

# Binax NOW® Legionella pneumophila антиген тест

## ИНСТРУКЦИЯ НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Антигенният уринен тест Binax NOW® Legionella е ин-витро, бърз, имунохроматографски метод за качествено определяне на Legionella pneumophila, серогрупа 1 (L.pneumophila serogroup 1 antigen) в проби от урина на пациенти, които имат симптоми на пневмония. Предназначен е за помощно средство при предполагаема диагноза „Легионелна инфекция“ (заболяването на легионерите), причинена от L. pneumophila серогрупа 1, в съответствие с микробиологичните култури и другите методи.

### РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ НА ТЕКСТА

Легионерската болест, наименована така след избухването ѝ през 1976 г. по време на сбора на Американския легион във Филаделфия, се причинява от Legionella pneumophila и се характеризира като остро фебрилно респираторно заболяване, чийто характер може да варира от леко заболяване до фатална пневмония<sup>1</sup>. Заболяването протича в епидемична и ендемична форми, като спорадичните случаи не се отдиференцират лесно по клиничните си симптоми от другите респираторни инфекции. Приблизително годишно в Съединените щати има от 25000<sup>2</sup> до 100000<sup>3</sup> случая на заболяването. Произтичащата от това смъртност варира от 25% до 40%<sup>2</sup>, като може да се намали ако заболяването се диагностицира бързо и се приложи възможно най-рано правилното антимикробно лечение. Известните рискови фактори включват имуносупресия, пушенето на цигари, консумацията на алкохол и съпътстващи белодробни заболявания<sup>2</sup>. Младежите и възрастните хора са особено податливи<sup>4-6</sup>.

Legionella pneumophila е отговорна за 80-90% от докладваните случаи на легионелна инфекция с отчитане на серогрупа 1, което е над 70% от всички легионелози<sup>2,7,8</sup>. Текущите методи за лабораторно определяне на пневмония, причинена от Legionella pneumophila изискват за поставяне на точна диагноза респираторна проба (напр. храчка, бронхиална промивка, трансстрахеален аспират, белодробна биопсия) или паралелен серум (хронична и конвалесцентна). Тези техники включват микробиологична култура (посевка) на Legionella, директен метод на флуоресциране на антигела (DFA), ДНК проби, както и индиректно флуоресциране на антигела (IFA). Всички тези методи се основават на получаване на адекватен респираторен материал, за да има задоволителна чувствителност, или трябва да се събере серум за 2 до 6-седмичен период. За съжаление един от симптомите на пациентите с легионерска болест е относителната липса на храчка<sup>8-9</sup>. Затова при много пациенти трябва да се използва инвазивна процедура, за да се получи респираторен материал.

Диагнозата чрез серологични техники е по своята същност ретроспективна и даже тогава трудно се получава съгласието на пациента да се получи необходимото количество материал.

Уринният антигенен тест Binax NOW® Legionella позволява ранно диагностициране на Legionella pneumophila серогрупа 1 чрез определяне на специфични, разтворими антигени, налични в урината на пациенти с легионерска болест<sup>10-14</sup>. Антигенът на Legionella pneumophila серогрупа 1 се открива най-рано три дни след поява на симптомите<sup>15</sup>. Тестът е бърз, дава резултат за 15 минути, като използва за материал урина, която е лесна за събиране, пренасяне и съответното определяне. Това е валидно и за по-късни фази на заболяването<sup>15</sup>.

### ПРИНЦИП НА ПРОЦЕДУРАТА

Уринният антигенен тест Binax NOW® Legionella е имунохроматографски мембранен метод за определяне разтворимия антиген на Legionella pneumophila серогрупа 1 в човешка урина. Резултантната линия (линията на пациента) представлява заешки анти-Legionella pneumophila серогрупа 1 антигела, които са адсорбирани върху нитроцелулозна мембрана. Кози анти-заешки IgG (контролната линия) са адсорбирани върху същата мембрана като втора линия. Заешките анти-Legionella pneumophila серогрупа 1 антигела са конюгирани с визуализиращи частици, които са изсушени върху инертна тъканна основа. Получената конюгатна пластинка и мембраната с линиите са свързвани, за да се получи тест лентата. Тази лента и прозорчето за нанасяне на пробата са монтирани на срещуположните краища на отварям с формата на книжка тест.

