

|                                   |            |         |       |
|-----------------------------------|------------|---------|-------|
| <b>Product Instructions</b>       | English:   | pages   | 2-10  |
| <b>Mode d'emploi</b>              | Français:  | pages   | 11-19 |
| <b>Gebrauchsanweisung</b>         | Deutsch:   | Seiten  | 20-28 |
| <b>Istruzioni per il prodotto</b> | Italiano:  | pagine  | 29-37 |
| <b>Instruções</b>                 | Português: | páginas | 38-47 |
| <b>Instrucciones</b>              | Español:   | páginas | 48-56 |

# NOW<sup>®</sup>

*Legionella*

Urinary Antigen Test

Test d'antigène urinaire

Urin-Antigentest

Prova Urinaria Dell'Antigene

Teste de Antigénio na Urina

Prueba Urinaria Del Antígeno

**binax<sup>®</sup>**

Vital Answers For  
Better Health...NOW<sup>®</sup>

CE

EC REP

EMERGO EUROPE  
P.O. BOX 18510  
2502 EM THE HAGUE  
THE NETHERLANDS

## INTENDED USE

The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test is an *in vitro* rapid immunochromatographic assay for the qualitative detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen (*L. pneumophila* serogroup 1 antigen) in urine specimens from patients with symptoms of pneumonia. It is intended to aid in the presumptive diagnosis of *Legionella* infection (Legionnaires' Disease) caused by *L. pneumophila* serogroup 1 in conjunction with culture and other methods.

## SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Legionnaires' Disease, named after the outbreak in 1976 at the American Legion convention in Philadelphia, is caused by *Legionella pneumophila* and is characterized as an acute febrile respiratory illness ranging in severity from mild illness to fatal pneumonia.<sup>1</sup> The disease occurs in both epidemic and endemic forms and sporadic cases are not easily differentiated from other respiratory infections by clinical symptoms. An estimated 25,000<sup>2</sup> to 100,000<sup>3</sup> cases of *Legionella* infection occur in the United States annually. The resulting mortality rate, ranging from 25% to 40%<sup>2</sup>, can be lowered if the disease is diagnosed rapidly and appropriate antimicrobial therapy is instituted early. Known risk factors include immunosuppression, cigarette smoking, alcohol consumption and concomitant pulmonary disease.<sup>2</sup> The young and the elderly are particularly susceptible.<sup>4,6</sup>

*Legionella pneumophila* is responsible for 80-90% of reported cases of *Legionella* infection with serogroup 1 accounting for greater than 70% of all legionellosis.<sup>2,7,8</sup> Current methods for the laboratory detection of pneumonia caused by *Legionella pneumophila* require a respiratory specimen (e.g. expectorated sputum, bronchial washing, transtracheal aspirate, lung biopsy) or paired sera (acute and convalescent) for an accurate diagnosis. These techniques include *Legionella* culture, direct fluorescent antibody (DFA), DNA probe, and indirect fluorescent antibody (IFA). All of these rely on either obtaining an adequate respiratory specimen for sufficient sensitivity, or collecting sera at a two to six week interval. Unfortunately, one of the presenting signs of patients with Legionnaires' Disease is the relative lack of productive sputum.<sup>8,9</sup> In many patients, this necessitates the use of an invasive procedure to obtain a respiratory specimen. Diagnosis by serological techniques is usually retrospective in nature, and even then, patient compliance in obtaining the necessary samples is poor.

The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test allows for early diagnosis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 infection through detection of a specific soluble antigen present in the urine of patients with Legionnaires' Disease.<sup>10-14</sup> *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen has been detected in urine as early as three days after the onset of symptoms.<sup>15</sup> The test is rapid, giving a result within 15 minutes, and utilizes a urine specimen which is convenient for collection, transport, and subsequent detection of early, as well as later, stages of disease.<sup>15</sup>

## PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test is an immunochromatographic membrane assay to detect *Legionella pneumophila* serogroup 1 soluble antigen in human urine. Rabbit anti-*Legionella pneumophila* serogroup 1 antibody, the patient line, is

adsorbed onto nitrocellulose membrane. Goat anti-rabbit IgG, the control line, is adsorbed onto the same membrane as a second stripe. Rabbit anti-*Legionella pneumophila* serogroup 1 antibodies are conjugated to visualizing particles that are dried onto an inert fibrous support. The resulting conjugate pad and the striped membrane are combined to construct the test strip. This test strip and a well to hold the swab specimen are mounted on opposite sides of a hinged, book-shaped test device.

To perform the test, a swab is dipped into the urine specimen, removed, and then inserted into the test device. Reagent A is added from a dropper bottle. The device is then closed, bringing the sample into contact with the test strip. *L. pneumophila* serogroup 1 urinary antigen captured by immobilized anti-*L. pneumophila* serogroup 1 antibody reacts to bind conjugated antibody. Immobilized goat anti-rabbit IgG also captures visualizing conjugate, forming the control line. A positive test result is read visually in 15 minutes or less depending on the concentration of antigen present in the urine specimen. A negative Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test result, read in 15 minutes, indicates that *L. pneumophila* serogroup 1 antigen was not detected in the urine sample.

The test is interpreted by the presence or absence of visually detectable pink-to-purple colored lines. A positive result will include the detection of both a patient and a control line, while a negative assay will produce only the control line. Failure of the control line to appear, whether the patient line is present or not, indicates an invalid assay.

## REAGENTS AND MATERIALS

### Materials Provided

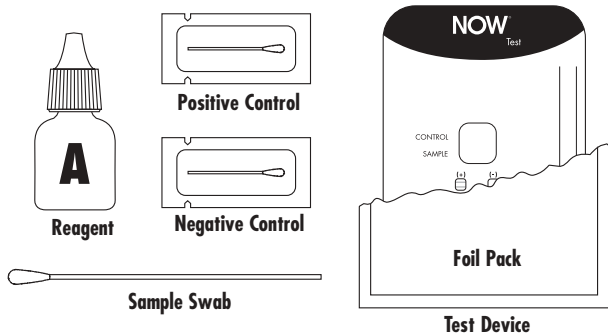
**Test Devices:** A membrane coated with rabbit antibody specific for *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen and with goat anti-rabbit IgG is combined with rabbit anti-*Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen conjugate in a hinged test device.

**Reagent A** – Citrate / Phosphate with Tween 20 and Azide.

**Swabs** – Designed for use in the Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test. **Do not use other swabs.**

**Positive Control Swab** – Heat inactivated *L. pneumophila* dried onto swab.

**Negative Control Swab** – *L. pneumophila* negative swab.



## Materials Not Provided

clock, timer, or stopwatch, standard urine collection containers

## Accessory Item

Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Control Swab Pack containing 5 positive and 5 negative control swabs.

## PRECAUTIONS

1. INVALID RESULTS, indicated by no control line, can occur when an insufficient volume of Reagent A is added to the test device. To insure delivery of an adequate volume, hold vial vertically,  $\frac{1}{2}$  - 1 inch above the swab well, and add drops slowly.
2. For *In Vitro* Diagnostic Use.
3. The test device is sealed in a protective foil pouch. Do not use if pouch is damaged or open. Remove test device from pouch just prior to use. Do not touch the reaction area of the test device.
4. Do not use kit past its expiration date.
5. Do not mix components from different kit lots.
6. Swabs in the kit are approved for use in the Binax NOW® test. **Do not use other swabs.**
7. Solutions used to make the control swabs are inactivated using standard methods. However, patient samples, controls, and test devices should be handled as though they could transmit disease. Observe established precautions against microbial hazards.

## STORAGE AND STABILITY

Store kit at room temperature (59-86°F, 15-30°C). The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test kit and reagents are stable until the expiration dates marked on their outer packaging and containers. Do not use the kit beyond its labeled expiration date.



**59-86°F**  
**15-30°C**  
**STORAGE**  
**TEMPERATURE**

## SPECIMEN COLLECTION

Urine specimens should be collected in standard containers. The samples can be stored at room temperature (59-86°F, 15-30°C) if assayed within 24 hours of collection. Alternatively, specimens may be stored at 2-8°C for up to 14 days or at -10°C to -20°C for longer periods before testing. Boric acid may be used as a preservative.

When necessary, urine specimens should be shipped in leakproof containers at 2-8°C or frozen.

Allow all specimens to equilibrate to room temperature before testing in the Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test.

## QUALITY CONTROL

### Daily Quality Control:

The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test contains built-in control features. The manufacturer's recommendation for daily quality control is to document these controls for each sample run.

### Positive Procedural Control

The pink-to-purple line at the "Control" position can be considered an internal positive procedural control. If capillary flow has occurred, this line will always appear.

### Negative Procedural Control

The clearing of background color in the result window provides a negative background control. The background color in the window should be light pink to white within 15 minutes and should not interfere with the reading of the test result.

### External Positive and Negative Controls:

Good Laboratory Practice recommends the use of positive and negative controls to assure functionality of reagents and proper performance of assay procedure. Positive and negative control swabs that will monitor the entire assay are provided in the kit. Additional Binax NOW® *Legionella* Positive and Negative Control Swabs are available separately. Alternatively, additional controls may be tested according to the guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or of accrediting organizations. To use liquid urine controls, simply process as you would a patient sample.

Positive and negative controls should be tested once for each new test kit opened and as otherwise required by your laboratory's standard quality control procedures.

If expected control results are not obtained, do not report patient results. Repeat control testing or contact Binax Technical Service by phone at **1-800-323-3199** or by facsimile at **1-207-761-2074**.

## ASSAY PROCEDURE

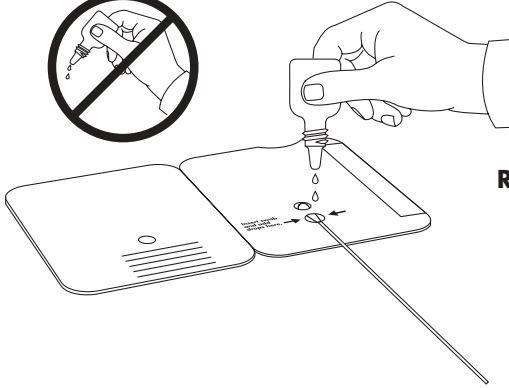
### Procedure for Patient Samples (and liquid urine controls):

Do not remove device from pouch until test sample has reached room temperature.

1. Bring patient urine and/or liquid urine control(s) to room temperature (59-86°F, 15-30°C). Remove device from its pouch **just before use** and lay flat.
2. Dip a Binax swab into the urine sample to be tested, completely covering the swab head. If the swab drips, touch swab to side of urine container to remove excess liquid.
3. There are two holes on the inner right panel of the device. Insert swab into the **BOTTOM** hole (swab well). Firmly push upwards so that the swab tip is fully visible in the top hole. **DO NOT REMOVE SWAB.**
4. Hold Reagent A vial vertically, 1/2 to 1 inch above the device. Slowly add **two (2)** free falling drops of **Reagent A** to the **BOTTOM** hole.
5. Immediately peel off adhesive liner from the right edge of the test device. Close and securely seal the device. Read result in window 15 minutes after closing the device.

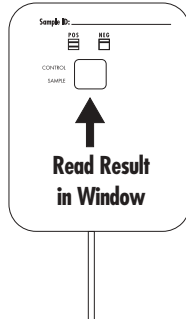
Results read beyond 15 minutes may be inaccurate. However, some positive patients may produce a visible sample line in less than 15 minutes.

**WRONG**



**RIGHT**

NOTE: For convenience, the swab shaft has been scored and may be snapped off **after** closing the device. Avoid dislodging the swab from the well when doing so.



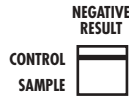
### **Procedure for Binax NOW® Swab Controls:**

Remove device from the pouch **just before use**. Lay device flat and run test as follows:

1. There are two holes on the inner right panel of the device. Insert swab into the **BOTTOM** hole. Firmly push upwards so that the swab tip is fully visible in the top hole. **DO NOT REMOVE SWAB.**
2. Hold Reagent A vial vertically,  $\frac{1}{2}$  to 1 inch above the device. Slowly add **six (6)** free falling drops of **Reagent A** to the **BOTTOM** hole.
3. Immediately peel off adhesive liner from the right edge of the test device. Close and securely seal the device. Read result in window 15 minutes after closing the device. Results read beyond 15 minutes may be inaccurate. However, the positive control swab sample line may be visible in less than 15 minutes.

## INTERPRETATION OF RESULTS

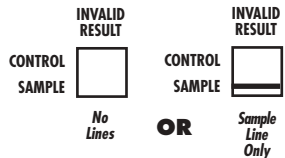
A **negative sample** will give a single pink-to-purple colored Control Line in the top half of the window, indicating a presumptive negative result. This Control Line means that the detection part of the test was done correctly, but no *L. pneumophila* serogroup 1 antigen was detected.



A **positive sample** will give two pink-to-purple colored lines. This means that antigen was detected. Specimens with low levels of antigen may give a faint Sample Line. **Any visible line is positive.**



If no lines are seen, or if just the Sample Line is seen, the assay is **invalid**. Invalid tests should be repeated. If the problem persists, contact Binax Technical Service by phone at **1-800-323-3199** or by facsimile at **1-207-761-2074**.



## REPORTING OF RESULTS

### Result Recommended Report

Positive Presumptive positive for *L. pneumophila* serogroup 1 antigen in urine, suggesting current or past infection.

Negative Presumptive negative for *L. pneumophila* serogroup 1 antigen in urine, suggesting no recent or current infection. Infection due to *Legionella* cannot be ruled out since other serogroups and species may cause disease, antigen may not be present in urine in early infection, and the level of antigen present in the urine may be below the detection limit of the test.

## LIMITATIONS

The Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test has been validated using urine samples only. Other samples (e.g., plasma, serum or other body fluids) that may contain *Legionella* antigen have not been evaluated. The test cannot be used on environmental samples (i.e. potable water).

This test will not detect infections caused by other *L. pneumophila* serogroups and by other *Legionella* species. A negative antigen result does not exclude infection with *L. pneumophila* serogroup 1. Culture is recommended for suspected pneumonia to detect causative agents other than *L. pneumophila* serogroup 1 and to recover *L. pneumophila* serogroup 1 when antigen is not detected in urine.

The diagnosis of Legionnaires' disease cannot be based on clinical or radiological evidence alone. There is no single satisfactory laboratory test for Legionnaires' disease. Therefore, culture results, serology and antigen detection methods should be used in conjunction with clinical findings to make an accurate diagnosis.

Excretion of *Legionella* antigen in urine may vary depending on the individual patient. Antigen excretion may begin as early as 3 days after onset of symptoms and persist for up to 1 year afterwards.<sup>15</sup> A positive Binax NOW<sup>®</sup> *Legionella* Urinary Antigen Test result can occur due to current or past infection and therefore is not definitive for infection without other supporting evidence.

Performance of the NOW<sup>®</sup> test on diuretic urine has not been evaluated.

The Binax NOW<sup>®</sup> *Legionella* Urinary Antigen Test has been evaluated on hospitalized patients only. An outpatient population has not been tested.

## PERFORMANCE DATA

### Clinical Sensitivity and Specificity (Retrospective Study):

The Binax NOW<sup>®</sup> *Legionella* Urinary Antigen Test was used to evaluate 300 frozen archived patient urine specimens at a large University. One hundred (100) of these patients were positive for *Legionella pneumophila* serogroup 1 infection as determined by culture, DFA, RIA and/or IFA (4X titer).

Overall agreement of the NOW<sup>®</sup> test with laboratory diagnosis was 95%. Sensitivity and specificity were each 95%. Ninety five percent (95%) confidence intervals are listed below:

|                                       |   | Laboratory Diagnosis |     |                    |                              |
|---------------------------------------|---|----------------------|-----|--------------------|------------------------------|
|                                       |   | +                    | -   |                    |                              |
| <b>NOW<sup>®</sup> +<br/>Result -</b> | + | 95                   | 10  | <b>Sensitivity</b> | = <b>95%</b> (88.7% - 98.4%) |
|                                       | - | 5                    | 190 | <b>Specificity</b> | = <b>95%</b> (91.0% - 97.6%) |
|                                       |   |                      |     | <b>Accuracy</b>    | = <b>95%</b> (91.9% - 97.2%) |

### Clinical Specificity (Prospective Study):

In a multi-site study, 93 fresh urine specimens collected from hospitalized patients with lower respiratory symptoms or sepsis were tested in the Binax NOW<sup>®</sup> test. One hundred percent (100%) of these presumed negative patients produced negative NOW<sup>®</sup> test results, indicating that the Binax NOW<sup>®</sup> *Legionella* Urinary Antigen Test is highly specific in the population for which it is intended.

### Cross-Reactivity:

Of the 200 negative urine specimens tested, 85 were from patients with bacteremic pneumonia (other than *Legionella* spp.), 84 with urinary tract infections, 14 with mycobacterial infections, 5 with empyema, 11 with other pulmonary conditions, and 1 with pneumonia caused by a transtracheal aspirate.

One hundred ninety (190) of these patient specimens produced negative results in the NOW<sup>®</sup> test yielding a specificity of 95%.

