

ИНСТРУКЦИЯ

по применению «**NOW Legionella Urinary Antigen Test**»
«Быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче»

НАЗНАЧЕНИЕ

Быстрый тест «**NOW Legionella Urinary Antigen Test**», далее по тексту – Тест предназначен для выявления антигена легионелл в моче является иммунохроматографическим тестом для качественного выявления антигена *Legionella pneumophila* серогруппы 1 в образцах мочи от пациентов с симптомами пневмонии. Тест предназначен для помощи в предполагаемом диагнозе легионеллезной инфекции (болезнь легионеров), вызванной *L.pneumophila* серогруппа 1 в сочетании с культуральными и другими методами.

ОБЩИЕ ДАННЫЕ И ПОЯСНЕНИЯ К ТЕСТУ

Болезнь легионеров, названная так после вспышки 1976 г. среди сотрудников Американского Легиона в Филадельфии, вызывается *Legionella pneumophila* и характеризуется как острое респираторное заболевание, сопровождающееся лихорадкой, тяжесть которого варьирует от умеренно тяжелой до фатальной пневмонии¹. Проявления болезни, как в случае эндемических, так и эпидемических форм и спорадических случаев нелегко дифференцировать от других респираторных заболеваний по клиническим симптомам. По оценкам в США ежегодно встречается от 25000² до 100000³ случаев легионеллезной инфекции. Уровень смертности в результате болезни варьирующий от 25 до 40%² может быть снижен в случае своевременного диагноза и раннего назначения подходящей антимикробной терапии. Известны факторы риска, к которым относятся иммуносуппрессия, табакокурение, избыточное потребление алкоголя и сопутствующие заболевания легких². И дети и пожилые обычно более чувствительны к инфекции⁴⁻⁶.

Legionella pneumophila ответственна за 80-90% случаев легионеллезной инфекции, среди которых возбудитель серогруппы 1 отвечает более чем за 70% всех случаев легионеллезных пневмоний^{2,7,8}. Современные методы лабораторной детекции пневмоний, вызванных *Legionella pneumophila* для получения точного диагноза требуют получения образцов из респираторного тракта (а именно, откашливаемой мокроты, бронхиальных смывов, транстранхеального аспирата, легочной биопсии) или исследования парных сывороток (в острой стадии болезни и после выздоровления)¹¹⁻¹³. Эти методы включают получение культуры легионелл, применение метода прямой иммунофлуоресценции, ДНК-диагностики и метода непрямой флуоресценции. Все это предполагает либо получение адекватного образца материала из легких для обеспечения достаточной чувствительности, или сбора сыворотки с интервалом от двух до шести недель¹¹⁻¹³. К сожалению одним из отличительных симптомов у пациентов с болезнью легионеров является относительно незначительная продукция мокроты^{8,9}. У многих пациентов это определяет необходимость использования инвазивных процедур для получения образцов для исследования из легких. Диагностика с помощью серологических методов обычно по своей природе носит ретроспективный характер, и даже тогда, трудно бывает получить согласие пациента на взятие необходимых образцов.

Быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче производства Binaх позволяет проводить раннюю диагностику инфекции, вызванной *Legionella pneumophila* серогруппы 1 с помощью детекции специфического растворимого антигена, присутствующего в моче пациентов с болезнью легионеров^{10,14}. Антиген *Legionella pneumophila* серогруппы 1 выявляется в моче приблизительно через 3 суток после появления симптомов болезни¹⁵. Это быстрый тест, дающий результат в течение 15 минут с использованием образцов мочи пациента, что достаточно удобно для сбора материала, его транспортировки и детекции как ранних, так и поздних стадий болезни¹⁵.

ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче (NOW *Legionella* Urinary Antigen Test) является иммунохроматографическим тестом, проводимым на мембране, для выявления растворимого антигена *Legionella pneumophila* серогруппы 1 в моче. Кроличьи антитела к антигену *Legionella pneumophila* серогруппы 1 сорбированы в виде полосы на нитроцеллюлозной мембране в зоне чтения результата пациента. Антитела контрольной линии адсорбированы на той же мембране в виде второй линии. Кроличьи антитела к антигену *Legionella pneumophila* серогруппы 1 и антивидовые антитела конъюгированные с окрашенными частицами для визуализации, нанесены на волокнистую инертную подложку и высушены. Подложка, содержащая конъюгат и мембранная полоска соединены для формирования тест-полоски. Данная тест-полоска вмонтирована в кассету в форме открывающейся книжки, имеющую лунку для внесения тампона с образцом мочи, расположенную на противоположной стороне кассеты.

