



Ю. Бермонт

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ВНИИТ «ДАС»

«СОГЛАСОВАНО»

Руководитель испытательного
лабораторного центра
НИИ ФХМ МЗ РФ



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Одношаговый кассетный тест для прямого качественного выявления
антител к бациллам туберкулеза в сыворотке, плазме и цельной крови
человека «ТВ (TUBERCULOSIS) ONE STEP ASSAY»**

производства компании

«NovaMed» Ltd, Израиль 28 Pierre Koenig st. Talpiot Industrial Area POB
53231, Иерусалим 91531 Израиль, тел. 972-2-678-18-71

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

«TB (TUBERCULOSIS) ONE STEP ASSAY»R

Одноконтурный кассетный тест для прямого качественного выявления антител к бактериям туберкулеза в сыворотке, плазме и цельной крови человека.

Номер в каталоге - B-6017 (28 определений)

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Туберкулез остается латентно социально-экономической и медицинской проблемой по всему миру. В 1995 г. в мире умерло больше людей от туберкулеза, чем от любых других инфекционных заболеваний. По данным Центра Контроля за Заболеваниями, ожидается, что случаи заболевания туберкулезом вырастут с 7.5 миллионов случаев в 1995 до 11.9 миллионов в 2005. Количество летальных исходов оценивается на уровне 55% для людей, не прошедших лечение и 15% для людей, прошедших лечение.

Обычно используемые диагностические тесты на туберкулез, такие как анализ мокроты кислотоустойчивых бактерий, культуры мокроты или других жидкостей, туберкулиновый анализ кожи и рентгенологические исследования, не позволяют достичь требуемой диагностической чувствительности.

Вообще, лучшим способом клинической и эпидемиологической работы для диагностики туберкулеза являются серологические тесты, такие как гемоглутинация, комплемент фиксация, иммунофлуоресценция, ELISA и радиоиммунодиффузионные технологии^{1, 2, 3}. Но необходимость присутствия высокопрофессиональных специалистов и дорогих материалов для проведения тестов на туберкулез с использованием данных технологий является серьезным ограничением для их проведения в развивающихся странах.

ПРИНЦИП

Одноконтурный кассетный тест на туберкулез от Новамед является качественным скрининг-тестом для определения человеческих антител к бактерии Коха в сыворотке, плазме или цельной крови. Тест позволяет определять антитела у пациентов в активной фазе заболевания. Образцы, взятые у вакцинированных людей, не будут реагировать на Одноконтурный тест на туберкулез от Новамед.

Метод сочетает в себе универсальную комбинацию окрашенных конъюгатов анти-человеческих иммуноглобулинов и сильно очищенных БЦЖ протенинов⁴ для точного определения антител к анти КОСН. Тест в основном определяет IgG и IgA, но IgM также реагирует при высокой концентрации.

Чувствительность была рассчитана на 350 единиц в соответствии с предварительными исследованиями⁵, устанавливающими также отдельные показатели, как лучший в отношении специфичности, чувствительности, прогнозирующий ценности для серологических тестов на туберкулез. По мере того, как образец проходит через абсорбирующее устройство, окрашенные конъюгаты анти-человеческих иммуноглобулинов соединяются с человеческими антителами IgG, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс соединит протенины БЦЖ в зоне положительной реакции и приводит к появлению полосы розового цвета. В случае отсутствия антител БЦЖ в зоне реакции линия отсутствует. Смесь продолжает проходить сквозь абсорбирующее устройство через активную зону и контрольную зону. Свободный конъюгат соединяется с реагентами в

контрольной зоне, образуя полосу розового цвета, демонстрируя, что реагенты действуют правильно.

СОСТАВ НАБОРА

Каждый набор содержит все необходимое для проведения 20 тестов.

- | | |
|--|------|
| 1- Одноконтурный кассетный тест на туберкулез | 20 |
| 2- Растворитель в бутылочке с капельницей с содержанием соевого буферного раствора, детергента и азиды натрия ($\text{NaN}_3 < 0.1\%$) | 5 мл |
| 3- Одноразовые пластиковые пипетки | 20 |
| 4- Инструкция | 1 |

Хранение и устойчивость

1- Составляющие одноконтурного теста на туберкулез от Новамед должны храниться при температуре 4-30°C в герметичной упаковке.

2- Не замораживать

3- Набор одноконтурного теста на туберкулез от Новамед устойчив и может применяться до даты истечения срока хранения, указанной на упаковке.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1- Данный тест разработан для диагностики "IN VITRO" и только для профессионального использования.

2- Тщательно прочтите инструкцию перед применением.

