cells	5.3x10 ⁶ /mL	White blood cells	5.3x10 ⁶ /mL
White blood cells	2.7x10 ⁶ /mL	White blood cells	2.7x10 ⁶ /mL
White blood cells	1.8x10 ⁶ /mL	White blood cells	1.8x10 ⁶ /mL
White blood cells	0.9x10 ⁶ /mL	White blood cells	0.9x10 ⁶ /mL
Antigen (CWPS) 10 ng/mL		Bilirubin	15%
Bilirubin	15%	Bilirubin	10%
Bilirubin	10%	Bilirubin	5%
Bilirubin	5%	Plasma	15%
Plasma	15%	Plasma	10%
Plasma	10%	Plasma	5%
Plasma	5%		

Red blood cells may give false positive shadows on the *S. pneumoniae* line due to excessive red colour. The other agents in the panel did not interfere with the test.

Reproducibility study

The ImmuView® *S. pneumoniae* and *L. pneumophila* Urinary Antigen test demonstrated excellent overall reproducibility with 1,068 correct results out of 1,072 test results (99.6%), when tested with 10 clinically positive *S. pneumoniae* or *L. pneumophila* urine samples and negative urine samples, and artificial CSF positive spiked with *S. pneumoniae* isolates as well as negative artificial CSF samples. The ImmuView® positive control and negative control were also tested as blinded/masked panel members. The testing was performed for 5 days with a different kit lot at each site, two in the U.S. and one in Europe.

A total of 3 different lots were tested at the 3 different sites using two operators each (A and B). A total of 8 test results (0.7%) were determined to be invalid and were excluded and not re-tested. The panel members were blinded by changing the panel member numbers and identity daily. The reading and interpretation of the reproducibility panels were performed visually. There were no statistical differences in reproducibility by lot, by site, by time or by operator.

Description	Correct results	Agreement
<i>S. pneumoniae</i> , moderate positive urine	90/90 positive	100.0%
<i>S. pneumoniae</i> , moderate positive CSF	89/89 ^A positive	100.0%
<i>S. pneumoniae</i> , low positive spiked in artificial CSF	89/90 ^B positive	98.9%
<i>S. pneumoniae</i> , low positive urine	90/90 positive	100.0%
<i>L. pneumophila</i> , moderate positive urine 2A	90/90 positive	100.0%
<i>L. pneumophila</i> , moderate positive urine 2B	88/89 ^C positive	98.9%
<i>L. pneumophila</i> , low positive urine 1A	89/89 ^D positive	100.0%
<i>L. pneumophila</i> , low positive urine 1B	89/90 ^E positive	98.9%
Negative pooled urine	90/90 negative	100.0%
Negative artificial CSF	90/90 negative	100.0%
ImmuView [®] positive control	89/90 ^F positive	98.9%
ImmuView [®] negative control	85/85 ^G negative	100.0%
Summary	1068/1072 correct	99.6%

- A Operator did not see a positive control band, so one sample was invalid as the package insert states that this is necessary before interpreting the result.
The sample was not re-tested.
- B A visual *L. pneumophila* band was seen.
- C Operator interpreted band as *S. pneumoniae* positive instead of *L. pneumophila* positive. One sample was invalid due to dots/incomplete band on the test per the package insert and was not re-tested.
- D One sample was invalid due to an incomplete band in *S. pneumoniae* according to the pack insert.
- E No *L. pneumophila* band present.
- F Operator interpreted *S. pneumoniae* band result as negative even though band was present.
- G Five samples excluded due to the presence of dots/incomplete bands.
The samples were not re-tested.

Incident reporting

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the member state in which the user and/or patient is established.

Quality certificate

SSI Diagnostica's development, production and sales of *in vitro* diagnostics are quality assured and certified in accordance with ISO 13485.



References

1. Rota MC, Fontana S, Montaña-Remacha C, et al. Legionnaires' disease pseudoepidemic due to falsely positive urine antigen test results. *J Clin Microbiol.* 2014;52(6):2279-2280. doi:10.1128/JCM.00493-14
2. Briones ML, Blanquer J, Ferrando D, Blasco ML, Gimeno C, Marín J. Assessment of analysis of urinary pneumococcal antigen by immunochromatography for etiologic diagnosis of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(10):1092-1097. doi:10.1128/CVI.00090-06
3. Jørgensen CS, Uldum SA, Sørensen JF, Skovsted IC, Otte S, Elverdal PL; Evaluation of a new lateral flow test for detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* urinary antigen; Journal of Microbiological Methods; 2015.
4. Lindsay D, Scott KJ, McNeill A, et al.; Evaluation of the rapid lateral flow ImmuView® urinary antigen test for the detection of *L. pneumophila* and *Streptococcus pneumoniae*. Poster at ESGLI 2017.
5. Athlin S, Iversen A, Özenci V. Comparison of the ImmuView® and the BinaxNOW antigen tests in detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in urine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(10):1933-1938. doi:10.1007/s10096-017-3016-6

