



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue – Stillwater, MN 55082 - USA
Tel. 1.651.439.9710 – Fax 1.651.351.5669



Зміни: § 4
Видалення: §

Аналіз ЛІЕЙСОН К. *дифіциле* токсини А та В (REF 318900)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз DiaSorin ЛІЕЙСОН К. *дифіциле* токсини А та В — це хемілюмінесцентний імуноаналіз для діагностики *in vitro* (CLIA), призначений для якісного визначення токсинів А і В *Clostridium difficile* у калі людини за допомогою аналізаторів сімейства ЛІЕЙСОН*.

Використання результатів аналізу в поєднанні з іншими клінічними та лабораторними даними допомагає лікарю прийняти індивідуальні рішення про лікування пацієнта.

2. РЕЗЮМЕ ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Clostridium difficile є грампозитивною спороутворюючою анаеробною паличкою, яка є основною причиною діареї та коліту, пов'язаних із застосуванням антибіотиків. Вона є збудником більшості випадків псевдомембранозного коліту. Захворювання, асоційоване з *Clostridium difficile* (CDAD), може варіюватися від неускладненої діареї до сепсису та навіть смерті.¹ *C. difficile* визнана основною причиною внутрішньолікарняного коліту у пацієнтів, колонізованих *C. difficile*, що отримують антибіотики, хіміотерапевтичні препарати або інші препарати, які змінюють нормальну флору та сприяють проліферації токсигенного *C. difficile*.² Інфекція *C. difficile* — це внутрішньолікарняне захворювання, яке поширюється головним чином внаслідок недотримання гігієни медичним персоналом, і госпітальні епідемії досить поширені.² Основний шлях передачі фекально-оральний, при проковтуванні бактерій або бактеріальних спор із забруднених поверхонь.

Основними факторами вірулентності CDAD є токсин А (TcdA) і токсин В (TcdB). Токсин А є потужним ентеротоксином, а токсин В є надзвичайно потужним цитотоксином, який пошкоджує слизову оболонку кишечника. Токсин А та токсин В зв'язуються з поверхнею клітин кишкового епітелію і проникають у клітину шляхом ендоцитозу, після чого токсини впливають на клітинні регуляторні білки ГТФази шляхом необоротного глікозилювання та викликають постійну інактивацію основних сигнальних шляхів клітин.³ Присутність цитотоксичного токсину В можна виявити шляхом спостереження за округленням клітин через його присутність у культурах клітин ссавців. Аналіз DiaSorin ЛІЕЙСОН К. *дифіциле* токсини А та В визначає присутність цих клостридіальних токсинів у калі людини.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Аналіз ЛІЕЙСОН К. *дифіциле* токсини А та В — це модифікований 2-етапний сендвіч-аналіз, з 2 сайтами для виявлення як токсину А, так і токсину В. В аналізі використовується 1 моноклональне антитіло для захоплення та 1 поліклональне антитіло для виявлення молекули токсину А, а також 1 поліклональне антитіло як для захоплення, так і для виявлення молекули токсину В. Для проведення аналізу використовується 200 мкл зразка - досліджуваної суміші, яка складається із розчинника для зразка та екстрагованих з калу токсинів А і В. Досліджувана суміш інкубується з антитілами до токсину А та токсину В, кон'югованими з ізолюмінолом. Після інкубації до реакційної суміші додають парамагнітні частинки, покриті антитілами для захоплення токсину А та токсину В, та інкубують. Після другої інкубації незв'язаний матеріал видаляється за допомогою циклу промивання. Потім додаються стартерні реагенти, і таким чином ініціюється реакція спалаху хемілюмінесценції. Світловий сигнал вимірюється фотопомножувачем у відносних світлових одиницях (RLU), він пропорційний концентрації токсину А і токсину В, присутніх в калібраторах, контролях або зразках.

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,4 мл)	SORB	Магнітні частинки, покриті моноклональним антитілом до токсину А та поліклональним антитілом до токсину В, у фосфатному буфері, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфату.
Кон'югат (13,0 мл)	CONJ	Поліклональне антитіло до токсину А, кон'юговане з похідним ізолюмінолу, і поліклональне антитіло до токсину В, кон'юговане з похідним ізолюмінолу, в фосфатному буфері, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфат.
Кількість тестів		100

ProClin є торговою маркою LANXESS Corp.

Всі реагенти постачаються готовими до використання. Порядок реагентів відображає розташування контейнерів в інтегралі реагентів.

*(ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS)

Додаткові компоненти, що не входять до інтегралу реагентів

Калібратор 1 3 x 1,0 мл Ліофілізований	CAL1	Козяча сироватка, анатоксин А, анатоксин В, інгібітор протеази, фосфатний буфер, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфат. Відновити в 1 мл дистильованої або деіонізованої води.
Калібратор 2 3 x 1,0 мл Ліофілізований	CAL2	Козяча сироватка, анатоксин А, анатоксин В, інгібітор протеази, фосфатний буфер, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфат. Відновити в 1 мл дистильованої або деіонізованої води.
Розчин А для розведення зразків 1 x 80 мл	DILSPE	Козяча сироватка, трис-буфер, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфат. Після відкриття розчин для розведення зразків стабільний протягом 10 тижнів за умови зберігання при 2-8°C.
2 x 50 кожен	PIPETTOR	Піпетки для рідкого калу

