



ТЕСТ-КАСЕТА

ДЛЯ ШВИДКОГО ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ IgG/IgM ДО ЛЕЙШМАНІЇ (ЦІЛЬНА КРОВ/СИРОВАТКА/ПЛАЗМА)

Кат. № : I23-2WSP
Форма : касета

Упаковка: 40 тестів
Дата випуску інструкції: 12-12-2019

Тільки для використання в *in vitro* діагностиці

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до Лейшманії (цільна кров/сироватка/плазма) - це швидкий хроматографічний імуноаналіз для якісного виявлення IgG та IgM антитіл до Лейшманії у цільній крові, сироватці або плазмі.

РЕЗЮМЕ

Вісцеральний лейшманіоз, або *Kala-azar*, - це дисемінована інфекція, спричинена декількома підвидами *L. donovani*. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ), хвороба вражає приблизно 12 мільйонів людей у 88 країнах¹. Він передається людині через укуси піщаних мух *Phlebotomus*, які заражаються, харчуючись інфікованими тваринами. Хоча це хвороба, поширена в бідних країнах, у Південній Європі вона стала основною опортуністичною інфекцією у хворих на СНІД²⁻³. Ідентифікація *L. donovani* в крові, кістковому мозку, печінці, лімфатичних вузлах або селезінці забезпечує точний спосіб діагностики. Серологічне визначення IgM анти-*L. donovani* є відмінним маркером гострого вісцерального лейшманіозу. Тести, що використовуються в клініці, включають ІФА, флуоресцентні антитіла або тести прямої аглютинації⁴⁻⁵. Нещодавно використання в тесті специфічного білка *L. donovani* значно підвищило чутливість і специфічність⁶⁻⁷.

Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до Лейшманії (цільна кров/сироватка/плазма) - це серологічний тест на основі рекомбінантного білка, який виявляє антитіла IgG та IgM до *L. donovani* одночасно. Тест дає достовірний результат протягом 15 хвилин без будь-яких приладів.

ПРИНЦИП

Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до Лейшманії (цільна кров/сироватка/плазма) - це латеральний хроматографічний імунологічний аналіз. Тест-касета складається з: 1) площадки кон'югату бордового кольору, що містить рекомбінантний антиген *L. donovani*, кон'югований з колоїдним золотом (кон'югати *Leishmania*) і кон'югати кролячий IgG-золото, 2) смужки з нітроцелюлозною мембраною, що містить дві тестові смуги (смуги IgM та IgG) і контрольну смугу (смуга C). Смуга IgM попередньо покрита моноклональними антитілами IgM людини для виявлення IgM анти-*L. donovani*; смугу IgG попередньо покривають реагентами для виявлення IgG анти-*L. donovani*, а смуга C попередньо покрита козячими анти-кролячими IgG.

РЕАГЕНТИ

Тест-касета містить рекомбінантний антиген Лейшманії, кон'югований з колоїдним золотом, мишачий анти-людський IgG та мишачий анти-людський IgM, нанесені на мембрану.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Тільки для професійного застосування в *in vitro* діагностиці. Не використовувати після закінчення терміну придатності.
- Не їжте, не пийте та не пальть у місці, де працюють із зразками або тест-касетами.
- Обробляйте всі зразки так, ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтесь встановлених запобіжних заходів щодо мікробіологічної небезпеки під час усіх процедур і дотримуйтесь стандартних процедур для належної утилізації зразків.
- Одягайте захисний одяг, такий як лабораторний халат, одноразові рукавички та засоби захисту очей під час аналізу зразків.
- Вологість і температура можуть негативно вплинути на результати.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