Information and ordering

SSI Diagnostica A/S

Herredsvejen 2

3400 Hillerød

Denmark

T +45 4829 9100

support@immuview.com

immuview.com

shop.ssidiagnostica.com

PRUEBA DE DETECCIÓN DE ANTÍGENOS EN ORINA IMMUVIEW® PARA *S. PNEUMONIAE* Y *L. PNEUMOPHILA*

Para diagnóstico *in vitro*

Uso indicado

La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* es un test rápido de flujo lateral *in vitro*, también conocido como inmunocromatografía de flujo lateral. La prueba está indicada para la detección cualitativa de los antígenos de *Streptococcus (S.) pneumoniae* y *Legionella (L.) pneumophila* en muestras de orina de pacientes con síntomas de neumonía. La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* puede leerse visualmente o utilizarse junto con el lector ImmuView®.

La prueba está indicada para ayudar en el diagnóstico de infecciones por *S. pneumoniae* y de *L. pneumophila* del serogrupo 1. Además, el ensayo está indicado para ayudar en el diagnóstico de infecciones por *S. pneumoniae* mediante la detección de antígenos de *S. pneumoniae* en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los resultados de la prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* deben interpretarse junto con la evaluación clínica del paciente y otros métodos diagnósticos.

Descripción

La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* es una prueba rápida de flujo lateral para la detección cualitativa de *S. pneumoniae* en muestras de orina humana y LCR y de antígenos de *L. pneumophila* (principalmente del serogrupo 1) en muestras de orina humana. La prueba es efectiva en el diagnóstico de presunta neumonía neumocócica por *S. pneumoniae* o neumonía por *Legionella* (enfermedad del legionario) causada por *L. pneumophila*, en combinación con el cultivo de orina u otros métodos diagnósticos. El tratamiento correcto y precoz es vital para el pronóstico de ambas enfermedades y, por lo tanto, los métodos rápidos para confirmar ambas en la fase inicial son muy importantes, ya que permiten iniciar el tratamiento adecuado lo antes posible. La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* es para uso exclusivo del personal de laboratorio o de profesionales sanitarios.

Principio

La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* es un test rápido de flujo lateral para la detección de *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* mediante la misma prueba.

Precauciones

- Asegúrese de que se añade el tampón de migración (TM) a todos los tubos de ensayo. Se pueden obtener falsos positivos si no se añade TM a los tubos de ensayo.
- La presencia de puntos y líneas parciales representan resultados no válidos de la prueba. La muestra del paciente debe volver a analizarse.

- Los resultados de la prueba deben leerse en el tiempo de lectura recomendado.
- Deje que los componentes del kit se equilibren a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
- Tres líneas grises/moradas indican plasma/proteína presente en la orina. Antes de volver a analizar la muestra, deber hervirse durante 5 minutos.
- La intensidad de una línea de prueba no está relacionada con el nivel de antígeno en la muestra.
- No mezcle los componentes del lote del kit específico con componentes de otros kits.
- No utilice la prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* después de la fecha de caducidad.
- Inspeccione las tiras reactivas y los frascos antes de usarlos para asegurarse de que están intactos. Todos los frascos/tiras reactivas dañados deben desecharse.
- El tioglicolato como conservante puede provocar una reacción cruzada, lo que podría causar falsos positivos de *S. pneumoniae*.

Materiales proporcionados

- 1 tubo con 22 tiras reactivas
- 0,5 ml de control positivo combinado de *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*
- 0,5 ml de control negativo combinado de *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*
- 2,5 ml de tampón de migración
- 1 pinzas
- 22 pipetas de transferencia
- 22 tubos de ensayo
- 1 gradilla de cartón
- 1 cuadro de puntuaciones

Puede encontrar una guía rápida en el interior de la caja y en la página 37.

Materiales necesarios pero no proporcionados

- Cronómetro
- Tubos de transporte/recipientes estériles estándar para recogida de orina o LCR

Almacenamiento y estabilidad

Encuentre la información en la caja y las etiquetas. Este producto no requiere condiciones de almacenamiento adicionales. No congele el producto.

Conservantes

El uso de ácido bórico o piperazina-N,N'-bis (ácido 2-etanosulfónico) no interfiere con la prueba de detección de antígenos ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*, por lo que puede emplearse.

Recogida y almacenamiento de muestras

Recoja la muestra de orina en un recipiente estándar estéril (con o sin conservante de ácido bórico). Si la muestra se va a analizar durante las 24 horas siguientes, se puede almacenar a temperatura ambiente. También se puede almacenar la muestra a 2-8 °C durante 1 semana o congelarla (a -20 °C; deben evitarse círculos repetidos de congelación/descongelación). Asegúrese de que las muestras siempre estén a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras de LCR deben analizarse lo antes posible después del muestreo o almacenarse congeladas hasta que sea posible realizar la prueba. Para el almacenamiento a largo plazo de muestras de LCR, siga los procedimientos de su laboratorio.