Стандартизація: Концентрації калібратора відносяться до стандартного препарату власного виробництва.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором (пов'язані з системою)

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL	Аналізатор ЛІЕЙСОН	Аналізатор ЛІЕЙСОН XS
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). - LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025). LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016). LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) або LIAISON® XL Easy Starter Kit (REF 319300). LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015) або LIAISON® Disposable Tips (REF X0055)	LIAISON Wash/System Liquid (REF 319100) - LIAISON® Waste Bags (REF 450003) LIAISON® Module (REF 319130) LIAISON® Starter Kit (REF 319102) або LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200) або LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300) LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990) LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)	LIAISON® EASY Wash Buffer (REF 319301) LIAISON® EASY System Liquid (REF 319302) LIAISON® EASY Waste (REF X0054) LIAISON® Cuvettes on Tray (REF X0053) LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300) LIAISON® Disposable Tips (REF X0055) LIAISON® EASY Cleaning Tool (REF 310996)

Додаткові потрібні матеріали, що не постачаються з набором

LIAISON® C. difficile Toxins A&B Control Set (REF 318901)

((REF X0034)

ЛІЕЙСОН Набір для екстракції калу* 2 x 50 кожного компоненту	TUBES FILTERS CAPS	Поліпропіленова пробірка для змішування, конічна пробірка і синій ковпачок, синій фільтр з поліетилену високої щільності (HDPE).
---	---	--

*Набір не містить бісфенол А (BPA), латекс або ді(2-етилгексил)фталат (DEHP).

Додаткові рекомендовані матеріали

LIAISON® Sample Diluent A (REF 318990)

5. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO – Не для внутрішнього чи зовнішнього застосування у людей чи тварин.

Загальна безпека:

- Усі зразки, біологічні реагенти та матеріали, які використовуються для аналізу, слід вважати потенційно здатними переносити інфекційні агенти. Уникайте контакту зі шкірою, очима та слизовими оболонками. Під час тестування дотримуйтесь правил промислової гігієни.
- Не їжте, не пийте, не куріть і не використовуйте косметику в лабораторії.
- Не піпетуйте розчини ротом.
- Уникайте прямого контакту з усіма потенційно інфекційними матеріалами, надягаючи лабораторний халат, захист для очей/обличчя та одноразові рукавички.
- Після закінчення кожного аналізу ретельно мийте руки.
- Уникайте розбризкування або утворення аерозолів під час обробки, розведення або перенесення зразків або реагентів. Будь-який розлив реагенту слід знезаразити 10% розчином відбілювача (що містить 0,5% гіпохлориту натрію) і утилізувати як потенційно інфекційний.
- Відходи слід утилізувати відповідно до чинних правил і вказівок установ, під юрисдикцією яких знаходиться лабораторія, а також правил кожної країни.
- Не використовуйте набір або його компоненти після завершення терміну придатності, вказаного на етикетці.

Інформація про хімічну небезпеку та техніку безпеки: Реагенти в цьому наборі класифікуються відповідно до US OSHA Hazard Communication Standard; individual US State Right-to-Know laws; Canadian Centre for Occupational Health and Safety Controlled Products Regulations; і відповідних директив Європейського Союзу (додаткову інформацію див. у Паспорті безпеки матеріалу).

GHS/CLP:

CAS No.:	ProClin™ 55965-84-9
Реагенти:	SORB CONJ CAL1 CAL2 DIL SPE
Класифікація:	Skin sensitization, Category 1 Aquatic Chronic, Category 3
Сигнальне слово:	Увага
Піктограма:	 GHS07 Exclamation mark
Повідомлення про небезпеку:	H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри. H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками.
Інформація про заходи безпеки:	P261 Уникайте вдихання пилу, диму, газу, туману, випарів, аерозолів. P272 – Забруднений робочий одяг не можна виносити з робочого місця. P273 Уникати потрапляння в навколишнє середовище. P280 – Одягайте захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

6. ПІДГОТОВКА ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Зверніть увагу на наступні важливі запобіжні заходи при поводженні з реагентами:

6.1 Ресуспензія магнітних частинок

Магнітні частинки необхідно повністю ресуспендувати перед тим, як інтеграл буде розміщено в аналізаторі. Щоб забезпечити належний стан суспензії, виконайте наведені нижче дії:

- Перед тим, як видалити пломбу, обертайте невелике коліщатко на відділенні для магнітних частинок, доки колір суспензії не стане коричневим. Для кращого суспендування магнітних частинок обережно та акуратно похитайте з боку в бік (уникайте утворення піни). Візуально перевірте дно флакона з магнітними частинками, щоб переконатися, що всі магнітні частинки, що осіли, ресуспендовані.
- За необхідності повторюйте до повного ресуспендування магнітних частинок.
- Після зняття пломби ретельно протріть поверхню кожної перегородки, щоб видалити залишки рідини, якщо вони є.

6.2 Спінювання реагентів

Для забезпечення оптимальної роботи інтегралу слід уникати спінювання реагентів. Щоб запобігти спінюванню, дотримуйтеся наведених нижче рекомендацій:

- Перед використанням інтегралу візуально перевірте реагенти і переконайтеся у відсутності піни. Якщо після ресуспендування магнітних частинок утворилася піна, помістіть інтеграл у прилад і дайте піні розсіятися. Інтеграл готовий до використання, коли піна розсіюється, а інтеграл залишається в аналізаторі та магнітні частинки у ньому перемішуються.