Для проведения теста тампон на палочке погружают в образец исследуемой мочи, вынимают и помещают в тест-устройство. Затем добавляют реагент А из прилагающейся пластиковой капельницы. Устройство затем закрывают, с тем, чтобы привести исследуемый образец в контакт с тест-полоской. Содержащийся в моче антиген *Legionella pneumophila* серогруппы 1 связывается с иммобилизованными на подложке антителами против антигена *Legionella pneumophila* серогруппы 1 окрашенного конъюгата, и этот окрашенный комплекс связывается за счет наличия антигена с иммобилизованными на мембране кроличьими антителами к антигену *Legionella pneumophila* серогруппы 1. Иммобилизованные на полоске в виде линии контрольные антитела также связывают анти-видовой конъюгат, формируя контрольную линию. Положительный результат тестирования читается визуально спустя 15 минут или менее в зависимости от концентрации антигена, присутствующего в образце мочи. Отрицательный результат быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче (NOW *Legionella* Urinary Antigen Test) читается спустя 15 минут по наличию только одной окрашенной контрольной линии, свидетельствуя о том, что антиген *Legionella pneumophila* серогруппы 1 в моче не был обнаружен.

Результаты теста интерпретируются по наличию или отсутствию визуально различимых окрашенных линий от розового до пурпурного цвета. Положительный результат включает выявление двух окрашенных линий в зоне чтения результата тестирования пациента, так и контрольной линии, в то время как отрицательный результат дает только одну окрашенную контрольную линию. Отсутствие окрашенной контрольной линии вне зависимости от наличия или отсутствия окрашенной линии в зоне чтения результата пациента, свидетельствует о недействительности теста.

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

Тест-кассеты (в герметичной упаковке из фольги) в форме открывающейся книжки, содержащие мембрану с нанесенными иммобилизованными в видеотдельных полосок кроличьими антителами к антигену *Legionella pneumophila* серогруппы 1 и контрольными антителами в комбинации с конъюгатом, содержащим кроличьи антитела к антигену *Legionella pneumophila* серогруппы 1 и анти-видовым конъюгатом с окрашенными частицами.

Реагент А – (1 пластиковый флакон-капельница – 5,0 мл) цитратно-фосфатный буфер с Твином-20 и азидом натрия.

Тампоны на палочке для отбора образца мочи пациента - разработаны специально для использования в быстром тесте для выявления антигена легионелл в моче (NOW *Legionella* Urinary Antigen Test). **Не используйте другие тампоны.**

Положительный контрольный тампон – содержит термоинактивированные *L. pneumophila*, высушенные на тампоне.

Отрицательный контрольный тампон – тампон, не содержащий *L. pneumophila*.

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ

Часы, таймер или секундомер, стандартные контейнеры для забора образцов мочи.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Пакет контрольных тампонов NOW *Legionella* Control Swab Pack (Каталожный номер 852-010), содержащий 5 положительных и 5 отрицательных тампонов.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ, на которые указывает отсутствие окрашенной контрольной линии, могут наблюдаться в случае добавления недостаточного объема Реагента А в тест-кассету. Для обеспечения добавления достаточного объема держите флакон с Реагентом А строго вертикально на расстоянии 1,2-2,5 см над лункой с тампоном, медленно капая необходимое количество реагента.
2. Для целей диагностики *in vitro*.
3. Тест-кассеты герметично упакованы в защитную упаковку из фольги. Не используйте тест-кассеты в случае, если упаковка повреждена или открыта. Извлекайте тест-кассеты из упаковки только непосредственно перед использованием.
4. Не используйте наборы с истекшим сроком годности.
5. Не смешивайте компоненты из различных наборов.
6. Тампоны в наборе одобрены для использования в Винах NOW тесте. **Не используйте других тампонов.**
7. Растворы, использованные для производства контрольных тампонов инактивированы с использованием стандартных методов. Однако, с образцами материалов от пациентов, контролями и тест-устройствами следует обращаться с предосторожностью, так, если бы они могли передавать инфекцию. Соблюдайте установленные меры предосторожности в отношении возможной бактериальной контаминации.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Храните наборы при комнатной температуре (15-30°C). Наборы быстрых тестов для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test стабильны до конца срока годности, указанного на внешней упаковке и на контейнерах. Не используйте набор после указанного на упаковке срока годности.

