

## ІНСТРУКЦІЯ з використання

### тест-набору імунохроматографічного для виявлення антигенів холерного вібріона «Холера-тест-МБА»



#### 1. Призначення

Тест-набір «Холера-тест-МБА» призначений для візуального (якісного) швидкого виявлення антигенів холерного вібріона (*Vibrio cholera* O1, *Vibrio cholera* O139) у зразках фекалій людини або у воді методом імунохроматографічного аналізу. Холера – це гостре водянисте діарейне захворювання, що викликається головним чином *V. cholerae* серогрупи O1 і рідше *V. cholerae* O139. Холера може призвести до тяжкої діареї та смерті, якщо її не лікувати. Етіологічним агентом холери було ідентифіковано холерний вібріон (*V. cholerae*), грамнегативну бактерію, яка зазвичай передається людині через забруднену воду та їжу. Вид *V. cholerae* поділяється на кілька серогруп на основі O антигенів. Підгрупи O1 і O139 представляють особливий інтерес, оскільки обидві можуть викликати епідемію та пандемію холери. *V. cholerae* O1 і *V. cholerae* O139 передаються фекально-оральним шляхом і таким чином холера переважно пов'язана з відсутністю безпечної питної води, належної санітарії та особистої гігієни. Країни, які стикаються зі складними надзвичайними ситуаціями, більш уразливі до спалахів холери. Важливо якнайшвидше визначити наявність збудника холери у клінічних зразках, у воді та їжі, щоб органи охорони здоров'я могли вжити відповідний моніторинг та ефективні профілактичні заходи. *Тільки для професійного використання.*

#### 2. Принцип методу

Виявлення антигенів холерного вібріона засновано на методі імунохроматографічного аналізу. Тест використовує антитіла, специфічні для антигенів VC O1 і VC O139, для вибіркового виявлення антигенів VC O1 і антигенів VC O139 у фекаліях людини або у воді. Кожний з антигенів VC O1 і VC O139 виявляються за допомогою окремої імунохроматографічної смужки. Зразок, що тестується, поглинається ділянкою зони для внесення зразка та мігрує по капілярам мембрани, на якій іммобілізовані антитіла до VC O1 або антитіла до VC O139. При наявності у зразку антигенів *V. cholera* останні вступають у реакцію з забарвленим кон'югатом моноклональних антитіл та утворюють комплекс з іммобілізованими на мембрані антитілами до *V. cholera*. Результатом такої реакції є поява кольорової лінії у тестовій зоні смужки (O1 або O139). Наявність такої лінії на тестовій ділянці мембрани вказує на позитивний результат, в той час як відсутність її – на негативний результат тесту.

З метою контролю роботи тесту на кожній мембрані буде завжди з'являтися кольорова контрольна лінія (C), яка підтверджує правильність проведення тесту (внутрішній контроль виконання процедури).

#### 3. Склад тест-набору та додаткові матеріали

##### 3.1. Загальний склад набору

- тест-касета в індивідуальній герметичній упаковці з вологопоглиначем – 1 шт.;
- одноразова піпетка для зразка – 1 шт.;
- пробірка для зразка з розчинником (*Vibrio cholera* Buffer; прозорий екстракційний буферний розчин, 2 мл) – 1 шт.;
- інструкція – 1 шт.

##### 3.2. Додаткові матеріали, які не входять до складу набору, але можуть бути необхідні для проведення тестування

- ємність для відбору зразків;
- центрифуга;
- автоматичний дозатор змінного об'єму з наконечниками;
- штатив для пробірок;
- одноразові гумові рукавички;
- таймер або годинник.

