

VITASSAY

Strep. pneumoniae + Legionella

Test rápido de detección cualitativa simultánea de *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila* en muestras de orina humana.

IU-7455049 Ed01 Febrero 2018



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella es un ensayo rápido, inmunocromatográfico y en un solo paso para la detección cualitativa simultánea de *Streptococcus pneumoniae* y de *Legionella pneumophila* en muestras de orina humana.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una posible infección por pneumonia y/o legionelosis.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pneumoniae es un potente patógeno humano. Las infecciones conducen a enfermedades comunes como la otitis media, la meningitis o la neumonía, que afectan a varios millones de personas y son responsables de una significativa muerte infantil en los países de desarrollo. En todo el mundo, cada año hay más de 14 millones de infecciones graves de *Streptococcus pneumoniae* en niños menores de 5 años de edad que causan más de 800.000 muertes.

Hay al menos 95 serotipos capsulares, pero sólo unos pocos causan la mayoría de las enfermedades. El organismo produce una serie de factores de colonización y virulencia, incluyendo la cápsula de polisacárido, las proteínas de superficie y la toxina hemolisina (PLY).

Las especies de *Legionella* producen 2 síndromes clínicos, conocidos como la enfermedad del legionario y la fiebre de Pontiac. La enfermedad del legionario cursa como sería neumonía aguda y a veces incluso letal, mientras que la fiebre de Pontiac es la forma no neumónica que cursa de manera leve y autolimitada.

Legionella pneumophila ha sido ampliamente reconocida como una causa importante de neumonía adquirida en la comunidad en cualquier grupo de edad y tanto en hospedadores sanos como inmunodeprimidos.

PRINCIPIO

Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Streptococcus pneumoniae* y de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) en muestras de orina humana.

Tira A: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a *Streptococcus pneumoniae*.

Tira B: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos policlonales frente a *L. pneumophila*.

Durante el proceso, la muestra reacciona con anticuerpos anti-*Streptococcus pneumoniae* (tira A) y/o *L. pneumophila* (tira B), formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba

de la membrana por acción capilar. Si la muestra es positiva en *Streptococcus pneumoniae*, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionan con el complejo conjugado formado y aparecerá una línea roja en la tira A, y si la muestra es positiva en *L. pneumophila*, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionan con el complejo conjugado formado y aparecerá una línea roja en la tira B. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea de control azul siempre aparecerá en ambas tiras.

La presencia de estas líneas azules (en la zona de control (C)) indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests tras su utilización deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 30°C (35.6 y 86°F) en su envase original sellado.

Así se garantiza el óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.

No congelar.

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
<ul style="list-style-type: none"> 25 Tests/kit Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella. Instrucciones de uso. 25 Pipetas de plástico. 25 Tubos de ensayo. Reactivo (diluyente de muestra y controles). Control Positivo: hisopo con <i>S. pneumoniae</i> inactivada + tubo ensayo + pipeta. Control Positivo: hisopo con <i>L. pneumophila</i> inactivada + tubo ensayo + pipeta. Control Negativo: hisopo negativo + tubo ensayo + pipeta. 	<ul style="list-style-type: none"> Recipiente para recogida de muestras. Guantes desechables. Cronómetro.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La muestra de orina se recoge en recipientes destinados a este fin.

Las muestras pueden conservarse a temperatura ambiente (15-30°C / 59-86°F) si se van a utilizar en las 24 horas siguientes a la toma de muestra. Como alternativa, se podrán almacenar refrigeradas (2-8°C / 35.6-46.4°F) como máximo 14 días antes de su uso o congeladas entre -10°C y -20°C (14 y -4°F) durante periodos más largos.

Si fuera necesario trasladar las muestras de orina, transpórtelas en envases herméticos a 2-8°C (35.6-46.4°F) o congeladas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Antes de realizar este test es preciso que todas las muestras alcancen la temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO

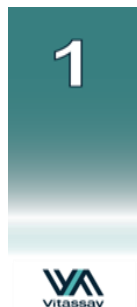
Previamente los tests, las muestras de orina, el reactivo y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F).

No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

Muestra de pacientes:

- Utilizar un tubo de ensayo diferentes para cada muestra. Añada 6 gotas de muestra de orina (figura 1).
- Añadir 2 gota de reactivo dentro del tubo de ensayo y mezclar (figura 2). Homogenizar la muestra.