6.3 Завантаження інтегралу у відсік реагентів

Аналізатор ЛІЕЙСОН

- Помістіть інтеграл у відсік для реагентів аналізатора етикеткою зі штрих-кодом ліворуч і дайте йому постояти 30 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS

- Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS оснащені вбудованим твердотільним магнітним пристроєм, який допомагає розсіювати мікрочастинки перед розміщенням інтегралу реагентів у відсік для реагентів аналізатора. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.
 - Вставте інтеграл реагентів у спеціальний слот.
 - Залиште інтеграл реагентів у твердотільному магнітному пристрої принаймні на 30 секунд (до кількох хвилин). За потреби повторіть.
- Помістіть інтеграл в відсік реагентів аналізатора етикеткою вліво та дайте йому постояти 15 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

7. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Після отримання інтеграл реагентів необхідно зберігати у вертикальному положенні, щоб полегшити повторне суспендування магнітних частинок. Якщо інтеграл реагентів зберігається запечатаним, він залишається стабільним при 2-8°C до закінчення терміну придатності. Не заморожувати. Інтеграл реагентів не можна використовувати після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору та інтегралу реагентів. Після відкриття інтеграл реагентів можна повернути в коробку з набором і зберігати у вертикальному положенні при 2-8°C або зберігати в аналізаторі ЛІЕЙСОН. Після відкриття інтегралу реагентів, він залишається стабільним 8 тижнів при правильному зберіганні. Інформацію про інтервали калібрування див. у розділі 11.

8. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зберіть зразки калу в чистий герметичний контейнер без консервантів. Зразки слід зберігати при температурі 2-8°C і досліджувати якомога швидше після отримання, проте також допускається зберігання при 2-8°C протягом 72 годин. Якщо аналіз зразків не буде проводитися раніше ніж через 72 години, їх слід зберігати в замороженому стані при температурі -20°C або нижчій відразу після отримання. Дайте зразкам калу нагрітися до кімнатної температури та якомога ретельніше перемішайте перед використанням. Уникайте повторних циклів заморожування/розморожування.

9. ЗБЕРІГАННЯ ЕКСТРАГОВАНИХ ЗРАЗКІВ

Екстракти зразків калу стабільні протягом щонайменше 4 годин при кімнатній температурі (18-25°C) або 24 годин при 2-8°C до тестування. Протягом довшого терміну, до 4 тижнів, екстракти зразків калу можна зберігати при температурі -20°C або нижче. Уникайте повторних циклів заморожування/розморожування.

Перед тривалим зберіганням у холодильнику чи морозильній камері або під час транспортування екстракт необхідно очистити від видимих залишків, що можуть бути присутніми у вигляді осаду на дні конічної пробірки. Перенесіть екстракт в іншу пробірку для зразків, не змішуючи осад на дні конічної пробірки з екстрактом зразка калу.

10. КАЛІБРАТОРИ 1 і 2

Калібратори ЛІЕЙСОН К. *діфіциле* токсини А та В постачаються ліофілізованими. Відновіть кожен флакон з 1,0 мл дистильованої або деіонізованої води. Дайте флаконам постояти 5 хвилин при кімнатній температурі, і обережно перемішайте, перевертаючи, до повного розчинення. Перенесіть мінімум 900 мкл (потрійне калібрування) у скляну або пластикову пробірку для зразків. Прикріпіть відповідну етикетку зі штрих-кодом до пробірки, помістіть її в штатив відповідного розміру та завантажте до аналізатора. Відкалібруйте аналіз, як описано в посібнику користувача аналізатора.

Показано, що калібратори ЛІЕЙСОН К. *діфіциле* токсини А та В залишаються стабільними протягом 1 години при зберіганні при кімнатній температурі (18-25°C). Об'єм кожного калібратора достатній для 1 калібрування.

Номер партії калібратора та інтегралу реагентів є специфічним для партії. Не використовуйте в аналізі калібратори, що призначені для реагентів інших партій.

Аналізатор ЛІЕЙСОН

Помістіть пробірку в штатив «А» аналізатора ЛІЕЙСОН так, щоб штрих-код був направлений назовні, і вставте штатив у відсік для проб аналізатора LIAISON.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS

Помістіть пробірку в штатив «А» аналізатора ЛІЕЙСОН XL та аналізатора ЛІЕЙСОН XS штрих-кодом назовні та вставте штатив у відсік для проб аналізатора.

11. КАЛІБРУВАННЯ

Індивідуальні інтеграли реагентів ЛІЕЙСОН К. *діфіциле* токсини А та В містять специфічну інформацію для калібрування конкретної партії інтегралів реагентів. Необхідно провести повторне калібрування за наступних умов:

- Використовується нова партія реагентів (інтегралу реагентів або стартерних реагентів).
- Через кожні 28 днів, при умові що зберігання відбувалося відповідно до інструкцій у розділі 7.
- Аналізатор пройшов технічне обслуговування.
- Результати контролю якості лежать поза допустимим діапазоном.

12. ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Використання пристрою для екстракції калу LIAISON® Stool Extraction Device

Об'єми зразка та розчину А для розведення зразків слід визначати з Таблиці 1 і наведених нижче діаграм, залежно від того, чи проводитиметься однократний чи дубльований аналіз супернатанту калу.