Control de calidad

Los controles positivos y negativos proporcionados con la prueba de detección de antígenos en orina ImmView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* funcionan a modo de control de calidad del kit. Los controles positivo y negativo deben seguir el mismo procedimiento de una muestra de orina o de LCR. El control positivo debe ser visible en la línea de control y en las líneas de la tira reactiva para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*. El control negativo solo debe ser visible en la línea de control.

Antes de utilizar los frascos, revíselos para asegurarse de que no haya daños ni fugas. En caso de daños o fugas, deseche el frasco.

Antes de utilizar un lote nuevo de un kit, o de volver a enviar el mismo lote, o si la prueba la realiza un nuevo operador, realice pruebas de control de calidad antes de analizar muestras clínicas. Siga los requisitos locales o estatales en cuanto a la frecuencia de las pruebas de control de calidad.

Procedimiento

1. Lleve la muestra de orina o LCR del paciente a temperatura ambiente. Mezcle la muestra girando el recipiente antes de la prueba.*
2. Coloque un tubo de ensayo en la gradilla de cartón.
3. Llene la pipeta de transferencia con orina o LCR y añada 3 gotas (120 µl) de la muestra en el tubo de ensayo (sujete la pipeta en vertical).
4. Añada 2 gotas (90 µl) de tampón de migración al tubo de ensayo (sujete la botella del tampón en vertical).
5. Gire suavemente el tubo de ensayo
6. Coja el recipiente con las pruebas, ábralo y saque el número de tiras reactivas necesarias; a continuación, ciérrelo firmemente.
7. Inserte la tira reactiva en el tubo de ensayo.
8. Espere 15 minutos.
9. Saque la tira reactiva del tubo de ensayo. Lea el resultado en un plazo de 5 minutos.**
10. Deseche la tira reactiva después de la interpretación del resultado.
 - * Si la muestra de orina contiene sangre visible, confirme un resultado positivo hirviendo^{1,2} la muestra a $\geq 95^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos (p. ej., termobloque) y vuelva a realizar la prueba.
 - ** De lo contrario, el resultado de la prueba puede ser incorrecto.

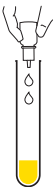
Guía rápida

Añadir muestra



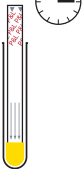
3 gotas
(120 µl)

**Añadir tampón de migración
y agitar suavemente**



2 gotas
(90 µl)

**Añadir tira reactiva y esperar
15 minutos**



Interpretación de los resultados

A: Control
B: *Legionella*
C: *S. pneumoniae*

*** Observe con atención.**
La intensidad de las líneas B y C puede variar de un nivel de nitidez claro a uno borroso.

 1	 2	 3	 4	 5	 6
Positivo para <i>Legionella</i> y <i>S. pneumoniae</i>	Positivo para <i>Legionella</i>	Positivo para <i>S. pneumoniae</i>	Positivo para <i>Legionella</i> y <i>S. pneumoniae</i> *	Tres líneas grises y púrpura: prueba no válida, se recomienda reintentar	Negativo

Prueba no válida

 7	 8	 9
No hay línea de control: prueba no válida	No hay líneas de control: prueba no válida	Línea incompleta: prueba no válida

Interpretación de los resultados

La línea de control de la parte superior de la tira reactiva aparecerá en color violeta/gris, pero también puede ser más azul o roja en función de si la muestra es positiva para *S. pneumoniae* o *L. pneumophila*.

Una muestra positiva para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*:

Una línea rosa/roja para *S. pneumoniae*, una línea azul para *L. pneumophila* y una línea de control violeta/gris (véanse los resultados de las pruebas número 1 o 4, página 37).

Una muestra positiva para *L. pneumophila*:

Una línea azul y una línea de control violeta/gris en la parte superior de la tira reactiva (véase el resultado 2 de la página 37). Debe investigarse más a fondo un resultado positivo para *L. pneumophila* en LCR, si ha salido positivo repetidamente para *Legionella*.

Una muestra positiva para *S. pneumoniae*:

Una línea rosa/roja y una línea de control violeta/gris en la parte superior de la tira reactiva (véase el resultado de la prueba número 3, página 37).

Observe atentamente. Incluso si hay una línea muy débil para *Legionella*, *S. pneumoniae* o ambas, el resultado de la prueba es positivo (véase el resultado de la prueba número 4, página 37). El cuadro de puntuaciones adjunto puede ayudar a determinar si el resultado de la prueba es positivo o negativo.

Nota: Tres líneas grises/violetas no indican un resultado positivo (véase el resultado de la prueba número 5, página 37). Puede haber diferencias de color entre la línea A (la línea de control) y B/C (*S. pneumoniae*/*L. pneumophila*). Si las líneas B y C son del mismo color, hierva durante aproximadamente cinco (5) minutos y repita la prueba. Recuerde dejar que la muestra de orina se enfríe a temperatura ambiente antes de volver a analizarla.^{1,2}

La ebullición también se puede usar para confirmar un resultado positivo, ya que los antígenos de *Legionella* y *S. pneumoniae* son estables al calor.

Una muestra negativa:

Una línea de control violeta/gris en la parte superior de la tira reactiva (véase el resultado de la prueba número 6, página 37).