#### 4. Застереження та техніка безпеки

- тести призначені лише для *in vitro* діагностики;
- не допустимо використання тестів після закінчення їх терміну придатності;
- не використовувати тести у разі пошкодження упаковки;
- тести призначені лише для одноразового використання;
- відкривати упаковку тесту безпосередньо перед використанням;
- використовувати тільки чистий посуд для відбору зразків;
- поводитися із зразками необхідно як з потенційно інфікованим матеріалом, дотримуючись мір безпеки відносно мікробіологічного ризику;

- тест слід оберігати від прямих сонячних променів, вологості та перегрівання;
- при роботі зі зразками необхідно носити захисний одяг: халат та окуляри;
- постановку аналізу проводити лише у гумових рукавичках;
- не вживати їжу, напої у місці знаходження зразків та тестів;
- підвищена вологість та температура можуть впливати на результати тесту;
- утилізувати тест зі звичайними відходами згідно чинного законодавства.

**Увага!** Недотримання вищезазначених вимог може призвести до невірних результатів досліджень, тсуванню тестів та їх аналітичних характеристик.

#### 5. Спосіб застосування

##### 5.1. Підготовка зразків фекалій

**Увага!** Для отримання більш точних результатів рекомендується проводити тестування відразу після забору матеріалу, протягом 6 годин після забору зразка.

5.1.1. Зразки фекалій, що досліджуються, слід збирати у чисту, суху ємність, яка не містить миючих засобів, консервантів або транспортних середовищ. Зразки можна зберігати за температури (2-8) °C не більше 3 діб після забору. Зберігання зразків більш тривалий період (не більше 6 місяців) допускається за температури мінус 20 °C або нижче. Заморожені зразки перед використанням розморожують та витримують за кімнатної температури (15-30) °C протягом 30 хвилин. Після розморожування зразки слід перемішати для досягнення однорідності.

5.1.2. За допомогою палички для зразка відібрати приблизно 50 мг (за об'ємом приблизно чверть горошини) з трьох-чотирьох ділянок зразку фекалій. Помістити паличку з невеликою кількістю зразку (50 мг) у пробірку для зразка з розчинником, що входить до складу набору, як вказано на Малюнку 1.

5.1.3. Якщо зразок фекалій рідкий, то відібрати зразок за допомогою одноразової піпетки та додати до пробірки для зразка з розчинником 2 краплі (приблизно 80 мкл), як вказано на Малюнку 1.

**Увага!** Використовуйте тільки піпетку, що входить до складу набору!

5.1.4. Закрити пробірку з розчинником та зразком фекалій кришечкою, ретельно струсити для отримання однорідної суспензії зразку. Залишити пробірку з розчином зразка в спокої у вертикальному положенні протягом 2 хвилин.

##### 5.2. Підготовка тест-набору до тестування

**Увага!** Перед використанням перевіряють цілісність пакування та зовнішній вигляд набору на відповідність п.3.1.

Тест-набір витримують за кімнатної температури (15-30) °C протягом 30 хвилин.

#### 6. Процедура тестування

##### 6.1. Тестування зразків фекалій людини

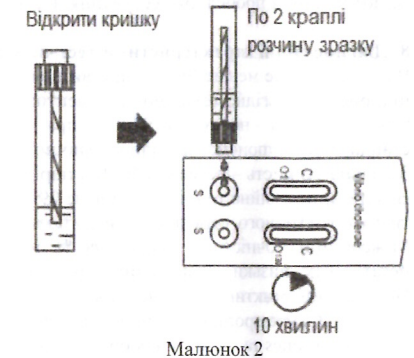
- вилучити тест-касету із герметичної упаковки і покласти її на чисту, суху, рівну поверхню;
- після відкриття використайте тест-касету якомога швидше, не допускаючи попадання прямих сонячних променів на тест-касету;
- відкрийте (відкрутіть) кінчик кришечки у пробірці з розчином зразка;
- нанесіть по 2 повні краплі (приблизно по 80 мкл) підготовленого зразка точно у кожен лунку для зразків, як вказано на Малюнку 2;

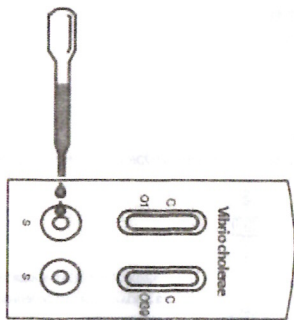
**Увага!** При можливості уникайте попадання повітряних бульбашок та твердих часточок фекалій у лунку для зразка.