### Reproducibility Study:

A blind study of the Binax NOW<sup>®</sup> *Legionella* Urinary Antigen Test was conducted at 3 separate sites using a panel of coded specimens. The proficiency panels contained negative, low positive, moderate positive, and high positive specimens. Specimens both with

and without boric acid were tested. Each specimen was tested multiple times at each site on 3 different days. Six hundred twenty-nine (629) of the 630 total specimens tested produced the expected result.

## REFERENCES

1. Fraser, D.W., T.R. Tsai, W. Orenstein, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beecham, R.G. Sharrar, J. Harris, G.F. Mallison, S. M. Martin, J.E. McDade, C.C. Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 1977;297:1189-1197.
2. Marston, B.J., H.B. Lipman, R. F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch. Intern. Med.* 1994;154:2417-2422.
3. Horwitz, M. A., B.J. Marston, C.V. Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4<sup>th</sup> International Symposium on *Legionella*, 1992. In: Barbaree, J. M., R.F. Breiman, and A. P. DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.
4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella* pneumonia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1988;4:475-595.
5. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et. al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest.* 1991;99:344-50.
6. Carretala, J., F. Gudiol, R. Pelleres, et. al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 1994;149:625-9.
7. Reingold, A.L., B.M. Thomason, B.J. Brake, L. Thacker, H.W. Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella* pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J. Infect. Dis.* 1984;149:819.
8. Stout, J.E., V.L. Yu. Legionellosis. *New Eng. J. of Medicine.* 1997;337:682-7.
9. Edelstein, P.H. Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16:741-9.
10. Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J. Clin. Microbiol.* 1979;9:575-578.
11. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Intern. Med.* 1979;90:697-698.
12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D. Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. *Ann. Intern. Med.* 1981;94:601-605.
13. Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:478-482.
14. Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J. Clin. Microbiol.* 1986;24:556-558.
15. Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:605-607.

## ORDERING INFORMATION

### Reorder numbers:

852-012: Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test (12 test kit)

852-000: Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Test (22 test kit)

852-010: Binax NOW® *Legionella* Urinary Antigen Control Swab Pack

### Contact Information:

Binax, Inc., 217 Read Street, Portland, ME 04103 USA

**TEL:** 207-772-3988 or 800-323-3199

**FAX:** 207-761-2074

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)



Binax, Inc.  
217 Read Street  
Portland, Maine 04103 USA  
TEL: 1-207-772-3988 or 1-800-323-3199  
FAX: 1-207-761-2074  
[www.binax.com](http://www.binax.com)

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® est un test immunochromatographique rapide, *in vitro*, pour la détection qualitative de l'antigène de sérotype 1 de *L. pneumophila* dans les échantillons d'urine prélevés chez des patients présentant des symptômes de pneumonie. Il est conçu pour faciliter le diagnostic de présomption d'infection à *Legionella pneumophila* (maladie du légionnaire) causée par le sérotype 1 de *L. pneumophila*, conjointement avec la mise en culture et les autres méthodes disponibles.

## RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La maladie du légionnaire, qui tire son nom d'une épidémie parmi les membres d'un congrès de l'American Legion, à Philadelphie, en 1976, est causée par *Legionella pneumophila* et se caractérise par une affection respiratoire aiguë et fébrile dont la gravité va d'une maladie peu sévère à une pneumonie mortelle.<sup>1</sup> La maladie se manifeste à la fois de façon épidémique et endémique et il n'est pas facile, à l'aide des symptômes cliniques, de différencier les cas sporadiques des autres infections respiratoires. On estime à 25.000<sup>2</sup> à 100.000<sup>3</sup> le nombre de cas d'infections à *Legionella pneumophila* chaque année aux États-Unis. Le taux de mortalité correspondant - entre 25 et 40 %<sup>2</sup> - peut être abaissé si la maladie est diagnostiquée rapidement, avec mise en place précoce d'un traitement antimicrobien approprié. Les facteurs de risque connus sont notamment l'immunosuppression, le tabagisme, l'alcoolisme et les affections pulmonaires concomitantes.<sup>2</sup> Les personnes âgées sont particulièrement sensibles.<sup>4,6</sup>

*Legionella pneumophila* est responsable de 80 à 90 % des cas connus d'infection à *L. pneumophila* dont le sérotype 1 représente plus de 70 % de toutes les légionelloses.<sup>2,7,8</sup> Les méthodes de détection en laboratoire actuelles de la pneumonie à *L. pneumophila* nécessitent, pour un diagnostic exact, un échantillon respiratoire (p. ex., une expectoration, un lavage bronchique, une aspiration transtrachéale ou une biopsie pulmonaire) ou des sérums appariés (en phase aiguë et en convalescence). Ces techniques sont notamment la culture de *Legionella pneumophila*, l'immunofluorescence directe, les techniques à sonde ADN et l'immunofluorescence indirecte. Toutes ces techniques sont tributaires de l'obtention d'un échantillon respiratoire adéquat pour une sensibilité suffisante ou du prélèvement de sérums à un intervalle de deux à six semaines. Malheureusement, la maladie du légionnaire se caractérise par une absence relative d'expectoration productive.<sup>8,9</sup> Chez de nombreux patients, il est nécessaire de recourir à une procédure invasive pour obtenir un échantillon respiratoire. Le diagnostic par les techniques sérologiques est, par nature, habituellement rétrospectif et, même dans ce cas, la collaboration des malades pour l'obtention des échantillons nécessaires est mauvaise.

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® permet le diagnostic précoce d'une infection à *Legionella pneumophila* de sérotype 1 par la détection d'un antigène spécifique soluble dans l'urine des patients atteints de la maladie du légionnaire.<sup>10-14</sup> La détection de l'antigène du sérotype 1 de *Legionella pneumophila* est possible trois jours seulement après l'apparition des symptômes.<sup>15</sup> Le test est

rapide (résultat obtenu en 15 minutes) et il utilise un échantillon d'urine, ce qui est commode pour le prélèvement, le transport et la détection des stades précoces et tardifs de la maladie.<sup>15</sup>

## PRINCIPES DE LA METHODE

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW<sup>®</sup> est un test immunochromatographique sur membrane, conçu pour la détection, dans l'urine humaine, de l'antigène soluble du sérotype 1 de *Legionella pneumophila*. Des anticorps de lapin anti-*Legionella pneumophila* de sérotype 1 sont adsorbés sur une membrane de nitrocellulose sous forme d'une ligne échantillon. Des IgG de chèvre anti-lapin sont adsorbés sur la même membrane sous forme d'une ligne de contrôle. Les anticorps de lapin anti-*Legionella pneumophila* de sérotype 1 sont conjugués à un marqueur séché sur un support fibreux inerte. Les anticorps conjugués et la membrane forment la bandelette réactive. Cette bandelette réactive et un puits prévu pour contenir l'écouvillon échantillon sont montés de chaque côté d'une carte-test, en forme de livre, articulée autour d'une charnière.

Pour accomplir ce test, on trempe un écouvillon dans l'échantillon d'urine, on le retire, puis on l'insère dans la carte-test. Le réactif A est ajouté à l'aide d'un flacon compte-gouttes. La carte-test est ensuite fermée, mettant en contact l'échantillon et la bandelette réactive. L'antigène de *Legionella pneumophila* sérotype 1 présent dans l'échantillon va se lier avec l'anticorps conjugué et est capturé par l'anticorps anti *Legionella* sérotype 1 immobilisé. L'excès d'anticorps de lapin marqués se fixe au niveau des IgG de chèvre anti-lapin immobilisées pour former la ligne de contrôle. Un résultat de test positif s'obtient visuellement en 15 minutes ou moins suivant la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon d'urine. Un résultat négatif pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW<sup>®</sup> au bout de 15 minutes indique que l'antigène du sérotype 1 de *L. pneumophila* n'a pas été détecté dans l'échantillon d'urine.

Le test s'interprète par la présence ou l'absence de lignes colorées visibles, allant du rose au pourpre. La ligne échantillon et la ligne de contrôle sont colorées si le test est positif alors que seule la ligne de contrôle est colorée si le test est négatif. L'essai n'est pas valide si la ligne de contrôle n'apparaît pas, même si la ligne échantillon est visible.

## RÉACTIFS ET MATÉRIEL

### Matériel fourni

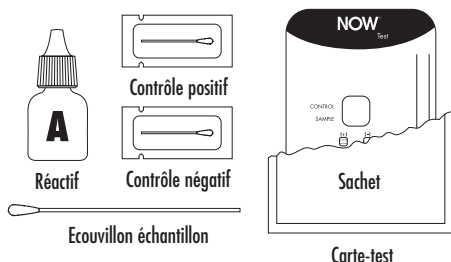
Cartes tests : une membrane revêtue d'anticorps de lapin spécifiques de l'antigène du sérotype 1 de *Legionella pneumophila* et d'IgG de chèvre anti-lapin est associée à des anticorps de lapin anti-sérotype 1 de *Legionella pneumophila* marqués dans une carte-test à charnière.

Réactif A – citrate / phosphate avec Tween 20 et azide de sodium

Écouvillons – conçus pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW<sup>®</sup>. **Ne pas utiliser d'autres écouvillons.**

Écouvillon contrôle positif- *L. pneumophila* inactivée à la chaleur et séchée sur un écouvillon

Écouvillon contrôle négatif- Écouvillon sans *L.pneumophila*



### Matériel non fourni

Horloge, minuterie ou chronomètre, récipients de collecte d'urine standards.

### Accessoires

Lot d'écouvillons de contrôle pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® (réf. FR59711) contenant 5 écouvillons de contrôle positifs et 5 écouvillons de contrôle négatifs.

## PRÉCAUTIONS

1. DES RÉSULTATS NON VALIDES, indiqués par l'absence de ligne de contrôle, peuvent être obtenus quand le volume de Réactif A ajouté à la carte-test est insuffisant. Pour distribuer un volume adéquat, tenir le flacon verticalement 1,5 à 2,5 cm au-dessus du puits à écouvillon, puis laisser tomber lentement les gouttes.
2. À usage diagnostique *in vitro*.
3. La carte-test est conditionnée hermétiquement sous poche protectrice. Ne pas utiliser si le conditionnement est endommagé ou ouvert. Déballez la carte-test juste avant l'emploi. Ne pas toucher la zone réactive de la carte-test.
4. Ne pas utiliser la trousse après la date de péremption.
5. Ne pas mélanger les constituants de différentes trouses.
6. Les écouvillons de cette trousse sont homologués pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW®. **Ne pas utiliser d'autres écouvillons.**
7. Les solutions utilisées pour fabriquer les écouvillons de contrôle sont inactivées selon les méthodes standards. Cependant, les échantillons cliniques, les contrôles et les cartes-tests doivent être manipulés comme des agents potentiellement infectieux. Respecter les précautions universelles de prévention des risques biologiques.

## CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver la trousse à la température du laboratoire (15 à 30 °C). La trousse et les réactifs du test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® *Legionella* sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Ne pas utiliser la trousse après la date de péremption indiquée sur l'emballage.



**59 à 86 °F**  
**15 à 30 °C**  
**TEMPERATURE DE**  
**CONSERVATION**

## PRELEVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Prélever les échantillons d'urine dans des récipients standards. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante (15 à 30 °C) si le test est effectué dans les 24 heures suivant le prélèvement. Sinon, les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 14 jours ou entre -10 et -20 °C pendant de plus longues périodes avant d'être testés. L'acide borique peut être utilisé comme agent de conservation.

Le cas échéant, les échantillons d'urine peuvent être expédiés dans des récipients étanches entre 2 et 8 °C ou congelés.

Laisser tous les échantillons s'équilibrer à température ambiante avant de les analyser avec le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW®.

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

### Contrôle de qualité quotidien

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® contient des dispositifs de contrôle intégrés. Le fabricant recommande de noter le résultat du contrôle de qualité journalier pour chaque échantillon testé.

### Contrôle positif

La ligne colorée, allant du rose au pourpre, à la position « contrôle » peut être considérée comme un contrôle positif interne. L'apparition de cette ligne atteste le flux capillaire.

### Contrôle négatif

La décoloration de l'arrière plan dans la fenêtre de lecture constitue un contrôle d'arrière-plan négatif. La couleur de l'arrière-plan de la fenêtre de lecture doit se situer entre rose-pâle et blanc dans l'intervalle de lecture de 15 minutes et ne pas interférer avec la lecture des résultats du test.

### Contrôles positifs et négatifs externes

Les bonnes pratiques de laboratoire préconisent l'utilisation de contrôles positifs et négatifs pour attester la fonctionnalité des réactifs et la bonne exécution de la procédure de test. Les écouvillons de contrôle positif et négatif du test sont fournis avec la trousse. Des écouvillons de contrôle pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila*

Binax NOW® sont disponibles séparément (réf. FR59711). Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux directives des réglementations nationales ou internationales ou des organismes d'accréditation. Traiter un contrôle urinaire liquide de la même façon qu'un échantillon clinique.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être testés une fois à l'ouverture d'une nouvelle trousse en utilisant les procédures de contrôle de la qualité standards en vigueur dans le laboratoire.

Si les résultats de contrôle ne sont pas conformes, ne pas prendre en compte les résultats des échantillons cliniques. Tester de nouveau les contrôles ou contacter le service technique OXOID par téléphone au **04 72 52 33 73** ou par télécopie au **04 78 66 03 76**.

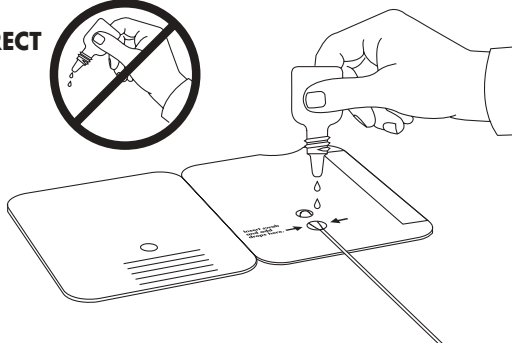
## PROCEDURE DE TEST

### Échantillons cliniques (et contrôles urinaires liquides) :

Ne pas déballer la carte-test avant que l'échantillon à tester soit parvenu à température ambiante.

1. Laisser l'échantillon d'urine et/ou les contrôles urinaires liquides s'équilibrer à température ambiante (15 à 30 °C). **Déballer la carte-test immédiatement avant l'emploi et la poser à plat.**
2. Tremper un écouvillon Binax dans l'échantillon d'urine à tester, en humectant complètement la tête de l'écouvillon. Si l'écouvillon goutte, plaquer l'écouvillon contre la paroi du récipient d'urine pour exprimer l'excédent de liquide.
3. Le panneau intérieur droit de la carte comporte deux trous. Insérer l'écouvillon dans le trou **INFERIEUR** (puits à écouvillon). Pousser fermement vers le haut jusqu'à ce que l'extrémité de l'écouvillon soit entièrement visible dans le trou supérieur. **NE PAS RETIRER L'ECOUVILLON.**
4. Tenir le flacon de Réactif A verticalement 1,5 à 2,5 cm au-dessus de la carte-test. Laisser tomber lentement deux **(2) gouttes de Réactif A** dans le trou **INFERIEUR**.
5. Décoller immédiatement le revêtement protecteur à partir du bord droit de la carte-test. Fermer hermétiquement la carte-test. Lire le résultat dans la fenêtre de lecture 15 minutes après avoir fermé la carte-test. Les résultats interprétés après plus de 15 minutes peuvent s'avérer inexacts. Cependant, certains prélèvements positifs peuvent produire une ligne échantillon visible en moins de 15 minutes.

**INCORRECT**



**CORRECT**

REMARQUE : Par commodité, le corps de l'écouvillon a été rainuré pour pouvoir être brisé **après** fermeture de la carte-test. Éviter de faire sortir l'écouvillon du puits en effectuant cette opération.



### Écouvillons de contrôle Binax NOW® :

Déballer la carte-test immédiatement avant l'emploi. Poser la carte-test à plat et effectuer le test comme suit :

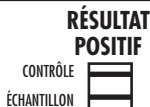
1. Le panneau intérieur droit de la carte comporte deux trous. Insérer l'écouvillon dans le trou **INFÉRIEUR**. Pousser fermement vers le haut jusqu'à ce que l'extrémité de l'écouvillon soit entièrement visible dans le trou supérieur. **NE PAS RETIRER L'ÉCOUVILLON.**
2. Tenir le flacon de Réactif A verticalement 1,5 à 2,5 cm au-dessus du dispositif. Laisser tomber lentement **six (6) gouttes de Réactif A** dans le trou **INFÉRIEUR**.
3. Décoller immédiatement le revêtement protecteur à partir du bord droit de la carte-test. Fermer hermétiquement la carte-test. Lire le résultat dans la fenêtre de lecture 15 minutes après avoir fermé la carte-test. Les résultats interprétés après plus de 15 minutes peuvent s'avérer inexacts. Cependant, la ligne échantillon de l'écouvillon de contrôle positif peut être visible en moins de 15 minutes.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

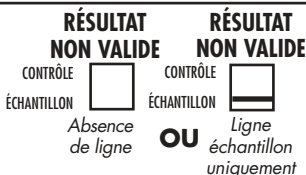
La présence d'une seule ligne de contrôle colorée, allant du rose au pourpre, dans la moitié supérieure de la fenêtre, indique la présomption d'un échantillon négatif. Cette ligne de contrôle signifie que la détection s'est déroulée normalement, mais qu'aucun antigène du sérotype 1 de *L. pneumophila* n'a été détecté.