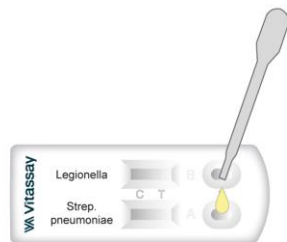
- Sacar **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** de su envase antes de utilizarlo.
- Usar una pipeta y un dispositivo diferente para cada muestra o control. Añadir 3 gotas a partir del tubo en la ventana circular marcada con la letra A- Strep. pneumoniae (figura 3) y añadir 3 gotas, del mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra B-Legionella (figura 4).
- Leer el resultado a los **15 minutos**. No leer el resultado superados los 15 minutos.



Añadir 6 gotas de muestra de orina.



Añadir 2 gotas de Reactivo y mezclar.



Dispensar 3 gotas en la ventana circular, marcada con la letra A-Strep. pneumoniae.



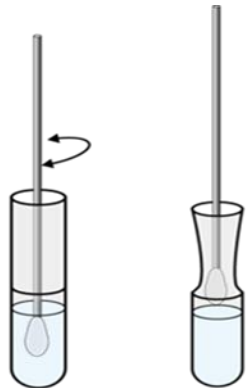
Dispensar 3 gotas en la ventana circular, marcada con la letra B-Legionella.

Hisopos Control Positivo:

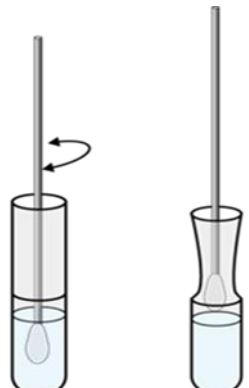
- Colocar el bote de Reactivo verticalmente. Añadir lentamente 13 gotas del Reactivo en el tubo de ensayo (figura 1a).
- Sacar el hisopo de Vitassay Strep. pneumoniae Positive Control de su envase e introducirlo dentro del tubo de ensayo con el reactivo, mezclar durante 1 minuto y extraer la mayor cantidad posible del líquido del hisopo, presionando las paredes del tubo. Desechar el hisopo (figura 2a).
- Sacar **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** de su envase antes de utilizarlo.
- Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar mediante una pipeta 3 gotas en la ventana circular de un nuevo test marcada con la letra A-Strep. pneumoniae (figura 3a).
- Leer el resultado a los **15 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 15 minutos.



Añadir 13 gotas de Reactivo en el tubo de ensayo.



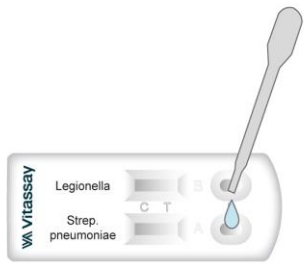
Introducir el hisopo en el tubo de ensayo y rotarlo 1 min para extraer el líquido.



Introducir el hisopo en el tubo de ensayo y rotarlo 1 min para extraer el líquido.



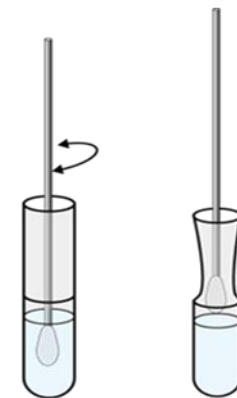
Añadir 13 gotas de Reactivo en el tubo de ensayo.



Dispensar 3 gotas en la ventana circular, marcada con la letra A-Strep. pneumoniae.



Dispensar 3 gotas en la ventana circular, marcada con la letra B-Legionella.



Introducir el hisopo en el tubo de ensayo y rotarlo 1 min para extraer el líquido.

Repetir el procedimiento para controles positivos utilizando el hisopo Vitassay Legionella Positive Control (figuras 1b y 2b), se deben dispensar otras 3 gotas del mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra B-Legionella (figura 3b).

Hisopos Control Negativo:

- Colocar el bote de Reactivo verticalmente. Añadir lentamente 13 gotas del Reactivo en el tubo de ensayo (figura 1).
- Sacar el hisopo de Vitassay Negative Control de su envase e introducirlo dentro del tubo de ensayo con el reactivo, mezclar durante 1 minuto y extraer la mayor cantidad posible del líquido del hisopo, presionando las paredes del tubo. Desechar el hisopo (figura 2).
- Sacar **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** de su envase antes de utilizarlo.
- Usar una pipeta y un test diferente para cada muestra o control. Dispensar mediante una pipeta 3 gotas en la ventana circular de un nuevo test marcada con la letra A-Strep. pneumoniae (figura 3) y otras 3 gotas del mismo tubo en el pocillo marcado con la letra B-Legionella (figura 4).
- Leer el resultado a los **15 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 15 minutos.



