

## No-Step Strep A Test

### БЕСШАГОВЫЙ ЭКСПРЕСС-ТЕСТ ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТА-ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ "А" В МАЗКАХ ИЗ ЗЕВА

Номер Каталога: R-6009 (1 определение)

Инструкция по эксплуатации

#### НАЗНАЧЕНИЕ

No-step Strep A Test - единственный в мире бесшаговый иммунохроматографический экспресс-анализ для прямого выявления антигена бета-гемолитического стрептококка группы А в мазках из зева человека, основанный на уникальном запатентованном устройстве, позволяющем провести процедуру теста быстро, легко и без каких-либо манипуляций с реагентами. Достаточно вставить зонд с материалом в отверстие устройства No-step Strep A Test и легко нажать на крышку, как запускается уникальный механизм взаимосвязанных процессов, спрятанных в пластиковую конструкцию и тест начинает "работать", обеспечивая результат в течение первых 5 минут.

Высокое качество, надежность, быстрота и простота использования тест-системы No-step Strep A Test позволяют определить стрептококк группы А у пациента непосредственно в кабинете врача поликлиники, в аптеке или в домашних условиях. No-step Strep A Test относится к экспресс-методам диагностики без выделения возбудителя, рекомендованных к применению для определения стрептококка А методическими указаниями МУ 3.1.1885-04.

#### ОБЪЯСНЕНИЕ

Среди бета-гемолитических стрептококков вызывающих инфекции у человека, группы А, В, С и G имеют наибольшую значимость<sup>5</sup>. Стрептококки группы А продолжают находиться в центре внимания инфекционистов не только из-за их роли как возбудителя острых стрептококковых фарингитов и других пиогенных инфекций, но также из-за их прямой ответственности за различные пост-стрептококковые осложнения, в частности, острой ревматической лихорадки и острого гломерулонефрита<sup>1,2</sup>. Для успешного лечения инфекции с использованием антибиотиковой терапии имеет большое значение правильно выбранный метод диагностики, позволяющий точно, а главное, вовремя определить патологический агент. В настоящее время используются несколько методов для скрининга группы А стрептококковой инфекции, в частности дисковый метод определения чувствительности к бацитрацину на кровяном агаре, метод латекс-агглютинации и метод иммуноферментного анализа<sup>3,4</sup>.

#### ПРИНЦИП

Экспресс-анализ No-step Strep A Test производства компании Novamed Ltd., Israel представляет собой помещенную в особое пластиковое устройство полоску нитроцеллюлозной мембраны с фиксированными на ней в области добавления пробы поли-клональными антителами к С-полисахаридному антигену стрептококков группы А, конъюгированными с коллоидными частицами золота. Запатентованная компанией Novamed Ltd., Israel уникальная технология позволяет поместить все Реагенты, обеспечивающие экстракцию антигена, его миграцию по мембране и улавливание его специфическими антителами под одной пластиковой конструкцией. Стрептококковый антиген, содержащийся в пробе и экстрагированный комплексом взаимосвязанных процессов скрытых внутри устройства, реагирует со специфическими поликлональными мечеными антителами, зафиксированными на мембране в области добавления пробы. Формируется комплекс антиген-антитело, который мигрирует по мембране, образуя в тестовой зоне (Т) цветную линию, оцениваемую как положительный результат. В отсутствие искомого антигена цветная линия в тестовой зоне (Т) устройства не образуется. Непрореагировавший конъюгат мигрирует далее к контрольной зоне, где захватывается поликлональными анти-антителами, формируя дополнительную цветную линию в контрольной зоне (С) тестового окошка. Контрольная линия появляется всегда. Наличие контрольной линии подтверждает корректность результатов теста (правильный объем пробы, необходимый темп миграции, требуемое качество реагентов).

#### КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

В состав набора входит:

- 1 тестовое устройство, упакованное в индивидуальную пластиковую упаковку с десикантом;
- 1 стерильный тампон для взятия мазка из зева;
- 1 инструкция по применению.

#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Не допускается использование набора и его компонентов после истечения срока годности.
2. Не использовать тест из поврежденной упаковки.
3. Использовать для тестирования только тампоны прилагаемые к набору.
4. После проведения исследования устройство должно быть утилизировано в соответствующий контейнер для отходов.
5. Необходимо провести тест не позднее 2 ч после вскрытия упаковки.
6. Внимательно прочтите инструкцию перед использованием.

#### ХРАНЕНИЕ

No-step Strep A Assay необходимо хранить при температуре +2+30°C. **Не замораживать!** Не допускается использование набора и его компонентов после истечения срока годности. Срок годности набора указан на упаковке.

