

# Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze (z plně krve/séra/plazmy)



## URČENÝ ZPŮSOB POUŽITÍ

Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze (z plně krve/séra/plazmy) je membránovým screeningovým testem k rychlému zjištění přítomnosti protilátek IgM a IgG proti *Mycobacterium tuberculosis* v lidské plně krvi, lidském séru nebo v lidské plazmě. Tento moderní screeningový rychlotest je založen na laterální průtokové imunochromatografii a patří mezi nejjednodušší ambulantní diagnostické metody. Získané výsledky by ovšem neměly být při rozhodování o klinické léčbě jediným určujícím faktorem. Všechny pozitivní vzorky musí být potvrzeny dalšími konfirmačními metodami.

## ÚVOD

Tuberkulóza (TBC) je infekčním onemocněním, které způsobuje bakterie *Mycobacterium tuberculosis*. Onemocnění bylo známo už ve starověkém Egyptě a v 19. století významně postihovalo evropskou a severoamerickou populaci. Ve 20. století došlo u TBC k exponenciálnímu poklesu výskytu a důsledky onemocnění byly dále zmírněny s nástupem účinných léků. Nová vlna zájmu o TBC nastala po nečekaném objevení kmenů, které jsou vůči lékům odolné, a to zejména u pacientů s onemocněním AIDS. Očekává se, že roční výskyt TBC vzroste ze 7,5 miliónu případů v roce 1995 na 11,9 miliónu v roce 2005. Úmrtnost se u neléčených a léčených pacientů odhaduje podílem 55 %, respektive 15 %.

Mezi tradičními laboratorními testy při diagnostikování TBC patří vyšetření sputa na přítomnost bakterie *Mycobacterium tuberculosis*, kultivace sputa nebo jiné tělesné tekutiny, tuberkulinový kožní test a radiologie. Tyto metody jsou ovšem neúčinné, nebo časově náročné.

## PRINCIP

Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze je laterální průtokovým imunochromatografickým testem. Test využívá proužek s nitrocelulózovou membránou s dvěma testovacími pruhy (pruhy na protilátky IgM a IgG) a jedním kontrolním pruhem (C). Pruh IgM je potažen monoklonálním anti-lidským IgM ke zjištění IgM anti-TBC, pruh IgG je potažen činidly ke zjištění IgG anti-TBC a pruh C je potažen kožím anti-králičím IgG. Vinově zbarvený polštářek obsahuje koloidní zlato konjugované na rekombinantní TBC antigeny konjugované s koloidním zlatem (TBC konjugáty) a konjugáty králičího IgG se zlatem. Když se do testovací jamky vloží vzorek a testovací pufr, pak jsou-li přítomny protilátky IgM a/nebo IgG, naváží se na konjugáty TBC a vytvoří komplex antigenu a protilátky, který vzlínáním začne prostupovat nitrocelulózovou membránou. Jakmile se komplex setká s linií odpovídající amobilizované protilátky (anti-lidským IgM a/nebo anti-lidským IgG), dojde k jeho zachycení se současným vznikem vinového zabarvení, které potvrzuje reaktivní výsledek testu. Pokud na pruhu v testové oblasti vinové zabarvení nevznikne, při testu k reakci nedošlo.

Test obsahuje vnitřní kontrolní mechanismus (proužek C), který se imunokomplexem kožního anti-králičího IgG nebo králičího IgG se zlatem zbarví vinovou barvou bez ohledu na to, zda vznikne zabarvení v některém testovém proužku. V opačném případě je výsledek testu neplatný a vzorek je třeba otestovat novou kazetou.

## DODANÝ MATERIÁL

25 uzavřených sáčků, z nichž každý obsahuje testovací kazetu, kapátko a vysoušedlo  
1 pufr, 6,0 ml  
1 příbalový leták

## POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

1. měřic času
2. nádobky na odběr vzorků
3. odstředivka (pouze pro odběr plazmy)
4. sterilní lancety (pouze pro odběr plně krve z prstu)

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Soupravu lze skladovat při pokojové teplotě nebo v chladničce (2–30 °C). Testovací kazeta je stabilní do data expirace vytištěného na uzavřeném sáčku. V uzavřeném sáčku musí zůstat až do okamžiku použití. NEZMRAZUJTE. Po datu expirace soupravu nepoužívejte.