За да се проведе изпитването е необходимо да се потопи тампон в уринната проба, след което тампонът да се постави в теста. От приложения флакон се добавя реагент А. След това тестът се затваря, което довежда пробата до контакт с тестовата лента. Антигенът на L. pneumophila серогрупа 1, наличен в урината, захванат от неподвижното анти-L. pneumophila серогрупа 1 антигело реагира като свързва конюгираното антигело. Неподвижните кози анти-заешки IgG също захващат визуализиращия конюгат, като образуват контролната линия. Положителен резултат от теста може да се разчете след 15 минути или по-малко в зависимост от концентрацията на антигена, наличен в пробата урина. Отрицателен резултат от теста Binax NOW® Legionella, разчетен на 15-тата минута показва, че в пробата урина не е открит антиген на Legionella pneumophila серогрупа 1.

Тестът се интерпретира при наличието или липсата на видими розово до виолетово оцветени линии. Положителният резултат включва наличието на контролна и резултантна (пациентна) линия, докато отрицателния резултат - само на контролна линия. Липсата на контролна линия показва невалиден резултат без значение дали пациентната линия е налична или не.

## РЕАГЕНТИ И МАТЕРИАЛИ

Приложени материали

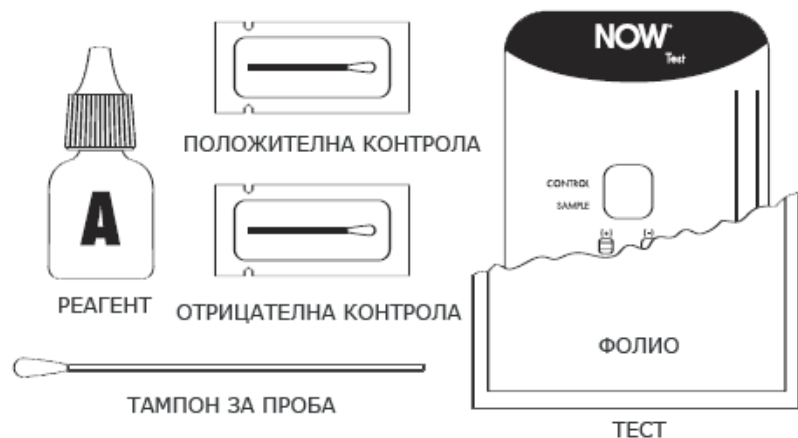
**Тест** – мембрана, покрита със заешки антитела, специфични към антигена на *Legionella pneumophila* серогрупа 1 и с кози анти-заешки IgG, комбинирана с антигенен конюгат на заешки анти-*Legionella pneumophila* серогрупа 1, поставени в отваряемо като книжка тестово приспособление.

**Реагент А** – цитрат/фосфат с Tween® 20 и азид.

**Тампони** – създадени специално за ползване с антигенният тест Binax NOW® *Legionella*. Не ползвайте други тампони.

**Тампон положителна контрола** – Топлинно инактивирана *L. pneumophila*, изсушена върху тампона.

**Тампон отрицателна контрола** – отрицателна контрола на *L. pneumophila*.



### Необходими, но неприложени материали

Часовник или хронометър

Стандартен съд за събиране на урина.

### Допълнителни материали

Контролният пакет тампони за антигенният уринен тест Binax NOW® *Legionella* съдържа 5 положителни и 5 отрицателни контролни тампона.

## ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. НЕВАЛИДЕН РЕЗУЛТАТ , показан с липсата на контролна линия може да се получи ако е добавено недостатъчно количество реагент А към теста. За да сте сигурни, че сте добавили необходимото количество задръжте флакона вертикално на около 2-2,5 см над прозорчето на тампона и накапвайте бавно.
2. Използвайте само за ин-витро диагностика.