Una muestra no válida

Si no se observa ninguna línea de control, la prueba no es válida y deberá volver a analizarse la muestra (véanse los resultados de las pruebas número 7 y 8, página 37). Tan solo una línea completa indica un resultado positivo. Las líneas punteadas y medias líneas no indican un resultado positivo (véase el resultado de la prueba número 9, página 37).

Eliminación

Siga los procedimientos o directrices locales de las autoridades nacionales para la eliminación de materiales biológicos.

Limitaciones

- La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* no se ha validado para su uso con muestras de orina de niños menores de 8 años.
- La prueba de detección de antígenos ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* se ha validado utilizando solo muestras de orina y LCR. No se han evaluado ni deben utilizarse otras muestras (p. ej., suero, plasma u otros fluidos corporales).
- La prueba de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* solo se ha validado para la detección de *S. pneumoniae* en muestras de LCR. Debe investigarse más a fondo un resultado positivo para *L. pneumophila* en LCR.
- Un resultado negativo para la línea de *Legionella* no excluye la posibilidad de que se produzca una infección por *Legionella*, ya que esta puede deberse a otros serogrupos y especies del género *Legionella*. No existe una única prueba de laboratorio específica para la enfermedad del legionario. Por tanto, para un diagnóstico preciso, los resultados de los cultivos, PCR (reacción en cadena de la polimerasa), serología o métodos de detección de antígenos deben combinarse con los hallazgos clínicos.
- Un resultado negativo para la línea de *S. pneumoniae* no excluye una infección por *S. pneumoniae*. Para realizar un diagnóstico preciso, es necesario utilizar el resultado de esta prueba, así como un cultivo, una prueba serológica u otros métodos de detección de antígenos junto con las manifestaciones clínicas.

- La vacuna para *S. pneumoniae* puede arrojar falsos positivos hasta 10 días después de la vacunación.
- La administración de antibióticos puede influir en los resultados de la prueba para *S. pneumoniae*.
- Pueden arrojarse falsos positivos a partir de orina muy alcalina ($\text{pH} \geq 9$) para *S. pneumoniae*.
- Elevados niveles ($\geq 5\%$) de lubricante personal a base de agua pueden dar como resultado falsos positivos o líneas grises para *L. pneumophila*.

Sensibilidad y especificidad clínicas para muestras de orina (Estudio retrospectivo)

La sensibilidad clínica de la línea de la tira reactiva para *S. pneumoniae* se obtuvo analizando de forma retrospectiva muestras de orina de pacientes con una muestra de hemocultivo positiva en *S. pneumoniae*.

La sensibilidad clínica de la línea de la tira reactiva para *L. pneumophila* se determinó analizando retrospectivamente muestras de orina de pacientes con enfermedad del legionario confirmada según los criterios del ECDC (Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades).³

La especificidad clínica de las líneas de las tiras reactivas para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* se obtuvo analizando muestras de orina de pacientes con infecciones de las vías urinarias y muestras de hemocultivo negativas.³

Además, no se ha detectado reacción cruzada entre muestras de orina con *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* del serogrupo 1. Los valores de sensibilidad se calcularon utilizando el intervalo de confianza de Wilson del 95 %.

ImmuView®	Sensibilidad
<i>S. pneumoniae</i>	85 % (60/71 IC: 74-91 %)
<i>L. pneumophila</i>	89 % (88/99 IC: 81-94 %)
Comparador	Sensibilidad
<i>S. pneumoniae</i>	77 % (55/71 IC: 66-86 %)
<i>L. pneumophila</i>	72 % (71/99 IC: 62-80 %)

ImmuView®	Especificidad
<i>S. pneumoniae</i>	99 % (75/76 IC: 93-100 %)
<i>L. pneumophila</i>	100 % (76/76 IC: 95-100 %)
Comparador	Especificidad
<i>S. pneumoniae</i>	100 % (76/76 IC: 95-100 %)
<i>L. pneumophila</i>	100 % (76/76 IC: 95-100 %)

Concordancia positiva con otra prueba de detección de antígenos en orina

Se obtuvo una concordancia positiva de *S. pneumoniae* en una población de muestra que contenía muestras positivas de hemocultivo. Se obtuvo una concordancia positiva de *L. pneumophila* en una población de muestra que contenía muestras positivas de cultivo o de PCR. La concordancia positiva se calculó de acuerdo con un intervalo de confianza de Wilson del 95 %.

<i>S. pneumoniae</i> Muestras positivas de hemocultivo		<u>Comparador</u>		
		Positivo	Negativo	Total
ImmuView®	Positivo	58	5	63
	Negativo	2	11	13
Total		60	16	76
Concordancia positiva		97 % (NC: 89 - 99 %)		

<i>S. pneumoniae</i> Cultivo o positivo en PCR		<u>Comparador</u>		
		Positivo	Negativo	Total
ImmuView®	Positivo	64	10	74
	Negativo	1	8	9
Total		65	18	83
Concordancia positiva		98 % (NC: 92 - 100 %)		

Concordancia negativa con otra prueba de detección de antígenos en orina

Se obtuvo una concordancia negativa de *S. pneumoniae* en una población de muestra que contenía casos no neumocócicos (n = 90 muestras bacterémicas y n = 6 no bacterémicas). Se obtuvo una concordancia negativa de *L. pneumophila* en una población de muestra preseleccionada con EIA de antígenos en orina. Todas las muestras incluidas en el grupo arrojaron un resultado negativo al utilizar el comparador (EIA de antígenos en orina).