## POKYNY A UPOZORNĚNÍ

1. Pouze pro odborné diagnostické použití in vitro. Po datu expirace nepoužívejte.
2. Před provedením testu se podrobně seznámte s obsahem příbalového letáku. Při nedodržení pokynů v příbalovém letáku hrozí nepřesnost výsledku testu.

3. V případě poškození sáčku nebo zkumavky výrobek nepoužívejte.
4. Test je pouze na jedno použití. Za žádných okolností jej nepoužívejte opakovaně.
5. Se všemi vzorky nakládejte tak, jako by obsahovaly infekční agens. Při testování dodržujte zavedená preventivní opatření proti mikrobiologickému nebezpečí a dodržujte standardní postupy pro správnou likvidaci vzorků.
6. Při testování vzorků používejte ochranný oděv, například laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranu očí.
7. Výsledky mohou být nepřesné ovlivněny vlhkostí a teplotou.
8. Test neprovádějte v místnosti se silným prouděním vzduchu, například při zapnutém elektrickém ventilátoru nebo při intenzivní klimatizaci.

## ODBĚR VZORKU

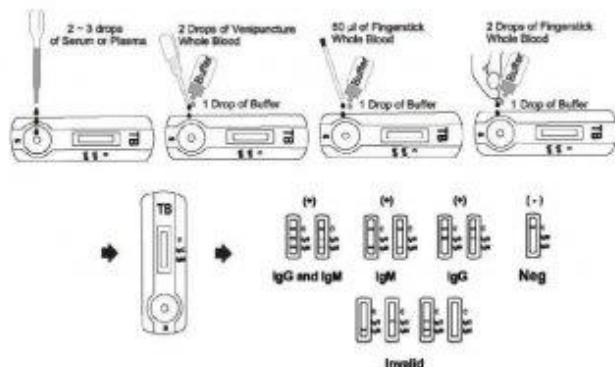
1. Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze (ze vzorku plně krve/séra/plazmy) je určena k testování vzorků krve odebrané ze žíly či prstu, vzorků séra nebo vzorků plazmy.
2. Odběr vzorků plně krve z prstu:
  - Ruku pacienta omyjte mýdlem a teplou vodou nebo očistěte alkoholovým tamponem a následně nechte oschnout.
  - Třením ruky směrem ke špičce prostředníčku nebo prsteníčku ruku promasírujte, ale nedotýkejte se místa vpichu.
  - U každé osoby proveďte vpich novou sterilní lancetou. První kapičky krve otrete.
  - Ruku jemně masírujte od zápěstí přes dlaň až na prst tak, aby se v místě vpichu vytvořila kulatá kapka krve.
  - Vzorek odebraný plně krve vkápněte kapilární trubičkou do testovacího zařízení:
  - Hrot kapilární trubičky vložte do kapky krve a odeberte přibližně 50 µl. Zabraňte vzniku vzduchových bublin.
  - Na horní konec trubičky nasadíte balonek a zmáčknutím krev umístíte do jamky (S) v testovací kazetě.
  - Způsobem visící kapky vkápněte vzorek odebraný plně krve do testovacího zařízení:
  - Prst pacienta umístíte nad testovací kazetu tak, aby kapka krve byla těsně nad jamkou pro vzorek (S).
  - Do středu jamky (S) nechte z prstu ukápnout dvě kapky krve nebo prst pacienta posuňte tak, aby se středu jamky (S) visící kapka dotkla. Samotný prst se jamky (S) nesmí dotknout.
3. Pro zabránění hemolýzy oddělte sérum nebo plazmu z krve co nejdříve. Používejte pouze čiré, nehemolizované vzorky.
4. Test proveďte ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy lze při teplotě 2–8 °C skladovat po dobu 3 dnů. Dlouhodobé skladování vzorků vyžaduje teplotu nižší než –20 °C. Při provádění testu do 2 dnů od odběru je třeba, aby se vnekapkací odebraná krev skladovala při teplotě 2–8 °C. Vzorky plně krve nezmrázujte. Při odběru krve z prstu se musí test provést okamžitě.
5. Před testováním nechte vzorky vyteperovat na pokojovou teplotu. Zmrazené vzorky musí být před testováním zcela rozmrazeny a dobře promíchány. Vzorky by se neměly zmrazovat a rozmrazovat opakovaně.
6. Při přepravě musí být vzorky zabaleny v souladu s místně platnými předpisy o přepravě etiologických agens.