3. Тестът е херметически затворен в алуминиево фолио. Не използвайте тест, ако фолиото му е отворено или разкъсано. Вадете теста от фолиото точно преди да го употребите. Не докосвайте реагентната зона на теста.
4. Не използвайте набори тестове с изтекъл срок на годност.
5. Не смесвайте компонентите от различни партии китове.
6. Тампоните в набора тестове са одобрени за ползване с теста Binax NOW®. Не ползвайте други тампони.
7. Разтворите, използвани за създаване на контролните тампони са инактивирани чрез стандартни методи. Обаче с пробите от пациенти, контролите и тестовите трябва да се работи така, като че ли те могат да пренесат заболяване. Съблюдавайте предпазните мерки срещу микробIALни рискове.

## СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Съхранявайте наборите тестова на стайна температура (15-30°C). Наборът антигенни тестове Binax NOW® *Legionella* и реагентите са стабилни до срока на годност, указан върху опаковката. Не използвайте набори с изтекъл срок на годност.



**15-30°C**  
ТЕМПЕРАТУРА  
НА СЪХРАНЕНИЕ

## ВЗИМАНЕ НА ПРОБА

Пробите урина трябва да се събират в стандартни съдове. Пробите могат да се съхраняват на стайна температура (15-30°C) за 24 часа. Алтернативно пробите могат да се съхраняват в хладилник (2-8°C) за до 14 дни или при (-10 до -20°C) за по-продължителен период преди тестване. За стабилизатор може да се използва борова киселина.

Ако е необходимо уринните проби могат да се транспортират в херметични съдове с гаранция за непропускане на 2-8°C или замразени.

Пробите трябва да се темперират до стайна температура преди да се ползват за анализ с антигенният уринен тест Binax NOW® *Legionella*.

## КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

### **Ежедневен контрол**

Уринният антигенен тест Binax NOW® *Legionella* съдържа вградена контрола. Производителят препоръчва за целите на ежедневния контрол тези вградени контроли да се документират при провеждането на всяка проба.

### **Положителна процедурна контрола**

Розово до виолетово оцветена линия в „Контролната“ зона се счита за вътрешна положителна процедурна контрола. Тази линия трябва да се появява винаги.

### Отрицателна процедурна контрола

Изчистването на фоновия цвят на резултантното прозорче дава отрицателната фонова контрола. Фоновият цвят в прозорчето трябва да стане слабо розов до бял в рамките на 15 минути и не трябва да пречи на разчитането на резултата от теста.

### Външни положителни и отрицателни контроли

Добрата лабораторна практика препоръчва използването на положителни и отрицателни контроли за удостоверяване на функционалността на реагентите и правилното провеждане процедурата на анализа. В набора са приложени положителни и отрицателни контролни тампони за проследяване на цялостната процедура. Допълнителни положителни и отрицателни контролни тампони Binax NOW® Legionella могат да се поръчат отделно. Алтернативно допълнителните контроли могат да бъдат тествани в зависимост от правилниците и изискванията на местните и държавните органи или на акредитиращата организация. При използването на течни уринни контроли просто процедирайте както с пациентната проба.

Положителна и отрицателна контрола би трябвало да се правят при отварянето на всеки нов тестов набор или ако има други изисквания от страна на Вашата стандартна лабораторна контролна процедура.

Ако не се получат очакваните контролни резултати, не отчитайте пробите от пациенти. Повторете контролното тестване или се обадете на техническият отдел на Байнакс в САЩ на тел: 001 609 627 8000 или на дистрибутора за България – „Фромвулеви“ ЕООД, тел. (02) 9433167, на факс (02) 9433518 или на електронен адрес – [company@fromvoulevs.com](mailto:company@fromvoulevs.com).

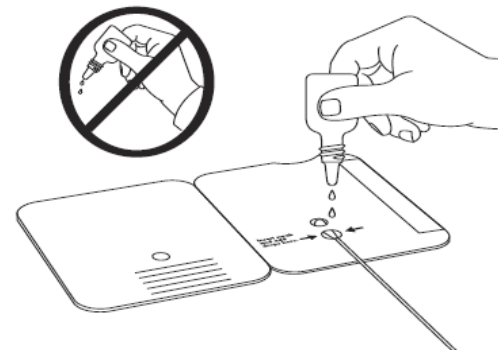
### ПРОЦЕДУРА НА ТЕСТВАНЕ

Не вадете теста от фолиото докато пробата за изпитване не достигне стайна температура.