Añadir 13 gotas de Reactivo en el tubo de ensayo.



Dispensar 3 gotas en la ventana circular marcada con la letra A-Strep. pneumoniae.

4



Dispensar 3 gotas, del mismo tubo, en la ventana circular, marcada con la letra B- Legionella.



Los controles positivos y negativos deberían usarse cada vez que se utilice un nuevo kit o según indiquen los controles establecidos por su laboratorio.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	Tira A Strep. pneumoniae	Tira B Legionella	INTERPRETACIÓN
	Negativo	Negativo	
	AZUL	AZUL	No existe presencia de <i>Streptococcus pneumoniae</i> o <i>L. pneumophila</i> . No hay infección causada por <i>Streptococcus pneumoniae</i> o <i>L. pneumophila</i> . Resultado de control negativo.
	AZUL - ROJO	AZUL - ROJO	Existe presencia de <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>L. pneumophila</i> . Infección causada por <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>L. pneumophila</i> . Resultado controles positivos.
	AZUL - ROJO	AZUL	Existe presencia de <i>Streptococcus pneumoniae</i> . Infección causada por <i>Streptococcus pneumoniae</i> . Resultado Strep. pneumoniae Positivo Control.

		Negativo	Positivo	Existe presencia de <i>L. pneumophila</i> . Infección causada por <i>L. pneumophila</i> . Resultado Legionella Positive Control.
		AZUL	AZUL - ROJO	
Cualquier otro resultado				Resultado inválido tanto en A como en B, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. Nota: procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Si los síntomas o la situación continúan, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor local.

Observaciones: La intensidad de la línea de color rojo en la zona de línea de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella**. La línea azul que aparece en la ventana de resultados es el control interno del proceso, confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

Se incluyen controles externos positivos y negativos en el kit. Se recomienda el uso de dichos controles para asegurar el correcto funcionamiento de los reactivos y la realización correcta de la muestra.

LIMITACIONES

- No debe utilizarse **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las orinas humanas.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Streptococcus pneumoniae* y/o *L. pneumophila* (principalmente serogrupo 1 pero otros serogrupos podrían ser también detectados) en muestras de orina, sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (serología o por PCR) para determinar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.

- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de orina humana sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, la determinación de *Streptococcus pneumoniae* y/o *L. pneumophila* se debería realizar con un cultivo u otros métodos.
- La excreción de antígenos de *Streptococcus pneumoniae* y de *L. pneumophila* en la orina puede variar para cada paciente. Puede iniciarse transcurridos 3 días del inicio de los síntomas y mantenerse hasta un año después, pudiendo producirse un resultado positivo debido a una infección presente o pasada, no siendo definitivo dicho resultado a no ser que exista otra evidencia.
- El test es compatible con ácido bórico utilizado como conservante hasta un porcentaje del 2%.

VALORES ESPERADOS

Streptococcus pneumoniae es una causa común de enfermedad invasiva e infecciones del tracto respiratorio en los países más y menos desarrollados. El grupo de riesgo de estas enfermedades causadas por neumococo tales como meningitis, sepsis y neumonía son niños, ancianos y pacientes con deficiencias inmunes. Cada año un millón de niños menores de 5 años mueren por neumonía y por infecciones invasivas. En Estados Unidos el número anual de infecciones neumocócicas fatales es 40000.

L. pneumophila se encuentra frecuentemente en pacientes con neumonía adquirida por la comunidad, los cuáles requieren su admisión en una unidad de cuidados intensivos. Por lo tanto, *L. pneumophila* continua siendo un importante problema de salud pública en el mundo.

La prevalencia real de *Legionella pneumophila* aún no está clara, siendo el tratamiento no reconocido y empírico para la infección del tracto respiratorio el que conduce a su recuperación. Por lo tanto, las tasas de mortalidad son difíciles de evaluar. Se calcula que alrededor del 10% al 15% de los pacientes con neumonía por Legionella mueren, con la mayor mortalidad ocurriendo en los casos nosocomiales no tratados.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección de **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** es: 0.25 ng/mL de CWPS para la tira A (*Strep. pneumoniae*) y 12.5 ng/mL (mezcla de varios serovares de *Legionella pneumophila*) para la tira B (*Legionella*).