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

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- Тест-касету для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до Лейшманії (цільна кров/сироватка/плазма) можна використовувати з цільною кров'ю (від венепункції або з пальця), сироваткою або плазмою.
- Для збору зразків **Цільної Крові з Пальця**:
 - Помити руку пацієнта милом і теплою водою або протерти спиртовим тампоном. Дозволити висохнути.
 - Помасажувати руку не торкаючись до місця проколу потираючи руку в сторону середнього або безіменного пальця.
 - Проколоти шкіру стерильним ланцетом. Видалити першу кров.
 - Акуратно потерти руку від зап'ястя в сторону долоні і до пальця, щоб утворилася округла крапля крові на місці проколу.
 - Додати зразок цільної крові з пальця в тест-касету з допомогою **капілярної трубки**:
 - Опустити кінець капілярної трубки в кров, поки вона не заповниться прибіл. на 40 мкл (µl). Уникати бульбашок повітря.
 - Помістити грушу на верхньому кінці капілярної трубки, потім віджати її, щоб внести всю кров у лунку (S) тест-касети.
 - Додати зразок цільної крові з пальця на тест-касету роблячи **висячі краплі**:
 - Розмістити палець пацієнта таким чином, щоб крапля крові знаходилася безпосередньо над лункою (S) тест-касети.
 - Дозволити 1 висячі краплі крові з пальця впасти в лунку (S) тест-касети, або підсунути палець пацієнта таким чином, щоб висяча крапля торкнулася центру тестової області. Уникати прямого контакту пальця з тестовою ділянкою.
- Відокремити якомога швидше сироватку або плазму, щоб уникнути гемолізу. Використовувати тільки чисті, не гемолізовані зразки.
- Тестування слід проводити відразу після збору зразка. Не залишати зразки при кімнатній температурі протягом тривалих періодів часу. Зразки сироватки та плазми можуть зберігатися при температурі 2-8 °C (°C) до 3 днів. При тривалому зберіганні зразків температура повинна бути нижче -20 °C (°C). Цільну кров, зібрану венепункцією, слід зберігати при температурі 2-8 °C (°C), якщо тест буде виконаний протягом 2 днів після забору. Не заморожувати зразки цільної крові. Цільна кров, зібрана з пальця, повинна бути перевірена відразу.
- Привести зразки до кімнатної температури до початку випробувань. Заморожені зразки повинні бути повністю розморожені і змішані задовго до тестування. Зразки не повинні розморожуватися неодноразово.
- Якщо зразки підлягають транспортуванню, вони повинні бути упаковані відповідно до місцевого законодавства, що стосується перевезення етіологічних агентів.
- EDTA K2, гепарин натрію, цитрат натрію та оксалат калію можна використовувати як антикоагулянт для збору зразка.

МАТЕРІАЛИ

Матеріали, які постачаються з набором

- Тест-касети
- Буфер
- Піпетки
- Інструкція

Необхідні матеріали, але не надані з набором

- Контейнери для збору зразків
- Ланцети (тільки для цільної крові з пальця)
- Гепаринізовані капілярні пробірки та дозуюча колба (тільки для цільної крові з пальця)
- Центрифуга (тільки для плазми)
- Таймер

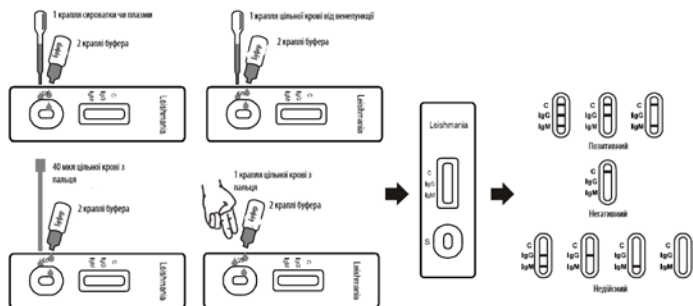
ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

До початку тестування дозволити тесту, зразку і/або контролям досягти кімнатної температури (15-30 °C (°C)).

- Привести упаковку до кімнатної температури перед її відкриттям. Вийняти тест-касету з запечатаної упаковки і використовувати її як можна швидше.
- Покласти тестову касету на чисту і рівну поверхню.
Для зразків сироватки або плазми: Тримати піпетку вертикально і перенести **1 краплю сироватки або плазми** крові (приблизно 40 мкл (µl)) в лунку для зразка, потім додати **2 краплі буфера** (приблизно 80 мкл (µl)). Включити таймер. Див. Малюнок нижче.
Для зразків цільної крові від венепункції: Тримати піпетку вертикально і перенести **1 краплю цільної крові** (приблизно 40 мкл (µl)) в лунку для зразка, потім додати **2 краплі буфера** (приблизно 80 мкл (µl)). Включити таймер. Див. Малюнок нижче.
Для зразків цільної крові з пальця:
 - Використання капілярної трубки: заповнити капілярну трубку і **перенести приблизно 40 мкл (µl) зразка цільної крові з пальця** у лунку на тест-касеті, потім **додати 2 краплі буфера**

(приблизно 80 мкл (µl)) і запустити таймер. Див. Малюнок нижче.