3- Не использовать после истечения срока хранения, указанного на упаковке.

4- Не использовать тест, если запечатанная упаковка повреждена.

5- Обращаться со всеми образцами с такой осторожностью, как если бы они содержали инфекционные агенты. После завершения процедуры анализа оставить образцы после автоклавной обработки минимум на час или же их можно обработать 0.5- 1% раствором гипохлорита натрия за один час до использования.

6- Во время проведения анализа, быть в защитной одежде, такой как лабораторная халата, одноразовые перчатки.

7- Не есть, не пить и не курить на месте работы с образцами и реагентами.

8- Избегать контакта рук с глазами и слизистой носа во время забора образцов и проведения теста.

ЗАБОР ОБРАЗЦА И ПОДГОТОВКА

Сыворотка, плазма (гепаринат лития или аммония, ЭДТА) или цельная кровь

Забор образца должен проводиться в стандартных лабораторных условиях (асептически таким образом, чтобы избежать гемолиза).

Если тестируется цельная кровь, необходимо использовать свежие образцы (< 4 часа).

Если тест должен проводиться в течение 48 часов после забор, образец необходимо хранить в холодильнике при темп. (2° - 8°C).

Если тест откладывается более, чем на 48 часов, образец следует заморозить. Замороженный образец нужно полностью разморозить, тщательно перемешать и довести до комнатной температуры перед проведением теста. Избегать повторного замораживания и размораживания.

В случае помутнения, высокой вязкости или наличия сгустков веществ в образце сыворотки, перед тестированием его необходимо растворить таким же объемом (V/V) буферного раствора (не прилагается, но в случае необходимости предоставляется).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1- Довести образцы одношагового теста на туберкулез от Новамед до комнатной температуры перед началом тестов.

2- достать "устройство для проведения реакции" из защитной упаковки, разорвав ее по разметке.

3- Проставить имя пациента или контрольный номер на этикетке.

4- Наполнить пилетку для сыворотки образцами (сывороткой или плазмой или цельной кровью) и добавить в образец одну каплю, держа его вертикально (25 мкл). Если используется цельная кровь, добавьте 2 капли в тестовую область (50 мкл) (→).

5- Добавить примерно 5 или 6 полных капель растворителя (200 мкл) в тестовую область (→).

6- Считывать результаты через 10- 15 минут.

НЕ ИНТЕРПРЕТИРОВАТЬ РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ПРОШЕСТВИИ 15 МИНУТ
СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТА

A. отрицательный

Появляется одна
окрашенная полоса.



B. положительный

Две четкие полосы
указывают на
положительный результат



C. Неверный

Если четкая линия отсутствует в тестовом и контрольном окне, то результаты теста нельзя считать окончательными. В этом случае рекомендуется повторить тест.

Характеристики

а) Чувствительность

Группа из 23 положительных и отрицательных сывороток, предварительно протестированных методом LISA для IgG, IgA и IgM, была протестирована одношаговым тестом на туберкулез от Новамед. Результаты приведены в Таблице I и показывают чувствительность около 250 ед/мл или для IgG, так и для IgA. Окончательный тест на чувствительность был подготовлен для 350 ед/мл для оптимизации чувствительности, специфичности и прогнозирующей ценности теста (5).

Таблица I: сравнение Одношагового теста на туберкулез TB от Новамед с методом ELISA

сыворотка	ELISA			TB-тест-1 (15 мин)
	IgG (ед/мл)	IgA	IgM (ед/мл)	
830	отр.	отр.	отр.	отр.
866	отр.	отр.	отр.	отр.
868	отр.	отр.	отр.	отр.
869	отр.	отр.	отр.	отр.
870	отр.	отр.	отр.	отр.
871	отр.	отр.	отр.	отр.
876	отр.	отр.	отр.	отр.
881	отр.	отр.	отр.	отр.
883	отр.	отр.	отр.	отр.
910	отр.	отр.	отр.	отр.
919	отр.	отр.	отр.	отр.
921	отр.	отр.	отр.	отр.
HM	отр.	отр.	отр.	отр.
873	258	отр.	отр.	пол.
834	430	отр.	слаб+	пол.
879	525	200	отр.	пол.
849	отр.	290	пол.	пол.
878	слаб+	433	пол.	пол.
828	отр.	240	пол.	пол.
849	отр.	290	пол.	пол.
M 10/11	700	350	слаб+	пол.
M 24/10	1000	1000	пол.	пол.
874	500	1600	пол.	пол.

Другое исследование было проведено на 391 клинических пациентах. Результаты приведены в Таблице II.