Un échantillon positif produit deux lignes colorées allant du rose à pourpre. Ceci signifie que l'antigène a été détecté. Les échantillons contenant une faible concentration d'antigène peuvent produire une ligne échantillon pâle. Toute ligne visible est positive.



Si aucune ligne n'est visible ou si seule la ligne échantillon est visible, le test n'est pas valide. Un test non valide doit être répété. Si le problème persiste, contacter le service technique OXOID au **04 72 52 33 73** ou par fax au **04 78 66 03 76**.



## COMPTE-RENDU DES RÉSULTATS

### Résultat    Recommandations

Positif: Diagnostic présomptif positif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *L. pneumophila* suggérant une infection en cours ou passée.

Négatif: Diagnostic présomptif négatif pour l'antigène urinaire du séro groupe 1 de *L. pneumophila* ne suggérant aucune infection en cours ou passée. Une infection à *Legionella pneumophila* ne peut être exclue car d'autres sérogroupes et espèces peuvent causer cette maladie. L'antigène peut également être absent de l'urine aux stades précoces de l'infection ou s'y trouver à une concentration inférieure à la limite de détection du test.

## LIMITES DU TEST

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® n'a été validé que sur des échantillons d'urine. Les autres échantillons (p. ex., plasma, sérum ou autres liquides organiques) pouvant contenir l'antigène de *Legionella pneumophila* n'ont pas été évalués. Ce test ne peut pas être utilisé pour les antigènes de l'environnement (p. ex., eau potable).

Ce test ne permet pas de diagnostiquer les infections à autres sérogroupes de *Legionella pneumophila* et autres espèces de *Legionella*. Un résultat antigène négatif n'exclut pas une infection à *L. pneumophila* de séro groupe 1. La mise en culture est recommandée en cas de suspicion de pneumonie afin de détecter les agents pathogènes autres que le *L. pneumophila* de séro groupe 1 et d'isoler *L. pneumophila* de séro groupe 1 lorsque l'antigène n'est pas détecté dans l'urine.

Le diagnostic de la maladie du légionnaire ne peut pas se fonder uniquement sur des justifications cliniques ou radiologiques. Il n'existe pas de test de laboratoire unique et satisfaisant pour la détection de la maladie du légionnaire. Par conséquent, l'établissement d'un diagnostic exact suppose l'utilisation conjointe des résultats de ce test et des résultats obtenus par mise en culture, sérologie ou autres méthodes de détection des antigènes.

L'excrétion urinaire des antigènes de *Legionella pneumophila* peut varier d'un individu à l'autre. L'excrétion d'antigènes peut commencer dès le 3ème jour suivant l'apparition des symptômes et persister pendant plus d'un an.<sup>15</sup> Un résultat positif pour le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® peut être dû à une infection en cours ou passée et, par conséquent n'atteste pas d'une infection évolutive en l'absence d'autres éléments de preuve.

Les performances du test NOW® n'ont pas été évaluées sur l'urine diurétique.

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® n'a été évalué que sur l'urine de patients hospitalisés. Il n'a pas été testé chez des patients non hospitalisés.

## PERFORMANCES DU TEST

### Sensibilité et spécificité cliniques (étude rétrospective)

Le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® a été utilisé pour évaluer 300 échantillons cliniques d'urine congelés, conservés dans un laboratoire uni-

versitaire. 100 échantillons étaient positifs pour l'infection à *Legionella pneumophila* de sérotype 1, déterminée par mise en culture, immunofluorescence directe, radio-immunosoréaction et/ou immunofluorescence indirecte (titre 4X).

La concordance globale du test NOW® avec le diagnostic de laboratoire était de 95 %. La sensibilité et la spécificité étaient chacune de 95 %. Les intervalles de confiance à 95 % sont les suivants :

|            |  | Diagnostic en laboratoire |     |  |
|------------|--|---------------------------|-----|--|
|            |  | +                         | -   |  |
| NOW® +     |  | 95                        | 10  | <b>Sensibilité = 95%</b> (88,7% - 98,4%) |
| Résultat - |  | 5                         | 190 | <b>Spécificité = 95%</b> (91,0% - 97,6%) |
|            |  |                           |     | <b>Exactitude = 95%</b> (91,9% - 97,2%)  |

### Spécificité clinique (étude prospective)

Dans une étude multicentrique, 93 échantillons d'urine fraîchement collectée chez des patients hospitalisés présentant des signes d'infection des voies respiratoires inférieures ou de sepsie ont été testés à l'aide de Binax NOW®. 100 % des diagnostics de présomption négatif ont conduit à un résultat négatif par le test NOW®, ce qui indique que le test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® est hautement spécifique dans la population pour laquelle il est prévu.

### Réactivité croisée

Sur les 200 échantillons d'urine négatifs testés, 85 provenaient de cas de pneumonie bactériémique (autre que *Legionella* spp.), 84 d'infections des voies urinaires, 14 d'infections mycobactériennes, 5 d'empyème, 11 d'autres troubles pulmonaires et 1 de pneumonie consécutive à une aspiration transtrachéale.

190 de ces échantillons cliniques ont produit des résultats négatifs avec le test NOW®, soit une spécificité de 95 %.

### Reproductibilité

Une étude en aveugle du test d'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* Binax NOW® a été réalisée dans 3 centres investigateurs distincts en utilisant un panel d'échantillons codés. Les panels de compétence contenaient des échantillons négatifs, faiblement positifs, modérément positifs et hautement positifs. Les échantillons ont été testés avec ou sans acide borique. Chaque échantillon a été testé plusieurs fois dans chaque centre, sur 3 jours différents. 629 échantillons sur les 630 échantillons testés ont produit le résultat escompté.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Fraser, D.W., T.R. Tsai, W. Orenstein, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beecham, R.G. Sharrar, J. Harris, G.F. Mallison, S. M. Martin, J.E. McDade, C.C. Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N. Engl. J. Med. 1977;297:1189-1197.
2. Marston, B.J., H.B. Lipman, R. F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. Arch. Intern. Med. 1994;154:2417-2422.
3. Horwitz, M. A., B.J. Marston, C.V. Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4th International Symposium on *Legionella*, 1992. In:

- Barbaree, J. M., R.F. Breiman, and A. P. DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.
4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella pneumoniae*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1988;4:47S-59S.
  5. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et. al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumoniaes. *Chest.* 1991;99:344-50.
  6. Carretal, J., F. Gudiol, R. Pelleres, et. al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila pneumoniae*. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 1994;149:625-9.
  7. Reingold, A.L., B.M. Thomason, B.J. Brake, L. Thacker, H.W. Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella pneumoniae* in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J. Infect. Dis.* 1984;149:819.
  8. Stout, J.E., V.L. Yu. Legionellosis. *New Eng. J. of Medicine.* 1997;337:682-7.
  9. Edelstein, P.H. Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16:741-9.
  10. B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J. Clin. Microbiol.* 1979;9:575-578.
  11. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Intern. Med.* 1979;90:697-698.
  12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D. Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. *Ann. Intern. Med.* 1981;94:601-605.
  13. Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:478-482.
  14. Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J. Clin. Microbiol.* 1986;24:556-558.
  15. Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:605-607.

## POUR COMMANDER

### Références à commander :

- FR59091: le test urinaire Binax NOW® *Legionella* (trousse de 12 tests)  
FR59092: le test urinaire Binax NOW® *Legionella* (trousse de 22 tests)  
FR59711: lot d'écouvillons de contrôle pour le test urinaire Binax NOW® *Legionella*

Fabricant: Binax, Inc., 217 Read Street, Portland, Maine 04103 États-Unis

**TÉL:** +1-207-772-3988

**FAX:** +1-207-761-2074

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)

### Distribué par:

OXOID

6, Route de Paisy

BP13

69571 Dardilly cedex

**Tél:** 04 72 52 33 70

**Fax:** 04 78 66 03 76

## ANWENDUNGEN

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest ist ein schneller chromatografischer *in-vitro* Immunoassay zur qualitativen Antigenerkennung von *Legionella pneumophila* der Serogruppe 1. (*L. pneumophila* Serogruppe 1 Antigen) in Urinproben von Patienten mit Symptomen einer Lungenentzündung. Der Test hilft bei der vorläufigen Diagnose einer *Legionella*-Infektion (Legionärskrankheit), verursacht durch *L. pneumophila* Antigen der Serogruppe 1 in Verbindung mit Kultur und anderen Methoden.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNGEN ZUM TEST

Die Legionärskrankheit, benannt nach einem Ausbruch der Krankheit 1976 bei einer Tagung der amerikanischen Kriegsveteranen in Philadelphia, wird durch *Legionella pneumophila* verursacht und äußert sich als akute, fieberartige Atemwegserkrankung mit mildem Verlauf bis hin zur tödlichen Lungenentzündung. Die Krankheit tritt sowohl epidemisch als auch endemisch auf und sporadische Fälle lassen sich anhand der klinischen Symptome nicht eindeutig von anderen Atemwegserkrankungen unterscheiden. Schätzungsweise 25.000 bis 100.000 Fälle von *Legionella*-Infektionen treten in den Vereinigten Staaten von Amerika jährlich auf. Die dabei übliche Sterblichkeitsrate von 25 bis 40 % lässt sich verringern, wenn die Krankheit schnell diagnostiziert und rechtzeitig eine geeignete antimikrobielle Therapie verordnet wird. Bekannte Risikofaktoren sind unter anderem Immunsuppression, Zigarettenrauchen, Alkoholkonsum und bestehende Lungenkrankheiten. Junge und alte Menschen sind besonders gefährdet.

80 bis 90 % aller bekannt gewordenen Fälle von Legionelleninfektionen gehen auf *Legionella pneumophila* zurück, wobei über 70 % der Fälle allein durch die Serogruppe 1 hervorgerufen werden.<sup>2,7,8</sup> Derzeitige Labormethoden für den Nachweis einer durch *Legionella pneumophila* hervorgerufenen Lungenentzündung erfordern, zur zuverlässigen Diagnosestellung eine Patientenprobe der Atemwege (z.B. Sputum, Bronchiallavage, Transtrachialaspirat, Lungenbiopsie) oder gepaarte Seren (akut und genesend). Diese Methoden umfassen das Anlegen von Kulturen, den direkten Fluoreszenz-Antikörper-Nachweis (DFA), den DNS-Nachweis und den indirekten Fluoreszenz-Antikörpertest (IFT). Alle diese Methoden beruhen entweder auf einer geeigneten respiratorischen Patientenprobe, um eine ausreichende Zuverlässigkeit sicherzustellen, oder auf mehreren Seren, die in Intervallen von zwei bis sechs Wochen entnommen wurden. Unglücklicherweise ist eines der Symptome der Legionärskrankheit mangelhafte Sputum-Produktion.<sup>8,9</sup> Daher ist es bei vielen Patienten nötig, eine invasive Probenentnahme durchzuführen. Die Diagnose mittels serologischem Nachweis ist oft nur retrospektiv, und das Einverständnis des Patienten zur Serumentnahme liegt oft nicht vor.

Der NOW® *Legionella* Urin-Antigentest von Binax ermöglicht die frühe Diagnose einer Infektion mit *Legionella pneumophila* Serogruppe 1 durch den Nachweis eines definierten löslichen Antigens im Urin von Patienten, die von der Legionärskrankheit betroffen sind.<sup>10-14</sup> Das Antigen von *Legionella pneumophila* der Serogruppe 1 wurde in früheren Fällen schon drei Tage nach Einsetzen der Symptome im Urin festgestellt.<sup>15</sup> Der Test zeigt das Ergebnis bereits nach 15 Minuten an und basiert auf Urintestung, die sich durch einfache Handhabung bei der Entnahme, dem Transport und dem anschließenden Nachweis von frühen und späten Stadien der Krankheit auszeichnet.<sup>15</sup>

## TESTPRINZIP

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest ist ein immunochromatografischer Membranassay zum Nachweis von löslichem *Legionella pneumophila* Antigen der Serogruppe 1 im menschlichen Urin. *Legionella-pneumophila*-Antikörper der Serogruppe 1 aus Kaninchen, der die Probenbande bildet, ist auf einer Nitrozellulosemembran absorbiert. Anti-Kaninchen IgG aus Ziege, das die Kontrollbande bildet, ist auf derselben Membran als ein zweiter Streifen absorbiert. Anti-*Legionella pneumophila* Antikörper der Serogruppe 1 aus Kaninchen werden an sichtbare Partikel, die auf einem inerten Faserträger getrocknet sind, konjugiert. Das daraus entstehende Konjugatkissen und die mit den Banden versehene Membran werden so zusammengefügt, dass sie einen Teststreifen ergeben. Dieser Teststreifen und eine Vertiefung, die zur Aufnahme des Probenutpfers dient, bilden ein durch ein Gelenk verbundenes, buchförmiges Testbesteck.

Zur Durchführung des Tests wird ein Abstrichtupfer in die Urinprobe getaucht, wieder herausgenommen und dann in das Testbesteck gesteckt. Reagens A wird aus einem Pipettenfläschchen hinzugegeben. Das Testbesteck wird dann geschlossen, wodurch die Probe mit der Testmembran in Kontakt gerät. Das Urin-Antigen von *L. pneumophila* der Serogruppe 1, das durch immobilisierte Anti- *L. pneumophila* Serogruppe 1 Antikörper eingefangen wird, reagiert, indem es konjugierte Antikörper bindet. Immobilisiertes Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG fängt ebenfalls Konjugat ein, wodurch sich eine sichtbare Kontrollbande bildet. Ein positives Testergebnis ist innerhalb von 15 Minuten ablesbar, abhängig von der Konzentration des Antigens in der Urinprobe. Ein nach 15 Minuten abgelesenes negatives Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigen Testergebnis zeigt an, dass das Antigen der *L. pneumophila* Serogruppe 1 in der Urinprobe nicht nachweisbar war.

Das Testergebnis wird durch das Vorhandensein oder die Abwesenheit von sichtbaren rosa bis violetten Banden interpretiert. Bei einem positiven Ergebnis erscheint sowohl die Patienten- als auch die Kontrollbande, während bei einem negativen Assay nur die Kontrollbande erscheint. Wenn die Kontrollbande nicht erscheint, ist der Test ungültig, unabhängig davon, ob die Patientenbande erscheint oder nicht.

## REAGENZIEN UND MATERIALIEN

### Lieferumfang

Testbestecke: Eine Membran, beschichtet mit Kaninchen-Antikörpern, spezifisch für das Antigen der *Legionella pneumophila* Serogruppe 1, und mit Ziegen-Anti-Kaninchen IgG, ist mit Kaninchen-Anti-*Legionella pneumophila* Serogruppe 1 Antigen-Konjugat in einem klappbaren Testbesteck zusammengefügt.

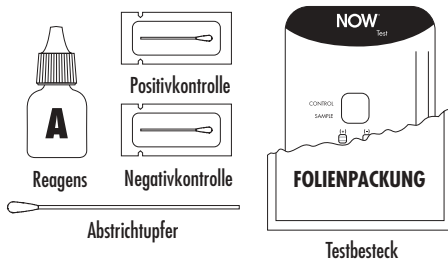
Reagens A – Zitrat / Phosphat mit Tween 20 und Azid

Abstrichtupfer – Ist speziell für den Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest hergestellt.

**Benutzen Sie keine anderen Abstrichtupfer.**

Positiv-Kontrolltupfer – Hitze-inaktivierte *L. pneumophila* auf Tupfer aufgetrocknet

Negativ-Kontrolltupfer – *L. pneumophila*-negativer Tupfer.



### Nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien:

Uhr, Wecker oder Stoppuhr, Standard-Urinbehälter.

### Zubehör:

Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest Kontrolltupfer-Packung (Bestell-Nr. 23V85201) mit 5 positiven und 5 negativen Kontrolltupfern.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

1. UNGÜLTIGE ERGEBNISSE, die durch Nichterscheinen der Kontrollbande angezeigt werden, können sich einstellen, wenn nicht genug Reagens A auf das Testbesteck getropft wurde. Um das Aufbringen einer ausreichenden Menge sicherzustellen, halten Sie das Fläschchen senkrecht 1,5 bis 2,5 cm über die Abstrichvertiefung und tropfen Sie langsam.
2. Für *In-vitro*-Diagnostik.
3. Das Testbesteck ist in eine Schutzfolie eingeschweißt. Benutzen Sie es nicht, wenn die Schutzfolie beschädigt oder offen ist. Entnehmen Sie das Testbesteck erst kurz vor Gebrauch aus der Folie. Berühren Sie nicht die Reaktionsfläche des Testbestecks.
4. Benutzen Sie den Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums.
5. Benutzen Sie für die Testdurchführung keine Komponenten aus verschiedenen Testkits bei einem Test.
6. Die Abstrichtupfer der Kits sind für die Benutzung mit dem Binax NOW® Test zugelassen. **Benutzen Sie keine anderen Abstrichtupfer.**
7. Lösungen, die zur Herstellung der Kontrolltupfer gebraucht wurden, sind durch Standardmethoden vorher inaktiviert worden. Patientenproben, Kontrollproben und Testbestecke sollten jedoch so gehandhabt werden, als ob sie Krankheiten übertragen können. Beachten Sie gesetzliche Vorsichtsmaßnahmen zur Vermeidung mikrobieller Gefahren.

## LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie die Testkits bei Raumtemperatur (15-30 °C). Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest und die Reagenzien sind bis zu dem auf der äußeren Verpackung und den Komponenten angegebenen Verfallsdatum haltbar. Benutzen Sie den Test nicht nach dem angegebenen Verfallsdatum.



59 - 86 °F  
15 - 30 °C  
LAGER-  
TEMPERATUR

## PROBENTNAHME

Urinproben sollten mittels Standardbehältern entnommen werden. Die Proben können bei Raumtemperatur gelagert werden (15-30 °C), wenn der Test innerhalb von 24 Stunden nach Probengewinnung ausgeführt wird. Alternativ dazu können Proben auch bei 2-8 °C bis zu 14 Tage oder bei -10 bis -20 °C noch längere Zeit bis zur Testung aufbewahrt werden. Borsäure kann als Konservierungsstoff hinzugefügt werden.

Falls notwendig, sollte eine Versendung von Urinproben in dichten Behältern bei 2-8 °C oder gefroren erfolgen.

Alle Proben müssen Raumtemperatur erreicht haben, bevor Sie den Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest ausführen können.

## QUALITÄTSKONTROLLE

### **Tägliche Qualitätskontrolle:**

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest hat eingebaute Kontrollmechanismen. Der Hersteller empfiehlt zur täglichen Qualitätskontrolle, diese Kontrollen für jeden Testlauf zu dokumentieren.

### **Positive Reaktionskontrolle**

Die rosa bis violette Bande bei der Kontrollposition kann als eine interne positive Reaktionskontrolle angesehen werden. Ist Kapillarfluss aufgetreten, wird diese Bande immer erscheinen.

### **Negative Reaktionskontrolle**

Das Aufhellen der Hintergrundfarbe im Ergebnisfenster stellt eine negative Hintergrundkontrolle dar. Die Hintergrundfarbe in dem Fenster sollte innerhalb von 15 Minuten hellrosa bis weiß werden und sollte dabei die Anzeige des Testergebnisses nicht beeinflussen.

### **Externe Positiv- und Negativkontrollen:**

Es empfiehlt sich als Laborroutine, Positiv- und Negativkontrollen durchzuführen, um die Funktionalität der Reagenzien und die richtige Testdurchführung sicherzustellen. Positive und negative Kontrolltupfer zur Überwachung des gesamten Assays sind im Lieferumfang des Tests enthalten. Zusätzliche positive und negative Binax NOW® *Legionella*-Kontrolltupfer sind separat erhältlich (Bestell-Nr. 23V85201). Alternativ dazu kann mit zusätzlichen Kontrollproben entsprechend den Richtlinien oder Anforderungen des entsprechenden Landes oder von akkreditierten Organisationen getestet werden. Bei der Benutzung von flüssigen Urinkontrollproben verfahren Sie einfach wie bei einer Patientenprobe.

Positive und negative Kontrollen sollten einmal für jedes Testkit (Kits mit 12 oder 22 Tests) ausgeführt werden und weitere Tests darüber hinaus entsprechend den Qualitätskontrollvorschriften Ihres Labors.

Wenn die erwarteten Kontrollergebnisse nicht eintreten, sollten keine Patientenergebnisse herausgegeben werden. Wiederholen Sie die Kontrolltests oder setzen Sie sich mit VIVA-Diagnostika in Verbindung unter Tel: **+49-2234-93335-0**.

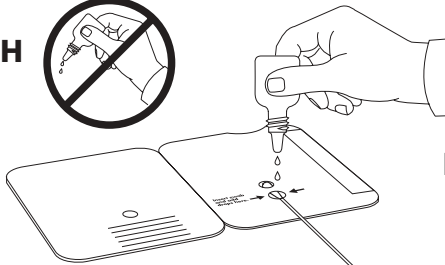
## TESTDURCHFÜHRUNG

### Vorgehensweise bei Patientenproben (und flüssigen Urinkontrollproben):

Nehmen Sie das Testbesteck nicht aus der Folie, bevor die Testprobe Zimmertemperatur erreicht hat.

1. Lassen Sie die Patientenprobe oder die flüssige(n) Urinkontrollprobe(n) Zimmertemperatur erreichen (15-30 °C). Nehmen Sie das Testbesteck erst kurz vor Gebrauch aus der Folie und legen sie es auf einer ebenen Fläche ab.
2. Tauchen Sie einen Binax-Abstrichtupfer in die zu testende Urinprobe, so dass der Tupferkopf vollständig benetzt wird. Wenn der Tupfer tropft, streifen Sie den Tupfer am Rand des Urinbehälters ab, um überschüssige Flüssigkeit ablaufen zu lassen.
3. An der inneren rechten Hälfte des Testbestecks befinden sich zwei Löcher. Führen Sie den Tupfer in das **UNTERE** Loch (Tupfervertiefung) ein. Drücken Sie ihn fest nach oben, so dass die Tupferspitze ganz im oberen Loch sichtbar ist. **DEN TUPFER NICHT HERAUSNEHMEN.**
4. Halten Sie das Fläschchen mit dem Reagens A senkrecht, etwa 1,5 bis 2,5 cm über das Testbesteck. Tropfen sie langsam **zwei (2) Tropfen des Reagens A** auf das **UNTERE** Loch.
5. Ziehen Sie gleich danach die Schutzfolie von der rechten Kante des Testbestecks ab. Verschließen sie das Testbesteck sorgfältig, so dass es dicht ist. Lesen Sie das Ergebnis im Fenster 15 Minuten nach dem Verschließen ab. Ergebnisse, die nach mehr als 15 Minuten abgelesen werden, sind gegebenenfalls ungenau. Bei einigen positiven Patienten ist es jedoch möglich, dass die Patientenbande in weniger als 15 Minuten erscheint.

**FALSCH**



**RICHTIG**

ANMERKUNG: Das Tupferstäbchen hat eine Kerbe und kann **nach** Verschließen des Testgeräts abgebrochen werden. Achten Sie darauf, den Tupfer dabei nicht aus seiner Lage zu bringen.



## Anwendung von Binax NOW®-Kontrolltupfern:

Nehmen Sie das Testbesteck **erst kurz vor Gebrauch** aus der Folie. Legen sie es auf einer ebenen Fläche ab und führen Sie den Test wie folgt aus:

1. An der inneren rechten Hälfte des Testbestecks befinden sich zwei Löcher. Führen Sie den Tupfer in das **UNTERE** Loch ein. Drücken Sie ihn fest nach oben, so dass die Tupferspitze ganz im oberen Loch sichtbar ist. **DEN TUPFER NICHT HERAUSNEHMEN.**
2. Halten Sie das Fläschchen mit dem Reagens A senkrecht, etwa 1,5 bis 2,5 cm über das Testbesteck. Tropfen sie langsam **sechs (6) Tropfen des Reagens A** auf das **UNTERE** Loch.
3. Ziehen Sie gleich danach die Schutzfolie von der rechten Kante des Testbestecks ab. Verschließen sie das Testbesteck sorgfältig, so dass es dicht ist. Lesen Sie das Ergebnis im Fenster 15 Minuten nach dem Verschließen ab. Ergebnisse, die nach mehr als 15 Minuten abgelesen werden, sind gegebenenfalls ungenau. Es ist jedoch möglich, dass die positive Kontrollbande in weniger als 15 Minuten erscheint.

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Eine **negative** Probe ergibt eine einzelne rosa bis violette Kontrollbande in der oberen Hälfte des Fensters, was vermutlich auf ein negatives Ergebnis hinweist. Diese Kontrollbande sagt aus, dass der Test richtig anzeigt, dass aber kein Antigen der *L. pneumophila* der Serogruppe 1 nachgewiesen wurde.

### NEGATIVES ERGEBNIS



Bei einer **positiven** Probe erscheinen zwei rosa bis violette Banden. Dies bedeutet, dass Antigen nachgewiesen wurde. Bei Proben mit niedriger Antigenkonzentration sind die Banden eventuell schwach ausgebildet. **Jegliche sichtbare Bande bedeutet jedoch ein positives Ergebnis.**

### POSITIVES ERGEBNIS



Wenn keine Banden sichtbar sind oder wenn nur die Patientenbande sichtbar ist, dann ist der Test **ungültig**. Ungültige Tests sollten wiederholt werden. Wenn das Problem weiterhin besteht, rufen Sie bitte den technischen Kundendienst von VIVA-Diagnostika an unter **+49-2234-93335-0** oder senden Sie ein Fax an **+49-2234-93335-40**.

### UNGÜLTIGES ERGEBNIS



Keine Bande **ODER** Nur Probenbande

## DIAGNOSEBERICHT

### Ergebnis Empfohlener Diagnosebericht

|         |   |
|---------|---|
| Positiv | Antigen <i>L. pneumophila</i> der Serogruppe 1 wahrscheinlich im Urin, Hinweis auf eine aktuelle oder frühere Infektion   |
| Negativ | Urin vermutlich negativ für Antigen <i>L. pneumophila</i> der Serogruppe 1, was nahe legt, dass keine aktuelle oder frühere Infektion vorliegt. Eine Infektion mit <i>Legionella</i> kann nicht ausgeschlossen werden, da auch andere Serogruppen und Arten die Krankheit verursachen können. Urin enthält kurz nach einer Infektion möglicherweise kein Antigen und die Antigenkonzentration im Urin ist evtl. unter der Nachweisgrenze des Tests. |

## EINSCHRÄNKUNGEN

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest wurde nur für Urinproben validiert. Andere Proben (z.B. Plasma, Serum oder andere Körperflüssigkeiten), die das *Legionella*-Antigen enthalten, sind nicht ausgetestet worden. Der Test kann nicht für Umweltproben angewandt werden (z.B. für Trinkwasser).

Dieser Test erkennt keine Infektionen durch andere *L. pneumophila* Serogruppen oder durch andere *Legionella*-Arten. Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit *L. pneumophila* der Serogruppe 1 nicht aus. Bei Verdacht auf Lungenentzündung sollte eine Kultur angelegt werden, um andere Verursacher als *L. pneumophila* der Serogruppe 1 und um *L. pneumophila* der Serogruppe 1 nachzuweisen, wenn kein Antigen im Urin entdeckt wurde.

Die Diagnose auf Legionärskrankheit kann nicht allein aufgrund von klinischen oder radiologischen Befunden gestellt werden. Es gibt keinen Labortest für die Legionärskrankheit, der für sich allein ausreicht. Für eine zuverlässige Diagnose sollten deshalb die serologischen und Antigennachweismethoden in Verbindung mit klinischen Befunden angewandt werden.

Die Ausscheidung von *Legionella*-Antigen im Urin ist von Patient zu Patient verschieden. Antigenausscheidung kann ab dem dritten Tag nach Auftreten der ersten Symptome anfangen und bis zu einem Jahr danach anhalten. Ein positives Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentestergebnis kann aufgrund einer aktuellen oder früheren Infektion auftreten und ist deshalb ohne zusätzliche Befunde kein endgültiger Infektionsnachweis.

Die Eignung des NOW® Tests für Urin, der entnommen wurde, wenn harntreibende Mittel verabreicht worden sind, ist noch nicht untersucht worden.

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest wurde lediglich an stationären Patienten untersucht. Ambulante Patienten wurden damit nicht getestet.

## LEISTUNGSDATEN

### Klinische Sensitivität und Spezifität (Retrospektive Studie):

Der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest wurde zur Evaluierung von 300 gefrorenen, archivierten Patientenurinproben an einer größeren Universität getestet. 100 dieser Patienten waren mit *Legionella pneumophila* der Serogruppe 1 infiziert, was durch Durchführung einer Kultur, DFA, RIA oder IFA (4x Titer) nachgewiesen wurde.

Die Gesamtübereinstimmung des NOW® Tests mit der Labordiagnose betrug 95 %. Sensitivität und Spezifität erreichten jeweils 95 %. Vertrauensbereiche von 95 % sind unten aufgeführt.

|                      |  | Labordiagnose |     |                           |                 |
|----------------------|--|---------------|-----|---------------------------|-----------------|
|                      |  | +             | -   |                           |                 |
| NOW® +<br>Ergebnis - |  | 95            | 10  | <b>Sensitivität</b> = 95% | (88,7% - 98,4%) |
|                      |  | 5             | 190 | <b>Spezifität</b> = 95%   | (91,0% - 97,6%) |
|                      |  |               |     | <b>Genauigkeit</b> = 95%  | (91,9% - 97,2%) |

## **Klinische Spezifität (prospektive Studie)**

In einer Studie an mehreren Orten wurden 93 frische Urinproben von stationären Patienten mit Symptomen der unteren Atemwege oder Sepsis mit dem Binax NOW® Test getestet. Bei 100 Prozent (100 %) dieser vermutlich negativen Patienten war der NOW® Test negativ, was zeigt, dass der Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest hochspezifisch für die Zielgruppe ist.

## **Kreuzreaktivität:**

Von den 200 getesteten negativen Urinproben waren 85 von Patienten mit bakteriologischer Lungenentzündung (andere als *Legionella spec.*), 84 von Patienten mit Infektionen der Harnwege, 14 mit mykobakteriellen Infektionen, fünf mit Empyemen, elf mit anderen Lungenleiden und eine (1) mit Lungenentzündung durch ein transtracheales Aspirat.

190 dieser Patientenproben zeigten negative Ergebnisse beim NOW® Test, was einer Spezifität von 95 % entspricht.

## **Reproduzierbarkeitsstudie:**

Ein Blindtest des Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentests wurde an drei getrennten Orten mit einer Reihe von verschlüsselten Proben durchgeführt. Die Testreihen enthielten negative, schwach positive, mittel positive, und hoch positive Proben. Proben mit und ohne Borsäure wurden getestet. Jede Probe wurde mehrere Male an jedem Ort an drei verschiedenen Tagen getestet. 629 der insgesamt 630 getesteten Proben lieferten das erwartete Ergebnis.

## **REFERENZEN**

1. Fraser, D.W., T.R. Tsai, W. Orensein, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beecham, R.G. Sharrar, J. Harris, G.F. Mallison, S. M. Martin, J.E. McDade, C.C. Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 1977;297:1189-1197.
2. Marston, B.J., H.B. Lipman, R. F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch. Intern. Med.* 1994;154:2417-2422.
3. Horwitz, M. A., B.J. Marston, C.V. Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4th International Symposium on *Legionella*, 1992. In: Barbaree, J. M., R.F. Breiman, and A. P. DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.
4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella pneumonia*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1988;4:475-595.
5. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et. al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest.* 1991;99:344-50.
6. Carretal, J., F. Gudiol, R. Pelleres, et. al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila pneumonia*. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 1994;149:625-9.
7. Reingold, A.L., B.M. Thomason, B.J. Brake, L. Thacker, H.W. Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella pneumonia* in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J. Infect. Dis.* 1984;149:819.
8. Stout, J.E., V.L. Yu. Legionellosis. *New Eng. J. of Medicine.* 1997;337:682-7.
9. Edelstein, P.H. Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16:741-9.

10. Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. J. Clin. Microbiol. 1979;9:575-578.
11. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Ann. Intern. Med. 1979;90:697-698.
12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D. Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. Ann. Intern. Med. 1981;94:601-605.
13. Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. J. Clin. Microbiol. 1984;20:478-482.
14. Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. J. Clin. Microbiol. 1986;24:556-558.
15. Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. J. Clin. Microbiol. 1984;20:605-607.

## BESTELLINFORMATION

### Nachbestellnummern:

23V85212: Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest (12 Testkit)

23V85200: Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest (22 Testkit)

23V85201: Binax NOW® *Legionella* Urin-Antigentest Kontrolltupfer

### Kontakt:

Binax, Inc., 217 Read Street, Portland, Maine 04103 USA

**TEL:** +1-207-772-3988

**FAX:** +1-207-761-2074

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)

### Vertrieb in Deutschland:

VIVA Diagnostika GmbH, Horbeller Str. 33, D-50858 Köln

**TEL:** +49-2234-93335-0

**FAX:** +49-2234-93335-40

**INTERNET:** [www.viva-diagnostika.com](http://www.viva-diagnostika.com)

## USO PREVISTO

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è un dosaggio immunocromatografico rapido *in vitro* per il rilevamento qualitativo dell'antigene 1 del sierogruppo della *Legionella pneumophila* (antigene 1 del sierogruppo della *L. pneumophila*) nei campioni di urina di pazienti con sintomi di polmonite. È previsto come ausilio nella diagnosi presuntiva di infezione da *Legionella* (sindrome dei legionari) causata dal sierogruppo 1 della *L. pneumophila*, assieme alla coltura e ad altri metodi.

## RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La sindrome dei legionari, così nota dopo l'epidemia del 1976 alla convention dell'American Legion a Filadelfia, è causata dalla *Legionella pneumophila* ed è caratterizzata come una malattia respiratoria febbrile acuta, la cui gravità varia da una malattia lieve alla polmonite fatale.<sup>1</sup> La malattia si presenta sia in forma epidemica che endemica e i casi sporadici non sono facilmente distinguibili da altre infezioni respiratorie in base ai sintomi clinici. Si stima che negli Stati Uniti si verifichino da 25.000<sup>2</sup> a 100.000<sup>3</sup> casi di infezione da *Legionella* ogni anno. Il tasso di mortalità risultante, che va dal 25% al 40%,<sup>2</sup> può essere ridotto se la patologia è diagnosticata rapidamente ed è stabilita precocemente un'appropriate terapia antimicrobica. Alcuni dei fattori di rischio noti sono l'immunosoppressione, il fumo di sigaretta, il consumo di alcool e la concomitante malattia polmonare.<sup>2</sup> La popolazione giovane e quella anziana sono particolarmente suscettibili.<sup>4,6</sup>

La *Legionella pneumophila* è responsabile dell'80-90% dei casi riferiti di infezione da *Legionella* con sierogruppo 1, che corrispondono ad oltre il 70% di tutte le legionellosi.<sup>2,7,8</sup> I metodi attuali per il rilevamento in laboratorio della polmonite causata dalla *Legionella pneumophila* richiedono un campione respiratorio (ad es. sputo espettorato, lavaggio bronchiale, aspirato transtracheale, biopsia polmonare) o coppie di sieri (in fase acuta e convalescente) per una diagnosi accurata. Esempi di queste tecniche sono la coltura di *Legionella*, l'anticorpo fluorescente diretto (direct fluorescent antibody, DFA), la sonda di DNA e l'anticorpo fluorescente indiretto (indirect fluorescent antibody, IFA). Tutte queste tecniche si basano sulla disponibilità di un adeguato campione respiratorio per poter garantire una sufficiente sensibilità, oppure sulla raccolta di sieri ad un intervallo da due a sei settimane. Sfortunatamente, uno dei segni presentati dai pazienti affetti da sindrome dei legionari è la relativa mancanza di sputo produttivo.<sup>8,9</sup> In molti pazienti, ciò richiede l'utilizzo di una procedura invasiva per ottenere un campione respiratorio. La diagnosi ottenuta con tecniche sierologiche è di solito di natura retrospettiva e, anche in tal caso, la conformità dei pazienti nella raccolta dei campioni necessari è insoddisfacente.

Il test antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® consente la diagnosi precoce dell'infezione da sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* tramite rilevamento di uno specifico antigene solubile presente nell'urina dei pazienti affetti da sindrome dei legionari.<sup>10-14</sup> L'antigene del sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* è stato rilevato nell'urina già tre giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.<sup>15</sup> Il test è rapido, in quanto con-

sente di ottenere un risultato entro 15 minuti, e utilizza un campione di urina comodo per la raccolta, il trasporto e il successivo rilevamento delle prime fasi della patologia e di quelle successive.<sup>15</sup>

## PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è un dosaggio immunocromatografico a membrana per determinare l'antigene solubile del sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* nell'urina umana. L'anticorpo di coniglio anti-sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila*, la linea del paziente, è assorbito sulla membrana di nitrocellulosa. L'IgG anti-coniglio di capra, la linea di controllo, è assorbito sulla stessa membrana come seconda striscia. Gli anticorpi di coniglio anti-sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* sono coniugati per visualizzare particelle che sono essiccate su un supporto fibroso inerte. Il cuscinetto coniugato risultante e la membrana strisciata sono combinati per costruire la striscia del test. Questa striscia del test e un pozzetto per contenere il campione di tampone sono montati sui lati opposti di un dispositivo di test incernierato, a forma di libro.

Per eseguire il test, un tampone è immerso nel campione di urina, rimosso e quindi inserito nel dispositivo di test. Il reagente A è aggiunto da un flacone con contagocce. Il dispositivo è quindi chiuso, portando il campione a contatto con la striscia di test. L'antigene urinario del sierogruppo 1 della *L. pneumophila* catturato da un anticorpo immobilizzato anti-sierogruppo 1 della *L. pneumophila* reagisce legandosi all'anticorpo coniugato. L'IgG anti-coniglio di capra immobilizzato cattura inoltre il coniugato di visualizzazione, formando la linea di controllo. Un risultato positivo del test è letto visivamente entro 15 minuti, a seconda della concentrazione di antigene presente nel campione di urina. Un risultato negativo del test di antigene urinario della *Legionella* Binax NOW®, letto in 15 minuti, indica che l'antigene del sierogruppo 1 della *L. pneumophila* non è stato rilevato nel campione di urina.

Il test è interpretato dalla presenza o dall'assenza di linee colorate visivamente rilevabili, dal rosa al viola. Un risultato positivo comprende il rilevamento di una linea del paziente e di una linea di controllo, mentre un dosaggio negativo produce solo la linea di controllo. La mancata comparsa della linea di controllo, indipendentemente dalla presenza della linea del paziente, indica un dosaggio non valido.

## REAGENTI E MATERIALI

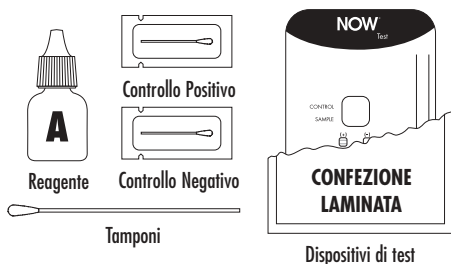
### Materiali forniti

Dispositivi di test: Una membrana rivestita di anticorpo di coniglio, specifico per l'antigene del sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* e con IgG anti-coniglio di capra, è combinato con l'antigene coniugato di coniglio anti-sierogruppo 1 della *Legionella pneumophila* in un dispositivo di test incernierato.

Reagente A – Citrato / fosfato con Tween 20 e azide.

Tamponi – Progettati per l'utilizzo nel test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW®. **Non utilizzare altri tamponi.**

Tampone di controllo positivo – Tampone trattato con *L. pneumophila* inattivata al calore.  
Tampone di controllo negativo – Tampone negativo per *L. pneumophila*.



### Materiali non forniti

orologio, timer o cronometro, contenitori standard per la raccolta di urina

### Elemento accessorio

Confezione di tamponi di controllo dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW®, contenente 5 tamponi di controllo positivi e 5 negativi.

## PRECAUZIONI

1. **RISULTATI NON VALIDI**, indicati dall'assenza di linea di controllo, possono verificarsi quando un volume insufficiente di reagente A è aggiunto al dispositivo di test. Per garantire l'erogazione di un volume adeguato, tenere la fiala verticalmente, 1.5-2.5 cm al di sopra del pozzetto di tamponi, e aggiungere gocce lentamente.
2. Per uso diagnostico *in vitro*.
3. Il dispositivo di test è sigillato in una busta metallizzata protettiva. Se il sacchetto contenente la guida dovesse risultare danneggiato o aperto, non usare il prodotto. Rimuovere il dispositivo di test dalla busta appena prima dell'uso. Non toccare l'area di reazione del dispositivo di test.
4. Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza.
5. Non mescolare componenti di lotti di kit diversi.
6. I tamponi nel kit sono approvati per l'utilizzo nel test Binax NOW®. **Non utilizzare altri tamponi.**
7. Le soluzioni utilizzate per preparare i tamponi di controllo sono inattivate utilizzando metodi standard. Tuttavia i campioni di pazienti, i controlli e i dispositivi di test vanno maneggiati come se potessero trasmettere la malattia. Osservare le precauzioni stabilite contro i rischi microbici.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il kit a temperatura ambiente (15-30 °C). I reagenti e il kit del test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® sono stabili fino alle date di scadenza riportate sulla confezione esterna e sui contenitori. Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.



59 - 86°F

15 - 30°C

TEMPERATURA DI  
CONSERVAZIONE

## RACCOLTA DEI CAMPIONI

I campioni di urina vanno raccolti in contenitori standard. I campioni possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30 °C) se il dosaggio è eseguito entro 24 ore dalla raccolta. In alternativa, i campioni possono essere conservati a 2-8 °C per un periodo massimo di 14 giorni o a -10 - -20 °C per periodi prolungati prima del test. Come conservante è possibile utilizzare l'acido borico.

Se necessario, i campioni di urina vanno spediti in contenitori a prova di perdite a 2-8 °C o congelati.

Lasciare equilibrare tutti i campioni a temperatura ambiente prima di provarli nel test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW®.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

### Controllo di qualità quotidiano:

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® contiene funzioni di controllo incorporate. Il consiglio del produttore per il controllo di qualità quotidiano è di documentare tali controlli per ciascun ciclo di campioni.

### Controllo procedurale positivo

La linea da rosa a viola nella posizione di "controllo" può essere considerata un controllo procedurale positivo interno. Se si è verificato flusso capillare, questa linea appare sempre.

### Controllo procedurale negativo

La cancellazione del colore di sfondo nella finestra dei risultati fornisce un controllo di sfondo negativo. Il colore di sfondo nella finestra dovrà essere da rosa chiaro a bianco entro 15 minuti e non dovrà interferire con la lettura del risultato del test.

### Controlli esterni positivi e negativi:

La buona prassi di laboratorio consiglia l'utilizzo di controlli positivi e negativi per garantire la funzionalità dei reagenti e le corrette prestazioni della procedura di dosaggio. I tamponi di controllo positivi e negativi che eseguono il monitoraggio dell'intero dosaggio sono forniti nel kit. Altri tamponi di controllo positivo e negativo della *Legionella* Binax NOW® sono disponibili separatamente. In alternativa, è possibile.

I controlli positivi e negativi vanno esaminati una volta sola per ciascun nuovo kit di test aperto e come altrimenti richiesto dalle procedure di controllo di qualità standard del laboratorio.

Se i risultati di controllo attesi non sono ottenuti, non refertare i risultati del paziente. Ripetere il test di controllo o rivolgersi all'assistenza tecnica Binax al numero telefonico **+1-207-772-3988** o via fax al numero **+1-207-761-2074**.

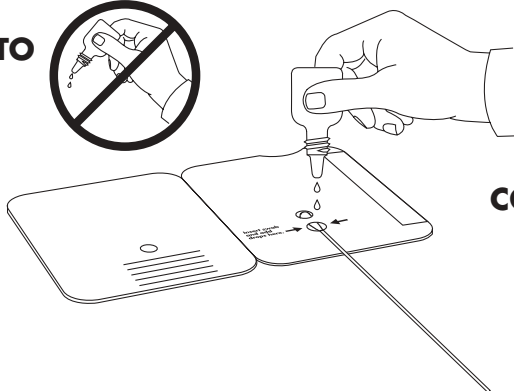
## PROCEDURA DEL DOSAGGIO

### Procedura per campioni di pazienti (e controlli liquidi delle urine):

Non rimuovere il dispositivo dalla busta fino a quando il campione del test abbia raggiunto la temperatura ambiente.

1. Portare l'urina del paziente e/o i controlli liquidi delle urine a temperatura ambiente (15-30 °C). Rimuovere il dispositivo dalla sua busta **prima dell'uso** e disporlo appiattendolo.
2. Immergere un tampone di Binax nel campione di urina da esaminare, coprendo completamente la testa del tampone. Se il tampone gocciola, toccare col tampone il lato del contenitore di urina per rimuovere il liquido in eccesso.
3. Esistono due fori sul pannello interno destro del dispositivo. Inserire il tampone nel foro **INFERIORE** (pozzetto dei tamponi). Spingere saldamente verso l'alto, in modo tale che la punta del tampone sia completamente visibile nel foro superiore. **NON RIMUOVERE IL TAMPONE.**
4. Tenere verticalmente il flacone di reagente A, 1.5 - 2.5 cm al di sopra del dispositivo. Aggiungere lentamente due (2) gocce a caduta libera di reagente A al foro **INFERIORE**.
5. Staccare immediatamente la pellicola adesiva dal bordo destro del dispositivo di test. Chiudere e sigillare saldamente il dispositivo. Leggere il risultato nella finestra 15 minuti dopo aver chiuso il dispositivo. I risultati letti dopo oltre 15 minuti potrebbero non essere accurati. Tuttavia, alcuni pazienti positivi potrebbero produrre una linea visibile del campione in meno di 15 minuti.

**ERRATO**



**CORRETTO**

NOTA: Per comodità, l'asta del tampone è stata intaccata e può essere staccata **dopo** la chiusura del dispositivo. Evitare di rimuovere il tampone dal pozzetto quando si procede in questo modo.



### Procedura per i controlli del tampone I

Rimuovere il dispositivo dalla busta subito prima dell'utilizzo. Disporre il dispositivo appiattendolo ed eseguire il test come segue:

1. Esistono due fori sul pannello interno destro del dispositivo. Inserire il tampone nel foro **INFERIORE**. Spingere saldamente verso l'alto, in modo tale che la punta del tampone sia completamente visibile nel foro superiore. **NON RIMUOVERE IL TAMPONE**.
2. Tenere verticalmente il flacone di reagente A, 1.5 - 2.5 cm al di sopra del dispositivo. Aggiungere lentamente **sei (6) gocce a caduta libera di reagente A** al foro **INFERIORE**.
3. Staccare immediatamente la pellicola adesiva dal bordo destro del dispositivo di test. Chiudere e sigillare saldamente il dispositivo. Leggere il risultato nella finestra 15 minuti dopo aver chiuso il dispositivo. I risultati letti dopo oltre 15 minuti potrebbero non essere accurati. Tuttavia, la linea del campione del tampone di controllo positivo potrebbe essere visibile in meno di 15 minuti.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un campione negativo fornirà una singola linea di controllo, di colore da rosa a viola, nella metà superiore della finestra, indicando un risultato presuntivo negativo. Questa linea di controllo significa che la parte di rilevamento del test è stata eseguita correttamente, ma non è stato rilevato alcun antigene del sierogruppo 1 della *L. pneumophila*.



Un campione positivo fornisce due linee di colore da rosa a viola. Ciò significa che l'antigene è stato rilevato. I campioni con bassi livelli di antigene potrebbero dare una linea di campione debole. Qualsiasi linea visibile è positiva.



Se non è visibile alcuna linea, oppure se è visibile solo la linea del campione, il dosaggio non è valido. I test non validi vanno ripetuti. Se il problema persiste, rivolgersi all'assistenza tecnica Binax al numero telefonico +1-207-772-3988 o via fax al numero +1-207-761-2074.



## REFERTAZIONE DEI RISULTATI

| Risultato | Referto consigliato   |
|-----------|---|
| Positivo  | Presuntivo positivo per l'antigene del sierogruppo 1 della <i>L. pneumophila</i> nell'urina, suggerendo un'infezione in corso o pregressa.  |
| Negativo  | Presuntivo negativo per l'antigene del sierogruppo 1 della <i>L. pneumophila</i> nell'urina, suggerendo l'assenza di infezione in corso o recente. L'infezione dovuta alla <i>Legionella</i> non può essere esclusa, dal momento che altri sierogruppi e specie potrebbero causare la malattia, l'antigene potrebbe non essere presente nell'urina nell'infezione precoce e il livello di antigene presente nell'urina potrebbe essere inferiore al limite di rilevamento del test. |

## LIMITI

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è stato convalidato utilizzando solo campioni di urina. Altri campioni (ad es. plasma, siero o altri fluidi corporei) che potrebbero contenere l'antigene della *Legionella* non sono stati valutati. Non è possibile utilizzare il test nei campioni ambientali (cioè nell'acqua potabile).

Questo test non rileva le infezioni causate da altri sierogruppi della *L. pneumophila* e da altre specie di *Legionella*. Un risultato negativo dell'antigene non esclude infezione col sierogruppo 1 della *L. pneumophila*. La coltura è consigliata per la sospetta polmonite per rilevare agenti causativi diversi dal sierogruppo 1 della *L. pneumophila* e per recuperare il sierogruppo 1 della *L. pneumophila* quando l'antigene non è rilevato nell'urina.

La diagnosi della sindrome dei legionari non può essere basata sulla sola evidenza clinica o radiologica. Non esiste alcun singolo test di laboratorio soddisfacente per la sindrome dei legionari. Per questo motivo i risultati della coltura, la sierologia e i modelli di rilevamento dell'antigene vanno utilizzati assieme ai risultati clinici per eseguire una diagnosi accurata.

L'escrezione dell'antigene della *Legionella* nell'urina potrebbe variare a seconda dei singoli pazienti. L'escrezione dell'antigene potrebbe iniziare appena 3 giorni dopo l'inizio dei sintomi e persistere successivamente anche per 1 anno.<sup>15</sup> Un risultato positivo del test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® può essere causato da infezione attuale o passata e quindi non è definitivo per l'infezione senza altra evidenza a supporto.

Le prestazioni del test NOW® sull'urina diuretica non sono state valutate.

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è stato valutato solo su pazienti ospedalizzati. Non è stato eseguito il test della popolazione ambulatoriale.

## DATI SULLE PRESTAZIONI

### Specificità e sensibilità clinica (studio retrospettivo):

Il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è stato utilizzato per valutare 300 campioni di urina archiviati e congelati di pazienti presso una grande Università. Cento (100) di questi pazienti erano positivi per infezione da sierogruppo 1 della

*Legionella pneumophila* come determinato da coltura, DFA, RIA e/o IFA (concentrazione 4X).