- Внесіть розчин А для розведення зразків (LIAISON® Sample Diluent А) у змішувальну пробірку пристрою для екстракції калу LIAISON® Stool Extraction Device, відповідно до таблиці 1.
- Підготовка калу: якомога ретельніше перемішайте кал перед тим, як взяти зразок.

a. Рідкий або напівтвердий кал: за допомогою одноразової піпетки для рідкого калу відміряйте потрібну кількість калу (див. Таблицю 1) та перенесіть зразок у змішувальну пробірку пристрою для екстракції калу LIAISON® Stool Extraction Device, що містить розчин А для розведення зразків. За необхідності промийте піпетку кілька разів цією сумішшю калу з розчином А для розведення зразків. Переконайтеся, що з піпетки для рідкого калу видалено якомога більше зразка.

ПРИМІТКА. Якщо рідкого або напівтвердого калу менше, ніж 750 мкл, можна використовувати співвідношення зразка калу та розчину А для розведення зразків 1:1. (Наприклад: 400 мкл рідкого або напівтвердого зразка калу на 400 мкл розчину А для розведення зразків). Кінцевий обсяг супернатанту має становити 500 мкл для проведення однократного аналізу.

b. Твердий кал: за допомогою лопатки на блакитному фільтрі конічної пробірки пристрою для екстракції калу LIAISON® Stool або подібного пристрою відміряйте та перенесіть зразок калу (див. таблицю 1 або діаграму нижче) у змішувальну пробірку, що містить розчин А для розведення зразків. Лопатку пристрою слід оглянути після етапу перемішування на вортексі, наведеного нижче (Крок 4), щоб переконатися, що тверді частинки калу були змиті з лопатки в розчин для розведення зразків. Якщо кал змитий не повністю, постукайте денцем пристрою об стіл, це допомагає змити кал. За потреби цей крок можна повторити. Дуже твердий кал, можливо, доведеться переносити у змішувальну пробірку з розчином А для розведення зразків за допомогою альтернативного пристрою.

ПРИМІТКА. Кінцевий об'єм супернатанту має становити 500 мкл для проведення однократного аналізу.

Однократний аналіз	Дубльований аналіз
	

3. Щільно прикрутіть конічний блок синього фільтра до змішувальної пробірки.

4. Енергійно перемішуйте на вортексі протягом 20 секунд, щоб кал ретельно перемішався.

- Центрифугуйте пробірку в центрифугу зі swing-bucket ротором зі швидкістю > 2000 x g* протягом 10 хвилин при кімнатній температурі **конічним кінцем пробірки вгору**.
- Після центрифугування вийміть пробірку та перевірте пристрій для екстракції калу ЛІЕЙСОН так, щоб **конічна пробірка була направлена вниз**. Центрифугуйте пробірку зі швидкістю 200 x g* протягом 1 хвилини. **Тепер пристрій має залишатися у вертикальному положенні**.
- Відкрутіть змішувальну пробірку та синій конічний фільтр і викиньте їх у відповідний контейнер для біологічно небезпечних відходів. Огляньте рідкий супернатант у конічній пробірці. Супернатант калу може бути каламутним, але видимих залишків або бульбашок бути не повинно.
- Вставте конічну пробірку в штатив для зразків аналізатора ЛІЕЙСОН типу «S» або в штатив для зразків аналізатора ЛІЕЙСОН XL і ЛІЕЙСОН XS типу «H» з адаптером. Помістіть штатив на аналізатор для тестування.
- Очистіть робочу зону 10% розчином відбілювача (0,5% гіпохлориту натрію).

Таблиця 1

Необхідна кількість тестів	Об'єм розчину А для розведення зразків	Об'єм зразка рідкого калу	Діаметр зразка твердого калу
Однократний	750 мкл	750 мкл	5 мм
Подвійний	1,0 мл	1,0 мл	7,5 мм

Схеми, що ілюструють процедуру підготовки зразків калу за допомогою пристрою для екстракції калу DiaSorin ЛІЕЙСОН, наведені в кінці інструкції із застосування.

$$*g = (1118 \times 10^{-8})(\text{градіус в см})(\text{обертів/хв})^2$$

13. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Для забезпечення належного проведення аналізу необхідно суворо дотримуватися інструкцій оператора аналізатора.

Аналізатор ЛІЕЙСОН: Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою штрих-коду на інтегралі реагентів. Якщо аналізатор не може зчитати штрих-код, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Аналізатори ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS: Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою інформації, закодованої в транспондері радіочастотної ідентифікації інтегралу реагентів (RFID Tag). Якщо RFID Tag не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Під час проведення аналізу виконуються наступні операції:

- Дозування калібраторів, контролів або зразків в реакційний модуль.
- Дозування кон'югату.
- Інкубація.
- Дозування магнітних частинок з покриттям у реакційний модуль.
- Інкубація
- Промивання Промивною/Системною рідиною
- Дозування Стартерних Реагентів та вимірювання світла, що випромінюється.

На результати імуноаналізу можуть впливати коливання температури. Користувачі повинні знати про зміни у лабораторному середовищі; може знадобитися частіше використання засобів контролю і подальше повторне калібрування.

14. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Контроль якості рекомендується проводити один раз на день використання, або згідно з інструкціями чи вимогами місцевих нормативних актів та акредитованих організацій. Користувачу рекомендується звернутися до CLSI C24-A3⁴ і 42 CFR 493.1256 (c) щоб знайти вказівки щодо належної практики контролю якості.

Набір контролів LIAISON® C. *difficile* Toxins A&B Control Set (REF 318901) призначений для моніторингу істотних відмов реагенту. Контролі ЛІЕЙСОН слід аналізувати в одному екземплярі, для моніторингу ефективності аналізу. Якщо значення контролів знаходяться в межах очікуваних діапазонів, наведених у сертифікаті аналізу, тест є дійсним. Якщо значення контролів виходять за межі очікуваних діапазонів, тест недійсний, і результати пацієнта не можуть бути повідомлені. Якщо спостерігається відмова контролю, слід провести калібрування аналізу і повторити аналіз контролів та зразків пацієнтів. Результати пацієнтів можна повідомляти лише тоді, коли результати контролю знаходяться в очікуваних межах.

Перед використанням інших контролів слід оцінити їх на сумісність із цим аналізом. Слід встановити відповідні діапазони значень для використовуваних матеріалів для контролю якості.

Діапазон концентрацій кожного контролю вказано в сертифікаті аналізу, він вказує межі, встановлені DiaSorin для значень контролів, які можна отримати в надійних постановках аналізів.

15. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Аналізатор автоматично розраховує рівні C. *difficile* токсинів А та В, виражені як значення індексу, і оцінює результати. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

Порогове значення (cut-off) для аналізу ЛІЕЙСОН К. *difficile* токсини А та В було визначено на основі результатів тестування зразків, які представляли популяції пацієнтів з негативними та позитивними результатами на токсини А та В C. *difficile*.

Зразки були протестовані паралельно за допомогою комерційно доступного аналізу *C. difficile* та аналізу LIAISON® *C. difficile* Toxins A&B. Для визначення оптимального порогового значення (cut-off) проведено аналіз кумулятивного частотного розподілу (ROC).

Було визначено, що граничне значення (cut-off), що розрізняє наявність і відсутність токсинів А та В *C. difficile*, має значення індексу 1,0.

Попередження. Якщо в результаті аналізу зразка відображається “invalid RLU” і знак оклику (!), отриманий результат знаходиться нижче діапазону сигналу аналізу. Зразок слід протестувати повторно. Якщо при повторному тестуванні зразка, як і раніше, відображається “invalid RLU”, зателефонуйте в службу технічної підтримки DiaSorin.

Результати пацієнтів слід інтерпретувати таким чином:

Індекс	Результати	Інтерпретація
< 0,9	Негативний	Вказує на відсутність токсинів А та/або В (або рівень токсину нижчий від рівня, який можна виявити за допомогою аналізу)
≥ 0,9 та < 1,10	Сумнівні	Сумнівні зразки слід повторно протестувати, виконуючи нову екстракцію з вихідного зразка, щоб підтвердити початковий результат. Зразки, які показали позитивний результат (≥ 1,10) у другому тесті, слід вважати позитивними. Зразки, які показали негативний результат (<0,90) у другому тесті, слід вважати негативними. Для зразків, які при повторному тестуванні дають сумнівні результати: слід зібрати та протестувати новий зразок.
≥ 1,1	Позитивний	Вказує на наявність виявленого токсину А та/або В <i>C. difficile</i> .

16. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- Результати аналізу допомагають лікарю у прийнятті індивідуальних рішень про лікування пацієнта, але їх слід використовувати в поєднанні з іншими клінічними та лабораторними даними.
- Для отримання надійних результатів необхідне вміле застосування методики і суворе дотримання інструкцій.
- Певні штами *C. sordellii* продукують токсини, які імунологічно перехресно реагують з токсинами А та В *C. difficile*. Однак *C. sordellii* не була виявлена в калі, отриманому від пацієнтів з діареєю, асоційованою з прийомом антибіотиків, або псевдомембранозним колітом, у той час як була виявлена присутність *C. difficile*.
- Тест LIAISON® *C. difficile* Toxins A&B не оцінювався в педіатричній популяції.
- Повторні цикли заморожування/відтавання можуть вплинути на результати тесту.
- Не можна використовувати зразки калу, збережені в 10% формаліні, мертіолат формаліні, натрійацетат формаліні або полівініловому спирті, або зразки, які знаходяться в транспортних середовищах, таких як Cary Blair або C&S.
- Інтеграли не можна обмінювати між типами аналізаторів (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL і ЛІЕЙСОН XS). Після встановлення інтегралу в аналізатор певного типу його потрібно завжди використовувати на цьому аналізаторі, доки він не буде весь використаний.
- Через проблеми з відстеженням, що виникають в результаті наведеного вище твердження, порівняння результатів пацієнта не можна робити, базуючись на результатах, отриманих на аналізаторах різного типу. Аналізи потрібно виконувати на аналізаторах одного конкретного типу (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS).

17. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Частота антибіотико-асоційованої діареї, спричиненої *C. difficile*, залежить від кількох факторів, зокрема: популяції пацієнтів, типу установи та епідеміології. Захворюваність на інфекцію *C. difficile* у Європі в 2008 році різнилася в різних лікарнях (у середньому 5,5 випадків на 10 000 пацієнто-днів, діапазон від 0 до 36,3) і країнах (діапазон від 0 до 19,1).⁵ У США зареєстрована частота захворювань, викликаних *C. difficile*, у пацієнтів із підозрою на нозокоміальну діарею, пов'язану з прийомом антибіотиків, становить 15-25%,⁶ хоча в різних закладах показники позитивних результатів можуть виходити за межі цього діапазону.

18. СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

18.1 Метод порівняння:

Загалом 370 клінічних зразків було протестовано за допомогою аналізу ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В та комерційного ELISA-аналізу *C. difficile* токсини А та В. Результати зведені в таблицях нижче.

ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В	Порівнювальний ELISA <i>C. difficile</i> Toxins A&B		
	Позитивний	Негативний	Всього
Позитивний	77	11*	88
Сумнівний	0	1	1
Негативний	0	281	281
Всього	77	293	370

Тип узгодженості	% Узгодженість	95% Довірчий інтервал
Позитивна Узгодженість = (77/77)	100,0%	95,4 - 100%
Негативна Узгодженість (281/293)	95,9%	93,0 – 97,6%
Загальна узгодженість (358/370)	96,8%	94,4 - 98,1%

***ПРИМІТКА:** 9 з 11 зразків, позитивних за результатами аналізу ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В та негативних за

Аналіз ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В [REF] 318900)

EN –5 – 2025-07

результатами порівняльного аналізу ELISA, були позитивними за молекулярним методом.

Загалом 391 клінічний зразок було протестовано за допомогою аналізу ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В та комерційного молекулярного аналізу *C. difficile* Toxins A і В. Результати зведені в таблиці нижче.

ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В	Порівнювальний <i>C. difficile</i> Toxins A&B		
	Позитивний	Негативний	Всього
Позитивний	95	3	98
Сумнівний	1	1	2
Негативний	24	267	291
Всього	120	271	391

Тип узгодженості	% Узгодженість	95% Довірчий інтервал
Позитивна Узгодженість = (95/120)	79,2%	71,0 - 85,5%
Негативна Узгодженість (267/271)	98,5%	96,3 – 99,4%
Загальне узгодженість (362/391)	92,6%	89,5 – 94,8%

18.2 ТОЧНІСТЬ:

Аналізатор ЛІЕЙСОН: Для визначення повторюваності та відтворюваності аналізу ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В було проаналізовано 2 набори контролів (КС), 7 зразків на основі буфера (6 зразків з додаванням токсинів А і В; 1 зразок з додаванням тільки токсину В). Аналіз проводили в компанії DiaSorin Inc. двічі на день у двох паралельних визначеннях протягом 12 робочих днів на 1 аналізаторі ЛІЕЙСОН, 2 оператори використовували 1 партію реагенту. Проби були підготовлені до наступних рівнів: 2 негативні, 1 пороговий зразок (на рівні cut-off), 3 позитивні та 1 зразок тільки з токсином В. Тестування проводилося відповідно до CLSI EP5-A2.⁷

Повторюваність

Зразок	Neg KC	Pos KC	1	2	3	4	5	6	Токсин В
Кількість визначень	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Середнє (Index)	0,3	4,2	0,3	0,9	1,2	1,7	15,3	27,0	5,7
Стандартне відхилення (Index)	0,021	0,084	0,015	0,018	0,060	0,034	0,459	0,810	0,114
Коефіцієнт варіації (% CV)	7	2	5	2	5	2	3	3	2

Відтворюваність

Зразок	Neg KC	Pos KC	1	2	3	4	5	6	Токсин В
Кількість визначень	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Середнє (Index)	0,3	4,2	0,3	0,9	1,2	1,7	15,3	27,0	5,7
Стандартне відхилення (Index)	0,024	0,294	0,024	0,045	0,072	0,085	0,765	1,62	0,171
Коефіцієнт варіації (% CV)	8	7	8	5	6	5	5	6	3

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL: Для визначення повторюваності та відтворюваності аналізу ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В було проаналізовано 2 набори контролів (КС), 7 зразків на основі буфера (6 зразків з додаванням токсинів А і В і 1 зразок з додаванням тільки токсину В). Аналіз проводили в компанії DiaSorin Inc. двічі на день у двох паралельних визначеннях протягом 12 робочих днів на 1 аналізаторі ЛІЕЙСОН XL, 2 оператори використовували 1 партію реагентів. Проби були підготовлені до наступних рівнів: 2 негативні, 1 пороговий зразок (на рівні cut-off), 3 позитивні та 1 зразок з тільки токсином В. Тестування проводилося відповідно до CLSI EP5-A2.⁷

Повторюваність

Зразок	Neg KC	Pos KC	1	2	3	4	5	6	Токсин В
Кількість визначень	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Середнє (Index)	0,3	4,5	0,4	0,9	1,1	1,6	12,8	23,8	6,4
Стандартне відхилення (Index)	0,02	0,09	0,03	0,02	0,03	0,05	0,17	0,43	0,21
Коефіцієнт варіації (% CV)	7	2	9	3	2	3	1	2	3

Відтворюваність

Зразок	Neg KC	Pos KC	1	2	3	4	5	6	Токсин В
Кількість визначень	48	48	48	48	48	48	48	48	48
Середнє (Index)	0,3	4,5	0,4	0,9	1,1	1,6	12,8	23,8	6,4
Стандартне відхилення (Index)	0,03	0,18	0,04	0,05	0,06	0,09	0,58	1,13	0,29
Коефіцієнт варіації (% CV)	10	4	11	6	5	6	5	5	4

