

**ACON**

**Тест-кассета для быстрого  
определения туберкулеза**  
(цельная кровь/сыворотка/плазма)  
(Acon Biotech Co, Ltd)  
(Номер по каталогу ITB-402)  
Инструкция по применению

### ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Тест-кассета ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) – это качественный иммунотест на основе тонкослойной хроматографии для выявления противотуберкулезных антител (изотипы IgG, IgM и IgA) в пробах цельной крови, сыворотки или плазмы.

### РЕЗЮМЕ

Туберкулез (ТБ) распространяется, главным образом, воздушно-капельным путем, каплями аэрозоля, образующимися при кашле, чихании и разговоре. При передаче инфекции основным фактором риска являются помещения с плохой вентиляцией. ТБ – основная причина заболеваемости и смертности в мире, он приводит к самому большому числу смертей из-за единственного инфекционного агента. Всемирная Организация Здравоохранения сообщает, что ежегодно диагностируется более 8 миллионов новых случаев активного туберкулеза. Также, почти 3 миллиона смертей происходит в результате ТБ.<sup>12</sup> Своевременный диагноз очень важен для контроля ТБ, поскольку в результате можно организовать раннее начало лечения и ограничение дальнейшего распространения инфекции. Многие годы использовался ряд диагностических методов выявления ТБ, включая кожный тест, мазок мокроты, посев мокроты и рентгеновское просвечивание грудной клетки. Но все эти методы имеют некоторые ограничения. Недавно введены в практику более новые тесты, такие как ПЦР-амплификация ДНК или анализ по гамма-интерферону. Однако общее время постановки этих тестов – длительное, для них требуется лабораторное оборудование и квалифицированный персонал, а некоторые тесты слишком затратны и сложны в постановке.<sup>3</sup> Такие тесты дороги и непрактичны для развивающихся стран. Привлекательную альтернативу представляют серологические методы, поскольку серодиагностика ТБ является простой, не-

дорогой, относительно неопасной для заражения и не зависит от выявления микобактерий.<sup>4,5,6</sup>

Тест-кассета ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) – это быстрый тест для качественного выявления противотуберкулезных антител (изотипы IgG, IgM и IgA) в пробах цельной крови, сыворотки или плазмы. В тесте используется комбинация рекомбинантных антигенов для выявления повышенных уровней противотуберкулезных антител в пробах цельной крови, сыворотки или плазмы.

### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Тест-кассета ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) – это качественный твердофазный иммунотест на основе тонкослойной хроматографии для выявления анти-ТБ антител в пробах цельной крови, сыворотки или плазмы. На мембране в области тестовой линии тест-кассеты сорбирован рекомбинантный ТБ-антиген. Во время тестирования противотуберкулезные антитела, если они имеются в пробе цельной крови, сыворотки или плазмы, взаимодействует с частицами, покрытыми рекомбинантным ТБ-антигеном. Смесь хроматографически мигрирует вверх по мембране под действием капиллярных сил, реагирует с рекомбинантным ТБ-антигеном на мембране, в результате чего формируется окрашенная линия. Появление такой окрашенной линии в тестовой области указывает на положительный результат, тогда как ее отсутствие указывает на отрицательный результат. В качестве контроля процедуры анализа в контрольной области всегда должна появляться окрашенная линия, указывая на то, что был внесен достаточный объем пробы и то, что произошло достаточное капиллярное увлажнение мембраны.

### РЕАКТИВЫ

Тест-кассета ACON TB содержит частицы, покрытые рекомбинантным ТБ-антигеном, и рекомбинантный ТБ-антиген, нанесенный на мембрану.

### ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для профессиональной диагностики *in vitro*. Не использовать после окончания срока годности.
- Тест-кассеты до применения должны находиться в запечатанной индивидуальной упаковке.
- Не ешьте, не пейте и не курите в том месте, где находятся пробы и наборы для анализа.
- Не используйте тест-кассету, если индивиду-

альная упаковка повреждена.

- Обращайтесь со всеми пробам так, как будто они содержат инфекционные материалы. Во время проведения анализа соблюдайте установленные предосторожности при риске заражения и следуйте стандартным инструкциям по надлежащему уничтожению проб.
- При проведении анализа проб надевайте защитную одежду, например, лабораторный халат, а также одноразовые перчатки и используйте защиту для глаз.
- Влажность и температура могут неблагоприятно влиять на результаты анализа.
- При заборе проб плазмы или венозной крови не применяйте в качестве антикоагулянта оксалат калия.

### ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор необходимо хранить при комнатной температуре или в холодильнике (при температуре от +2 до +30°C). Тест-кассета стабильна до конца срока годности, напечатанного на герметичной упаковке. Тест-кассета должна оставаться в герметичной упаковке до применения. **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.** Не использовать после окончания срока годности.

### ЗАБОР ПРОБ И ПОДГОТОВКА

Тест-кассету ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) можно использовать для анализа цельной крови (из вены или пальца), сыворотки или плазмы.