La concordanza complessiva del test NOW® con la diagnosi di laboratorio era del 95%. Sia la sensibilità che la specificità erano del 95%. Gli intervalli di confidenza del novantacinque per cento (95%) sono elencati nel seguito:

|             |  | Diagnosi di Laboratorio |     |                    |                       |
|-------------|--|-------------------------|-----|--------------------|-----------------------|
|             |  | +                       | -   |                    |                       |
| NOW® +      |  | 95                      | 10  | <b>Sensibilità</b> | = 95% (88.7% - 98.4%) |
| Risultati - |  | 5                       | 190 | <b>Specificità</b> | = 95% (91.0% - 97.6%) |
|             |  |                         |     | <b>Accuratezza</b> | = 95% (91.9% - 97.2%) |

### **Specificità clinica (studio prospettivo):**

In uno studio a più siti, 93 campioni freschi di urina raccolti da pazienti ospedalizzati con sintomi respiratori minori o sepsi sono stati analizzati col test Binax NOW®. Il cento per cento (100%) di questi campioni presunti negativi ha prodotto risultati negativi del test NOW®, indicando che il test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è altamente specifico nella popolazione per cui è previsto.

### **Reattività crociata:**

Dei 200 campioni negativi di urina analizzati, 85 erano di pazienti con polmonite batterica (diversa dalle specie di *Legionella*), 84 con infezioni delle vie urinarie, 14 con infezioni micobatteriche, 5 con empiema, 11 con altre condizioni polmonari e 1 con polmonite causata da un aspirato transtracheale.

Centonovanta (190) di questi campioni di pazienti hanno prodotto risultati negativi nel test NOW®, fornendo una specificità del 95%.

### **Studio di riproducibilità:**

Uno studio cieco del test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® è stato svolto presso 3 siti separati utilizzando un gruppo di campioni codificati. I gruppi di competenza contenevano campioni negativi, bassi positivi, moderati positivi e alti positivi. Sono stati esaminati campioni sia con che senza acido borico. Ciascun campione è stato esaminato più volte presso ciascun sito in 3 modi diversi. Seicentoventinove (629) dei 630 campioni totali esaminati hanno prodotto il risultato previsto.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Fraser, D.W., T.R. Tsai, W. Orenstein, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beecham, R.G. Sharrar, J. Harris, G.F. Mallison, S. M. Martin, J.E. McDade, C.C. Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N. Engl. J. Med. 1977;297:1189-1197.
2. Marston, B.J., H.B. Lipman, R. F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. Arch. Intern. Med. 1994;154:2417-2422.
3. Horwitz, M. A., B.J. Marston, C.V. Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4th International Symposium on *Legionella*, 1992. In: Barbaree, J. M., R.F. Breiman, and A. P. DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.

4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella* pneumonia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1988;4:47S-59S.
5. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et. al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest.* 1991;99:344-50.
6. Carretala, J., F. Gudiol, R. Pelleres, et. al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 1994;149:625-9.
7. Reingold, A.L., B.M. Thomson, B.J. Brake, L. Thacker, H.W. Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella* pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J. Infect. Dis.* 1984;149:819.
8. Stout, J.E., V.L. Yu. Legionellosis. *New Eng. J. of Medicine.* 1997;337:682-7.
9. Edelstein, P.H. Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16:741-9.
10. Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J. Clin. Microbiol.* 1979;9:575-578.
11. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Intern. Med.* 1979;90:697-698.
12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D. Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. *Ann. Intern. Med.* 1981;94:601-605.
13. Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:478-482.
14. Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J. Clin. Microbiol.* 1986;24:556-558.
15. Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:605-607.

## INFORMAZIONI PER L'ORDINE

### **Numeri per il riordino:**

852-012: Test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® (kit di 12 test)

852-000: Test dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW® (kit di 22 test)

852-010: Confezione di tamponi di controllo dell'antigene urinario della *Legionella* Binax NOW®

### **Informazioni di contatto:**

**Promesan srl.**, Via B. Eustachi, 36 - 20129 MILANO

**TEL: 02.2774131**

**FAX: 02.27741323**

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)

Prodotto da: Binax, Inc.

217 Read Street

Portland, Maine 04103 USA

TEL: +1-207-772-3988

FAX: +1-207-761-2074

Distributore esclusivo per l'Italia: PROMESAN SRL - MILANO

## UTILIZAÇÃO

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina consiste num imunoensaio cromatográfico "in vitro" destinado à detecção rápida e qualitativa do antígeno de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 (*L. pneumophila*) em amostras de urina de doentes que apresentam sintomas de pneumonia. Este teste foi concebido para auxiliar no diagnóstico presuntivo de infecção por *Legionella* (doença do legionário) provocada por *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1, em conjunto com técnicas de cultura e outros métodos.

## RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A doença do legionário, denominação que recebeu desde que surgiu a epidemia em 1976, em Filadélfia, no decorrer de uma convenção da Legião Americana, é uma infecção provocada por *Legionella pneumophila* e caracteriza-se pelo aparecimento de uma doença respiratória febril aguda, que compreende desde casos ligeiros até pneumonias fatais.<sup>1</sup> A doença ocorre de forma epidémica e endémica, e os casos esporádicos dificilmente se distinguem de outras infecções respiratórias com base apenas nos sintomas clínicos. Calcula-se que, nos EUA, ocorrem anualmente 25.000<sup>2</sup> a 100.000<sup>3</sup> casos de infecção por *Legionella*. A taxa de mortalidade resultante, oscilando entre 25 a 40%<sup>2</sup>, pode diminuir quando a doença é diagnosticada rapidamente e a terapêutica antimicrobiana adequada instituída precocemente. Entre os factores de risco conhecidos incluem-se a imunossupressão, tabagismo, consumo de álcool e doença pulmonar concomitante.<sup>2</sup> O jovem e o idoso apresentam um risco particular para a infecção.<sup>4,6</sup>

O microrganismo *Legionella pneumophila* é responsável por 80 a 90% dos casos descritos de infecção por *Legionella* com grupo sérico 1, sendo responsável por mais de 70% de todos os casos de doença do legionário.<sup>2,7,8</sup> Actualmente, qualquer método utilizado em laboratório para a detecção da pneumonia provocada por *Legionella pneumophila* requer a obtenção de uma amostra respiratória (como, por exemplo, expectoração, lavado brônquico, aspirado transtraqueal, biópsia pulmonar) ou de duas amostras séricas (fase aguda e de convalescência) para que se possa estabelecer um diagnóstico rigoroso. Entre as técnicas utilizadas actualmente incluem-se: cultura de *Legionella*, imunofluorescência directa, sonda de ADN e imunofluorescência indirecta. Todas as técnicas exigem a obtenção de uma amostra respiratória adequada para que se obtenha uma sensibilidade suficiente, ou a extracção de soro a um intervalo de duas a seis semanas. Infelizmente, um dos sinais característicos apresentados pelos indivíduos com doença do legionário consiste na reduzida produção de expectoração.<sup>8,9</sup> Em muitos doentes, é necessária a utilização de um procedimento invasivo para se obter uma amostra respiratória. O diagnóstico através de técnicas serológicas é habitualmente retrospectivo, e mesmo nestes casos o doente dificilmente colabora na obtenção das amostras necessárias.

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina permite estabelecer rapidamente o diagnóstico de infecção por *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 através da detecção de um antígeno solúvel específico na urina de indivíduos apresentando doença do legionário.<sup>10-14</sup> O antígeno da *Legionella pneumophila* do

grupo sérico 1 é detectado na urina logo três dias depois do início dos sintomas.<sup>15</sup> O teste é rápido, apresentando resultados em 15 minutos, e utiliza uma amostra de urina, fácil de colher e transportar, permitindo diversas detecções do antigénio em vários estádios da doença.<sup>15</sup>

## FUNDAMENTO

O teste Binax NOW<sup>®</sup> para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina consiste num imunoensaio cromatográfico sobre uma membrana, para a detecção de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 na urina humana. A membrana de nitrocelulose apresenta um anticorpo anti-*Legionella pneumophila* do grupo sérico 1, de coelho, fixo na região da banda de teste. Na região da banda de controlo, está fixo um anticorpo de cabra anti-IgG de coelho. Para além disso, existem anticorpos de coelho anti-*Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 conjugados com partículas que se encontram absorvidas sobre o suporte fibroso e que permitem a sua visualização. A combinação resultante do conjugado com as tiras de membrana constitui a tira de teste. Esta tira de teste e o poço, onde se coloca a zaragatoa com a amostra, estão montados em lados opostos de um dispositivo em forma de livro.

Para efectuar o teste, mergulha-se a zaragatoa na amostra de urina que, depois de impregnada com líquido, é colocada no dispositivo de teste. De seguida, adiciona-se o Reagente A com a ajuda do conta-gotas e fecha-se o dispositivo em forma de livro, de forma a que a amostra entre em contacto com a tira de teste. O anticorpo anti-*Legionella pneumophila* do grupo sérico 1, imobilizado, captura o antigénio de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 presente na urina que, por sua vez, se une ao anticorpo conjugado. O anticorpo de cabra anti-IgG de coelho também se une ao anticorpo conjugado, originando o sinal de controlo. Observa-se um resultado positivo decorridos 15 minutos ou menos, dependendo da concentração de antigénio presente na amostra de urina. Quando, decorridos 15 minutos, o resultado do teste Binax NOW<sup>®</sup> para a detecção de antigénio de *Legionella* é negativo, tal indica que não se detecta antigénio de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 na amostra de urina.

O teste é interpretado pela presença ou ausência de uma banda colorida entre o rosa e o púrpura, visível à vista desarmada. Um resultado positivo pressupõe o aparecimento de duas bandas coloridas, uma na região da amostra e outra na região de controlo. Em contrapartida, um resultado negativo caracteriza-se pelo aparecimento exclusivo de uma banda colorida, na região de controlo. Considera-se um teste como não válido quando não se identifica uma banda colorida na região de controlo, independentemente do facto de aparecer ou não uma banda colorida na região da amostra.

## MATERIAL E REAGENTES

### Material fornecido

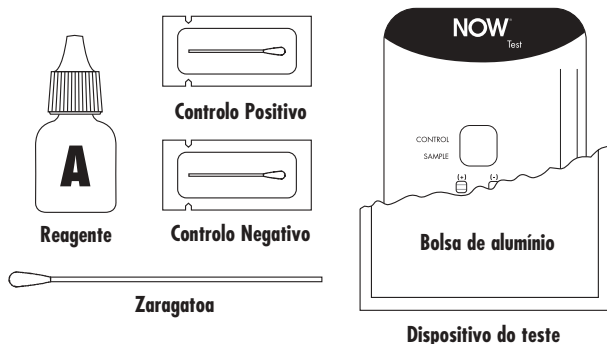
Dispositivo do teste: Trata-se de um dispositivo em forma de livro, que contém uma membrana com um anticorpo anti-antigénio de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1, de coelho, fixo à banda de teste, e um anticorpo de cabra anti-IgG de coelho fixo na banda de controlo, que se combinam com um conjugado com partículas.

Reagente A: Citrato/Fosfato contendo Tween 20 e azida.

Zaragatoas: Especialmente concebidas para serem utilizadas no teste Binax NOW® para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina. Não se deverá utilizar outro tipo de zaragatoa.

Zaragatoa controlo positivo: Zaragatoa seca e impregnada com *L. pneumophila* termicamente inactivada.

Zaragatoa controlo negativo: Zaragatoa negativa para *L. pneumophila*



### Material não fornecido

Relógio ou cronómetro, recipientes padrão para colheita de urina.

### Material acessório

Embalagem de zaragatoas de controlo Binax NOW® para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina, contendo 5 zaragatoas de controlo positivo e 5 zaragatoas de controlo negativo.

## PRECAUÇÕES

1. Podem ocorrer RESULTADOS INVÁLIDOS, indicados pela ausência de uma linha de controlo, quando é adicionado um volume insuficiente de reagente A no dispositivo de teste. Com o objectivo de adicionar um volume adequado do reagente A, colocar o frasco em posição vertical a uma distância de entre 1,5 e 2,5 cm por cima do dispositivo de teste e verter as gotas lentamente.
2. Teste exclusivamente para diagnóstico "in vitro".
3. O dispositivo de teste deverá permanecer na respectiva bolsa de alumínio, selada, até ao momento em que for utilizado. Não utilizar o dispositivo se a bolsa estiver danificada ou aberta. Não tocar na área de reacção do dispositivo.
4. Não usar o conjunto de teste fora do prazo de validade.
5. Não misturar componentes de lotes diferentes.

6. A zaragatoa fornecida com o conjunto de teste foi validada para ser utilizada com o teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina. **Não utilizar outra zaragatoa.**
7. As zaragatoas de controlo, fornecidas com o conjunto, foram inoculadas com soluções processadas segundo métodos padrão de inactivação de microrganismos. De qualquer forma, todas as amostras problema, controlos e equipamento de teste deverão ser manipulados como se fossem possíveis agentes transmissores de doença. Obedecer às precauções estabelecidas contra riscos biológicos.

## CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

O conjunto de teste deverá ser conservado à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C). O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina e os reagentes correspondentes mantêm-se estáveis até ao fim do prazo de validade indicado nas embalagens correspondentes. Não utilizar o conjunto de teste fora do respectivo prazo de validade.



**59-86°F**  
**15-30°C**  
**TEMPERATURA DE**  
**CONSERVAÇÃO**

## COLHEITA DE AMOSTRAS

As amostras de urina deverão ser colhidas em recipientes padrão e conservadas à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) durante um período máximo de 24 horas antes de proceder à sua análise. Em alternativa, as amostras poderão ser conservadas entre 2 e 8 °C durante um período máximo de 14 dias, ou entre -10 e -20 °C durante maiores períodos de tempo, antes de proceder à sua análise. Poderá usar-se ácido bórico como conservante.

As amostras deverão ser transportadas, quando tal for necessário, a uma temperatura compreendida entre 2 e 8 °C ou congeladas, em recipientes estanques.

As amostras deverão ser trazidas à temperatura ambiente antes de se proceder à sua análise com o teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina.

## CONTROLO DE QUALIDADE

### Controlo de qualidade diário:

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina contém funcionalidades integradas de controlo. A recomendação do fabricante quanto ao controlo de qualidade diário consiste em documentar tais controlos para o processamento de cada amostra.

### Controlo positivo do procedimento:

A banda colorida entre o rosa e o púrpura que aparece na região de “controlo” pode ser considerada como um controlo positivo interno do procedimento. Se for produzido um fluxo capilar, esta banda irá aparecer sempre.

### **Controlo negativo do procedimento:**

A ausência de cor de fundo na janela do resultado fornece um controlo negativo. A cor de fundo na janela deverá passar de cor-de-rosa claro a branco no espaço de 15 minutos e não deverá interferir com a leitura do resultado do teste.

### **Controlos externos positivo e negativo:**

As boas práticas laboratoriais recomendam a utilização de controlos positivo e negativo para confirmar a funcionalidade dos reagentes, bem como a correcta realização do teste. Juntamente com o conjunto, são fornecidas zaragatoas, controlo positivo e negativo, que permitem controlar a totalidade do teste. Encontram-se disponíveis separadamente zaragatoas de controlo positivo e negativo adicionais para a detecção de *Legionella*. Em alternativa, poderão analisar-se controlos adicionais segundo as regulamentações ou os requisitos locais ou estatais, ou aqueles impostos por organizações acreditadas. Para utilizar controlos de urina líquida, proceder como se das amostras problema se tratassem.

Os controlos positivo e negativo deverão ser analisados uma vez para cada novo conjunto de testes aberto ou sempre que tal seja necessário pelo procedimento padrão de controlo de qualidade do seu laboratório.

Se não se obtiverem valores esperados, os resultados não deverão ser facultados ao doente. Deverá repetir-se o teste de controlo ou entrar em contacto com o serviço de assistência técnica da Binax pelo telefone +1-207-772-3988 ou pelo fax +1-207-761-2074.

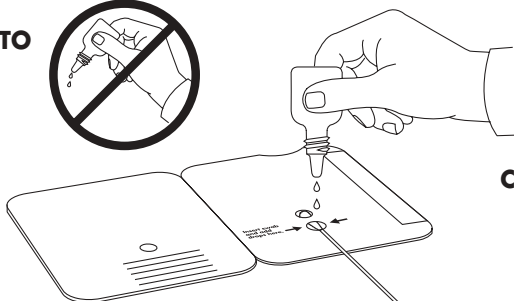
## **PROCEDIMENTO**

### **Procedimento a seguir com as amostras problema (e com os controlos de urina líquida):**

Não retirar o dispositivo do respectivo invólucro até que a amostra a testar tenha atingido a temperatura ambiente.

1. Levar as amostras de urina e os controlos de urina líquida à temperatura ambiente (entre 15 e 30°C). Retirar o dispositivo do seu envólucro, imediatamente antes de proceder à sua utilização, colocando-o na posição horizontal.
2. Introduzir a zaragatoa na amostra de urina que vai ser analisada, de forma a que a cabeça permaneça totalmente mergulhada no líquido. Se for necessário, pressionar a zaragatoa contra as paredes do recipiente de urina com o objectivo de eliminar o líquido em excesso.
3. No lado direito do dispositivo, na parte interior, existem dois orifícios. Colocar a zaragatoa no orifício inferior e pressionar energicamente para cima, de forma a que a ponta da zaragatoa seja visível a partir do orifício superior. **NO RETIRAR A ZARAGATOA**
4. Segurar o frasco que contém o Reagente A em posição vertical invertida, a uma distância de 1,5 a 2,5 cm por cima do dispositivo, juntar lentamente 2 gotas de Reagente A no orifício inferior.
5. Retirar o adesivo que se encontra no lado direito do dispositivo e fechá-lo de imediato, garantindo que fica bem vedado. O resultado é lido através de uma janela exterior, decorridos 15 minutos desde o momento em que se encerra o dispositivo.