1. Темперирайте пациентната урина и /или течните уринни контроли до стайна температура (15-30°C). Извадете теста от фолиото точно преди провеждане на анализа и го поставете на равно място.
2. Потопете тампона Binax в пробата урина, като напълно покриете главата на тампона. Ако тампона капе леко го притиснете към стената на съда за събиране на урина, за да отстраните излишната течност.
3. Има две дупки от вътрешната страна на десния панел на теста. Вкарайте тампона в **ДОЛНАТА** дупка (кладенче за тампона). Бутнете тампона нагоре така, че края му да се вижда изцяло през горната дупка. **НЕ ВАДЕТЕ ТАМПОНА.**
4. Задръжте флакона с реагент А вертикално на 2-2,5 см от теста. Бавно добавете **две (2)** свободно падащи капки от **Реагент А** към **ДОЛНАТА** дупка.
5. Веднага отлепете адхезивната лента от дясната страна на теста. Затворете и здраво залепете теста. Разчетете резултата в

прозорчето 15 минути след затваряне на теста. Разчитането на резултата след повече от 15 минути може да доведе до неточности. Също така някои положителни проби от пациенти могат да проявят резултантната линия за по-малко от 15 минути.

неправилно



правилно

Забележка:

За удобство дръжката на тампона е белязана и на това място може да се отчупи **след** затваряне на теста. Внимавайте да не извадите теста от кладенчето когато отчупвате дръжката.



ПРОЦЕДУРА ЗА Binax NOW® контролните тампони:

Извадете теста от фолиото точно преди да го използвате. Поставете го легнал на равна повърхност и изпълнете следната процедура:

1. Има две дупки от вътрешната страна на десния панел на теста. Вкарайте тампона в **ДОЛНАТА** дупка (кладенче за тампона). Бутнете тампона нагоре така, че края му да се вижда изцяло през горната дупка. **НЕ ВАДЕТЕ ТАМПОНА.**
2. Задръжте флакона с реагент А вертикално на 2-2,5 см от теста. Бавно добавете **шест (6)** свободно падащи капки от **Реагент А** към **ДОЛНАТА** дупка.

3. Веднага отлепете адхезивната лента от дясната страна на теста. Затворете и здраво залепете теста. Разчетете резултата в прозорчето 15 минути след затваряне на теста. Разчитането на резултата след повече от 15 минути може да доведе до неточности. Положителният контролен тампон може да прояви резултантната линия за по-малко от 15 минути.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

**Отрицателна проба** ще даде единична розово-виолетова контролна линия в горната половина на прозорчето, показвайки предполагаем отрицателен резултат. Тази контролна линия означава, че тестът е проведен правилно, но не се открива антиген на *L. pneumophila* серогрупа 1.



**Положителна проба** ще даде две розово-виолетови линии. Това означава, че е открит антиген. Проби с ниско ниво на антиген могат да покажат много слабо оцветена резултантна линия. Всяка видима линия в зоната на пациента (пробата) означава положителен резултат.



Ако в прозорчето не се виждат никакви линии или се вижда само линията на пробата, то тогава резултатът е **невалиден**. Невалидните тестове трябва да се повторят. Ако проблемът се повтори обадете се на техническият отдел на Байнакс в САЩ на тел: 001 609 627 8000 или на дистрибутора за България – „Фромвулеви“ ЕООД, тел. (02) 9433167, на факс (02) 9433518 или на електронен адрес – [company@fromvoulevs.com](mailto:company@fromvoulevs.com).



### ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Резултат	Препоръчителен отчет
Положителен	Наличие на антиген на <i>L. pneumophila</i> серогрупа в урината, което предполага наличието на настояща или минала инфекция.
Отрицателен	Отсъствие на антиген на <i>L. pneumophila</i> серогрупа в урината, което предполага липсата на скорошна или настояща инфекция. Инфекцията, причинена от <i>Legionella</i> не може да бъде напълно отхвърлена, тъй като и други серогрупи и щамове могат да причинят заболяването, антигенът може да не е наличен в урината в ранния стадий на инфекцията, а също така нивата на антиген в урината може да са под откриваемия минимум на теста.