#### Для забора цельной крови из вены:

- Отберите пробу крови с антикоагулянтом (ЭДТА, гепарин, цитрат натрия), в соответствии со стандартными лабораторными процедурами.

#### Для сбора образцов цельной крови из пальца:

- Вымойте руку больного с мылом и теплой водой или протрите спиртовым тампоном. Дайте высохнуть.
- Помассируйте руку, не касаясь при этом места прокола, в направлении кончика среднего или безымянного пальца.
- Проколите кожу стерильным скарификатором. Сотрите первую каплю крови.
- Мягко помассируйте руку в направлении от запястья к ладони и далее к пальцу так, чтобы на месте прокола образовалась округлая капля крови.
- Внесите пробу цельной крови из пальца в тест-кассету методом "висячей капли":
  - » Поместите палец больного так, чтобы капля

крови находилась прямо над углублением для пробы (S) тест-кассеты.

- » Позвольте 3 каплям цельной крови из пальца упасть в центр углубления для пробы (S) тест-кассеты или подвиньте палец пациента так, чтобы висячая капля крови коснулась центра углубления для пробы. Избегайте непосредственного касания пальцем углубления для пробы (S).

Отделите сыворотку или плазму от крови как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза. Используйте только прозрачные, без гемолиза пробы.

Анализ следует проводить сразу после взятия пробы. Не оставляйте пробы при комнатной температуре на длительное время. Образцы сыворотки и плазмы можно хранить при температуре от +2 до +8°C в течение 3 дней. При более длительном хранении пробы необходимо держать при температуре ниже -20°C. Цельная кровь, взятая из вены, может храниться при температуре от +2 до +8°C, если тест будет проведен в течение 2 дней. **Не замораживайте образцы цельной крови. Цельную кровь, взятую из пальца, необходимо тестировать немедленно.**

**Перед проведением анализа прогрейте пробы до комнатной температуры.** Необходимо, чтобы замороженные пробы полностью оттаяли и были хорошо перемешаны перед проведением анализа. Пробы нельзя повторно замораживать и оттаивать. Если пробы необходимо транспортировать, то они должны быть упакованы в соответствии с федеральными законами, регулирующими транспортировку инфекционных материалов.

### МАТЕРИАЛЫ

#### Поставляемые материалы

- Тест-кассеты.
  - Инструкция по применению.
  - Одноразовые пипетки.
  - Буфер (только для цельной крови)
- Необходимы, но не поставляемые материалы:**
- Емкости для забора проб.
  - Центрифуга
  - Скарификаторы (только для цельной крови из пальца).
  - Таймер.

### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

До проведения анализа (если тест-набор хранился в холодильнике) необходимо довести тест-кассету, пробы, буфер и/или контрольные образцы до комнатной температуры (от +15 до +30°C).

1. Перед вскрытием индивидуальной упаковки доведите тест-кассету до комнатной температуры без применения нагревательных устройств. Извлеките из герметичной упаковки тест-кассету и используйте ее как можно скорее. Наилучшие результаты будут получены, если анализ проводить сразу после вскрытия индивидуальной упаковки.

**2. Для проб сыворотки или плазмы:**

Держа пипетку вертикально, **капните 3 капли сыворотки или плазмы** (примерно 75 мкл) в углубление для пробы (S) на тест-кассете, затем включите таймер. См. рисунок ниже.

**Для проб цельной крови из вены:**

Держа пипетку вертикально, **капните 3 капли цельной крови из вены** (примерно 75 мкл) в углубление для пробы (S) на тест-кассете, затем **добавьте 1 каплю буфера** (примерно 40 мкл) и включите таймер. См. рисунок ниже.

**Для проб цельной крови из пальца:**

**Позвольте 3 висячим каплям цельной крови из пальца** (примерно 75 мкл) упасть в углубление для пробы (S) на тест-кассете, затем **добавьте 1 каплю буфера** (примерно 40 мкл) и включите таймер. См. рисунок ниже.

3. Подождите, пока не появится окрашенная линия (и). **Посмотрите результаты через 10 минут.** Не интерпретируйте результаты через 30 минут.



**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

(Пожалуйста, обратитесь к рисунку вверху)  
**ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ:**\* появились две четкие окрашенные линии. Одна линия должна быть в контрольной области (C), а другая линия должна быть в тестовой области (T).

**\*ПРИМЕЧАНИЕ:** интенсивность окраски линии в тестовой области (Т) варьирует в зависимости от концентрации анти-ТБ антител в пробе. **Поэтому**

любая интенсивность окрашивания в области тестовой линии (Т) должна интерпретироваться как **положительный результат.**

**ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ:** одна окрашенная линия появилась в контрольной области (С). В тестовой области (Т) окрашенной линии не появилось.

**НЕДОСТОВЕРНЫЙ:** контрольная линия не появилась. Наиболее вероятной причиной отсутствия контрольной линии является недостаточный объем пробы или неправильное проведение анализа. Проверьте ход выполнения процедуры анализа и повторите анализ с помощью новой тест-кассеты. Если проблема остается, немедленно прекратите пользоваться этим набором для анализов и свяжитесь с местным представителем фирмы-производителя.

