

ДЛЯ ШВИДКОГО ВИЗНАЧЕННЯ IgG/IgM ДО ЛЕПТОСПІРИ

Кат. № : **124-2WSP**
 Форма : **касета**

Упаковка: **40 тестів**
 Дата випуску інструкції **19-01-2018**

Тільки для використання в in vitro діагностиці

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) - це швидкий хроматографічний імуноферментний аналіз для якісного виявлення IgG та IgM антитіл до *Leptospira interrogans* у цільній крові, сироватці або плазмі крові.

РЕЗЮМЕ

Лептоспіроз зустрічається по всьому світу і є поширеною легкою та серйозною проблемою для здоров'я людей і тварин, особливо в районах з жарким і вологим кліматом. Природними резервуарами для лептоспірозу є гризуни, а також велика різноманітність одомашнених ссавців. Інфікування людини спричинене *Leptospira interrogans*, патогенним представником роду *Leptospira*^{1,2}. Інфекція поширюється через сечу тварини-носія.

Після зараження лептоспіри присутні в крові до їх очищення через 4 - 7 днів після вироблення антитіл проти *Leptospira interrogans*, спочатку класу IgM. Культура крові, сечі та спинномозкової рідини є ефективним засобом підтвердження діагнозу протягом 1–2 тижнів після зараження. Серологічне виявлення антитіл проти *Leptospira interrogans* також є поширеним методом діагностики. Тести доступні у цій категорії: 1) Мікроскопічний тест на аглютинацію (МАТ); 2) ІФА; 3) Непрямі тести на флуоресцентні антитіла (IFAT)⁶. Однак усі вищезазначені методи потребують складного обладнання та кваліфікованих фахівців.

ПРИНЦИП

Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) - це якісний мембранний імунологічний аналіз для виявлення антитіл IgG та IgM до лептоспіри в цільній крові, сироватці або плазмі. Мембрана попередньо покрита рекомбінантним мишачим анти-людським IgG та мишачим анти-людським IgM на тестовій лінії касети. Під час тестування зразок цільної крові, сироватки або плазми вступає в реакцію з рекомбінантним колоїдним золотом з антигеном *Leptospira interrogans*. Суміш хроматографічно мігрує вгору по мембрані під капілярною дією, щоб реагувати з мишачим анти-людським IgG та/або мишачим анти-людським IgM на мембрані та генерувати кольорову лінію. Наявність цієї кольорової лінії вказує на позитивний результат, тоді як її відсутність вказує на негативний результат. В якості процедурного контролю, кольорова лінія завжди з'явиться в області контрольної лінії, що вказує на те, що був доданий відповідний об'єм зразка та відбулось зволоження мембрани.

РЕАГЕНТИ

Тестова касета містить рекомбінантний антиген *Leptospira interrogans*, 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 паліть у зоні, де обробляються зразки чи набори.
- Поводьтесь з усіма зразками так, ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтесь встановлених заходів безпеки щодо мікробіологічних небезпек протягом усіх процедур та дотримуйтесь стандартних процедур правильної утилізації зразків.
- Носіть захисний одяг, такий як лабораторні халати, одноразові рукавички та захист 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). Тест стабільний протягом усього терміну придатності, зазначеного на герметичній упаковці. Тест повинен залишатися в цьому мішечку до використання. **НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ!** Не використовувати після закінчення терміну придатності.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- Тест-касету Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) можна застосовувати з використанням цільної крові (від венепункції чи з пальця), сироватки або плазми.
- Щоб зібрати зразки Цільної крові з пальця:
 - Вимийте руку пацієнта милом і теплою водою або очистіть спиртовим тампоном. Дайте висохнути.
 - Масажуйте руку, не торкаючись місця проколу, потираючи руку до кінчика середнього або безіменного пальця.
 - Проколоти шкіру стерильним ланцетом. Протерту першу кров.
 - Обережно потирайте руку від зап'ястя до долоні і до пальця, щоб отримати повну краплю крові над місцем проколу.
 - Додати зразок цільної крові з пальця в тест-касету з допомогою капілярної трубки:
 - Опустити кінець капілярної трубки в кров, поки вона не заповниться прибл. на 40 мкл. 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 висячу краплю крові з пальця впасти в лунку (S) тест-касети, або підсунути палець пацієнта таким чином, щоб висяча крапля торкнулася лунки (S). Уникати прямого контакту пальця з лункою (S).
- Як можна швидше відокремити сироватку або плазму від крові, щоб уникнути гемолізу.
- Тестування слід проводити відразу ж після збору зразків. Не залишайте зразки при кімнатній температурі протягом тривалого періоду часу. Зразки сироватки та плазми можуть зберігатися при 2-8 °C протягом 3 днів. Для тривалого зберігання, зразки повинні зберігатися нижче -20 °C. Цільну кров, зібрану шляхом венепункції, зберігати при 2-8 °C, якщо тест потрібно проводити протягом 2 днів після збору. Не заморожувати зразки цільної крові. Необхідно негайно протестувати цільну кров, отриману з пальця.
- Перед тестуванням доведіть зразки до кімнатної температури. Замерзлі зразки повинні бути повністю розморожені та добре перемішані перед тестуванням. Зразки не слід заморожувати та відтавати неодноразово.
- Якщо екземпляри повинні бути транспортовані, вони повинні бути упаковані відповідно до місцевих правил для транспортування етіологічних агентів.