### ОГРАНИЧЕНИЯ

Уринният антигенен тест Binax NOW® *Legionella* е валидиран за анализ само на уринни проби. Други материали (напр. плазма, серум и т.н.), които може да съдържат антиген на *Legionella* не са изпитани. Тестът не може да се използва за анализ на проби от околната среда (напр. питейна вода).

Този тест не открива инфекции, причинени от други серогрупи на *L. pneumophila* и от други щамове *Legionella*. Отрицателният антигенен резултат не изключва инфекция с *L. pneumophila* серогрупа 1. Препоръчва се посявка при суспектна пневмония за откриване на причинителя, различен от *L. pneumophila* серогрупа 1 или за доказване на *L. pneumophila* серогрупа 1, когато в урината не се открива антигена ѝ.

### ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клинична чувствителност и специфичност (ретроспективно изследване)  
Уринният антигенен тест Binax NOW® *Legionella* бе използван за изпитване на 300 замразени архивирани проби от пациенти в голям университет. Сто (100) от тези пациенти показаха положителен резултат за инфекция с *Legionella pneumophila* серогрупа 1, което бе потвърдено с посявка, DFA, RIA и/или IFA (4 x титър).

Общата съпоставимост на NOW® теста с лабораторната диагностика бе 95%. Чувствителността и специфичността също бяха 95% всяка. Деветдесет и пет процента (95%) доверителен интервал са показани по-долу:

		Лабораторна диагноза		
		+	-	
NOW® резултат	+	95	10	Чувствителност = 95% (88,7%-98,4%) Специфичност=95% (91,0%-97,6%) Точност =95% (91,9%-97,2%)
	-	5	190	

### Клинична специфичност (проспективно изследване):

В многоцентрово изследване бяха тествани 95 пресни уринни проби, взети от хоспитализирани пациенти с долни респираторни симптоми или сепсис с Binax NOW®. Сто процента (100%) от очакваните отрицателни резултати показаха отрицателен NOW® тест, което доказва, че антигенният уринен тест Binax NOW® *Legionella* е високо специфичен за популацията, за която е предназначен.

### Кръстосана реактивност:

От 200 отрицателни тествани уринни проби, 85 бяха от пациенти с бактериална пневмония (различна от *Legionella* spp.), 84 с инфекция на уринарния тракт, 14 – с микробиална инфекция, 5 с емпиема, 11 с други белодробни състояние и 1 с пневмония, причинена от транстрахеално аспириране.

Сто и деветдесет (190) от тези пациенти показаха отрицателна резултат с NOW® теста, което означава специфичност от 95%.

#### Изпитване за възпроизводимост:

Сляпо изследване на Binaх NOW® *Legionella* антигенният тест бе проведено в три различни центъра при ползването на панели кодирани проби. Панелите съдържаха отрицателна, ниско положителна, средно положителна и високо положителна проби. Бяха тествани проби със и без борова киселина. Всяка проба бе тествана многократно във всеки център три различни дни. Шестстотин двадесет и девет (629) от шестстотин и тридесет (630) проби общо показаха очаквания резултат.

#### **РЕФЕРЕНЦИИ**

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;297:1 189-1197.
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 pneumoniae*. *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 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.* 1 997;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.
- 1 1. Tilton, R.C. Legionnaires' disease antigen detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Ann. Intern. Med.* 1979;90:697-698.
- 1 2. 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.* 1 981 ;94:601-605.
- 1 3. 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.

#### **ИНФОРМАЦИЯ ЗА ПОРЪЧКИ**

Кат. Код	Тест	Вид
852-000	Антигенен Binaх NOW® <i>Legionella</i> тест	22 теста
852-012	Антигенен Binaх NOW® <i>Legionella</i> тест	12 теста
852-010	Опаковка контролни тампони за Binaх NOW® <i>Legionella</i>	

#### **ПРОИЗВОДИТЕЛ**



Binax Inc.  
10, Southgate Road  
Scarborough, Maine 04074 USA

#### **ВНОСИТЕЛ / ДИСТРИБУТОР**

ФРОМВУЛЕВИ ЕООД, София 1505, ул. „Марица“ № 10, тел. (02) 9433167, факс (02) 9433518, E-Mail: [company@fromvoulevs.com](mailto:company@fromvoulevs.com), WEB – [www.fromvoulevs.com](http://www.fromvoulevs.com).