

TETANOTOP

Test immunocromatografico rapido per la determinazione di anticorpi anti tossina tetanica in siero, plasma o sangue umano intero



DESTINAZIONE D'USO

TETANOTOP è un test immunocromatografico rapido per la determinazione di anticorpi anti tossina tetanica in siero, plasma o sangue umano intero.

TETANOTOP è per uso professionale nel quadro dell'analisi di Laboratorio o di Point of Care per l'accertamento dell'immunità verso la tossina tetanica.

INTRODUZIONE

Clostridium tetani è un batterio responsabile del tetano negli esseri umani. Clostridium tetani è un batterio gram-positivo, a forma di bastoncello, anaerobio, formante spore. Se penetrano nel corpo attraverso una ferita, questi batteri possono moltiplicarsi e produrre una tossina che interessa i nervi e controlla l'attività dei muscoli. La tossina di Clostridium tetani si lega alle membrane delle cellule del sistema nervoso periferico e inibisce il rilascio di neurotrasmettitori.

Gli anticorpi diretti verso la tossina tetanica vengono prodotti nel corpo in seguito all'introduzione della tossina tetanica inattivata chimicamente (tossioide tetanico). L'immunizzazione è il modo migliore per prevenire infezioni da C. tetani nei bambini e negli adulti. L'introduzione di IgG specifiche e purificate anti tossina tetanica, dunque, ha lo scopo di contenere l'azione tossica in casi di infezione acuta.

Talvolta è meglio conoscere il livello degli anticorpi anti tossina tetanica nel paziente, in modo da valutare il suo stato immunologico, al fine di determinare la necessità della vaccinazione complementare, che può assicurare l'immunità verso la tossina tetanica.

In situazioni di emergenza, è importante che il medico conosca lo stato immunologico di pazienti ad alto rischio (ferite profonde) per poter decidere la corretta profilassi anti tetanica da seguire.

PRINCIPIO DEL TEST

TETANOTOP è un test immunocromatografico per la determinazione, nel sangue umano o nel siero, di anticorpi anti tossina tetanica. Il test impiega il tossioide tetanico purificato (un derivato della tossina tetanica non patogeno), adeso alla membrana nella finestra interpretazione campioni e controlli, ed il tossioide tetanico coniugato al lattice, adeso alla membrana nel pozzetto di dispensazione del campione. Quando il sangue umano o il siero vengono aggiunti nel pozzetto di dispensazione del campione, insieme al tampone di diluizione, gli anticorpi tetanici, eventualmente presenti nel campione, si legano al tossioide tetanico coniugato al lattice. Il complesso campione-coniugato migra, dunque, lungo la membrana. Se gli anticorpi tetanici sono presenti, il complesso campione-coniugato si legherà al tossioide tetanico immobilizzato sulla membrana formando una linea di colore grigio in posizione "T". La comparsa di una linea di colore viola, in posizione "C" (controllo), è indicativa di una migrazione corretta e di risultati accettabili del test.

MATERIALI FORNITI

- 20 confezioni di alluminio contenenti ciascuna un dispositivo e una bustina di essiccante
- 20 pipette in plastica monouso
- Un flacone di tampone di diluizione
- Istruzioni per l'uso
- Una scheda con codice a barre per identificare il lotto del dispositivo e per controllare la compatibilità della SD Card, quando si utilizza il lettore BIOSYNEX Reader

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Cronometro
- Pipetta di laboratorio da 10 µl (per l'uso con siero e plasma)

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Il kit può essere conservato tra 2 e 30°C. Evitare l'esposizione del kit a caldo e freddo. NON CONGELARE. Non utilizzare oltre la data di scadenza riportata sopra la confezione.

PRECAUZIONI

1. Per solo uso diagnostico in vitro.
2. Prima di eseguire il test, portare campioni e reagenti a temperatura ambiente.

3. Non utilizzare il test oltre la data di scadenza. L'utilizzo del test dopo la data di scadenza potrebbe generare risultati non corretti.
4. Non pipettare campioni o reagenti per bocca.
5. Seguire le istruzioni per l'uso attentamente.
6. Rimuovere il dispositivo del test dalla busta sigillata prima di eseguire il test.
7. Non mangiare, bere o fumare quando si maneggiano campioni e reagenti.
8. Durante l'analisi indossare camici da laboratorio, guanti e protezioni per gli occhi.
9. Evitare la formazione di schizzi e di aerosol.
10. Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati.
11. TETANOTOP contiene sodio azide come conservante che è tossico se ingerito. La Sodio Azide può reagire con piombatura di rame e piombo e formare sali altamente esplosivi. Per lo smaltimento, far scorrere grandi quantità di acqua.
12. I campioni devono essere maneggiati come se contenessero agenti infettivi. Seguire le norme stabilite in termini di pericolosità microbiologica durante tutta l'esecuzione del test e seguire le relative norme di smaltimento.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Si raccomanda di testare i campioni immediatamente.