- Використання всіячих крапель: **дозволити 1 всіячій краплі цільної крові з пальця** (приблизно 40 мкл (µl)) впасти у центр лунки на тест-касеті, **додати 2 краплі буфера** (приблизно 80 мкл (µl)) і запустити таймер. Див. Малюнок нижче.
3. Дочекайся появи кольорової (х) лінії (й). **Зчитати результат через 15 хвилин.** Не інтерпретувати результат через 20 хвилин.



ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

(Будь ласка, зверніться до ілюстрації вище)

IgG ПОЗИТИВНИЙ: З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в контрольній області (C) і ще одна чітка кольорова лінія повинна бути в області IgG.

IgM ПОЗИТИВНИЙ: З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в контрольній області (C) і ще одна чітка кольорова лінія повинна бути в області IgM.

IgG та IgM ПОЗИТИВНИЙ: З'являються три чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в контрольній області (C) і ще дві чіткі кольорові лінії повинні бути в областях IgG та IgM.

ПРИМІТКА: Інтенсивність кольору в зоні тестової ділянки (T) буде варіюватися в залежності від концентрації антитіл *Leishmania* в зразку. Таким чином, будь-який відтінок червоного кольору в області тестової ділянки слід розглядати як позитивний.

НЕГАТИВНИЙ: Одна кольорова лінія з'являється в зоні контрольної лінії (C). На ділянках IgG та IgM не з'являється видима червона чи рожева лінія.

НЕДІЙСНИЙ: Контрольна лінія не з'являється. Недостатній об'єм зразка або неправильна методика процедури тесту є найбільш ймовірними причинами не появи контрольної лінії. Переглянути процедуру і повторити тест з використанням нової тест-касети. Якщо це не дає бажаного результату, слід припинити використання тестового набору негайно і зв'язатися з регіональним дистриб'ютором.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Внутрішні процедурні контролю включені в тест. Кольорова лінія, що з'являється на контрольній ділянці (C), є внутрішнім позитивним процедурним контролем. Вона підтверджує додавання належної кількості зразка, відповідне зволоження мембрани і коректність проведення процедури.

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

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Процедура аналізу та інтерпретація результатів тесту повинні суворо дотримуватися під час тестування на наявність антитіл до *L. donovani* в сироватці, плазмі або цільній крові окремих суб'єктів. Недотримання процедури може дати неточні результати.
- Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) обмежується якісним виявленням антитіл до *L. donovani* в сироватці, плазмі або цільній крові людини. Інтенсивність забарвлення тестової смуги не має лінійної кореляції з титром антитіл у зразку.
- Негативний результат для окремого суб'єкта вказує на відсутність антитіл анти-*L. donovani* на рівні виявлення. Проте негативний результат тесту не виключає можливості контакту з *L. donovani*, збудником вісцерального лейшманіозу.
- Негативний результат може виникнути, якщо кількість антитіл *L. donovani*, присутніх у зразку, нижча за межі виявлення аналізу, або антитіла, які виявлені, відсутні на стадії захворювання, на якій збирається зразок.
- Результати, отримані за допомогою цього тесту, слід інтерпретувати лише в поєднанні з іншими діагностичними процедурами та клінічними даними.

- Рівень гематокриту цільної крові може вплинути на результати тесту. Для отримання точних результатів рівень гематокриту повинен бути від 25% до 65%.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Тест-касету для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) порівнювали з провідним комерційним тестом ІФА на IgG/IgM *Leishmania*. Кореляція між цими двома системами становить понад 97%.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чутливість та Специфічність

Загалом 269 зразків від сприйнятливих суб'єктів було протестовано за допомогою Тест-касети для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) та комерційного ІФА IgM *L. donovani*. Порівняння для всіх суб'єктів показано в наступній таблиці.

Результати IgM

Метод	Результати	ІФА		Загальні результати
		Позитивний	Негативний	
Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до <i>Leishmania</i> (цільна кров/сироватка/плазма)	Позитивний	31	4	35
	Негативний	3	231	234
Загальні результати		34	235	269

Відносна Чутливість: 91.2% (95%CI*: 76.3%-98.1%)

Відносна Специфічність: 98.3% (95%CI*: 95.7%-99.5%)

Достовірність: 97.4% (95%CI*: 94.7%-98.9%)

*Довірчий Інтервал

Загалом 314 зразків від сприйнятливих суб'єктів було протестовано за допомогою Тест-касети для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) та комерційного ІФА IgG *L. donovani*. Порівняння для всіх суб'єктів показано в наступній таблиці.