## POSTUP PROVEDENÍ TESTU

Před provedením testu nechte testovací kazetu, vzorek, pufr a/nebo kontrolní prvky vyteperovat na pokojovou teplotu (15–30 °C).

1. Testovací kazetu vyjměte z uzavřeného foliového sáčku a použijte co nejdříve. Nejlepšími výsledky se dosahuje při provedení testu do jedné hodiny.
2. Umístěte testovací zařízení na čistou rovnou plochu.
3. U vzorků séra nebo plazmy: Umístěte kapátko do svislé polohy, do jamky na vzorek (S) přeneste 2–3 kapky séra nebo plazmy (přibližně 60–90 µl) a zapněte časovač. Viz obrázek níže.
4. U vzorků krve odebrané ze žíly: Umístěte kapátko do svislé polohy, do jamky na vzorek (S) přeneste dvě kapky ze žíly odebrané krve (přibližně 50 µl), vkápněte jednu kapku pufru (přibližně 40 µl) a zapněte časovač. Viz obrázek níže.
5. U vzorků krve odebrané z prstu: Do středu jamky (S) nechte z prstu ukápnout dvě kapky krve (přibližně 50 µl), vkápněte jednu kapku pufru (přibližně 40 µl) a zapněte časovač. Viz obrázek níže.
3. Počkejte, až se objeví barevné linky. Výsledek by měl být odečten do 15 minut. Po 15 minutách už výsledek neinterpretujte.

# Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze (z plné krve/séra/plazmy)



obrázek:

2-3 drops of Serum or Plasma = 2-3 kapky séra nebo plazmy | 2 Drops of Venipuncture Whole Blood = 2 kapky krve ze žíly | 50 µl of Fingerstick Whole Blood = 50 µl krve z prstu | 2 Drops of Fingerstick Whole Blood = 2 kapky krve z prstu | Buffer = pufr | 1 Drop of Buffer = 1 kapka pufru | IgG and IgM = IgG a IgM | Neg = negativní | Invalid = neplatný

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

(Viz obrázek výše.)

### POZITIVNÍ:

1.1 **IgM POZITIVNÍ:** Vznikne-li kromě proužku C pouze proužek IgM, znamená to, že ve vzorku jsou přítomny IgM protilátky proti tuberkulóze. Výsledek je IgM pozitivní.

1.2 **IgG POZITIVNÍ:** Vznikne-li kromě proužku C pouze proužek IgG, znamená to, že ve vzorku jsou přítomny IgG protilátky proti tuberkulóze. Výsledek je IgG pozitivní.

1.3 **IgG a IgM POZITIVNÍ:** Vznikne-li kromě proužku C proužek IgM i proužek IgG, znamená to, že ve vzorku jsou přítomny IgG i IgM protilátky proti tuberkulóze. Výsledek je IgG i IgM pozitivní.

2. **NEGATIVNÍ:** Vznikne-li pouze proužek C, nepřítomnost vinového zbarvení v obou testovacích proužcích (IgM i IgG) znamená, že ve vzorku nebyly zjištěny žádné protilátky proti tuberkulóze. Výsledek je negativní nebo nereaktivní.

3. **NEPLATNÝ:** Pokud se proužek C nevytvří, je test neplatný bez ohledu na to, zda se případně zobrazí barevné testové proužky (viz níže). Příčinou nezobrazení kontrolní linky obvykle bývá nedostatečný objem vzorku nebo nedodržení správného postupu. Ověřte správnost postupu a test opakujte novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, okamžitě přestaňte testovací sadu používat a kontaktujte místního distributora.

## KONTROLA KVALITY

Součástí testu je vnitřní kontrola postupu. Vnitřní kontrolou postupu je zobrazení barevné linky v kontrolní oblasti (C). Zobrazení linky potvrzuje dostatečný objem vzorku a správnost postupu provedení testu. Normy kontroly nejsou součástí dodávky testovací sady. V rámci správné laboratorní praxe se za účelem potvrzení postupu testování a ověření funkčnosti testu doporučuje provedení kontroly pozitivní i kontroly negativní.

