

**ДЛЯ ШВИДКОГО ВИЗНАЧЕННЯ ТОКСИНІВ А І В
CLOSTRIDIUM DIFFICILE**

Кат. № : **I91-ZF**
Форма : **касета**

Упаковка: **10 тестів**
Дата випуску інструкції: **27-08-2020**

Тільки для використання в *in vitro* діагностиці

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Комбінована тест-касета для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* (кал) - це швидкий хроматографічний імуноаналіз для якісного виявлення антигенів токсинів А і В *Clostridium difficile* в зразках калу людини.

РЕЗЮМЕ

Clostridium difficile є анаеробною бактерією, яка діє як умовно-патогенний мікроорганізм: вона росте в кишечнику, коли нормальна флора була змінена лікуванням антибіотиками.^{1,2,3} Токсигенні штами *Clostridium difficile* викликають інфекції від легкої діареї до псевдомембранозного коліту, що призводить до смерті.⁴

Захворювання викликається двома токсинами, що продукуються токсигенними штамми *C. difficile*: токсином А (ентеротоксин, що пошкоджує тканини) і токсином В (цитотоксин). Деякі штами виробляють токсини А і В, інші виробляють тільки токсин В. Потенційна роль третього (бінарного) токсину у патогенності все ще обговорюється.⁴

ПРИНЦИП

Комбінована тест-касета для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* виявляє два різних антигени в зразках калу для *C. difficile*, а саме, токсин А і токсин В на двох різних тест-смужках в одній тест-касеті, таким чином одночасно виявляючи два антигени, специфічні для *Clostridium difficile*.

Для аналізу *C. difficile*-специфічного токсину А

Мембрана попередньо покрита антитілами анти-*C.diff* токсину А та антитілами анти-*C.diff* токсину А на ділянці тестової лінії. Під час тестування зразок реагує з частинками, покритими антитілом анти-*C.diff* токсину А. Суміш мігрує вгору по мембрані хроматографічно шляхом капілярної дії, щоб реагувати з антитілом анти-*C.diff* токсину А на мембрані і утворювати кольорову лінію. Наявність цієї кольорової лінії в тестовій області свідчить про позитивний результат, а її відсутність - про негативний результат. Щоб служити процедурним контролем, кольорова лінія завжди буде з'являтися в області контрольної лінії, що вказує на те, що було додано належний об'єм зразка та відбулося зволоження мембрани.

Для аналізу *C. difficile*-специфічного токсину В

Мембрана попередньо покрита антитілами анти-*C.diff* токсину В і антитілами анти-*C.diff* токсину В на ділянці тестової лінії. Під час тестування зразок реагує з частинками, покритими антитілом анти-*C.diff* токсину В. Суміш мігрує вгору по мембрані хроматографічно шляхом капілярної дії, щоб реагувати з антитілом анти-*C.diff* токсину В на мембрані і утворювати кольорову лінію. Наявність цієї кольорової лінії в області тестової лінії свідчить про позитивний результат, а її відсутність - про негативний результат. Щоб служити процедурним контролем, кольорова лінія завжди буде з'являтися в області контрольної лінії, що вказує на те, що було додано належний об'єм зразка та відбулося зволоження мембрани.

РЕАГЕНТИ

Тест-касета містить вкриті антитілами анти-*Clostridium difficile* токсину А і анти-*Clostridium difficile* токсину В частинки, а також антитіла анти-*Clostridium difficile* токсину А і антитіла анти-*Clostridium difficile* токсину В, нанесені на мембрані.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Тільки для професійного застосування в *in vitro* діагностиці. Не використовуйте після закінчення терміну придатності.
- Тест-касета повинна залишатися в герметичній упаковці до використання.
- Не їжте, не пийте та не паліть у зоні, де обробляється зразок чи набори.
- Поводьтеся з усіма зразками так, ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтесь встановлених заходів безпеки щодо мікробіологічних небезпек протягом усього тестування та дотримуйтесь стандартних процедур правильної утилізації зразків.
- Під час тестування зразків одягайте захисний одяг, такий як лабораторний халат, одноразові рукавички та захист для очей.
- Використаний тест слід утилізувати відповідно до місцевих норм.
- Вологість і температура можуть негативно вплинути на результати.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Зберігати набір запакованим при кімнатній температурі або в холодильнику (2-30 °C (°C)). Тест-касета стабільна протягом усього терміну придатності, зазначеного на герметичній упаковці. Тест-касета повинна залишатися в цій упаковці з осушувачем до використання. **НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ.** Не використовувати після закінчення терміну придатності.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зразки калу повинні бути перевірені якомога швидше після забору. При необхідності оригінальний зразок калу можна зберігати при 2-8 °C (°C) протягом 3 днів або -20 °C (°C) протягом більш тривалого періоду часу; екстрагований зразок у буфері можна зберігати при 2-8 °C (°C) протягом 1 тижня або -20 °C (°C) протягом більш тривалого періоду часу.

Переконайтеся, що зразки не обробляються розчинами, що містять формальдегід або його похідні.