Результати IgG

Метод	Результати	ІФА		Загальні результати
		Позитивний	Негативний	
Тест-касета для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до <i>Leishmania</i> (цільна кров/сироватка/плазма)	Позитивний	13	6	19
	Негативний	1	294	295
Загальні результати		14	300	314

Відносна Чутливість: 92.9% (95%CI*: 66.1%-99.8%)

Відносна Специфічність: 98.0% (95%CI*: 95.7%-99.3%)

Достовірність: 97.8% (95%CI*: 95.5%-99.1%)

*Довірчий Інтервал

Точність

В аналізі

Точність визначення в аналізі визначалась за допомогою 20 повторень 5 зразків: негативного, позитивного з низьким титром *Leishmania* IgM, позитивного з високим титром *Leishmania* IgM, позитивного з низьким титром *Leishmania* IgG і позитивного з високим титром *Leishmania* IgG. Негативні, позитивні з низьким титром *Leishmania* IgM, позитивні з високим титром *Leishmania* IgM, позитивні з низьким титром *Leishmania* IgG і позитивні з високим титром *Leishmania* IgG були правильно ідентифіковані у 100% випадків.

Між аналізами

Точність визначення в аналізі визначалась за допомогою 20 повторень тих самих 5 зразків: негативного, позитивного з низьким титром *Leishmania* IgM, позитивного з високим титром *Leishmania* IgM, позитивного з низьким титром *Leishmania* IgG і позитивного з високим титром *Leishmania* IgG. Три різні лоти Тест-касети для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) були тестовані з використанням негативних, позитивних з низьким титром *Leishmania* IgM, позитивних з високим титром *Leishmania* IgM, позитивних з низьким титром *Leishmania* IgG і позитивних з високим титром *Leishmania* IgG зразків. Зразки були правильно ідентифіковані у 100% випадків.

Перехресна реактивність

Тест-касету для швидкого визначення антитіл IgG/IgM до *Leishmania* (цільна кров/сироватка/плазма) було протестовано з позитивними на HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, anti-Syphilis, anti-HIV, anti-H. Pylori, anti-MONO, anti-CMV IgG, anti-CMV IgM, anti-Rubella IgG, anti-Rubella IgM, anti-Toxo IgG та anti-Toxo IgM зразками. Результати показали відсутність перехресної реакції.

Інтерферуючі речовини

Наступні потенційно інтерферуючі речовини були додані до негативних і позитивних зразків *Leishmania*.

Ацетамінофен: 20 мг/дл (mg/dl)

Кофеїн: 20 мг/дл (mg/dl)

Ацетилсаліцилова кислота: 20 мг/дл (mg/dl)

Гентизинова кислота: 20 мг/дл (mg/dl)

Аскорбінова кислота: 2 г/дл (g/dl)

Альбумін: 2 г/дл (g/dl)

Креатин: 200 мг/дл (mg/dl)

Гемоглобін 1000 мг/дл (mg/dl)

Білірубін: 1 г/дл (g/dl)

Щавлева кислота: 60 мг/дл (mg/dl)

Жодна з речовин у випробовуваній концентрації не заважала аналізу.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. WHO. Control of the Leishmaniasis. World Health Organization. Technical Report Series 1990. No. 793.
2. Rosenthal E, Marty P. Visceral leishmaniasis. Rev Prat. 2004;54(20):2211-6.
3. Molina R, Gradoni L, Alvar J. HIV and the transmission of Leishmania. Ann Trop Med Parasitol. 2003 ;97 Suppl 1:29-45.
4. Allain DS, Kagan IG. A direct agglutination test for leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 1975 ;24(2):232-6.
5. Badaro R, Reed SG, Carvalho EM. Immunofluorescent antibody test in American visceral leishmaniasis: sensitivity and specificity of different morphological Am J Trop Med Hyg. 1983;32(3):480-4.
6. Maalej IA, Chenik M, Louzir H, Ben Salah A, et, al. Comparative evaluation of ELISAs based on ten recombinant or purified Leishmania antigens for the serodiagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg. 2003 68(3):312-20.
7. Burns JM Jr, Shreffler WG, Benson DR, Ghalib HW, Badaro R, Reed SG. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of Leishmania chagasi that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Jan 15;90(2):775-9.

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		Зверніться до інструкції з використання
	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