Клиническое состояние	Результаты одношагового теста на туберкулез			
	Ква- ле	Положит.	Отриц.	Положит. %
1. Активный туберкулез легких	130	113	17	87
2. активный не туберкулез микобактериоз (NTM/NTM)	24	20	4	83
3. туберкулез в латентной форме	15	4	11	27
4. Другие респираторные заболевания	79	4	75	5
5. Другие заболевания	60	2	58	3
6. Здоровые	83	7	76	8
ИТОГО	391			

Таблица II: Результаты одношагового теста на туберкулез

Чувствительность теста, как показано, составляет 87% (113/130) в случае туберкулеза легких, 83% (20/24) в случае NTM и 86% (133/154) в целом.

Таблицы III, IV, V и VI показывают результаты однократного теста на туберкулез в сравнении с различными другими методами определения (тест мазками, культура мокроты или PPD) в соответствии с историей болезни. Только люди, относящиеся к группам (1) или (2) (активный микобактериоз) были отобраны для данных исследований.

Результаты микобактериального теста	результаты однократного теста на туберкулез			
	Кол-во	Положит.	Отрицат.	Чувствительность (%)
G0 (отрицат.)	23	18	5	78
G1-G3	66	54	12	82
G4-G6	46	43	3	93
G7-G10	19	18	1	95
ИТОГО	154	133	21	86,4%

Таблица III: Сравнение результатов однократного теста на туберкулез и мазковых методов

Результаты культуры мокроты	результаты однократного теста на туберкулез			
	Кол-во	Положит.	Отрицат.	Чувствительность (%)
-	6	5	1	83
+	75	59	16	79
2+	35	32	3	91
3+	23	22	1	96
4+	11	11	0	100
ИТОГО	150	129	21	86%

Таблица IV: Сравнение результатов однократного теста на туберкулез и методов культуры мокроты

Результаты реакции PPD	результаты однократного теста на туберкулез			
	Положит.	Положит.	Отрицат.	Чувствительность (%)
0,5-5 мм	5	4	1	80
6-10 мм	7	6	1	86
11-20 мм	33	24	9	73
21-40 мм	29	25	4	86
41-мм	10	9	1	90
ИТОГО	84	68	16	81%

Таблица V: Сравнение результатов однократного теста на туберкулез и методов реакции PPD

История болезни		результаты однократного теста на туберкулез			
		Положит.	Положит.	Отрицат.	Чувствительность (%)
Первая атака:	- менее 3 месяцев	64	53	11	83
	- более 3 месяцев	29	27	2	93
рецидив:	- менее 3 месяцев	15	13	2	87

	- более 3 месяцев	10	9	1	90
Хронический туберкулез		12	11	1	92
ИТОГО		130	113	17	87%

Таблица VI: результаты однократного теста на туберкулез в соответствии с историей болезни

б) Специфичность

Исходя из результатов в таблице II, специфичность теста была подсчитана и получены следующие результаты:

Специфичность = $\frac{\text{истинно отриц.} + \text{ложно отриц.}}{\text{истинно отриц.} + \text{ложно отриц.} + \text{ложно поз.}} \times 100$

$$= \frac{(11+75+58+76)}{(15+79+60+83)} \times 100$$

$$= \frac{220}{237} \times 100 = 92.8\%$$

а) Общее совпадение

Из результатов, приведенных в таблице II, общее совпадение теста в отношении клинического состояния было подсчитано следующим образом:

Соотношение = $\frac{\text{истинно поз.} + \text{истинно отриц.}}{\text{Общее кол-во случаев}} \times 100$

$$= \frac{(113+20) + (11+75+58+76)}{391} \times 100$$

$$= \frac{353}{391} \times 100 = 90\%$$

б) Перекрестная реакция

Как показано в таблице II, однократный тест на туберкулез имеет высокую перекрестную реакцию с другими микобактериальными инфекциями (группа 2: активный НТМ).

Ограничения

1- Поскольку так дело обстоит и с диагностическими процедурами, врач должен оценить сведения, полученные по результатам теста в свете другой клинической информации.

2- туберкулезные инфекции на очень ранней стадии могут привести к ложным отрицательным результатам из-за низкой концентрации антибактериальных антител в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови.

3- Если тестируется малая кровь, необходимо использовать свежие образцы (< 4 часа).

4- Однократный тест на туберкулез имеет высокую перекрестную реакцию с другими микобактериями и такие случаи нужно определять до тестирования.

5- Положительный результат не исключает присутствия других патогенов.

6- Из-за иммуноподавляющего влияния туберкулеза, у пациентов с запущенной формой заболевания могут быть получены отрицательные результаты (низкая концентрация циркулирующих антител).