96 casos de neumocócicos		<u>Comparador</u>		
		Positivo	Negativo	Total
ImmuView®	Positivo	3	0	3
	Negativo	0	93	93
Total		3	93	96
Concordancia negativa		100 % (NC: 96 - 100 %)		

EIA de antígenos en orina negativo dirigido a <i>L. pneumophila</i> sg. 1		<u>Comparador</u>		
		Positivo	Negativo	Total
ImmuView®	Positivo	0	0	0
	Negativo	0	456	456
Total		0	456	456
Concordancia negativa		100 % (NC: 96 - 100 %)		

Estudios analíticos: Orina

Especificidad (reactividad cruzada)

Para determinar la especificidad analítica de la prueba de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*, las muestras de orina se sembraron con bacterias de células completas y diferentes virus inactivados (N = 143). El panel bacteriano de células completas se sometió a pruebas en una dilución de 10^7 UFC/ml procedente de una solución madre. El panel viral tenía una concentración de 10^5 TCID₅₀/ml. El panel también se probó en orina negativa.

Organismos probados por interferencia	
<i>Acinetobacter</i> spp. (4)	<i>Lactobacillus</i> sp.
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella osloensis</i>
<i>Candida albicans</i> (4)	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (3)
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i> (3)	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Escherichia coli</i> (10)	<i>Proteus mirabilis</i> (2)
<i>Enterococcus faecalis</i> (7)	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4)
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. (2)
<i>Haemophilus influenzae</i> tipos a-f y no encapsulada (11)	<i>Salmonella</i> Bredeney
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Salmonella</i> Thompson

Organismos probados por interferencia	
Adenovirus 2	<i>Salmonella</i> Typhimurium
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (2)	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Citomegalovirus	<i>Salmonella</i> Glostrup
Enterovirus D68	<i>Streptococcus mutans</i> (2)
Herpes simple 1,2	<i>Streptococcus parasanguis</i>
Virus de la gripe A (H1N1 y H3N2)	<i>Streptococcus sanguinis</i>
Virus de la gripe B	<i>Streptococcus aureus</i> (6)
Virus paragripal tipo 1,2,3 (3)	<i>Streptococcus epidermidis</i> (5)
Virus sincitial respiratorio A	<i>Streptococcus saprophyticus</i> (3)
<i>Klebsiella oxytoca</i> (2)	<i>Estenotrofomona maltofila</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (3)	<i>Estreptococo</i> Gr. A, B, C, F, L y G (16)
<i>Lactobacillus cateniforme</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	

Todos los aislados bacterianos anteriores fueron negativos al usar la prueba de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila*. La única reactividad cruzada potencial fue 1 de 3 aislados de *E. cloacea*, que dio positivo para *L. pneumophila*. Se confirmó al volver a probar ese aislado.

Se analizaron un total de 19 muestras de orina de pacientes con infección de las vías urinarias. Los resultados de cultivos anteriores habían demostrado que ocho (8) de ellos estaban infectados con *Escherichia coli*, cinco (5) *Staphylococcus aureus*, cinco (5) con *Streptococcus agalactiae* gr. B y uno (1) con *Candida albicans*. Ninguno mostró reacciones cruzadas con la prueba ImmuView®.

Sensibilidad (límite de detección [LDD])

El límite de detección (LDD) de la prueba de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* es de 62,5 pg/ml para antígeno de polisacárido de pared celular (nativo) de *S. pneumoniae*. En el caso de LPS específicos para *L. pneumophila* SG1 (Filadelfia), el LDD es de 25 ng/ml. La bacteria *S. pneumoniae* de célula completa puede detectarse en un LDD en 10^5 UFC/ml y la *L. pneumophila* SG1 (Filadelfia) presenta un LDD en 10^4 UFC/ml. Los conservantes de ebullición o de orina no cambiaron estos resultados.