**INCORRECTO**



**CORRECTO**

NOTA: Por razões de comodidade, fez-se uma incisão no bastão da zaragatoa, que serve para o quebrar quando se fecha o dispositivo. Ao quebrar o bastão, deverá evitar-se que a zaragatoa se desvie do seu poço.



### **Procedimento a seguir com as zaragatoas de controlo Binax NOW®:**

Retirar o dispositivo do respectivo invólucro **imediatamente antes** de proceder à sua utilização, colocando-o na posição horizontal e efectuar o teste conforme se indica de seguida:

1. No lado direito do dispositivo, na parte interior, existem dois orifícios. Colocar a zaragatoa no orifício **INFERIOR** e pressionar energeticamente para cima, de forma a que a ponta da zaragatoa seja visível a partir do orifício superior. **NÃO RETIRAR A ZARAGATOA.**
2. Segurar o frasco que contém o Reagente A em posição vertical, a uma distância de 1,5 a 2,5 cm por cima do dispositivo, e juntar lentamente **6 gotas de Reagente A** no orifício **INFERIOR.**
3. Retirar imediatamente o adesivo que se encontra no lado direito do dispositivo e fechá-lo de imediato, garantindo que fica bem vedado. O resultado é lido através de uma janela exterior, decorridos 15 minutos após se fechar o dispositivo. Os resultados lidos depois de decorridos 15 minutos poderão não ser correctos. A banda das zaragatoas com controlo positivo poderá ficar visível (apresentar um resultado positivo) em menos de 15 minutos.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Uma **amostra negativa** irá apresentar uma única banda de controlo colorida entre o rosa e o púrpura na metade superior da janela, o que indicará um resultado supostamente negativo. Esta banda de controlo indica que o teste foi realizado correctamente, mas que não se detectou antígeno de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1.



Uma **amostra positiva** irá apresentar duas bandas coloridas entre o rosa e o púrpura. Tal significa que foi detectado antígeno de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1. As amostras com uma baixa concentração de antígeno poderão apresentar uma banda na região problema de menor intensidade. **Qualquer banda que seja visível à vista desarmada é considerada como positiva.**



Caso não se observe qualquer banda, ou caso se observe apenas a banda na região problema, o ensaio é considerado como **não válido**. Qualquer ensaio não válido deverá ser repetido.



Caso não se observe qualquer banda, ou caso se observe apenas a banda na região problema, o teste é considerado como não válido. Qualquer teste não válido deverá ser repetido. Se o problema persistir, contactar o serviço de assistência técnica da Binax pelo telefone **+1-207-772-3988** ou pelo fax **+1-207-761-2074**.

## PARTICIPAÇÃO DOS RESULTADOS

### Resultado: Modelo de participação recomendado.

**Positivo:** Presumivelmente positivo para o antígeno de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 na urina, o que sugere a existência de uma infecção recente ou em curso.

**Negativo:** Presumivelmente negativo para o antígeno de *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 na urina, o que sugere a inexistência de uma infecção recente ou em curso. Não é possível excluir a existência de uma infecção devida a *Legionella*, dado que existem outros serogrupos ou espécies que podem ser responsáveis pela doença, podendo também acontecer que o antígeno não esteja presente na urina nas primeiras fases da doença, ou que a sua concentração seja inferior aos limites de detecção do teste.

## LIMITAÇÕES

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina foi validado utilizando exclusivamente amostras de urina. Não se avaliaram outros tipos de amostras (como, por exemplo, plasma, soro ou outros fluidos corporais) passíveis de

conter antígeno de *Legionella*. O teste não pode ser utilizado em amostras ambientais (i.e. água potável).

Este teste não detecta necessariamente infecções provocadas por outros serogrupos de *L. pneumophila* nem por outras espécies de *Legionella*. A identificação de um resultado negativo para o antígeno não exclui a existência de uma infecção por *L. pneumophila* do grupo sérico 1. Recomenda-se a realização de cultura quando se suspeita da existência de uma pneumonia, com o objectivo de detectar outros agentes responsáveis diferentes da *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 e isolar a *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 quando não se detecta o antígeno na urina.

O diagnóstico de doença do legionário não se pode basear exclusivamente em sinais clínicos ou radiológicos. Não existe um exame laboratorial único que seja suficientemente satisfatório para a doença do legionário. Por conseguinte, deverão utilizar-se os resultados da cultura, a serologia e métodos de detecção de antígenos em conjunto com os achados clínicos visando estabelecer um diagnóstico exacto.

A excreção do antígeno de *Legionella* por via urinária varia em função dos indivíduos. A excreção do antígeno pode iniciar-se 3 dias depois do aparecimento dos sintomas e manter-se durante um ano.<sup>15</sup> A obtenção de um resultado positivo no teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina pode dever-se à existência de uma infecção recente ou em curso, pelo que não é definitivo para o diagnóstico de infecção sem a existência de outros sinais que o confirmem.

O teste Binax NOW® não foi avaliado em urina de doentes diabéticos.

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina foi exclusivamente avaliado em doentes internados. Não se analisaram populações de doentes ambulatoriais.

## CARACTERÍSTICAS DO TESTE

### Sensibilidade e especificidade clínicas (Estudo retrospectivo):

O teste Binax NOW® para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina foi utilizado para analisar 300 amostras de urina congeladas de doentes, conservadas numa importante Universidade. Cem (100) destes doentes revelaram-se positivos relativamente à infecção por *Legionella pneumophila* do grupo sérico 1 por técnicas de cultura, imunofluorescência directa, radioimunoensaio e/ou imunofluorescência indirecta (título x4).

A correlação entre o teste Binax NOW® e o diagnóstico laboratorial foi de 95%. A sensibilidade e especificidade foram ambas de 95%. Foram estabelecidos intervalos de confiança de 95%, conforme se mostra no próximo quadro:

|                       |  | Diagnóstico Laboratorial |     |                       |                              |
|-----------------------|--|--------------------------|-----|-----------------------|------------------------------|
|                       |  | +                        | -   |                       |                              |
| NOW® +<br>Resultado - |  | 95                       | 10  | <b>Sensibilidade</b>  | = <b>95%</b> (88,7% - 98,4%) |
|                       |  | 5                        | 190 | <b>Especificidade</b> | = <b>95%</b> (91,0% - 97,6%) |
|                       |  |                          |     | <b>Exactidão</b>      | = <b>95%</b> (91,9% - 97,2%) |

### **Especificidade clínica (Estudo prospectivo):**

Foram colhidas 93 amostras de urina frescas em doentes internados com sintomas de diminuição da capacidade respiratória ou sépsis, para um estudo multicêntrico, e procedeu-se à sua análise com o teste Binax NOW<sup>®</sup>. Cem por cento (100%) dos doentes presumivelmente negativos apresentaram um resultado negativo com o teste Binax NOW<sup>®</sup>, o que indica que o teste Binax NOW<sup>®</sup> para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina é altamente específico para a população a que se destina.

### **Reactividade cruzada:**

Das 200 amostras negativas de urina que foram analisadas, 85 eram de doentes apresentando pneumonia bacteriana (diferente de *Legionella* spp.), 84 eram de doentes apresentando infecção urinária, 14 eram de doentes apresentando infecções a micobactérias, 5 de doentes com empiema, 11 de indivíduos com outras doenças pulmonares e 1 de um doente com uma pneumonia desconhecida originada por aspiração transtraqueal.

Cento e noventa (190) das amostras referidas produziram resultados negativos no teste Binax NOW<sup>®</sup>, com uma especificidade de 95%.

### **Reprodutibilidade do estudo:**

Foi efectuado um estudo cego do teste Binax NOW<sup>®</sup> para a detecção de antígeno de *Legionella* na urina em três lugares distintos, usando um painel de amostras codificadas. Os grupos de amostras a analisar continham amostras negativas, fracamente positivas, moderadamente positivas e fortemente positivas. As amostras foram analisadas com ácido bórico e sem ácido bórico. Cada uma das amostras foi analisada de forma múltipla em cada lugar e em três dias diferentes. Seiscentas e vinte e nove (629) do total de 630 amostras produziram os resultados esperados.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Fraser, D.W, TR, Tsai, W.Orensein, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beccham, R.G.Sharrar, J. Harris, G.f.Mallison, S.M Martin, J.E. McDade, C.C.Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaire's disease; description of an epidemic of pneumonia. N.Engl. J. Med.1997; 297: 1189-1197.
2. Martson,B.J., H.B. Lipman, R.F. Breiman. Surveillance of Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. Arch.Intern.Med.1994; 154; 2417-2422.
3. Horwitz, M.A., B.J. Martson, C.V Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4<sup>th</sup> International Symposium of *Legionella*, 1992. In; Barbaree, J.M., R.F. Breiman, and A.P DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*, Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.
4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella pneumonia*. Diagn. Microbiol. Infect. Dis, 1998; 4: 47S-59S.
5. Roig J.X. Aquiler, J.Ruiz , et al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. Chest.1991; 99: 344-50.
6. Carretala, J., F.Gudiol, R. Pelleres, et al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. Am.J.Respir.Crit.Med.1994; 149:625-9.
7. Reingold, A.L., B.M Thomason, B.J.Brake, J. Thacker, H.W.Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella* pneumonia in the United States; the distribution of serogroups and species causing human illness. J. Infect.Dis.1984; 149-819.

8. Stout, J.F., V.L.Yu. Legionellosis. New Eng. J. of Medicine, 1997; 337: 682-7.
9. Edelstein, P.11. Legionnaires' Disease. Clinical Infectious Diseases, 1993; 16; 741-9.
10. Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feely. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay., J.Clin. Microbiol. 1979; 9: 575-578.
11. Tilton, R.C. Legionnaires's discase antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. Ann. Intern. Med. 1979; 90: 697-698.
12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D.Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. Ann. Intern. Med. 1981; 94: 601-605.
13. Bibb, W.F., P.M Arnow, L. Thacker, and R.M.McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. J.Clin. Microbiol. 1984;20; 478-482.
14. Tang, P.W. and S.Toma. Boad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. J.Clin. Microbiol. 1986; 24: 556-558.
15. Kohler, R.B W.C. Winn, Jr, and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaire's disease . J. Clin. Microbiol. 1984: 20: 605-607.

## INFORMAÇÃO PARA ENCOMENDA

### Números de encomenda:

- 852-012: Teste Binax NOW® para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina (conjunto de 12 testes)
- 852-000: Teste Binax NOW® para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina (conjunto de 22 testes)
- 852-010: Embalagem de zaragatoas de controlo Binax NOW® para a detecção de antigénio de *Legionella* na urina

### Informação para contacto:

Binax, Inc., 217 Read Street, Portland, ME 04103 EUA

**TEL:** +1-207-772-3988

**FAX:** +1-207-761-2074

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* es un ensayo inmunocromatográfico rápido *in vitro* para la detección cualitativa del antígeno serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* en muestras de orina de pacientes con síntomas de neumonía. Tiene por objeto contribuir al diagnóstico supuesto de infecciones de *Legionella* (legionelosis o enfermedad de los legionarios) causadas por el serogrupo 1 de *L. pneumophila* junto con métodos de cultivo y otros.

## RESEÑA Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La legionelosis, que lleva ese nombre a raíz de un brote ocurrido en 1976 en una convención de la Legión Americana en Filadelfia, está causada por la *Legionella pneumophila* y se caracteriza por una infección aguda febril de las vías respiratorias, cuya intensidad varía de una afección leve a una neumonía mortal.<sup>1</sup> La enfermedad se presenta en forma epidémica y endémica y en casos esporádicos, cuyos síntomas clínicos no se diferencian fácilmente de otras infecciones respiratorias. Se estima que cada año se presentan de 25.000<sup>2</sup> a 100.000<sup>3</sup> casos de legionelosis en Estados Unidos. Un diagnóstico rápido y la administración temprana de una terapia antimicrobiana apropiada pueden reducir la tasa de mortalidad, que oscila entre el 25% y el 40%.<sup>2</sup> Los factores de riesgo conocidos son la inmunosupresión, el tabaquismo, el consumo de alcohol y afecciones pulmonares concomitantes.<sup>2</sup> Los jóvenes y ancianos son particularmente susceptibles.<sup>4,6</sup>

*Legionella pneumophila* es el agente responsable del 80-90% de los casos mencionados de infección por el serogrupo 1 de *Legionella*, lo que representa más del 70% de todos los casos de legionelosis.<sup>2,7,8</sup> Los métodos de laboratorio actuales para la detección de la neumonía causada por *Legionella pneumophila* requieren una muestra respiratoria (por ejemplo: esputo expectorado, lavado bronquial, aspirado trans-traqueal, biopsia pulmonar) o sueros parejados (agudo y convaleciente). Dichas técnicas incluyen el cultivo de *Legionella*, la tinción directa de anticuerpos fluorescentes (DFA), sonda de ADN y la tinción indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFA). Todas dependen de la obtención de una muestra de secreción respiratoria adecuada para lograr suficiente sensibilidad, o del muestreo a intervalos de dos a seis semanas. Desafortunadamente, uno de los signos presentes en los pacientes afectados por legionelosis es la relativa falta de esputos productivos.<sup>8,9</sup> En muchos pacientes, esto requiere el uso de un procedimiento molesto para obtener una muestra de secreción respiratoria. Generalmente, el diagnóstico por técnicas serológicas es retrospectivo y, aun así, la colaboración de los pacientes para la obtención de las muestras necesarias es deficiente.

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* permite el diagnóstico precoz de las infecciones del serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* mediante la detección de un antígeno específico soluble presente en la orina de los pacientes afectados por legionelosis.<sup>10-14</sup> Dicho antígeno se detecta en la orina hasta tres días después del inicio de los síntomas.<sup>15</sup> La prueba es rápida: los resultados se obtienen en 15 minutos, y utiliza una muestra de orina, lo que es conveniente para el muestreo, transporte y detección subsiguiente de las etapas precoces y avanzadas de la enfermedad.<sup>15</sup>

## FUNDAMENTOS DEL PROCEDIMIENTO

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* es un ensayo inmunocromatográfico de membrana para la detección del antígeno soluble del serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* en la orina humana. El anticuerpo de conejo anti-serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* (la línea del paciente), se absorbe en una membrana de nitrocelulosa. IgG anti-conejo caprina, (la línea testigo), se absorbe en la misma membrana como segunda estría. Los anticuerpos de conejo anti-serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* se conjugan y forman partículas de visualización que se secan en un soporte fibroso inerte. El tampón conjugado resultante y la membrana estriada se combinan y producen la tira de prueba. Dicha tira de prueba y un pocillo para la muestra se montan en los lados opuestos de un dispositivo de prueba en forma de libro abisagrado.

Para realizar la prueba, se moja una torunda en la muestra de orina, se retira y luego se inserta en el dispositivo de prueba. Se agrega el reactivo A que se encuentra en un envase con cuentagotas. Luego se cierra el dispositivo, lo que pone la muestra en contacto con la tira de prueba. El antígeno urinario del serogrupo 1 de *L. pneumophila* capturado por el anticuerpo inmovilizado anti-serogrupo 1 de *L. pneumophila* reacciona, y se liga al anticuerpo conjugado. La IgG caprina anti-conejo inmovilizada también se captura visualizando el conjugado, y forma la línea control. En 15 minutos o menos es posible obtener un resultado visual de prueba positiva, según la concentración de antígeno presente en la muestra de orina. Un resultado negativo en la Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella*, obtenido en 15 minutos, indica que no se detectó el antígeno del serogrupo 1 de *L. pneumophila* en la muestra de orina.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de líneas detectables de color rosa-a-violeta. El resultado positivo incluye la detección tanto de una línea paciente como de una línea control, mientras que el ensayo negativo producirá únicamente la línea control. Si no apareciera la línea control, con o sin presencia de la línea paciente, indicaría que el ensayo no es válido.

## REACTIVOS Y MATERIALES

### Materiales suministrados

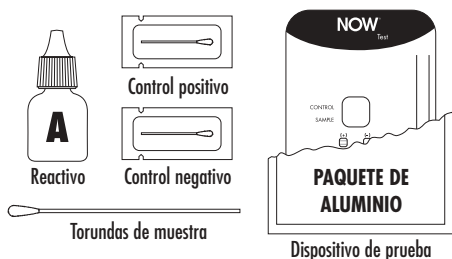
Dispositivos para la prueba: Una membrana recubierta con anticuerpo de conejo específico al antígeno del serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* y con IgG caprina anti-conejo se combina con conjugado de antígeno de conejo anti-serogrupo 1 de *Legionella pneumophila* en un dispositivo de prueba abisagrado.

Reactivo A – Citrato / Fosfato con Tween 20 y Azida.