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**

Внутренний контроль процедуры анализа включен в тест. Окрашенная линия, появляющаяся в контрольной области (С), является внутренним положительным контролем процедуры анализа. Ее появление подтверждает внесение достаточного объема пробы, необходимое капиллярное увлажнение мембраны и правильность методики выполнения анализа.

Контрольные стандарты не прилагаются к этому набору; однако в лабораторной практике рекомендуется тестировать заведомо положительные и отрицательные образцы для того, чтобы подтвердить правильность процедуры анализа и проверить работоспособность данного тест-набора.

**ОГРАНИЧЕНИЯ**

1. Тест-кассета ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) предназначен только для применения *in vitro*. Этот тест следует использовать для выявления анти-ТБ антител в пробах цельной крови, сыворотки или плазмы. С помощью этого качественного теста нельзя определить ни количественного значения, ни степень возрастания концентрации анти-ТБ антител.

2. Тест-кассета ACON TB для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) покажет только наличие анти-ТБ антител в пробе и не может быть использован в качестве единственного критерия для постановки диагноза активного туберкулеза.

3. Как и в случае с другими диагностическими тестами, все результаты необходимо рассматривать совместно с остальной клинической информацией, известной врачу.

## ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Чувствительность и специфичность

Тест-набор ТВ для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) был проверен на пробах, взятых у людей с заведомо положительным/отрицательным результатом микроскопирования мокроты или с положительным/отрицательным результатом культивирования. Результаты показывают, что относительная чувствительность тест-кассеты для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) составляет 83%, относительная специфичность – 98,9%, а относительная точность – 95,6%.

### Сравнение тест-кассеты ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза с результатами анализа по мазку/культивированием

Метод	Мазок мокроты/культивирование			Всего
	Результаты	Положительный	Отрицательный	
Тест-кассета ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза	Положительный	83	4	87
	Отрицательный	17	369	386
Всего результатов		100	373	473

Относительная чувствительность: 83,0% (74,1%-89,8%)\*

Относительная специфичность: 95,6% (93,3%-97,2%)\*

Относительная точность: 98,9% (97,3%-99,7%)\*

\* 95% доверительный интервал

### ТОЧНОСТЬ

#### В одном определении

Точность результатов была определена путем проведения 20 повторов трех образцов: отрицательного, слабоположительного и высокоположительного. Отрицательные, слабоположительные, среднеположительные и высокоположительные значения правильно определялись более чем в 99% случаев.

#### Между разными постановками

Взаимная точность результатов между разными постановками теста определялась путем проведения 5 независимых тестирований тех же трех образцов: отрицательного, слабоположительного, среднеположительного и высокоположительного. Три разных партии тест-наборов ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) были протестированы с использованием отри-

цательных, слабоположительных и высокоположительных образцов. Образцы были правильно идентифицированы более чем в 99% случаев.

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Тест-набор ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) проверен с образцами, положительными по: анти-ВИЧ, легочным инфекциям, анти-ЦМВ, ревматоидному фактору (RF), анти-ВГС, а также с пробами, полученными от детей моложе 15 лет, прошедших вакцинацию вакциной БЦЖ. Перекрестной реактивности отмечено не было, что указывает на то, что тест-набор ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) стабильно работает и в присутствии этих факторов.

### ВЕЩЕСТВА, МЕШАЮЩИЕ АНАЛИЗУ

Тест-набор ACON ТВ для быстрого определения туберкулеза (цельная кровь/сыворотка/плазма) был проверен на предмет возможных помех с образцами, в которых прошел видимый гемолиз, содержащими избыток липидов, а также с пробами сыворотки с высоким содержанием билирубина. Результаты показывают, что определению не мешает содержание в пробах вплоть до 500 мг/дл гемоглобина; до 30 мг/дл билирубина; до 2000 мг/дл человеческого сывороточного альбумина.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Global tuberculosis control (2003). WHO Report 2003: 1–40.
2. Raviglione, M.C., Snider, Jr., D.E., and Kochi, A. Global epidemiology of tuberculosis. JAMA (1995), 273: 220–225.
3. Laslo A. Tuberculosis: laboratory aspects of diagnosis. CMAJ (1999), 160: 1725–1729.
4. Bothamley G.H. Serological diagnosis of tuberculosis. Eur.Resp.J. (1995), 8: 676s–688s.
5. Lyashchenko K., Colangeli R., Houde M., Jahdali H.A., Menzies D., and Gennaro M.L. Heterogenous antibody response on tuberculosis. Infect.Immun. (1998), 66: 3936–3940.
6. Lyashchenko K.P., Singh M., Colangeli R., and Gennaro M.L. A multi-antigen print immunoassay for the serological diagnosis of infectious diseases. J.Immunol. Methods (2000), 242: 91–100.



### МЕДИ-ЛИНК

117420, Москва, ул. Набережная, д.117, офис 6  
Тел./факс: +7(495) 718-8021, 718-8023, 718-2957  
E-mail: ml@medlink.ru, www.medlink.ru