Contenido	LDD
Antígeno de <i>S. pneumoniae</i>	62,5 pg/mL
Antígeno de <i>L. pneumophila</i> SG 1 (Filadelfia)	0,025 µg/mL
Antígeno de <i>L. pneumophila</i> SG 1 (Bellingham)	0,5 µg/mL
<i>S. pneumoniae</i> (serotipo 1)	10^5 CFU/mL
<i>L. pneumophila</i> SG1 (Filadelfia)	10^4 CFU/mL
<i>L. pneumophila</i> SG 1 (Bellingham)	10^5 CFU/mL

Reactividad de la cepa

Aislados de diferentes serotipos de *S. pneumoniae* dieron también positivo con la prueba ImmuView®, incluidos los serotipos tres (3), cinco (5) y treinta y siete (37). Diferentes especies de *L. pneumophila* también dieron positivo usando la prueba. Dentro del serogrupo uno (1) se incluyen Filadelfia, Knoxville, OLDA/Oxford, Allentown/Francia y Benidorm-Strain Lens. Además, estudios previos han encontrado otros serogrupos de *Legionella* positivos, como los serogrupos tres (3), seis (6) y doce (12).⁴

<i>S. pneumoniae</i>		
Serotipo	Antígeno (µg/ml)	Organismo completo (UFC/ml)
1	ND	10 ⁴
3	0,001	10 ⁴
5	0,010	10 ⁵
37	0,0001	ND

<i>L. pneumophila</i> del serogrupo uno (1)			
Pontiac/no Pontiac	Especie	Antígeno (µg/ml)	Células completas (UFC/ml)
Pontiac	Knoxville	0,100	10 ⁵
Pontiac	Allentown/Francia	0,005	ND
Pontiac	Benidorm	ND	10 ⁴
Pontiac	Filadelfia	0,010	10 ⁴
No Pontiac	OLDA/Oxford	0,001	ND
No Pontiac	Camperdown	0,315	ND
No Pontiac	Heyman	1,250	ND

<i>L. pneumophila</i> de serogrupo distinto de uno (1) detectado por ImmuView ⁴
Serogrupo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 14 y 15

Sustancias interferentes

La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* se probó con cuarenta y siete (47) agentes interferentes a distintas concentraciones en muestras de orina.

Agente	Concentración	Agente	Concentración
Paracetamol	0,1 mg/ml	Leucocitos	>250 células/μl
Ácido acetilsalicílico	0,1 mg/ml	Miconazol	5 %
Amantadina	0,03 mg/ml	Mezcla (pH, sangre completa, proteínas y glucosa)	N/A
Amoxicilina	0,075 mg/ml	Mucina	0,086 mg/ml
Anfotericina B	0,22 mg/ml	Oseltamivir (Tamiflu)	0,03 mg/ml
Antihistamínico	0,22 mg/ml	Ácido oxálico	0,01 %
Ácido ascórbico (vitamina C)	1 mg/ml	pH (ácido)	4
Augmentine (amoxicilina/ácido clavulánico)	0,22 mg/ml	pH (neutro)	7
Azitromicina	0,012 mg/ml	pH (alcalino)	9
Raíz de remolacha (H)	20 %	Plasma	90 %
Raíz de remolacha (M)	1,17 %	Plasma	50 %
Raíz de remolacha (L)	0,01 %	Plasma	10 %
Bilirrubina	0,2 mg/ml	Prednisona	0,22 mg/ml
Bromhexina/pastillas para la tos/ jarabe para la tos	0,22 mg/ml	Proteína (albúmina) (H)	10 mg/ml
Cafeína	15 mg/ml	Proteína (albúmina) (M)	5 mg/ml
Clorofila (H)	0,11 mg/ml	Proteína (albúmina) (L)	0,6 mg/ml
Clorofila (M)	0,04 mg/ml	Piridio	1 mg/ml
Clorofila (L)	0,01 mg/ml	Rifampicina	0,09 mg/ml
Ciprofloxacina	0,22 mg/ml	Espinacas	1 %
Descongestivo	0,22 mg/ml	Tabaco purificado	0,4 mg/ml
Corticosterona (corticoesteroides)	0,015mg/ml	Triglicéridos	4 mg/ml
Eritromicina	0,067 mg/ml	Urea	20 mg/ml
Glucosa (H)	20 mg/ml	Gel anticonceptivo vaginal	5 %
Glucosa (M)	10 mg/ml	Vancomicina	0,1 mg/ml
Glucosa (L)	3 mg/ml	Lubricante personal a base de agua	5 %
Hemoglobina	5 mg/ml	Leucocitos	10 %
Albúmina humana	35 mg/ml	Sangre completa	10 %
10 % de glóbulos rojos humanos	10%	Sangre completa	15 %
Células agrupadas lavadas			
Ibuprofeno	0,1 mg/ml		
Itraconazol	0,22 mg/ml		

La alta concentración de plasma en la orina puede dar como resultado líneas grises de la tira reactiva. Además, si la orina es alcalina ($\text{pH} \geq 9$) puede dar líneas de *S. pneumoniae* que sean falsos positivos. Los lubricantes personales a base de agua pueden arrojar falsos positivos o líneas grises de *L. pneumophila*; sin embargo, este resultado parece estar relacionado con la dosis.

Sensibilidad y especificidad clínicas y especificidad para LCR

La sensibilidad de la *S. pneumoniae* se obtuvo al analizar 12 muestras de LCR que fueron positivas en cultivo y 15 muestras de LCR sembradas con *S. pneumoniae*. La especificidad de las líneas de las tiras reactivas para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* se obtuvo analizando 170 muestras negativas de LCR de donantes negativos.