Torundas – Diseñadas para uso en la prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella*. No utilice otras torundas.

Torunda control positivo - torunda seca e impregnada con *L. pneumophila* inactivada térmicamente

Torunda control negativo - torunda negativa para *L. pneumophila*



## Materiales no suministrados

Reloj, cronómetro o reloj con segundero, envases comunes para recolección de orina

## Accesorios

Paquete de torundas de Binax NOW® para el control del antígeno urinario de *Legionella* (número de catálogo 852-010): contiene 5 torundas de control positivo y 5 negativo.

## PRECAUCIONES

1. Los RESULTADOS INVÁLIDOS, indicados por la falta de línea control, pueden ocurrir cuando se ha agregado al dispositivo de prueba un volumen insuficiente de Reactivo A. Para lograr el paso de un volumen adecuado, sostenga el envase en posición vertical, entre 1,5 y 2,5 cm por encima del pozo del frasco, y agregue las gotas lentamente.
2. Para uso en diagnósticos *in vitro*.
3. El dispositivo de prueba está sellado en una bolsa protectora de aluminio. No use el dispositivo si la bolsa estuviera dañada o abierta. Saque el dispositivo de prueba de la bolsa antes de usarlo. No toque la zona reactiva del dispositivo de prueba.
4. No use el paquete después de su fecha de caducidad.
5. No mezcle componentes de diferentes lotes de paquetes.
6. Las torundas del paquete están aprobadas para uso en la prueba de Binax NOW®. **No use otras torundas.**
7. Las soluciones utilizadas para preparar las torundas de control fueron inactivadas mediante métodos comunes. No obstante, será preciso manejar las muestras de los pacientes, los controles y los dispositivos de prueba como si pudieran transmitir enfermedades. Tenga en cuenta las precauciones establecidas contra peligros microbianos.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Guarde el paquete a temperatura ambiente (59-86°F, 15-30°C). El paquete de prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* y sus reactivos se mantendrán estables hasta las fechas de caducidad indicadas en el embalaje externo y en los envases. No use el paquete después de la fecha de vencimiento de la etiqueta.



**59-86°F**  
**15-30°C**  
**TEMPERATURA DE**  
**ALMACENAMIENTO**

## TOMA DE MUESTRAS

Tome las muestras de orina en envases comunes. Dichas muestras se podrán almacenar a temperatura ambiente (59-86°F, 15-30°C) si el ensayo se va a realizar dentro de las 24 horas de la recolección de muestras. Como alternativa, se podrán almacenar las muestras a 2-8°C por un máximo de 14 días o entre -10°C y -20°C por plazos más largos antes de la prueba. Se puede usar ácido bórico como conservante.

Si fuera necesario trasladar las muestras de orina, envíelas en envases herméticos a 2-8°C o congeladas.

Antes de realizar la Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella*, será preciso equilibrar todas las muestras a temperatura ambiente.

## CONTROL DE CALIDAD

### Control de calidad cotidiano:

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* contiene características de control incorporadas. El fabricante recomienda documentar los controles de calidad cotidianos para cada lote de muestras.

### Control de procedimiento positivo

Es posible considerar que la línea rosa-violeta en la posición "Control" es un control positivo de procedimiento. Si se hubiera producido un flujo capilar, la línea aparecerá en todos los casos.

### Control de procedimiento negativo

La desaparición del color de fondo en la ventana de resultados proporciona un control negativo de procedimiento. El color de fondo de la ventana deberá ser de rosa claro a blanco en 15 minutos, y no deberá interferir en la lectura de los resultados de la prueba.

### Controles externos positivo y negativo:

La buena práctica de laboratorio recomienda el uso de controles positivos y negativos para garantizar la funcionalidad de los reactivos y el desempeño apropiado del procedimiento de ensayo. El paquete contiene torundas de control positivo y negativo para vigilar todo el ensayo. Se podrán obtener por separado torundas suplementarias de control positivo y negativo de *Legionella* de Binax NOW® (número de catálogo 852-010). Como alternativa, se podrán probar controles adicionales conforme a las directrices o los requisitos de los reglamentos municipales, estatales o federales o de organizaciones de acreditación. Para usar los controles de orina líquida, simplemente procese las muestras al igual que una muestra proveniente de un paciente.

Pruebe los controles positivos y negativos una vez para cada paquete de prueba (tamaños de 12 ó 22 paquetes de prueba) o según lo exijan los procedimientos de control de calidad comunes de su laboratorio. Si no se obtuvieran los resultados de control esperados, no incluya los resultados del paciente en los informes. Repita la prueba de control o póngase en contacto con Binax Technical Services llamando por teléfono al +1-207-772-3988, o por fax al +1-207-761-2074.

## PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO

### Procedimiento para las muestras de paciente (y los controles de orina líquida):

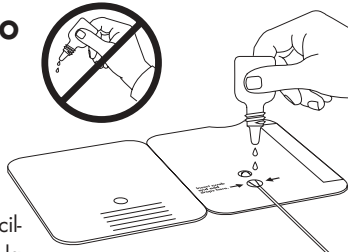
No saque el dispositivo de la bolsa hasta que la muestra de prueba haya llegado a la temperatura ambiente.

1. Lleve el(los) control(es) de orina del paciente a temperatura ambiente (59-86°F, 15-30°C). Retire el dispositivo de su bolsa **justo antes de usar** y deposítelo sobre una superficie plana.
2. Sumerja una torunda Binax en la muestra de orina que se va a analizar, cubriendo completamente la punta de la torunda. Si la torunda goteara, presiónela contra el costado del envase de orina para eliminar el exceso de líquido.
3. En el panel derecho interior del dispositivo hay dos agujeros. Inserte la torunda en el agujero **INFERIOR** (pocillo para torunda). Empuje firmemente hacia arriba de modo que la punta de la torunda se vea completamente por el agujero superior. **NO RETIRE LA TORUNDA.**
4. Sostenga el frasco de Reactivo A en posición vertical, entre 1,5 y 2,5 cm por encima del dispositivo. Lentamente, añada **dos (2) gotas de Reactivo A** por el agujero **INFERIOR**.
5. Quite inmediatamente la cobertura adhesiva del borde derecho del dispositivo de prueba. Cierre y selle bien el dispositivo. Lea el resultado en la ventana 15 minutos después de haber cerrado el dispositivo. Los resultados tomados después de 15 minutos podrían ser inexactos. No obstante, algunos pacientes positivos pueden producir una línea de muestra visible en menos de 15 minutos.

**INCORRECTO**



**CORRECTO**



NOTA: Con el objeto de facilitar el uso, el bastoncillo de la torunda tiene una incisión y se puede **quitar** (quíbrelo) después de cerrar el dispositivo. Evite retirar la torunda del pozo al hacerlo.



## Procedimiento para los controles de torunda de Binax NOW®:

Retire el dispositivo de la bolsa **justo antes de su uso**. Colóquelo sobre una superficie plana y proceda a realizar el análisis como sigue:

1. En el panel derecho interior del dispositivo hay dos agujeros. Inserte la torunda en el agujero **INFERIOR** (pozo para torunda). Empuje firmemente hacia arriba de modo que la punta de la torunda se vea completamente por el agujero superior. **NO RETIRE LA TORUNDA.**
2. Sostenga el frasco de Reactivo A en posición vertical, entre 1,5 y 2,5 cm por encima del dispositivo. Lentamente, añada seis (6) gotas de Reactivo A por el agujero **INFERIOR**.
3. Quite inmediatamente la cobertura adhesiva del borde derecho del dispositivo de prueba. Cierre y selle bien el dispositivo. Lea el resultado en la ventana 15 minutos después de haber cerrado el dispositivo. Los resultados tomados después de 15 minutos podrían ser inexactos. No obstante, la línea de muestra de torunda de control positivo puede estar visible antes de los 15 minutos.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Las **muestras negativas** producirán una sola Línea de control de color entre rosa y violeta en la mitad superior de la ventana, indicando un presunto resultado negativo. Dicha Línea de control significa que la parte de detección de la prueba se realizó correctamente, pero que no se detectaron antígenos del serogrupo 1 de *L. pneumophila*.

### RESULTADO NEGATIVO



Las **muestras positivas** producirán dos líneas de color entre rosa y violeta. Esto significa que se detectó el antígeno. Las muestras con niveles bajos de antígeno pueden dar una línea de muestra tenue. Toda línea visible es positiva.

### RESULTADO POSITIVO



Si no se vieran líneas o si sólo se viera la Línea de muestra, el ensayo será **inválido**. Toda prueba inválida deberá repetirse. Si el problema persistiera, llame a Binax Technical Services al +1-207-772-3988.

### RESULTADO SIN VALIDEZ



Ninguna línea

### RESULTADO SIN VALIDEZ



Línea de muestra únicamente

## INFORMES DE LOS RESULTADOS

### Resultado Informe recomendado

Positivo Positivo presunto para el antígeno del serogrupo 1 de *L. pneumophila* en orina, lo que sugiere una infección presente o pasada.

Negativo Negativo presunto para el antígeno del serogrupo 1 de *L. pneumophila* en orina, lo que sugiere que no hay infección reciente o presente. No es posible descartar infecciones debidas a *Legionella* pues otros serogrupos y especies pueden causar enfermedad, el antígeno puede no estar presente en la orina en la primera etapa de la infección y el nivel de antígeno presente en la orina puede estar por debajo del umbral de detección de la prueba.

## LIMITACIONES

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* ha sido validada utilizando solamente muestras de orina. No se han evaluado otras muestras (por ejemplo plasma, suero u otros fluidos del organismo) que podrían contener el antígeno a la *Legionella*. No se puede utilizar la prueba en muestras ambientales (es decir de agua potable).

Esta prueba no detecta infecciones causadas por otros serogrupos de *L. pneumophila* y por otras especies de *Legionella*. Los resultados de antígeno negativo no excluyen la infección con serogrupo 1 de *L. pneumophila*. En los casos de sospecha de neumonía se recomienda el cultivo para detectar los agentes causales que no sean el serogrupo 1 de *L. pneumophila* y para recuperar el serogrupo 1 de *L. pneumophila* cuando no se haya detectado el antígeno en la orina.

El diagnóstico de la legionelosis no se puede basar únicamente en la evidencia clínica o radiológica. No existe una prueba de laboratorio única que dé satisfacción para la detección de la legionelosis. Por lo tanto, deberán usarse los resultados de cultivos, la serología y los métodos de detección de antígeno junto con los hallazgos clínicos a fin de realizar un diagnóstico preciso.

La excreción del antígeno de *Legionella* en la orina puede variar con cada paciente. Puede iniciarse ya a los 3 días del inicio de los síntomas y mantenerse hasta un año después.<sup>15</sup> Es posible que se produzca un resultado positivo de la Prueba de antígeno urinario de *Legionella* Binax NOW®, debido a una infección presente o pasada y, por lo tanto, dicho resultado positivo no es definitivo para la infección a menos de existir otra evidencia suplementaria.

El desempeño de la prueba NOW® en orina diurética no ha sido evaluado.

La Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* fue evaluada en pacientes hospitalizados únicamente. No se ha probado en pacientes ambulatorios.

## DATOS DE DESEMPEÑO

### Sensibilidad y especificidad clínicas (estudio retrospectivo):

La prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* se utilizó para evaluar 300 muestras congeladas de orina de pacientes, archivadas en una universidad importante. Según los cultivos, DFA, RIA y IFA (4X título), cien (100) de dichos pacientes fueron positivos a la infección de serogrupo 1 de *Legionella pneumophila*.

La concordancia total de la prueba NOW® con el diagnóstico de laboratorio fue del 95%. La sensibilidad y especificidad fueron ambas del 95%. El noventa y cinco por ciento (95%) de los intervalos de confianza se detallan a continuación:

|             |  | Diagnóstico de laboratorio |     |               |                       |
|-------------|--|----------------------------|-----|---------------|-----------------------|
|             |  | +                          | -   |               |                       |
| NOW® +      |  | 95                         | 10  | Sensibilidad  | = 95% (88.7% - 98.4%) |
| Resultado - |  | 5                          | 190 | Especificidad | = 95% (91.0% - 97.6%) |
|             |  |                            |     | Precisión     | = 95% (91.9% - 97.2%) |

### **Especificidad clínica (estudio prospectivo):**

En un estudio realizado en varios centros se tomaron 93 muestras de orina reciente de pacientes hospitalizados con síntomas de las vías respiratorias inferiores o sepsis. Dichas muestras se sometieron a la prueba Binax NOW®. El cien por ciento (100%) de estos pacientes presuntamente negativos produjo resultados negativos con la prueba NOW®, lo que indica que la Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* tiene una especificidad elevada en la población a la cual está dirigida.

### **Reactividad cruzada:**

De las 200 muestras de orina negativas analizadas, 85 provenían de pacientes con neumonía bacteriémica (no causada por *Legionella* spp.), 84 de infecciones de las vías urinarias, 14 de infecciones micobacterianas, 5 de empiema, 11 de otras afecciones pulmonares y 1 de neumonía causada por aspirado trans-traqueal.

Ciento noventa (190) de las muestras de estos pacientes produjeron resultados negativos en la prueba NOW®, lo que da una especificidad del 95%.

### **Estudio de reproducibilidad:**

Se realizó un estudio ciego de la Prueba Binax NOW® de antígeno urinario de *Legionella* en 3 sitios separados, usando un panel de muestras codificadas. Los paneles contenían muestras negativas, positivas bajas, positivas moderadas y altamente positivas. Se probaron muestras con y sin ácido bórico. Cada muestra se analizó muchas veces en cada sitio en 3 días diferentes. Del total de 630 muestras sometidas a la prueba, seiscientos veintinueve (629) produjeron el resultado esperado.

## **REFERENCIAS**

1. Fraser, D.W., T.R. Tsai, W. Orenseim, W.E. Parkin, P.H., H.J. Beecham, R.G. Sharrar, J. Harris, G.F. Mallison, S. M. Martin, J.E. McDade, C.C. Shepard, P.S. Brachman, and The Field Investigation Team. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 1977;297:1189-1197.
2. Marston, B.J., H.B. Lipman, R. F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch. Intern. Med.* 1994;154:2417-2422.
3. Horwitz, M. A., B.J. Marston, C.V. Broome, and R.F. Breiman. Prospects for vaccine development. Presented at the 4th International Symposium on *Legionella*, 1992. In: Barbaree, J. M., R.F. Breiman, and A. P. DuFour, eds. *Legionella: Current Status and Emerging Perspectives*. Washington, D.C. American Society for Microbiology, 1993.
4. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella* pneumonia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1988;4:47S-59S.
5. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et. al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest.* 1991;99:344-50.
6. Carretala, J., F. Gudiol, R. Pelleres, et. al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Med.* 1994;149:625-9.

7. Reingold, A.L., B.M. Thomason, B.J. Brake, L. Thacker, H.W. Wilkinson, and J.N. Kuritsky. *Legionella* pneumonia in the United States: the distribution of serogroups and species causing human illness. *J. Infect. Dis.* 1984;149:819.
8. Stout, J.E., V.L. Yu. Legionellosis. *New Eng. J. of Medicine.* 1997;337:682-7.
9. Edelstein, P.H. Legionnaires' Disease. *Clinical Infectious Diseases.* 1993;16:741-9.
10. Berdal, B.P., C.E. Farshy, and J.C. Feeley. Detection of *Legionella pneumophila* antigen in urine by enzyme-linked immunospecific assay. *J. Clin. Microbiol.* 1979;9:575-578.
11. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Intern. Med.* 1979;90:697-698.
12. Kohler, R.B., S.E. Zimmerman, E. Wilson, S.D. Allen, P.H. Edelstein, L.J. Wheat, and A. White. Rapid radioimmunoassay diagnosis of Legionnaires' Disease. *Ann. Intern. Med.* 1981;94:601-605.
13. Bibb, W.F., P.M. Arnow, L. Thacker, and R.M. McKinney. Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:478-482.
14. Tang, P.W., and S. Toma. Broad-spectrum enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Legionella* soluble antigens. *J. Clin. Microbiol.* 1986;24:556-558.
15. Kohler, R.B., W.C. Winn, Jr., and L.J. Wheat. Onset and duration of urinary antigen excretion in Legionnaires' disease. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:605-607.

## PARA PEDIR INFORMACIÓN

### Números para renovar pedidos:

- |          |   |
|----------|---|
| 852-012: | Prueba Binax NOW® de antígeno urinario a la <i>Legionella</i> (paquete de 12 pruebas) |
| 852-000: | Prueba Binax NOW® de antígeno urinario a la <i>Legionella</i> (paquete de 22 pruebas) |
| 852-010: | Torunda control de Binax NOW® de antígeno urinario a la <i>Legionella</i>             |

### Para ponerse en contacto con nosotros:

Binax, Inc., 217 Read Street, Portland, Maine 04103 EE.UU.

**TEL:** +1-207-772-3988

**FAX:** +1-207-761-2074

**INTERNET:** [www.binax.com](http://www.binax.com)

Rev. 2 10/8/03  
© 1998 Binax, Inc.  
IN852000

**binax**<sup>®</sup>

*Vital Answers For  
Better Health...NOW<sup>®</sup>*