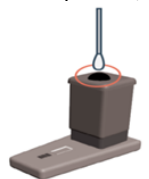
#### СБОР И РАБОТА С ИССЛЕДУЕМЫМ МАТЕРИАЛОМ

1. Рекомендуется использовать стерильные тампоны поставляемые в наборе. Тампоном производят соскоб материала с области миндалин, задней поверхности зева и прочих воспаленных участков при этом не касаясь щек, языка или зубов<sup>6</sup>.
2. Исследование мазков рекомендуется проводить сразу после взятия. Если немедленное исследование невозможно, зонд-тампон с материалом помещают в чистую сухую пробирку и хранят до 8 ч при комнатной температуре или 72 ч при температуре +2+8 °C.
3. В случае если один и тот же зонд-тампон используется для бактериологического посева микроорганизмов на селективную питательную среду, сначала производят штриховой посев тампоном на питательную среду, а лишь затем используют тампон для проведения иммунохроматографического исследования с помощью No-step Strep A Test .

#### ПРОЦЕДУРА ВЫПОЛНЕНИЯ ТЕСТА

Перед началом тестирования следует довести тестовое устройство No-step Strep A Test и образец до комнатной температуры (+15+30°C). Не вскрывать индивидуальную упаковку устройства до начала исследования. Непосредственно перед проведением исследования вскрыть индивидуальную упаковку, извлечь тестовое устройство No-step Strep A Test и установить его на чистую, ровную, горизонтальную поверхность;

1. *Собрать образец мазка из горла с помощью прилагаемого стерильного тампона и затем вставить его до упора в отверстие на синей крышке тестового устройства.*



2. *Большими пальцами обеих рук нажать на синюю крышку тестового устройства до упора. **ВНИМАНИЕ:***

- *Через 1 минуту слегка приподнять тампон и сразу же опустить его обратно до упора.*
- *Не трогать тестовое устройство до получения результатов.*



Результат теста учитывают в течение 5 минут после того, как тампон был вынут, а затем вставлен обратно в отверстие на синей крышке.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

##### Отрицательный результат

Цветная линия должна появиться в контрольной зоне (С) тестового окошка устройства.



T C

### Положительный результат

В дополнение к цветной линии в контрольной зоне (С), появляется другая цветная линия в тестовой зоне (Т) устройства.



Т С

### Недействительный результат

Отсутствие цветной контрольной линии (С) вне зависимости от наличия или отсутствия розово-сиреневой линии в тестовой зоне (Т) устройства.



Т С Т С

Неправильный объем пробы, несоблюдение процедуры тестирования или качество реагентов – наиболее частые причины отсутствия контрольной линии. Проанализируйте процедуру тестирования и повторите ее с использованием нового тестового устройства. Если проблема остается, следует прекратить тестирование и связаться с местным дистрибьютором.

### Замечания по интерпретации результатов

Интенсивность окраски линии в тестовой зоне кассеты меняется в зависимости от концентрации антигенов в образце. Однако ни количественное содержание антигенов, ни степень их возрастания не могут быть установлены с помощью данного качественного теста.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Тест предусматривает внутренний контроль за правильностью проведения процедуры. Цветная линия появляющаяся в контрольной зоне (С) тестового устройства, указывает на правильность проведения процедуры теста.

Результаты теста не учитывают в случае если неясный фон мешает интерпретировать результаты.

### ОГРАНИЧЕНИЯ

- Отрицательный результат теста No-step Strep A Test не исключает возможность наличия инфекции в отдельных случаях по причине низкой концентрации антигенов.
- Для постановки корректного диагноза необходимо сопоставление результатов теста с прочей клинической информацией.
- No-step Strep A Test предназначен только для профессионального использования в диагностике *in vitro*.
- Для проведения исследования необходимо использовать только материалы, поставляемые в наборе. Использование тампонов, не поставляемых в наборе, может повлиять на качество отбора пробы.
- При отборе пробы избегайте касаться тампоном щек, языка, зубов, кровоточащих слизистых.

### ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Аналитическая чувствительность

Для определения аналитической чувствительности No-step Strep A Test, контрольные штаммы *S.pyogenes* выращивались в жидкой питательной среде. Предел обнаружения (минимальное содержание *S.pyogenes* в пробе) No-step Strep A Test составил  $1 \times 10^5$  микроорганизмов в тампоне.

#### Чувствительность и специфичность

Всего, шестьсот восемнадцать (n = 618) мазков из зева было собрано у амбулаторных больных с клиническими проявлениями острого стрептококкового фарингитозиллита, посетивших городскую больницу в период с марта по октябрь 2016 г (n = 488) и центральную референс-лабораторию в марте 2017 года (n = 130). Мазки из зева были взяты у пациентов с подозрением на стрептококковый фарингитозиллит во время посещения, по направлению врача, микробиологической лаборатории при городской больнице У каждого пациента было взято одновременно два мазка с помощью стандартных стерильных тампонов с наконечниками из полиэстера (REF: 25-8061 PD Puritan Medical Products Co. LLC Guilford, ME USA). Первый тампон был использован для немедленного тестирования с помощью экспресс-анализа No-step Strep A Test (REF: R-6009 Novamed Ltd.), а второй - для традиционного бактериологического посева на чашки с кровяным агаром (TSA 5% DSB, REF: BA-125, Novamed Ltd.).