МАТЕРІАЛИ
Матеріали, які постачаються з набором

- Тестові касети
 - Піпетки
 - Буфер
 - Інструкція
- Необхідні матеріали, але не надані**
- Контейнери для збору зразків
 - Центрифуга (тільки для плазми)
 - Таймер
 - Ланцети (тільки для цільної крові з пальця)
 - Гепаринізовані капілярні пробірки та колба для дозування (тільки для цільної крові з пальця)

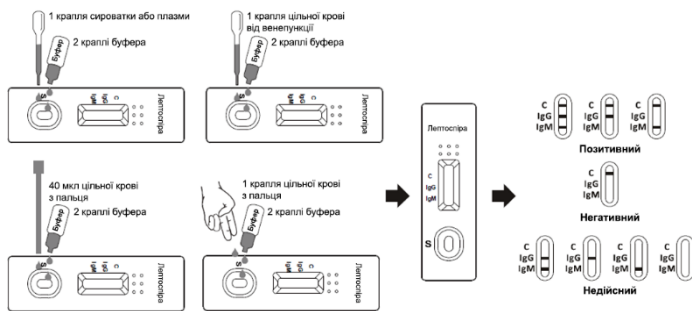
ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

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

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

- Використання капілярної трубки: заповнити капілярну трубку і **перенести приблизно 40 мкл зразка цільної крові з пальця** у лунку (S) на тест-касеті, потім **додати 2 краплі буфера** (приблизно 80 мкл) і запустити таймер. Див. Малюнок нижче.
- Використання висячих крапель: **дозволити 1 висячій краплі цільної крові з пальця** (приблизно 40 мкл) впасти у центр лунки на тест-касеті, потім **додати 2 краплі буфера** (приблизно 80 мкл) і запустити таймер. Див. Малюнок нижче.

3. Дочекається появи кольорової (x) лінії (й). Зчитати результати 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 знаходитися в контрольній області (C), а інша кольорова лінія - в області IgG.

IgM ПОЗИТИВНИЙ: З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна знаходитися в контрольній області (C), а інша кольорова лінія - в області IgM.

IgG та IgM ПОЗИТИВНИЙ: З'являються три чітко забарвлені лінії. Одна кольорова лінія повинна знаходитися у контрольній області (C), а ще дві кольорові лінії - на ділянках IgG та IgM.

ПРИМІТКА: Інтенсивність забарвлення в області IgG та IgM буде змінюватися залежно від концентрації антитіл Лептоспіри, присутніх у зразку. Тому будь-який відтінок червоного в області IgG та IgM слід вважати позитивним.

НЕГАТИВНИЙ: Одна кольорова лінія з'являється в контрольній області (C). Ніяких видимих червоних або рожевих ліній в області IgG та IgM не спостерігається.

НЕДІЙСНИЙ: Не відображається контрольна лінія. Недостатній об'єм зразка або неправильні процедурні методи є найбільш ймовірними причинами не появи контрольної лінії. Перегляньте процедуру та повторіть тест з новою тестовою касетою. Якщо проблема не зникає, негайно припиніть використання тестовою набору і зверніться до місцевого дистриб'ютора.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Процедурний контроль включений 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 і негативного контролів належною лабораторною практикою для підтвердження процедури тесту і контролю належної роботи тесту.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Інструкція з використання та інтерпретація результату повинні бути дотримані під час перевірки наявності антитіл до патогенних *L. interrogans* у сироватці, плазмі або цільній крові від окремих суб'єктів. Недотримання процедури може дати неточні результати.
- Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) обмежується якісним виявленням антитіл до *Leptospira interrogans* у сироватці, плазмі або цільній крові. Інтенсивність досліджуваної смужки не має лінійної кореляції з титром антитіл у зразку.
- Негативний результат для окремого суб'єкта вказує на відсутність антитіл *Leptospira interrogans*, що виявляються. Однак негативний результат тесту не виключає можливості впливу *Leptospira interrogans*.
- Негативний результат може бути отриманий, якщо кількість антитіл *Leptospira interrogans*, присутніх в зразку, нижче меж виявлення аналізу, або антитіла, що виявлені, відсутні в стадії захворювання, коли зразок був отриманий.
- Деякі зразки, що містять незвично високий титр гетерофільних антитіл або ревматоїдний фактор, можуть впливати на очікувані результати.
- Результати, отримані за допомогою цього тесту, слід інтерпретувати лише у поєднанні з іншими діагностичними процедурами та клінічними результатами.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) була порівняна з провідним комерційним ІФА тестом на IgG Лептоспіри, IgM Лептоспіри демонструючи загальну точність понад 98%.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чутливість і специфічність

