

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 přítomnosti hemoglobinu ve stolici

- 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.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKU

- 4. Použijte přiložený papír, který upevněte 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 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.