

ÚČEL POUŽITÍ

NADAL Tetanus Test jako tetovací kazeta od NAL VON MINDEN je chromatografický jednorázový imunologický membránový test pro kvalitativní určení tetanových protilátek v lidské plné krvi, séru a plazmě.

ÚVOD

Tetanus je akutní, často smrtelná nemoc, kterou způsobují neurotoxiny z bakterie *Clostridium tetani*. Vysocí patogenní jed přitom pronikne hluboko do centrální nervové soustavy. *Clostridium tetani* je grampozitivní, spóry tvořící, anaerobní zárodek ve tvaru tyčinky, který pronikne do těla prostřednictvím vnějších zranění, zpravidla v podobě spór. V těle se bakterie množí a vytvářejí tetanustoxin (tetanospasmin a tetanolysin), nervový jed, který zamezuje vylévání neurotransmiterů v periferních nervových buňkách, což následně vede k obrnám a svalové křeči. Očkování tetanovou vakcínou (chemicky inaktivovaný tetanustoxin, tetanus toxoid) nebo imunoglobulin (anti-tetanustoxin IgG) může chránit před vypuknutím nemoci, a to i při aplikaci krátce po čerstvé infekci. Pro kontrolu stavu imunity je důležité, aby se určil titer protilátek proti tetanustoxinu. Poté může lékař rozhodnout, zda je nutné provádět profylaktické obnovující očkování. Titer zpravidla klesá, když očkování proběhlo před dlouhou dobou nebo když nebylo úspěšné. Nadal Tetanus protilátkový testovací kit byl vyvinut pro použití při rutinní kontrole a pro přímé nasazení v pohotovosti. Jak je obecně popisováno v odborné literatuře, je možno vycházet z toho, že pacient je jen málo nebo vůbec chráněn, když se titer anti-tetanových protilátek v plazmě nebo v séru pohybuje kolem < 100 mIU/ml nebo < 200 mIU/ml v plné krvi. Dostatečná ochrana se pohybuje u titru kolem ≥ 100 mIU/ml nebo ≥ 200 mIU/ml v plné krvi. Určení množství tetanových protilátek je efektivní metoda pro zjištění stavu imunity. Kromě toho je možné Nadal Tetanus Testem určit pacientův stav imunity velice rychle, tzn. během 20-30 minut.

PRINCIP TESTU

NADAL Tetanus testovací kazeta obsahuje potažený membránový proužek. Hlavní komponenty membrány jsou: konjugáty zlata, zejména tetanus-toxoid-koloidní zlato ($0.09 \pm 0.18 \mu\text{g}$) a myši IgG koloidní zlato ($0.03 \pm 0.006 \mu\text{g}$); testovací linie T obsahuje jako hlavní komponenty tetanus-toxoid ($0.6 \pm 0.12 \mu\text{g}$); kontrolní linie C, obsahuje kozi anti-myši IgG ($0.9 \pm 0.18 \mu\text{g}$). Testovací kazeta je označena písmenkem T pro „testovací linii“ a C pro „kontrolní linii“. Jak testovací linie, tak i kontrolní linie jsou těžko viditelné před nanesením vzorku. Kontrolní linie ukazuje správný průběh testu a musí se vždy objevit, když byl test správně proveden a použité reagentie fungovaly bez závad. Speciálně vybraný tetanus-toxoid byl použit jako spojovací materiál a tetanus-toxoid-koloidní zlato jako detekční materiál. Toto umožní NADAL Tetanus Testu prokázat protilátky v lidských vzorcích s velkou přesností. Test identifikuje množství protilátek od ≥ 100 mIU / ml v plazmě nebo séru a od ≥ 200 mIU / ml v plné krvi.

DORUČOVANÉ REAGENCIE A MATERIÁLY

- 25 testovacích kazet
- 1 lahvička s ředicím pufrém (100mM Tris-HCl, acid sodný (0,02%))
- 25 jednorázových kapilárních pipet
- 1 návod k použití

DALŠÍ POTŘEBNÉ MATERIÁLY

- stopky
- lanceta k získání krve
- alkopad pro dezinfekci

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Všechny reagentie, včetně NADAL Tetanus testovacích kazet mohou být skladovány při pokojové teplotě nebo v lednici (2°C - 25°C). **Nezmrazovat ($<2^{\circ}\text{C}$)!** Test je citlivý na vlhko a horko, proto se musí při převozu a skladování dbát na to, aby balení nebylo vystaveno vysokým teplotám déle nežli týden ($> 45^{\circ}\text{C}$).

POZOR

- Pouze pro profesionální užití v in vitro diagnostice.
- Pouze pro jednorázové použití.
- Nemíchat a nevyměňovat reagentie jednotlivých šarží.
- Nepoužívat po uplynutí data spotřeby.
- Nepijte, nekuřte a nejezte v prostředí, kde dochází k testování
- Nepoužívejte test, pokud je balení poškozené nebo byla překročena doba trvanlivosti.
- Zamezte kapání a aerosolním formacím. Dojde-li k úniku tekutiny, důkladně místo vydezinfikujte patřičnou dezinfekcí.
- Dbejte na nutné množství vzorku.
- Přiveďte vzorek nebo kontroly na pokojovou teplotu (15 - 30°C).
- Nevkládejte vzorky do reakční zóny (výsledková zóna).
- Nedotýkejte se reakční zóny, aby se zabránilo kontaminaci.
- Dbejte na standardní směrnice ohledně zacházení s infekčním materiálem a chemickými reagentii.

