

## Imunochromatografické stanovení 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. 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 taktéž 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 upevněte na okraj klozetové mísy ( podle nákresu) samolepkami. Odšroubujte vršek nádobky 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 nádobky 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 nitrocelulosoovou 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.