## OMEZENÍ

- Kazetová sada rychlotestu na přítomnost IgG/IgM protilátek proti tuberkulóze (ze vzorku plné krve/séra/plazmy) je určena ke kvalitativnímu zjišťování protilátek proti *M. tuberculosis* v lidské krvi, lidském séru nebo v lidské plazmě. Test detekuje i přítomnost protilátek proti bakteriím *M. bovis* a *M. africanum*.
- Test je kvalitativním screeningovým testem, který neslouží ke stanovení kvantitativní koncentrace protilátek proti tuberkulóze. Sytost ani tloušťka barevné linky nemá žádný význam.

- U pracovníků, kteří byli nakaženi vakcínou BCG, může vzniknout IgG pozitivní reakce.
- Je-li výsledek testu negativní, přestože klinické příznaky přetrvávají, doporučuje se provedení dalšího testu jinou klinickou metodou. Negativní výsledek testu nevylučuje, že testovaná osoba je bakterií *M. TB* nakažena nebo že se s ní dostala do styku.
- Test může mít negativní výsledek i tehdy, je-li množství protilátek proti bakterií *M. TB* ve vzorku pod hranici, kterou je test schopen zjišťovat, nebo nejsou zjišťované protilátky přítomny ve fází onemocnění, v níž byl vzorek odebrán.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by se konečná klinická diagnóza neměla stanovit na základě výsledku jediného testu; diagnózu by měl potvrdit lékař na základě vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů, a to zejména s ohledem na skutečnost, že v současné době žádný účinný nástroj k diagnóze tuberkulózy neexistuje.

## PARAMETRY FUNKČNOSTI

### 1. Klinická funkčnost pro test IgG

Vzorky odebrané od osob s podezřením na onemocnění tuberkulózu byly testovány tímto rychlotestem a komerčně dostupnou testovací soupravou IgG EIA.

Relativní citlivost: 87,2 %, relativní specifita: 97,3 %, celková shoda: 95,6 %.

### 2. Klinická funkčnost pro test IgM

Vzorky odebrané od osob s podezřením na onemocnění tuberkulózu byly testovány tímto rychlotestem a komerčně dostupnou testovací soupravou IgM EIA.

Relativní citlivost: 83,5 %, relativní specifita: 98,1 %, celková shoda: 95,1 %.

## LITERATURA

- Schaaf, H. S. P., Botha, N., Beyers, R. P., Gie, H. A. a kol. 1996. The 5-year outcome of multi drug resistant tuberculosis patient in the Cape Province of South Africa. *Trop. Med. Int. Health* 1:718-722.
- Havlin, D. V., a P. F. Barnes, 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 340:367-373.
- Dye L., Scheele S., V. Pathania a kol.: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country *JAMA*, 282:677-686.
- Kochi, A., 1991. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 72:1-6
- Merlin T. L., Gibson D. W., a D. H. Connor 1994. Tuberculosis. P400-404 v Ruben E. a Färber J. L. (ed.)- *Pathology*, 2. vydání. JB. Lippincott Company.
- Daniel T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis. s. 223-231. v W.N. Rom, a S. Garay (ed). *Tuberculosis*, Little, Brown & Co Boston, Mass.
- Wilkins, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis. s. 367-379. v P. D. O. Davies 9 ED0. *Clinical tuberculosis*. Chapman & Hall, Ltd, Londýn. Anglie.

## REJSTRÍK SYMBOLŮ

	Viz návod k použití.		počet testů v sadě		zplnomocněný zástupce
	pouze pro diagnostické použití in vitro		datum použitelnosti		Není určeno k opakovanému užívání.
	skladování při teplotě 2-30 °C		číslo šarže		katalogové číslo

Zhejiang Orient Gene Biotech Co., Ltd  
Adresa: č. 3787, East Yanggang Avenue,  
Dipu Street, Anji 311300, Huzhou, Zhejiang, Čína  
QARAD, s.r.o.  
Opalstraat 3, B-2440 Geel, Belgie

REF: OCTB-402a

EC REP

DATUM REVIZE: 2017-05-06  
B20895-02