- Řádně zlikvidujte všechny znečištěné odpady jako pipety, testovací kazety nebo extrakty.
- Antikoagulance jako je heparin, EDTA nebo azid sodný nemají vliv na výsledky testu.

ODBĚR VZORKU, SKLADOVÁNÍ VZORKU A UPOZORNĚNÍ

Odběr vzorku za pomoci lancety:

- 1) Vyčistěte místo vpichu na prstu dezinfekcí.
- 2) Zmáčkněte bříško prstu a vpichnete sterilní lancetou. První kapku krve utřete sterilním materiálem.
- 3) Koneček **doručené kapilární pipety** zlehka stiskněte a otevřený koneček namočte do tvořící se kapky krve,
Poté povolte tlak pro absorpci krve.



Odběr krve ze žíly:

Plnou krev odeberte ze žíly a přidejte do trubičky (také kapilární trubička – obsahuje EDTA, citrát nebo heparin). Jestli vzorky nebudou testovány přímo po odběru, měly by být skladovány v lednici při 2°C - 8°C . Pro skladování delší než tři dny se doporučuje zmrazení vzorků.

Vzorky by před provedením testu měly být uvedeny na pokojovou teplotu (15°C - 25°C). Skladování delší tři dnů může vyvolat nespecifické reakce. Při skladování při teplotě 2°C - 8°C by měly být vzorky plné krve spotřebovány do 3 dnů.

Upozornění: Antikoagulance jako heparin, EDTA nebo citrat nemají vliv na výsledky testu. Je známo, že hemolytické, lipemické, žloutenkové vzorky a vzorky obsahující revmatické faktory mohou ovlivnit výsledky testu. Používejte pro každý vzorek jednorázové kapilární pipety nebo vyměnitelné nástavce pro pipety, aby se zamezilo křížové kontaminaci vzorků a tím pádem zfalšování výsledků testu.

Plazma nebo sérum:

[Plazma] Plnou krev odeberte ze žíly a přidejte do trubičky, která obsahuje antikoagulance jako heparin, EDTA a azid sodný. Následně centrifugujte krev pro získání vzorku plazmy.

[Sérum] Plnou krev odeberte ze žíly a přidejte do trubičky, která **neobsahuje** antikoagulance jako heparin, EDTA und azid sodný. Následně 30 minut nechte stát a potom centrifugujte pro získání vzorku séra z přebytku.

Pokud vzorky plazmy nebo séra nejsou testovány hned, měly by být skladovány při 2 - 8°C . Vzorky plazmy nebo séra, které obsahují sedimenty, můžou vést k nekonzistentním výsledkům testu. Podobné vzorky musí být před testováním vyčištěny.

PROVEDENÍ TESTU

Všechny komponenty testu a vzorky by měly být uvedeny na pokojovou teplotu (15°C - 25°C).

- 1) Vyjměte NADAL Tetanus testovací kazetu z balení a položte ji na rovnou plochu. Přichystejte vzorek a lahvičku s ředicím pufrém.

Jednorázovou kapilární pipetou přidejte vzorek **30 μl** plné krve/séra/plazmy nebo kapku plné krve do **vzorkové zóny (S)**



- 2) Přidejte **tři (3) až čtyři (4)** kapky ředícího pufru do **vzorkové zóny (S)** NADAL Tetanus testovací kazety.



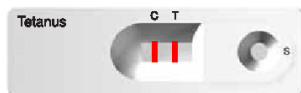
- 3) Výsledek zjistíte během **dvaceti (20) až třiceti (30)** minut. Vyhodnocení neprovádějte po více než 30 minutách. Může to vést k zfalšování výsledků.



VYHODNOCENÍ TESTU

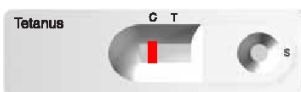
Pozitivní

Vedle červeně zbarvené linie v kontrolní zóně (C) se ukáže červeně zbarvená linie v testovací zóně (T). Tento výsledek ukazuje, že jsou tetanové protilátky obsažené ve vzorku s titrem v koncentraci **vyšší nežli** 100 mIU/ml příp. 200 mIU/ml.



Negativní

Červeně zbarvená linie se ukáže v kontrolní zóně (C). V testovací zóně (T) se žádná červená linie neukáže. Výsledek ukazuje, že jsou tetanové protilátky obsaženy ve vzorku s titrem **nižší než** koncentrace 100mIU/ml příp. 200 mIU/ml.