- зазначте час і спостерігайте за появою кольорової лінії (ліній) протягом 10 хвилин.

**Увага!** Не беріть до уваги результат після 20 хвилин.

**Увага!** Якщо зразок не мігрує вздовж мембрани, необхідно звільнити розчин зразка від зайвих часток центрифугуванням та повторити тестування з новим тестом.





Малюнок 3

протягом 10 хвилин.

**Увага!** Не беріть до уваги результат після 20 хвилин.

## 6.2. Тестування зразків води

- вилучіть тест-касету із герметичної упаковки і покладіть її на чисту, суху, рівну поверхню;
- після відкриття використайте тест-касету якомога швидше, не допускаючи попадання прямих сонячних променів на тест-касету;
- відкриті (відкрутіть) кінчик кришечки у пробірці з розчином зразка;
- використовуючи піпетку, що входить до складу набору, наберіть зразок води та нанесіть по 2 повні краплі (приблизно по 80 мкл) підготовленого зразка точно у кожну лунку для зразків, як вказано на Малюнку 3;

**Увага!** При можливості уникайте попадання повітряних бульбашок у лунку для зразка.

- зазначте час і спостерігайте за появою кольорової лінії (ліній)

## 7. Інтерпретація результатів

**Увага!** Поява ліній на контрольній ділянці (C) завжди є контролем правильності виконання процедури.

**Тест негативний:** на контрольній ділянці (C) з'являється одна кольорова лінія; на тестових ділянках (O1 та O139) відсутні кольорові лінії. Антигенів холерного вібриона у зразку не виявлено.

**Тест позитивний на VC O1:** з'являються дві кольорові лінії на смужці O1 (одна лінія - на контрольній ділянці (C), а друга лінія - на тестовій ділянці (O1)) та одна кольорова лінія на смужці O139 (на контрольній ділянці (C)). У зразку виявлений антиген VC O1.

**Тест позитивний на VC O139:** з'являються дві кольорові лінії на смужці O139 (одна лінія - на контрольній ділянці (C), а друга лінія - на тестовій ділянці (O139)) та одна кольорова лінія на смужці O1 (на контрольній ділянці (C)). У зразку виявлений антиген VC O139.

**Увага!** Інтенсивність забарвленої лінії на тестовій ділянці (T) може змінюватися в залежності від концентрації антигенів лямблій у зразку. Тому поява лінії іншого відтінку кольору (навіть слабо забарвленої) в ділянці (T) повинна розглядатися як позитивний результат.

**Тест недійсний:** не з'являється контрольна лінія. Це свідчить про недостатню кількість зразку для тестування або не дотримання процедури тестування. Необхідно повторити тестування з використанням нового тесту.

## 8. Діагностичні характеристики тест-набору

Чутливість - не менше 96,2 % при визначенні VC O1 та не менше 98,3 % при визначенні VC O139 за стандартом підприємства згідно технічної документації.

Специфічність - не менше 97,8 % при визначенні VC O1 та не менше 97,3 % при визначенні VC O139 за стандартом підприємства згідно технічної документації.

Загальна точність - не менше 97 % у порівнянні з результатами аналізу ПЛР.

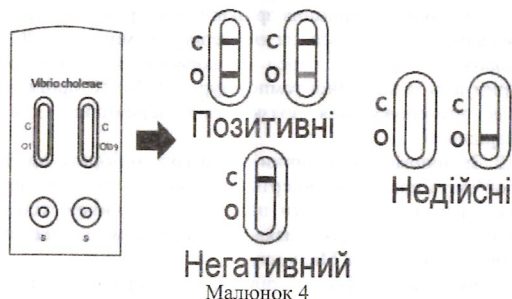
Внутрішньосерійна точність - більше 99 % при 3-х повторях з використанням 4-х зразків: негативного, низького титру позитивного, середнього титру позитивного та високого титру позитивного зразків.