ImmuView®	Sensibilidad	Especificidad
<i>S. pneumoniae</i>	100 % (27/27)	98,8 % (168*/170)
<i>L. pneumophila</i>	N/A	100 % (170/170)

* Se analizaron 2 muestras positivas y se confirmaron positivos con otras dos pruebas de flujo lateral para *S. pneumoniae* e ImmuLex *S. pneumoniae* Omni. No fue posible ninguna bacteria a partir de las muestras, lo que puede deberse al hecho de haber congelado y descongelado las muestras demasiadas veces.

Prueba con LCR sembrado

Se analizaron 50 muestras de LCR humano sembradas en el LDD con *S. pneumoniae* y 10 muestras de LCR negativas con la prueba ImmuView® y la prueba del comparador. La sensibilidad tanto de la prueba ImmuView® como de la prueba del comparador fue 50/50 (100 %), mientras que las muestras de LCR negativas mostraron 10/10 (100 %) para ambas pruebas.

60 muestras de LCR humano			
ImmuView®	<u>Comparador</u>		Total
	Positive	Negative	
Positivo	50	0	50
Negativo	0	10	10
Concordancia positiva	100 %	IC 95 % (92,9 %-100 %)	
Concordancia negativa	100 %	IC 95 % (72,2 %-100 %)	

Estudios analíticos: LCR

Especificidad (reactividad cruzada)

Se probó la prueba de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* con un panel de 24 posibles agentes de reactividad cruzada. No se detectaron reacciones cruzadas para las líneas de las tiras reactivas para *S. pneumoniae* ni *L. pneumophila*.

Microorganismos que no afectan el rendimiento de la prueba en LCR	
<i>E. coli</i> (5)	<i>Neisseria meningitidis</i> Gr. B, D y W135 (3)
<i>Haemophilus influenzae</i> tipos a-f y no encapsulada (7)	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus</i> Gr A
Sarampión	<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS) sg Ia, Ib, II, III (4)
<i>Streptococcus mitis</i>	

Sensibilidad (límite de detección [LDD]) en LCR

La sensibilidad analítica de la prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* se determinó por el límite de detección. Dos operadores diferentes realizaron las diluciones y las pruebas. Las diluciones se realizaron con bacterias de células completas sembradas en LCR humano.

LCR	LDD
<i>S. pneumoniae</i>	10 ³ CFU/mL

Sustancias interferentes

Se probó la prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* con cuarenta y siete (47) agentes interferentes a distintas concentraciones en LCR artificial, ya fuese negativo, sembrado con polisacárido de pared celular (10 ng/ml) o *S. pneumoniae* 10⁷ UFC/ml.

Agente en LCR	Concentración	Agente en LCR	Concentración
<i>S. pneumoniae</i> (tipo 1) 10⁷ UFC/ml		LCR artificial negativo	
Glucosa (H)	1 mg/ml	Glucosa (H)	1 mg/ml
Glucosa (M)	0,5 mg/ml	Glucosa (M)	0,5 mg/ml
Glucosa (L)	0,1 mg/ml	Glucosa (L)	0,1 mg/ml
Eritrocitos (H)	15 %	Eritrocitos (H)	15 %
Eritrocitos (M)	10 %	Eritrocitos (M)	10 %
Eritrocitos (L)	5 %	Eritrocitos (L)	5 %
Proteína (H)	60 mg/ml	Proteína (H)	60 mg/ml
Proteína (M)	30 mg/ml	Proteína (M)	30 mg/ml
Proteína (L)	10 mg/ml	Proteína (L)	10 mg/ml
Leucocitos	10,6 x 10 ⁶ /ml	Leucocitos	10,6 x 10 ⁶ /ml
Leucocitos	5,3 x 10 ⁶ /ml	Leucocitos	5,3 x 10 ⁶ /ml
Leucocitos	2,7 x 10 ⁶ /ml	Leucocitos	2,7 x 10 ⁶ /ml
Leucocitos	1,8 x 10 ⁶ /ml	Leucocitos	1,8 x 10 ⁶ /ml
Leucocitos	0,9 x 10 ⁶ /ml	Leucocitos	0,9 x 10 ⁶ /ml
Antígeno (polisacárido de pared celular) 10 ng/ml		Bilirrubina	15 %
Bilirrubina	15 %	Bilirrubina	10 %
Bilirrubina	10 %	Bilirrubina	5 %
Bilirrubina	5 %	Plasma	15 %
Plasma	15 %	Plasma	10 %
Plasma	10 %	Plasma	5 %
Plasma	5 %		

Los eritrocitos pueden dar sombras de falsos positivos en la línea de *S. pneumoniae* debido al exceso de color rojo. El resto de agentes del panel no interfirieron con la prueba.