Точність з аналізатором ЛІЕЙСОН XS

Було проаналізовано 2 набори контролів, 7 зразків на основі буфера (5 зразків з додаванням токсинів А і В, 1 – з додаванням лише токсину А та 1 – з додаванням лише токсину В). Аналіз проводили в компанії DiaSorin Inc. один раз на день в 6 паралельних визначеннях, протягом 5 робочих днів на 3 аналізаторах ЛІЕЙСОН XS, використовуючи 1 партію реагентів. Тестування проводилося відповідно до CLSI EP15-A3.⁹

ID зразка	Середнє (Index)	В межах постановки аналізу		Всього	
		SD	%CV	SD	%CV
Негативний контроль	0,263	0,020	7,5%	0,022	8,5%
Позитивний контроль	6,70	0,093	1,4%	0,143	2,1%
P1	1,83	0,036	2,0%	0,058	3,2%
P2	0,307	0,025	8,3%	0,034	11,1%
P3	7,33	0,108	1,5%	0,177	2,4%
P4	23,31	0,274	1,2%	0,625	2,7%
P5	1,057	0,035	3,3%	0,061	5,7%
P6	1,012	0,032	3,2%	0,040	4,0%
P7	6,235	0,114	1,8%	0,162	2,6%

18.3 Межа виявлення (LoD)

Відповідно до методу CLSI EP12-A2,⁸ межа виявлення в аналізі ЛІЕЙСОН К. діфіціле токсини А та В для токсину А становить 1,2 нг/мл, а для токсину В – 1,5 нг/мл.

18.4 Перешкоджаючі речовини

Контрольовані дослідження потенційно заважаючих речовин, доданих у низькопозитивні та високонегативні зразки калу, не показали впливу на результати аналізу LIAISON® C. difficile Toxins A&B при перелічених нижче концентраціях речовин:

Речовина	Досліджувана концентрація
Гемоглобін	3,2 мг/мл
Цільна кров	25%
Білі кров'яні клітини	5%
Сульфат барію	5,0 мг/мл
Стеаринова кислота	2,65 мг/мл
Пальмітинова кислота	1,3 мг/мл
Муцин	3,33 мг/мл
Метронідазол	12,5 мг/мл
Ванкоміцин гідрохлорид	2,5 мг/мл
Imodium AD®	6,67x10 ⁻³ мг/мл
Вісмуту субсаліцилат	0,87 мг/мл
Pepto Bismol®	0,87 мг/мл
Prilosec®	0,5 мг/мл
Gas-X®	0,625 мг/мл
Tums®	0,5 мг/мл
Циметидин	0,5 мг/мл
Maalox®	4,2 мг/мл
MiraLAX®	79,05 мг/мл
Поліетиленгліколь 4600	79,05 мг/мл

18.5 Перехресна реактивність

Специфічність аналізу LIAISON® C. difficile Toxins A&B була визначена шляхом внесення мікроорганізмів в низькопозитивні та високонегативні зразки калу та тестування за допомогою аналізу LIAISON® C. difficile Toxins A&B. Перелік мікроорганізмів наведено в таблиці нижче. Єдиним мікроорганізмом, що не відноситься до C. difficile, і який показав реакцію в аналізі LIAISON® C. difficile Toxins A&B, був штам Clostridium sordellii VPI 9048. Цей штам продукує гомологи токсинів А і В — HT і LT відповідно. Усі інші мікроорганізми не створювали перешкод при введенні в низькопозитивні та високонегативні зразки калу.

Мікроорганізми (в алфавітному порядку)	Кінцева конц. варіанту у зразку	Мікроорганізми (в алфавітному порядку)	Кінцева конц. варіанту у зразку
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Campylobacter coli</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Campylobacter fetus</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Salmonella</i> Group B	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Salmonella</i> Group C	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Candida albicans</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Salmonella</i> Group D	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Citrobacter freundii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Salmonella</i> Group E	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Clostridium perfringens</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Serratia liquefaciens</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Clostridium sordellii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Shigella boydii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Shigella flexneri</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Shigella sonnei</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Escherichia coli</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл

<i>Escherichia fergusonii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Escherichia hermannii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Helicobacter pylori</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	Adenovirus Type 40	1 x 10 ^{5,29} TCID ₅₀ /mL
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	Adenovirus Type 41	1 x 10 ^{5,93} TCID ₅₀ /mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	Coxsackievirus	1 x 10 ^{5,06} TCID ₅₀ /mL
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	Echovirus	1 x 10 ^{5,93} TCID ₅₀ /mL
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл	Rotavirus	1 x 10 ^{5,29} TCID ₅₀ /mL
<i>Proteus vulgaris</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл		

18.6 Штам-реактивність

Реактивність токсигенного штаму *Clostridium difficile* визначали шляхом додавання в негативний зразок калу кожного з наступних токсигенних штамів і тестування за допомогою аналізу LIAISON® C. difficile Toxins A&B. Усі зразки, в які внесли токсигенні штами, дали позитивний результат.