Всього 230 зразків було аналізовано з Тест-касетою Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) та комерційним набором Leptospira IgM ІФА. Порівняння для всіх об'єктів наведено в наступній таблиці.

Результати IgM

Метод	ІФА		Загальні результати	
	Результати	Позитивний		Негативний
Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма)	Позитивний	9	3	218
	Негативний	1	217	
Загальні результати		10	220	230

Відносна Чутливість: 90,0% (95%CI*: 55,5%~99,7%);

Відносна Специфічність: 98,6% (95%CI*: 96,1%~99,7%);

Достовірність: 98,3%(95%CI*: 94,7%~98,9%).

* Довірчий Інтервал

Всього 239 зразків було аналізовано з Тест-касетою Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) та комерційним набором Leptospira IgM ІФА. Порівняння для всіх об'єктів наведено в наступній таблиці.

Результати IgG

Метод	ІФА		Загальні результати	
	Результати	Позитивний		Негативний
Тест-касета Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма)	Позитивний	15	3	221
	Негативний	1	220	
Загальні результати		16	223	239

Відносна Чутливість: 93,8% (95%CI*: 69,8%~99,8%);

Відносна Специфічність: 98,7% (95%CI*: 96,1%~99,7%);

Достовірність: 98,3% (95%CI*: 95,8%~99,5%).

* Довірчий Інтервал

Точність

В аналізі

Точність в аналізі визначалася з використанням 20 реплік п'яти зразків: негативний, позитивний з низьким титром *Leptospira IgM*, позитивний з високим титром *Leptospira IgM*, позитивний з низьким титром *Leptospira IgG* та позитивний з високим титром *Leptospira IgG*. Від'ємний, позитивний з низьким титром *Leptospira IgM*, позитивний з високим титром *Leptospira IgG* та позитивний з високим титром *Leptospira IgG* були визначені у 100% випадків.

Між аналізами

Точність між аналізами визначалася 20 незалежними аналізами на тих самих п'яти зразках: негативний, позитивний з низьким титром *Leptospira IgM*, позитивний з високим титром *Leptospira IgM*, позитивний з низьким титром *Leptospira IgG* та позитивний з високим титром *Leptospira IgG*. Три різні партії Тест-касети Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) були випробувані протягом 3-денного періоду, використовуючи зразки: від'ємний, позитивний з низьким титром *Leptospira IgM*, позитивний з високим титром *Leptospira IgM*, позитивний з низьким титром *Leptospira IgG* та позитивний з високим титром *Leptospira IgG*. Зразки були коректно визначені у 100% випадків.

Перехресна реактивність

Тест-касету Лептоспіра IgG/IgM (цільна кров/сироватка/плазма) перевіряли з позитивними зразками НАМА, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, сифіліс, ВІЛ, *H. pylori*, MONO, CMV, Rubella та TOXO. Результати не показали перехресної реакції.

Інтерферуючі речовини

Наступні потенційно інтерферуючі речовини додавали до негативних та позитивних зразків *Leptospira interrogans*.

Ацетамінофен: 20 мг/дл

Ацетилсаліцилова кислота: 20 мг/дл

Аскорбінова кислота: 2 г/дл

Креатин: 200 мг/дл

Білірубін: 1 г/дл

Кофеїн: 20 мг/дл

Гентизова кислота: 20 мг/дл

Альбумін: 2 г/дл

Гемоглобін 1000 мг/дл

Щавлева кислота: 60 мг/дл

Жодна з речовин, що перебувають у досліджуваній концентрації, не інтерферують в аналізі.

ПОСИЛАННЯ

1. Stallman GND. The International Committee on Systematic Bacteriology: Sub committee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
2. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
3. Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
4. Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999; 61: 731–734.
5. Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980; 11: 452–457.
6. Appassakij H, Silpapojakul K, Wansit R, et al: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995; 52: 340.



ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»

Україна, 76014

м. Івано-Франківськ, вул. Петлюри 25.

Моб.: +38(067) 000-20-22

E-mail: info@labua.pro