Estudio de reproducibilidad

La prueba de detección de antígenos en orina ImmuView® para *S. pneumoniae* y *L. pneumophila* demostró una excelente reproducibilidad general con 1068 resultados correctos de un total de 1072 resultados de la prueba (99,6 %), tras probarse con 10 muestras clínicas de orina positivas y negativas en *S. pneumoniae* o *L. pneumophila*; y con LCR artificial positivo sembrado con aislados de *S. pneumoniae*, así como muestras negativas artificiales de LCR. Se probaron también el control positivo y el control negativo de ImmuView® como miembros del panel de estudios ciegos/enmascarados. La prueba se realizó durante 5 días con un lote de kits diferente en cada centro: dos en los EE. UU. y uno en Europa.

Se probaron un total de 3 lotes diferentes en los 3 centros distintos utilizando dos operadores cada uno (A y B). Se determinó que un total de 8 resultados de prueba (0,7 %) no eran válidos; estos resultados se excluyeron y no se volvieron a evaluar. Los miembros del panel se enmascararon cambiando diariamente sus números y su identidad. La lectura e interpretación de los paneles de reproducibilidad se realizaron visualmente. No hubo diferencias estadísticas en la reproducibilidad por lote, por centro, por tiempo ni por operador.

Descripción	Resultados correctos	Concordancia
<i>S. pneumoniae</i> , orina positiva moderada	90/90 positivo	100,0 %
<i>S. pneumoniae</i> , LCR positivo moderado	89/89 ^A positivo	100,0 %
<i>S. pneumoniae</i> , bajo positivo sembrado en LCR artificial	89/90 ^B positivo	98,9 %
<i>S. pneumoniae</i> , orina positiva baja	90/90 positivo	100,0 %
<i>L. pneumophila</i> , orina positiva moderada 2A	90/90 positivo	100,0 %
<i>L. pneumophila</i> , orina positiva moderada 2B	88/89 ^C positivo	98,9 %
<i>L. pneumophila</i> , orina positiva baja 1A	89/89 ^D positivo	100,0 %
<i>L. pneumophila</i> , orina positiva baja 1B	89/90 ^E positivo	98,9 %
Orina agrupada negativa	90/90 negativo	100,0 %
LCR artificial negativo	90/90 negativo	100,0 %
Control positivo de ImmuView®	89/90 ^F positivo	98,9 %
Control negativo de ImmuView®	85/85 ^G negativo	100,0 %
Resumen	1068/1072 correctos	99,6 %

- A El operador no vio una banda de control positiva, por lo que una muestra no fue válida, ya que el prospecto indicaba que esto era un requisito necesario antes de interpretar el resultado. La muestra no se volvió a analizar.
- B Se vio una banda visual de *L. pneumophila*.
- C El operador interpretó la banda como positivo de *S. pneumoniae* en lugar de positivo de *L. pneumophila*. Una muestra no fue válida debido al punto (banda incompleta) en la tira reactiva según el prospecto del paquete y no se volvió a analizar.
- D Una muestra no fue válida debido a que había una banda incompleta en *S. pneumoniae* según el prospecto.
- E No había ninguna banda de *L. pneumophila* presente.
- F El operador interpretó el resultado de la banda de *S. pneumoniae* como negativo aunque la banda estaba presente.
- G Se excluyeron cinco muestras debido a la presencia de puntos y bandas incompletas. Las muestras no se volvieron a analizar.

Informe de incidencias

Cualquier incidencia grave que haya ocurrido en relación con el dispositivo deberá notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en que el usuario o el paciente estén establecidos.

Certificado de calidad

El desarrollo, la producción y las ventas de las pruebas diagnósticas *in vitro* de SSI Diagnostica disponen de garantía y certificación de calidad de conformidad con la norma ISO 13485.



Referencias

1. Rota MC, Fontana S, Montaña-Remacha C, et al. Legionnaires' disease pseudoepidemic due to falsely positive urine antigen test results. *J Clin Microbiol.* 2014;52(6):2279-2280. doi:10.1128/JCM.00493-14
2. Briones ML, Blanquer J, Ferrando D, Blasco ML, Gimeno C, Marín J. Assessment of analysis of urinary pneumococcal antigen by immunochromatography for etiologic diagnosis of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(10):1092-1097. doi:10.1128/CVI.00090-06
3. Jørgensen CS, Uldum SA, Sørensen JF, Skovsted IC, Otte S, Elverdal PL; Evaluation of a new lateral flow test for detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* urinary antigen; Journal of Microbiological Methods; 2015.
4. Lindsay D, Scott KJ, McNeill A, et al.; Evaluation of the rapid lateral flow ImmuView® urinary antigen test for the detection of *L. pneumophila* and *Streptococcus pneumoniae*. Cartel en ESGLI 2017.
5. Athlin S, Iversen A, Özenci V. Comparison of the ImmuView® and the BinaxNOW antigen tests in detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in urine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(10):1933-1938. doi:10.1007/s10096-017-3016-6

Información y pedidos

SSI Diagnostica A/S

Herredsvejen 2

3400 Hillerød

Dinamarca

Tel +45 4829 9100

support@immuview.com

immuview.com

shop.ssidiagnostica.com

SSI Diagnostica A/S

Herredsvejen 2

3400 Hillerød

Denmark

IMMUIView.COM