

Imunochromatografické stanovení přítomnosti hemoglobinu ve stolici

Cíl práce: Rychlý test pro kvalitativní detekci přítomnosti hemoglobinu ve stolici

Charakteristika: Rakovina tlustého střeva a konečníku je jedním z nejčastějších druhů onkologických onemocnění. Její výskyt neustále stoupá a postihuje nejčastěji lidi ve věku nad 45 let.

Projevy: U 10% populace se vyskytují polypy-výrůstky ve sliznici střeva a konečníku. Až 1% z nich jsou zhoubné a polypy větší než 0,5cm stálým drážděním trvale krvácí. Varovným signálem pro zjištění nemoci je krev ve stolici, která je v počátečním stádiu okem nepostřehnutelná.

Stanovení lidského hemoglobinu při tomto okultním krvácení ve stolici využitím tohoto testu je jednoduchým a spolehlivým imunochromatografickým vyšetřením kolorektálních karcinomů a střev a konečníku.

Dalším možným poškozením střevní sliznice může být přítomnost parazitů. Projevuje se také krvácením do stolice.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

1. Tento test je určen pouze pro vzorky stolice, které byly získány a připraveny pomocí přiložených odběrových pomůcek. Vzorek stolice nesmí být kontaminován vodou z toalety.
2. Protože tento test detekuje pouze lidský hemoglobin, není třeba předem dodržovat zvláštní dietu. Vyšetřovaná osoba by ale měla 48 hodin před testem vysadit alkohol, aspirin a léky, které dráždí GIT.
3. Test se neprovádí má-li pacient hemoroidy, nebo krev v moči, během menses a 3 dny předem a po ní kvůli možné falešné pozitivitě.
4. Použijte přiložený papír, který upevníte na okraj klozetové mísy (podle nákresu) samolepkami. Odšroubujte vršek nádoby na vzorek a tyčinku použijte k získání vzorku zapíchnutím do 3 míst stolice. Ujistěte se, že jste skutečně odebrali vzorek. Příliš malé množství může způsobit falešnou negativitu.
5. Vložte tyčinku se vzorkem zpět do nádoby a pevně uzavřete. Potřepáním důkladně promíchejte s kapalinou v nádobce. Odebraný vzorek může být uložen za pokojové teploty až 14 dní (v chladu 4-8°C) až měsíc.

PROVEDENÍ TESTU

1. Roztok se vzorkem stolice musí být vytemperován na pokojovou teplotu, pokud byl uložen ve chladu. Před použitím jej znovu důkladně promíchejte! Bílý uzávěr musí být pevně uzavřen.
2. Testovací kazetu vyjměte z obálky až těsně před použitím a umístěte na rovnou suchou plochu.
3. Uchopte nádobku s roztokem vzorku tak, aby vršek směřoval vzhůru, pak odlomte špičku modrého uzávěru

Aplikujte 3 kapky roztoku vzorku do jamky na kazetě označené S (sample =vzorek)

4. Můžete sledovat, jak narůžovělá protilátka postupuje se vzorkem chromatografickou membránou ve

výsledkovém okně. Po 5 až 10 minutách odečtěte výsledek (nejdéle do 15. minuty).

Pozn. Tento postup platí pro práci při pokojové teplotě (15-30°C). Při výrazně nižší teplotě se prodlužuje doba odečítání.

INTERPRETACE VÝSLEDKU

Nahoře ve výsledkovém okně se musí objevit kontrolní linie C, která potvrzuje, že test proběhl správně a byl aplikován vzorek v dostatečném množství. Vlastní výsledek testu se objeví jako načervenalá linie u označení T (test) ve spodní části okna.

Pozitivní výsledek: 2 barevné linie ve výsledkovém okně, jedna u označení T (test), druhá kontrolní (C)

Negativní výsledek: 1 barevná linie, pouze kontrolní, označená C. U označení T (test) není patrné zbarvení

Pokud se neobjeví kontrolní linie u označení C, je chyba v postupu testu a výsledek nelze vyhodnotit !

Pozn. Pozitivní výsledek se neobjeví hned, k vytvoření barevné linie je třeba vyčkat 10 minut. Barevný odstín linií se může lišit



Citlivost: Citlivost testu je 40 ng/ml.

Reakce: na destičce se nachází v zóně T protilátka proti některé ze složek bílkoviny hemoglobin a ta je absorbována na nitroceluloseovou membránu ve vzorkové linii. Kontrolní protilátka je absorbována na zónu C, která se po použití testu zabarví červeně (viz obr.). Obě protilátky jsou konjugovány a vysušeny na inertním vláknitém nosiči. Ten spolu s membránou vytváří testovací proužek. Testovací proužek je umístěn na pravé straně testovací kazety.