ЗАБОР ОБРАЗЦОВ

Образцы мочи для исследования должны собираться в стандартные контейнеры. Образцы мочи могут храниться при комнатной температуре (15-30°C) до 24 часов после забора перед началом тестирования. Альтернативно образцы могут храниться при температуре 2-8°C до 14 дней или при -10 до -20°C в течение большего времени до начала тестирования. В качестве консерванта может быть использована борная кислота.

В случае необходимости образцы мочи можно пересылать в герметично упакованных контейнерах при температуре 2-8°C или замороженными.

Перед тестированием с использованием быстрых тестов для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test оставьте исследуемые образцы мочи в лаборатории до достижения комнатной температуры.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Повседневный контроль качества

Быстрые тесты для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test по своей конструкции содержат встроенный контроль качества. Производитель рекомендует осуществлять ежедневный контроль качества и документировать контрольные результаты при каждой постановке серии исследований.

Положительный контроль процедуры постановки теста

Проявление окрашенной линии от розового до пурпурного цвета в зоне контрольной линии может рассматриваться в качестве внутреннего контроля надлежащей постановки (проведения) теста. В случае наличия капиллярного потока эта линия всегда проявляется на полоске.

Отрицательный контроль процедуры постановки теста

Исчезновение фоновой окраски конъюгата в зоне чтения результата анализа пациента предоставляет возможность осуществления отрицательного контроля процедуры постановки теста. Цвет фона в зоне чтения результата теста должен стать от слабо розового до белого в течение 15 минут после постановки и не должен мешать чтению результата теста.

Внешние положительный и отрицательный контроли

Требования «надлежащей лабораторной практики» (GLP – Good Laboratory Practice) рекомендуют использование положительных и отрицательных контрольных образцов, чтобы удостовериться в рабочих свойствах реагентов и надлежащей постановке процедуры тестирования. Положительный и отрицательный контрольные тампоны, позволяющие мониторию всю процедуру исследования, поставляются в наборе. Дополнительные наборы контрольных положительных и отрицательных тампонов NOW *Legionella* Positive and Negative Control Swabs могут быть поставлены отдельно. Альтернативным образом дополнительные контрольные образцы могут тестироваться в соответствии с указаниями или требованиями местных или федеральных органов или аккредитующих организаций. Для использования в качестве контроля образцов мочи просто проводите тестирование, как с образцами мочи от пациентов.

Положительные и отрицательные контрольные образцы должны ставиться для каждого вновь открытого набора или в каждом отдельном случае согласно требованиям процедуры внутрилабораторных стандартов контроля качества.

В случае если ожидаемые контрольные результаты не получены, не выдавайте результаты тестирования пациентов. Повторите контрольное тестирование или свяжитесь со службой технической поддержки.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ

Процедура тестирования для образцов мочи пациентов (и для жидких контрольных образцов мочи)

Не извлекайте тест-кассеты из герметичной упаковки до тех пор, пока образцы, предназначенные для исследования, не достигнут комнатной температуры.

1. Доведите образцы мочи от пациентов и/или контрольные образцы мочи до комнатной температуры (15-30°C). Извлеките тест-кассеты из герметичной упакованного пакета непосредственно перед использованием и поместите на ровную поверхность.

2. Погрузите тампон на палочке в образец исследуемого образца мочи, с тем, чтобы головка тампона была полностью погружена в жидкость. Если с тампона стекает жидкость, прикоснитесь головкой тампона к краю контейнера для мочи для удаления избытка жидкости.
3. На правой откидной внутренней панели тест-кассеты расположены два отверстия. Вставьте головку тампона в НИЖНЕЕ отверстие (лунка для тампона). С усилием продвиньте тампон вперед так, чтобы конец тампона был бы полностью виден в верхнем отверстии. НЕ ИЗВЛЕКАЙТЕ ТАМПОН.
4. Открутите завинчивающийся колпачок флакона с Реагентом А , держа флакон отверстием вертикально вниз на расстоянии 1,2-2,5 см от тест-кассеты, медленно нанесите 2 свободно капающие капли раствора Реагента А в НИЖНЕЕ отверстие.
5. Немедленно снимите пленку с клейкого покрытия у правой кромки тест-кассеты. Сложите и прижмите клейкую поверхность, чтобы заклеить устройство. Прочтите результат в окне спустя 15 минут после складывания тест-кассеты. Результаты, прочитанные спустя 15 минут могут быть неточными. Однако, у некоторых пациентов видимая положительная линия в окне чтения результата может проявляться менее чем за 15 минут.

ПРИМЕЧАНИЕ: для удобства палочка тампона может быть укорочена (отломлена) ПОСЛЕ закрытия устройства. Избегайте извлечения тампона из лунки во время этой процедуры.