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de orina humana, comparando los resultados obtenidos **por Vitassay Strep.**

pneumoniae + Legionella y otro test comercializado (Binax NOW® *Streptococcus pneumoniae* Antigen Card, Alere) para la tira A.

Los resultados se muestran a continuación:

		BinaxNOW® <i>Streptococcus pneumoniae</i> Antigen Card (Alere)		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Strep. pneumoniae+ Legionella	Positivo	33	1	34
	Negativo	4	73	77
Strep. pneumoniae	Total	37	74	111

Vitassay Strep. pneumoniae+ Legionella vs BinaxNOW® <i>Streptococcus pneumoniae</i> Antigen Card		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	89.2%	74.6-97.0%
Especificidad	98.6%	92.7-100.0%
VPP	97.1%	84.7-99.9%
VPN	94.8%	87.2-98.6%

Se llevó a cabo otra evaluación con muestras de orina, comparando **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** con otro test comercial (BinaxNOW® *Legionella* Urinary Antigen Card, Alere) para la tira B.

Los resultados fueron los siguientes:

		BinaxNOW® <i>Legionella</i> Urinary Antigen Card (Alere)		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Strep. pneumoniae+ Legionella	Positivo	31	1	32
	Negativo	0	117	117
Legionella	Total	31	118	149

Vitassay Strep. pneumoniae+ Legionella vs BinaxNOW® <i>Legionella</i> Urinary Antigen Card		
	Valor Medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	100.00%	88.8-100.0%
Especificidad	99.20%	95.4-100.0%
VPP	96.90%	83.8-99.9%
VPN	100.00%	96.9-100.0%

Los resultados mostraron que **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*.

Reacciones cruzadas

No se detectaron reacciones cruzadas con el siguiente patógeno ocasionalmente presente en la orina:

<i>Legionella</i> (Tira A)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (Tira B)
----------------------------	--

Estudio reproducibilidad

Se realizó una evaluación para determinar la reproducibilidad de **Vitassay Strep. pneumoniae + Legionella** incluyendo ensayos inter-día, inter-laboratorio, inter e intra lote que mostraron alta reproducibilidad en todos los casos.

REFERENCIAS/BIBLIOGRAFÍA

1. WOLFMEIER, H.; RADECKE, J.; SCHOENAUER, R.; ET AL. "Active release of pneumolysin prepores and pores by mammalian cells undergoing a *Streptococcus pneumoniae* attack". *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-GENERAL SUBJECTS* 2016; 1860(11): 2498-2509.
2. MITCHELL, A.M.; MITCHELL, T.J. "Streptococcus pneumoniae: Virulence factors and variation". *CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION* 2010; 16(5): 411-418.
3. MIERNYK, KAREN M.; BULKOW, LISA R.; CASE, SAMANTHA L.; ET AL. "Population structure of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates among Alaskan children in the conjugate vaccine era, 2001 to 2013". *DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE* 2016; 86(2): 224-230.
4. BOGAERT, D; DE GROOT, R; HERMANS, PWM "Streptococcus pneumoniae colonization: the key to pneumococcal disease". *Lancet Infectious Diseases* 2004; 4: 144-154.
5. DIEGO VIASUS, SILVANA DI YACOVO, CAROLINA GARCIA-VIDAL, RICARD VERDAGUER, FREDERIC MANRESA, JORDI DORCA, FRANCESC GUDIOL, JORDI CARRATALA. "Community-Acquired *Legionella pneumophila* Pneumonia - A Single-Center Experience With 214 Hospitalized Sporadic Cases Over 15 Years". *Medicine* 2013; 92: 51-60.
6. GARCIA-VIDAL C, LABORI M, VIASUS D, SIMONETTI A, GARCIA-SOMOZA D, DORCA J, GUDIOL F, CARRATALA J. "Rainfall Is a Risk Factor for Sporadic Cases of *Legionella pneumophila* Pneumonia". *PLoS ONE*, 2013, 8(4): e61036. doi:10.1371/journal.pone.0061036.
7. M. S. ANBUMANI; A. CHAUDHURY; A. GURURAJKUMAR. "Clinical Prevalence of *Legionella*, Associated Risk and Clinical Features". *Biol Med Res*. 2014; 5(4): 4582-4585.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
LOT	Número de lote		Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra	REF	Número de referencia
Control	Control Positivo	Control	Control Negativo