МАТЕРІАЛИ
Матеріали, які постачаються з набором

- Тестові касети
- Інструкція
- Пробірки для збору зразків з екстракційним буфером
- Піпетки

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором

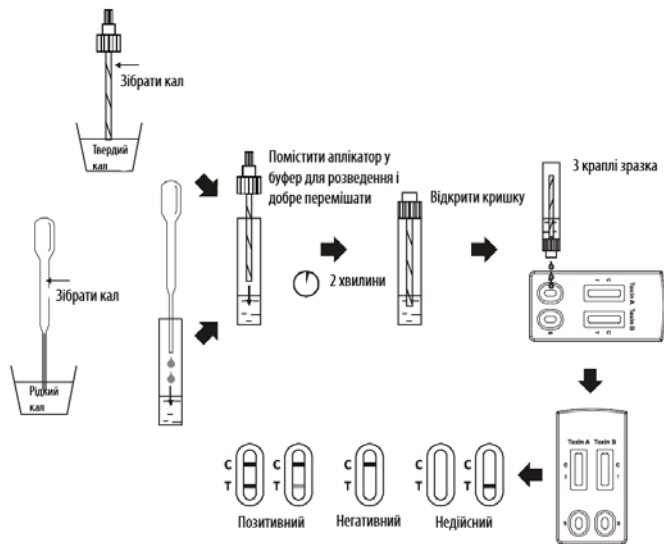
- Контейнери для збору калу
- Таймер
- Центрифуга

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Перед тестуванням доведіть тест-касету, зразок, буфер та/або контроль до кімнатної температури (15-30 °C (°C)).

1. Щоб зібрати зразки калу:
Зберіть достатню кількість калу (1-2 мл (ml) або 1-2 г (g)) у чисту, суху ємність для збору зразків для отримання достатньої кількості антигенів (якщо присутні). Найкращі результати будуть отримані, якщо аналіз буде виконано протягом 6 годин після збору. Зібрані зразки можна зберігати протягом 3 днів при температурі 2-8 °C (°C), якщо їх не проаналізовано протягом 6 годин. Для тривалого зберігання зразки слід зберігати нижче -20 °C (°C).
2. Для обробки зразків калу:
 - **Для твердих зразків**
Відкрутіть ковпачок пробірки для збору зразків, а потім довільним чином **вставляйте аплікатор для збору зразків у зразок калу принаймні у 3 різних місцях**, щоб зібрати приблизно **50 мг (mg) калу** (еквівалентно 1/4 горошини). Не зачерпуйте зразки калу.
 - **Для рідких зразків**
Тримайте піпетку вертикально, аспіруйте зразки калу, а потім перенесіть 2 краплі рідкого зразка (приблизно 80 мкл (µl)) у пробірку для збору зразків, що містить екстракційний буфер. Затягніть ковпачок на пробірці для збору зразків, а потім **інтенсивно струстіть пробірку для збору зразків**, щоб перемішати зразок і буфер для екстракції. Залиште пробірку в спокої на 2 хвилини.
3. Перед відкриттям пакета доведіть його до кімнатної температури. Вийміть тест-касету з пакета з фольги та використайте її якомога швидше. Найкращі результати будуть досягнуті, якщо випробування буде проведено одразу після відкриття пакета з фольги.
4. Тримайте пробірку для збору зразків вертикально і **відкрутіть ковпачок** на пробірці для збору зразків. Переверніть пробірку для збору зразків і **перенесіть 3 повні краплі екстрагованого зразка** (приблизно 120 мкл (µl)) у лунку для зразків (S) випробувальної касети, потім запустіть таймер. Уникайте потрапляння бульбашок повітря в лунку для зразків (S). Див. ілюстрацію нижче.
5. Зчитайте результати через **10 хвилин** після внесення зразка. Не читайте результати через 20 хвилин.

Примітка: Якщо зразок не мігрує (наявність частинок), центрифугуйте розбавлені зразки, що містяться у флаконі з екстракційним буфером. Зберіть 120 мкл (µl) надосадової рідини, внесіть в лунку для зразків (S). Запустіть таймер і продовжуйте від кроку 5, дотримуючись вищевказаних інструкцій.



ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати тесту відображаються у двох різних вікнах тесту відповідно на токсин А або токсин В. Критерії інтерпретації залишаються однаковими для позитивності чи негативності для конкретних досліджуваних антигенів відповідно до вказівки відповідного вікна тесту. Результати слід інтерпретувати наступним чином:

ПОЗИТИВНИЙ: *З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в області контрольної лінії (С), а інша видима кольорова лінія повинна бути в області тестової лінії (Т).

*ПРИМІТКА: Інтенсивність кольору в області тестової лінії (Т) буде змінюватися залежно від концентрації антигенів *Clostridium difficile*, присутніх у зразку. Тому будь-який відтінок кольору в області тестової лінії (Т) слід вважати позитивним.

НЕГАТИВНИЙ: Одна кольорова лінія з'являється в області контрольної лінії (С). В області тестової лінії (Т) не з'являється жодної лінії.