Процедура тестирования для образцов контрольных тампонов

Извлеките тест-кассету из герметичной упаковки **непосредственно перед исследованием** и поместите на горизонтальную плоскую поверхность. Поставьте тест согласно нижеследующим инструкциям.

1. На правой откидной внутренней панели тест-кассеты расположены два отверстия. Вставьте головку контрольного тампона в НИЖНЕЕ отверстие (лунка для тампона). С усилием продвиньте тампон вперед так, чтобы конец тампона был бы полностью виден в верхнем отверстии. НЕ ИЗВЛЕКАЙТЕ ТАМПОН.
2. Открутите завинчивающийся колпачок флакона с Реагентом А , держа флакон отверстием вертикально вниз на расстоянии 1,2-2,5 см от тест-кассеты, медленно нанесите **6 (шесть)** свободно капающих капель раствора Реагента А в **НИЖНЕЕ** отверстие.
3. Немедленно снимите пленку с клейкого покрытия у правой кромки тест-кассеты. Сложите и прижмите клейкую поверхность, чтобы заклеить устройство. Прочтите результат в окне спустя 15 минут после складывания тест-кассеты. Результаты, прочитанные спустя 15 минут могут быть неточными. Однако, видимая положительная линия контрольного положительного тампона в окне чтения результата может проявляться менее чем за 15 минут.

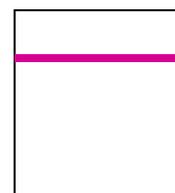
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отрицательный результат

Негативный (отрицательный) образец дает одну окрашенную линию от розового до пурпурного цвета. Эта контрольная окрашенная линия расположена в верхней половине окна чтения результатов, указывая на предположительно отрицательный результат. Наличие этой контрольной линии свидетельствует о том, что процедура постановки теста прошла корректно (правильно), но антиген *L.pneumophila* серогруппы 1 не был обнаружен.

Контроль

Образец

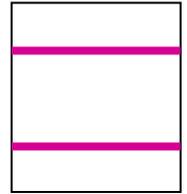


Положительный результат

Положительный образец дает две окрашенные линии от розового до пурпурного цвета. Это значит, что антиген был выявлен. Исследуемые образцы с низкими уровнями антигена могут давать слабо окрашенную линию в области чтения результата образца. **Любая видимая линия в этой зоне свидетельствует о положительном результате теста.**

Контроль

Образец

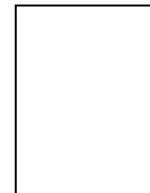


Недействительный результат

В случае отсутствия видимых линий или при наличии одной видимой линии в зоне чтения результата образца результат теста считается **недействительным**. Недействительный тест должен быть повторен. Если проблема остается, свяжитесь со Службой технической поддержки Vinax.

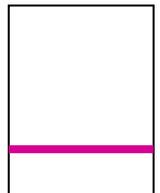
Контроль

Образец



Контроль

Образец



Нет
линий

ИЛИ

Линия
только
в зоне
чтения
результата
образца

ВЫДАЧА РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат

Рекомендуемое заключение по результату

Положительный

Предположительно положительный на наличие антигена *L.pneumophila* в моче, предполагающий наличие текущей или недавно перенесенной инфекции.

Отрицательный

Предположительно отрицательный на наличие антигена *L.pneumophila* в моче, предполагающий отсутствие недавней или текущей инфекции. Инфекция, вызванная *Legionella* не может быть исключена, поскольку другие серогруппы и виды могут вызывать заболевание, а также антиген может отсутствовать в моче на ранней стадии инфекции, либо уровень антигена, присутствующего в моче может быть ниже предела чувствительности теста.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test был валидирован только с использованием образцов мочи. Другие образцы (а именно, плазма, сыворотка или другие биологические жидкости), которые могут содержать антиген легионелл, не оценивались. Тест не может быть использован для исследования образцов из окружающей среды (то есть питьевой воды).

Этот тест не будет выявлять инфекции, вызванные *L.pneumophila* других серогрупп и другими видами *Legionella*. Отрицательный результат на антиген не исключает наличие инфекции *L.pneumophila* серогруппы 1. Культуральные исследования рекомендуются при подозрении на пневмонию для выявления этиологического агента, отличного от *L.pneumophilla* серогруппы 1 или для того чтобы вновь выявить *L.pneumophilla* серогруппы 1 в случае, когда антиген не был обнаружен в моче.