Міжсерійна точність - більше 99 % при 3-х незалежних випробуваннях на тих самих чотирьох зразках: негативних, низьких позитивних, середніх і високих з використанням трьох різних партій тестів.

Перехресна реактивність - не спостерігається у присутності *Campilobacter jejuni*, *Campilobacter coli*, *Clostridium difficile*, *Cryptosporidium parvum*, *Esherichia coli* O157:H7, *Entamoeba histolytica*, *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes* та інших мікроорганізмів, які вказані в інструкції з використання набору

Перехресна реактивність - не спостерігається у присутності  $1 \times 10^7$  одиниць/мл наступних збудників:

<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	Coxsackie	<i>Corynebacterium diphtheria</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Adenovirus
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Echovirus
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Shigella flexneri</i>	



Малюнок 4

## 9. Обмеження тестування

9.1. Тест-набір «Холера-тест-МБА» використовується для попередньої in vitro діагностики.

9.2. Тест-набір є якісним тестом і не передбачає визначення кількісного вмісту чи ступеню підвищення концентрації антигенів у зразку.

9.3. Надлишок зразку фекалій може стати причиною неправильного результату (з'являються коричневі лінії). Розведіть зразок фекалій розчинником і повторіть тестування.

9.4. Тест-набір «Холера-тест-МБА» може бути використаний для виявлення антигенів *V. cholerae* O1 та *V. cholerae* O139 у навколишній воді.

9.5. Результат тестування повинен розглядатися у сукупності з усією клінічною інформацією.

9.6. Негативний результат тесту не виключає можливості зараження *Vibrio cholerae* O1 або *Vibrio cholerae* O139.

9.7. Після лікування певними антибіотиками концентрація антигенів *Vibrio cholerae* O1 та антигенів *Vibrio cholerae* O139 може знизитися до рівня, нижчого за мінімальний рівень виявлення тесту. Тому під час лікування антибіотиками діагностику слід проводити з обережністю.

9.8. Результат тестування наполегливо рекомендуємо підтвердити іншими методами (ІФА, Western Blot та ін.).

**Увага!** Остаточне рішення у постановці діагнозу приймається лікарем.

## 10. Зберігання, транспортування та стабільність

Зберігати та транспортувати тест-набір треба за температури від 2 °C до 30 °C та при рівні відносної вологості не більше 60 %. Заморожування, перегрівання та попадання прямих сонячних променів не допускається.

Тест-набір зберігає стабільність до закінчення терміну придатності, який вказаний на упаковці.

Термін придатності - не менше 12 місяців.

## 11. Інтерпретація умовних позначень

На коробці, на етикетці виробу та в інструкції з використання є графічні позначки, значення яких наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Графічний символ	Значення	Графічний символ	Значення
<b>ПАРТІЯ</b>	Код партії	<b>IVD</b>	Для діагностики in vitro
<b>REF</b>	Каталожний номер		Ознайомлення з інструкціями для застосування
	Дата виробництва		Утилізувати зі звичайними відходами
	Термін придатності		Берегти від вологи
	Температурне обмеження від 2 °C до 30 °C		Берегти від прямих сонячних променів
	Засторога! Ознайомитися із супровідними документами		Знак виробника, супроводжується назвою та адресою виробника
	Повторно використовувати заборонено		Знак відповідності технічним регламентам

## 12. Дані про виробника

ТОВ «МЕДБІОАЛЪЯНС», Україна  
03124, м. Київ, бульвар Вацлава Гавела, 8  
E-mail: mba.medbio@gmail.com

Рекламації щодо якості тест-систем направляти:

за поштовою адресою - 03124, Україна, м. Київ, бул. Вацлава Гавела, 8;  
за телефоном - (044) 383-37-19, (044) 408-00-80  
E-mail: mba.medbio@gmail.com