ID штаму <i>C. difficile</i>	Фенотип	Кінцева конц. варіанту у зразку
8864	A-/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
43598	A-/B+	6,0 x 10 ⁸ КУО/мл
CF1	A-/B+	1,2 x 10 ⁹ КУО/мл
2007858	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
B18	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
10463	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
2007435	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
2007431	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
2006240	A+/B+	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл

18.7 Перенесення забруднення

Проведено тести для визначення потенційного перенесення забруднення на аналізаторі ЛІЕЙСОН. Отримані результати не показали змін в очікуваному значенні; отже, результати демонструють, що перенесення забруднення не спостерігається під час тестування зразків калу за допомогою LIAISON® C. difficile Toxins A&B на аналізаторі ЛІЕЙСОН. Перенесення забруднення не застосовне до аналізаторів ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS, оскільки для піпетування зразків використовуються одноразові наконечники.

18.8 Високодозовий «хук»-ефект

Ніякого «хук-ефекту» не спостерігалось при високих дозах для концентрацій токсину А до 2000 нг/мл та токсину В до 2000 нг/мл.

19. ЛІТЕРАТУРНІ ПОСИЛАННЯ

- McDonald LC, Sunenshine RH, Clostridium difficile-associated disease: New challenges from an established pathogen. Cleveland Clinic Journal of Medicine, Volume 73 Number 2, February 2006.
- Wilkins TD, Lyerly DM; Minireview Clostridium difficile Testing: after 20 Years, Still Challenging. J. Clin. Microbiol., Feb. 2003, pp. 531-534.
- Jank T and Aktories K; Structure and mode of action of clostridial glucosylating toxins: the ABCD model: Trends in Microbiology, 2008, Vol. 16, No. 5.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C24-A3, Vol.26, No.55, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition.
- Freeman J, Bauer MP, Baines SD, Corver J, Fawley WN, Goorhuis B, Kuijper EJ, Wilcox MH; The Changing Epidemiology of Clostridium difficile Infections: Clinical Microbiology Reviews, July 2010; pp. 529-549.
- Bartlett JG. 1990 Clostridium difficile: clinical considerations. Rev Infect Dis. 12 S243-S251.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2, Vol.24, No.25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP12-A2, Vol.28, No.3, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP15-A3, Vol.34, No.13, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Third Edition

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 02.2025



ДіаСорін Інк.

1951 Нортвестерн Авеню, Стілловотер, MN55082, США
DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, Stillwater, MN 55082, USA



Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «ЛАБСЕППОРТ»

01133, місто Київ, б. Лесі Українки, будинок 34, Україна
Тел: +380673234344, E-mail: info@labsupport.com.ua

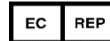
Відповідальна особа у Великобританії:

DiaSorin Italia S.p.A.

UK Branch Central Road Dartford Kent DA1 5LR UK

ДіаСорін Італія С.п.А. ЮК Бренч

Централ Род, Дартфорд, ДА1 5ЛР, Велика Британія

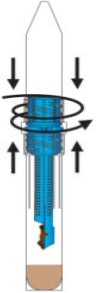
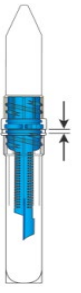


DiaSorin Italia S.p.A.

Via Crescentino snc, 13040 Saluggia (VC), Italy

ДіаСорін Італія С.п.А.

Віа Кресцентіно, снс, 13040 Салуджа (ВК), Італія

1. LIAISON® C. difficile Toxins A&B. Підготовка калу з використанням пристрою для екстракції LIAISON® Stool Extraction Device	
 Додайте розчину А для розведення зразків у пробірку для змішування	 Додавання зразка кала: А) <u>Рідкий або напівтвердий</u>: Використовуйте одноразову піпетку для рідкого кала. В) <u>Твердий</u>: Використовуйте синю лопатку на конічній пробірці з синім фільтром або подібний пристрій.
2. Збірка пристрою	
 Щільно прикрутіть конічний блок синього фільтра до пробірки для змішування. Зовнішні краї повинні сходитися. ПРИМІТКА: якщо пристрій зібрано правильно, не повинно бути видимих зазорів.	<u>Правильно:</u>  Без зазору <u>Неправильно:</u>  Зазор видно
3. Перемішування	4. Центрифугування
 Енергійно перемішайте пробірку на вортексі протягом 20 секунд для повного змішування калу.	 Центрифугуйте пробірку в центрифугу зі swing-bucket ротором зі швидкістю > 2000 x g* протягом 10 хвилин конічною пробірною вгору.  Переверніть пристрій для екстракції калу ЛІЕЙСОН конічним кінцем вниз. Центрифугуйте пробірку зі швидкістю 200 x g* протягом 1 хвилини. ПРИМІТКА: Тепер пристрій має залишатися у вертикальному положенні.
5. Огляд і тестування	
 Викрутіть конічну пробірку від пристрою. Викиньте змішувальну пробірку / та блок синього фільтра у відповідний контейнер для біологічно небезпечних відходів відповідно до місцевих правил. Дослідіть супернатант. Супернатант може бути каламутним, але видимих частинок або бульбашок не повинно бути.	Помістіть конічну пробірку у відповідний аналізатор DiaSorin для тестування або дотримуйтеся рекомендацій щодо рекомендованих умов зберігання в розділі 9 в Інструкції з використання. Очистіть робочу зону 10% розчином відбілювача (0,5% гіпохлориту натрію).  Біологічна небезпека Одноразовий пристрій