Каждый мазок из зева, собранный у 130 амбулаторных пациентов, посетивших поликлинику, помещался в пробирку с транспортной средой Amies и отправлялся в центральную референс лабораторию. При приеме в лабораторию, каждый тампон сначала инокулировали на кровяной агар (REF: BA-125, Novamed Ltd.), а затем возвращали в транспортную среду и хранили при комнатной температуре в течение 24 часов. После наблюдения за результатами роста на кровяном агаре, каждый сохраненный тампон тестировали с использованием No-Step Strep A Test. Впоследствии, оба результата сравнивались.

### Культивирование и идентификация

Чашки с кровяным агаром инкубировались в течение 24 часов при  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  в атмосфере 5-10%  $\text{CO}_2$  и исследовались в течение 24 часов на присутствие бета-гемолитических колоний. Культуро-отрицательные кровяные чашки инкубировали в течение дополнительных 18-24 часов. Типичные бета-гемолитические и каталазо-отрицательные колонии тестировались на пироглютамат-аминопептидазную активность с помощью теста StrepSwift (REF: BI-601, Novamed Ltd.) и окончательно подтверждались с помощью коммерчески доступного набора латекс-агглютинации для группирования стрептококков (REF: R6202, PathoDx® Strep Grouping latex agglutination assay, Remel, USA).

### Результаты

В целом, из шестьсот восемнадцати (n = 618) мазков из зева, оба метода (No-step Strep A Test и культура) были одинаково отрицательными в 438 (70.9%) образцах, и одинаково положительными в 174 (28.2%) образцах. Пост *S.pyogenes* по результатам культивирования на кровяном агаре был отмечен при посеве 178 (28.8%) мазков из зева. Пост *S.pyogenes* не был обнаружен при посеве 440 (71.2%) мазков из зева.

Table 1. Анализ результатов.

No-step Strep A Test	Культура			Total
	+	-	Total	
	+	-	Total	
	174	2	176	
	4	438	442	
	178	440	618	

95% (CI) Confidence Intervals

Sensitivity = 97.8%; Specificity = 99.7%; Positive Predictive Value =98.9%; Negative Predictive Value =99.1 %; Diagnostic Accuracy = 99 %.

### Обсуждение

У пациентов с подтвержденным стрептококковым фарингитозиллитом, положительная прогностическая ценность No-Step Strep A Test (Positive Predictive Value - вероятность положительной культуры при положительном результате No-Step Strep A Test) была очень высокой и составляла 98,9% (174/178). Чрезвычайно высоким - более 99,1% (438/440) оказался NPV (вероятность отрицательной культуры при отрицательном результате No-step Strep A Test. , если тест ступени Strep A отрицательный) для всех пациентов, было чрезвычайно высоким - более 99,1% (438/440). Поэтому, чувствительность No-step Strep A Test была очень высокой - 97,8%.

### Выводы

No-step Strep A Test - это чрезвычайно простой, быстрый и надежный тест. Он должен быть включен в первоначальную оценку для пациентов с высокой температурой и с подозрением на воспаление верхних дыхательных путей и фарингитозиллит. Его использование позволит безопасно проводить политику «без антибиотиков вслепую», и заметно сократить использование антибиотиков у этих детей.

### Перекрестное реагирование

При исследовании проб, содержащих нижеперечисленные микроорганизмы в количестве  $10^6$ - $10^8$  микроорганизмов в пробе, No-step Strep A test производства компании Novamed Ltd не показал неспецифических перекрестных реакций.

*Group B Streptococcus*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Streptococcus mutans*  
*Staphylococcus aureus*\*  
*Group C Streptococcus*  
*Enterococcus faecalis*  
*Aerococcus viridans*  
*Staphylococcus saprofiticus*

*Staphylococcus epidermidis*  
*Neisseria meningitidis*  
*Neisseria sicca*  
*Klebsiella pneumoniae*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Haemophilus influenzae*  
*Candida albicans*

\* Образцы обильно обсемененные штаммами *S. aureus* могут провоцировать слабые ложноположительные результаты.

### ЛИТЕРАТУРА:

- Appleton, RS, Victoria, BE, Tamer, D and Ayoub, EM. 1985. J.Lab.Clin.Med. 105:114-119.
- Ayoub, EM and Wannamaker, LW. 1962. Pediatrics. 29:527-38.
- Levinson, ML and Franck, PF. 1955. J.Bacteriol. 69:284-287.
- Bisou, AL and Ofek, I. 1974. J.Dis.Child. 127: 676-681.
- Manual of Clinical Microbiology. 1980. 3<sup>rd</sup> Edition.
- Shea, Y.R., *Specimen Collection and Transport*, Clinical Microbiology Procedures Handbook, Isenberg, H.D., American Society of Microbiology, Washington D.C., 1.1.1-1.1.30, 1992.