Диагноз болезни легионеров не может основываться исключительно на клинических и рентгенологических доказательствах. Не существует одного достаточно

удовлетворительного лабораторного теста для болезни легионеров. Поэтому результаты культуральных исследований, данные серологии и выявления антигена в моче должны использоваться в сочетании данными клинических наблюдений для постановки точного диагноза.

Экскреция антигена легионелл с мочой может варьировать у отдельных пациентов. Экскреция антигена может начинаться с 3 дня после проявления симптомов болезни и продолжаться до 1 года впоследствии¹⁵. Положительный результат в быстром тесте для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test может встречаться как в результате текущей инфекции, так и после перенесенной инфекции, и поэтому не является определяющим для инфекции без других подтверждающих доказательств.

Характеристики быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче - NOW *Legionella* Urinary Antigen Test не оценивались на образцах мочи от пациентов, которым назначались диуретики.

Быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test оценивался только на пациентах, госпитализированных в стационар. Популяция пациентов, находящихся в амбулаторных условиях не тестировалась.

ДАННЫЕ ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ

Клиническая чувствительность и специфичность (ретроспективное исследование)

Для оценки быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test использовали 300 замороженных архивных образцов мочи пациентов на базе крупного Университета. Сто (100) из этих пациентов были положительны на инфекцию *Legionella pneumophila* серогруппы 1, что было определено с помощью культурального метода, прямой иммунофлуоресценции, радиоиммуноанализа и/или иммунофлуоресцентного анализа (четырёхкратное увеличение титра).

Полное совпадение результатов быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test с результатами лабораторной диагностики составило 95%. Чувствительность и специфичность были 95%. Девяносто пяти процентные (95%) доверительные интервалы тестирования приведены ниже в таблице:

		Лабораторный диагноз	
		+	-
NOW Legionella Urinary Antigen Test	+	95	10
	-	5	190

Чувствительность = **95%** (88,7% - 98,4%)

Специфичность = **95%** (91,0% - 97,6%)

Достоверность = **95%** (91,9% - 97,2%)

Клиническая специфичность

В многоцентровом исследовании были использованы 93 образца мочи от госпитализированных пациентов с симптоматикой поражения нижних дыхательных путей или с сепсисом, которые исследовались в быстром тесте для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test. Сто процентов (100%) из этих предположительно отрицательных пациентов дали отрицательные результаты в тесте Binax NOW, свидетельствуя о том, что быстрый тест для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test является высоко специфичным в популяции пациентов, для исследования которых он предназначен.

ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Из 200 отрицательных протестированных образцов мочи пациентов, из которых у 85 пациентов был диагноз бактериальной пневмонии (вызванной отличными от *Legionella* микроорганизмами), у 84 пациентов с инфекциями мочевого тракта, у 14 пациентов с микобактериальной инфекцией, у 5 пациентов с диагнозом эмпиема, у 11 пациентов с другими респираторными нарушениями и у 1 пациента с пневмонией, вызванной транстрахеальным аспиратом.

Сто девяносто (190) образцов от перечисленных выше пациентов дали отрицательный результат в быстром тесте для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test, давая результат специфичности теста, равный 95%.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ

Слепое исследование быстрого теста для выявления антигена легионелл в моче – NOW *Legionella* Urinary Antigen Test было проведено в трех отдельных лабораториях на панели закодированных образцов. Контрольная панель содержала отрицательные образцы, слабо положительные образцы, умеренно положительные образцы и высоко положительные образцы. Образцы были как с добавлением, так и с отсутствием борной кислоты. Каждый из образцов тестировался несколько раз в каждой из лабораторий в 3 различных дня (срока). Шестьсот двадцать девять (629) из общего количества 630 протестированных образцов дали ожидаемый результат.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Номера по каталогу:

852-012: NOW *Legionella* Urinary Antigen Test (12 тестов в наборе)

852-000: NOW *Legionella* Urinary Antigen Test (22 теста в наборе)

852-010: NOW *Legionella* Urinary Antigen Control Swab Pack (1 набор)

Производитель: Binax, Inc. 10 Southgate Road Scarborough, Maine 04074 USA Phone: US: 1-800-637-3717 Fax: 207-730-5710 www.invernessmedicalpd.com	Эксклюзивный дистрибьютор в Российской Федерации: ЗАО «Биоград» Россия, 197110, г. Санкт-Петербург, Петровский пр., д. 14, литер А, офис 19-Н. тел/факс: +7 (812) 325 21 70 http://www.biograd.ru biograd@biograd.ru
--	--