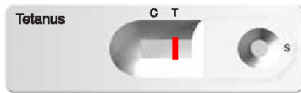


Neplatné

Neukáží-li se linie ani v kontrolní zóně, ani v testovací zóně, tak nastala chyba. Rovněž je test neplatný, když se ukáže testovací linie v testovací zóně, ale žádná v kontrolní zóně.



Důvodem může být nepřiměřené provedení testu a/nebo nedostatek množství vzorku. Navrhujeme v tomto případě testovat vzorek pomocí dalšího testu. Spojte se s námi, je-li i další test neplatný.



KONTROLA KVALITY, INTERNÍ KONTROLA KVALITY

Good laboratory practice (GLP – dobrá laboratorní praxe) doporučuje nasazení kontrol k detekci průběhu testu bez závad. NADAL Tetanus Test testovací linii "T" a kontrolní linii "C" na povrchu kazety. Obě linie nejsou viditelné po přidání vzorku. Kontrolní linie přitom slouží ke kontrole postupu testu. Měla by se ukázat, když byl test správně proveden a reagentie fungují bez závad.

OMEZENÍ

Provedení testu, uvedená bezpečnostní upozornění a směrnice pro vyhodnocení testu musí být při provedení testu přesně dodržovány. Testovací kit upozorňuje pouze na přítomnost protilátek proti tetanové očkovací látce ve vzorku. Další klinické testování je nutno podstoupit v případě pochybností o výsledku. Jako u všech diagnostických testů by neměla být klinická diagnóza dokázána na základě jednotlivého testu, nýbrž jen podle ošetřujícího lékaře po evaluaci všech klinických a laboratorně technických výsledků.

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

NADAL Tetanus Test umožňuje detekci tetanových protilátek od ≥ 200 mIU/ml v plné krvi. V plazmě nebo sérových vzorcích se hranice detekce nachází u ≥ 100 mIU/ml.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Senzibilita a specifita:

NADAL Tetanus Test byl testován s pozitivními a negativními klinickými vzorky ve srovnání s běžným ELISA Kitem na protilátky tetanu.

NADAL Tetanus Test	Tetanus Ab ELISA Kit		Celkem
	Pozitivní	Negativní	
Pozitivní	182	4	186
Negativní	27	113	140
Celkem	209	117	326

Při srovnání NADAL Tetanus Testů s běžnými ELISA Kity na protilátky tetanu vyplynula z výsledků testu senzibilita 96,5% (113/117), specifita 87,0% a celková shodnost 90,4% (295/326).

Přesnost

Přesnost **v rámci průběhu testů** byla zjištěna při aplikaci deseti replik ze sedmi různých vzorků, které obsahují různé koncentrace. Negativní a pozitivní hodnoty byly zjištěny při 100% všech případů.

Přesnost **mezi průběhem testů** byla zjištěna při aplikaci sedmi různých vzorků, které obsahují různé koncentrace.

Naproti tomu byly zjištěny negativní a pozitivní výsledky při 100% všech případů.

Analytická senzibilita

NADAL Tetanus Test prokazuje 100 mIU / ml anti-tetanových protilátek v plazmě nebo séru jako potvrzená detekční spodní hranice.

NADAL Tetanus Test prokazuje 200 mIU / ml anti-tetanových protilátek v plazmě nebo séru jako potvrzená detekční spodní hranice.

Křížové reakce

Následující komponenty krve nemají až do níže uvedených koncentrací žádný příznačný efekt ($\pm 15\%$ očekávaných výsledků) na výsledky testů:

Hemoglobin 8,0 mg/ml
Bilirubin 0,3 mg/ml
Triglycerid 5,0 mg/ml

Neexistuje žádná známá interferenční reaktivita pro NADAL Tetanus Test.

LITERATURA

1. Rapid, simplified method for production and purification of tetanus toxin., Ozutsumi K, Sugimoto N, Matsuda M., Appl Environ Microbiol. 1985 Apr;49(4):939-43.
2. Ultramicro ELISA for measuring tetanus antitoxin in human sera., Fajardo EM, Fernandez JL, Solis RL, Portuondo B, Heredia L, Norona M, Urquiza H, Amat M., Bull Pan Am Health Organ. 1996 Mar;30(1):9-17.
3. Development of sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for determination of tetanus toxoid concentration., Seatovic S, Inic-Kanada A, Stojanovic M, Zivkovic I, Jankov RM, Dimitrijevic L., J Immunoassay Immunochem. 2004;25(1):31-44.
4. An ELISA for quantitation of tetanus toxin., Pal A, Kumar R, Jaikhanani BL., Indian J Med Res. 1990 Mar;91:124-5.
5. Capture EIA for determination of IgE to diphtheria and tetanus toxins in comparison to RIA., Wahren E, Bengtsson C, Bjorksten B, Mark A, Granstrom M., Vaccine. 1998 May-Jun;16(9-10):873-6.

VÝZNAM SYMBOLŮ

IVD

pouze pro diagnostiku in vitro



pouze k jednorázovému použití

Cont.

obsah



datum spotřeby

LOT

č. šarže



skladovací teplota

Rev.: 24/04/2008 SW, TZ