НЕДІЙСНИЙ: Контрольна лінія (С) не відображається. Недостатній об'єм зразка або неправильні методи процедури є найбільш вірогідними причинами появи контрольної лінії. Перегляньте процедуру і повторіть аналіз з новим тестом. Якщо проблема не зникає, негайно припиніть використання тестового набору та зверніться до місцевого дистриб'ютора.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Внутрішній процедурний контроль включений в тест. Кольорова лінія, що з'являється на контрольній ділянці (С), є внутрішнім позитивним процедурним контролем. Вона підтверджує додавання належної кількості зразка, належне зволоження мембрани і коректність проведення процедури.

Контрольні стандарти не поставляються разом з цим набором; тим не менш, належною лабораторною практикою рекомендується тестування позитивного і негативного контролів для підтвердження процедури тесту і контролю належної роботи тесту.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Комбінована тест-касета для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* (кал) призначена лише для діагностики *in vitro*.
2. Тест є якісним і не може передбачити кількість антигенів, присутніх у зразку. Для встановлення діагнозу необхідно враховувати клінічну картину та інші результати аналізів.
3. Позитивний тест не виключає можливості наявності інших збудників.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

У зразках калу здорової людини тест на *Clostridium difficile* повинен дати негативний результат тесту на будь-який з досліджуваних антигенів. Комбіновану тест-касету для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* (кал) порівнювали з іншим провідним комерційним експрес-тестом. Кореляція між двома системами становить 96.0% для *C.diff* токсину А і 94.7% для токсину В.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Межа виявлення

Граничні значення виявлення Комбінованої тест-касети для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* (кал) становили 2 нг/мл (ng/ml) для токсину А і 7 нг/мл (ng/ml) для токсину В.

Чутливість - специфічність

Результати токсину А *Clostridium difficile*

Метод	Інший швидкий тест		Загальні результати	
	Позитивний	Негативний		
Тест-касета для швидкого визначення токсинів А і В <i>Clostridium difficile</i> (кал)	Позитивний	115	5	120
	Негативний	7	173	180
Загальні результати		122	178	300

Відносна чутливість: 94.3% (95%CI*: 88.5%~97.7%)

Відносна специфічність: 97.2% (95%CI*: 93.6%~99.1%)

Достовірність: 96.0% (95%CI*: 93.1%~97.9%)

*Довірчий інтервал

Результати токсину В *Clostridium difficile*

Метод	Інший швидкий тест		Загальні результати	
	Позитивний	Негативний		
Тест-касета для швидкого визначення токсинів А і В <i>Clostridium difficile</i> (кал)	Позитивний	112	6	118
	Негативний	10	172	182
Загальні результати		122	178	300

Відносна чутливість: 91.8% (95%CI*: 85.4%~96.0%)

Відносна специфічність: 96.6% (95%CI*: 92.8%~98.8%)

Достовірність: 94.7% (95%CI*: 91.5%~96.9%)

*Довірчий інтервал

Точність

В аналізі та між аналізами

Для перевірки достовірності в аналізі (повторюваності) ті самі позитивні зразки та буферний розчин аналізували 3 рази на наборах однієї виробничої партії в тих самих експериментальних умовах. Усі спостережувані результати підтвердилися, як і очікувалося.

Щоб перевірити достовірність між аналізами (відтворюваність), ті самі зразки (позитивні та буфер) були аналізовані на наборах із трьох різних виробничих партій. Всі результати підтвердилися, як і очікувалося.

Перехресна реактивність

Була проведена оцінка для визначення перехресної реактивності Комбінованої тест-касети для швидкого визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* (кал). Відсутність перехресної реактивності щодо шлунково-кишкових патогенів, іноді проявляється наступним чином:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigelladysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>E. coli O157:H7</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Інтерферуючі речовини

До негативних і позитивних зразків токсинів А і В *Clostridium difficile* були додані наступні потенційно інтерферуючі речовини.

Аскорбінова кислота:	20 мг/дл (mg/dl)
Щавлева кислота:	60 мг/дл (mg/dl)
Білірубін:	100 мг/дл (mg/dl)
Сечова кислота:	60 мг/дл (mg/dl)
Аспірин:	20 мг/дл (mg/dl)
Сечовина:	2000 мг/дл (mg/dl)
Глюкоза:	2000 мг/дл (mg/dl)
Кофеїн:	40 мг/дл (mg/dl)
Альбумін:	2000 мг/дл (mg/dl)

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Ramadass Balamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: *Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction*, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008.
2. E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl6, p. 2-18, Oct. 2006.
3. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T. Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988.
4. Ramsey L. et al: *Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications*, Annals of Surgery 235 (3) p. 363-372: Mar. 2002.

Умовні позначення

	Увага, дивіться інструкції по застосуванню		Тестів в наборі		Не використовувати повторно
	Тільки для in vitro діагностики		Використати до		Кат. №
	Зберігати між 2-30 °C (°C)		№ партії		
	Не використовуйте, якщо пакет пошкоджений		Виробник		



ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»

Україна, 76018

м. Івано-Франківськ, вул. Петлюри, 25

Моб.: +38 (067) 000-20-22

E-mail: info@labua.com.ua