Dopo la raccolta, i campioni possono essere refrigerati fino a 3 giorni a 2-8°C. I campioni di siero possono essere congelati per 6 mesi a -20°C..

PROCEDIMENTO

1. Portare i campioni e i reagenti a temperatura ambiente prima di iniziare il test.
2. Rimuovere il dispositivo dalla confezione sigillata. Porre il dispositivo su una superficie piana.
3. Raccolta e preparazione del campione:
 - a. **Sangue intero capillare**
 1. Disinfettare il dito. Bucare il dito con una lancetta sterile monouso.
 2. Premere delicatamente con l'altra mano facendola scorrere dalla base del dito verso l'estremità, in modo da facilitare la fuoriuscita di un'abbondante goccia di sangue.
 3. Utilizzare la pipetta in plastica per aspirare la goccia dal dito.
 4. Aggiungere esattamente una goccia di sangue (20 µl) nel pozzetto del dispositivo.
 - b. **Siero o sangue intero venoso (EDTA o eparina)**
 1. Raccogliere un campione di siero su un tubo a secco o sangue intero su un tubo di EDTA o eparina.
 2. Aggiungere nel pozzetto del dispositivo esattamente una goccia di sangue (20 µl) utilizzando la pipetta di plastica o 10 µl di siero utilizzando una pipetta da laboratorio.
4. Attendere fino a che la goccia di siero o sangue intero sia completamente assorbita nel pozzetto e aggiungere 2 gocce di tampone di diluizione nel pozzetto del dispositivo.
5. Leggere il risultato dopo dieci minuti.
6. Dopo la lettura, smaltire il dispositivo di TETANOTOP secondo le norme per lo smaltimento di rifiuti potenzialmente pericolosi. Lo smaltimento finale deve avvenire secondo la legislazione locale.

RISULTATI

Il test può essere letto visivamente o con l'aiuto del lettore **BIOSYNEX Reader**.

> Lettura visiva:

Valori attesi:

In accordo con lo standard WHO, si considera protettiva nei confronti della tossina tetanica la concentrazione anticorpale nel siero di 0,1 UI/ml.

L'assenza della banda T corrisponde all'assenza di protezione, che si riscontra nel paziente non vaccinato o nei vaccinati di vecchia data.

Nota: non c'è relazione tra l'intensità della banda grigia T e la concentrazione di anticorpi anti tetano nel campione.

RISULTATO POSITIVO:



Una linea grigia compare nella parte inferiore della zona di test "T" e una seconda banda di controllo viola compare a livello della zona di controllo "C". Il campione si considera positivo con un livello di anticorpo superiore a 0,1 UI/mL.



RISULTATO NEGATIVO:



Solo una banda viola compare a livello della zona di controllo "C". Il campione si considera negativo (con un livello di anticorpo inferiore a 0,1 IU/mL).

RISULTATO Nullo:



Se non compare la linea di controllo "C", il risultato non è valido e si deve ripetere il test utilizzando un nuovo dispositivo anche nel caso in cui compaia la linea T.

Letture con il lettore automatico

- TETANOTOP è compatibile con BIOSYNEX Reader, in combinazione con la SD Card "TETANOTOP". Per leggere i risultati con il lettore, fare riferimento alle istruzioni per l'uso del lettore.
- Il codice a barre stampato sulla scheda fornita con il kit, deve essere letto con lo scanner per identificare il lotto del test e per controllare la compatibilità della Card SD.

CONTROLLO QUALITÀ

Un controllo della procedura è incluso nel test. La linea viola che compare nella zona di controllo (C) rappresenta il controllo interno della procedura. Questo conferma che il volume del campione è sufficiente e che la procedura è corretta. Si richiede anche che lo sfondo sia chiaro.

Si raccomanda, inoltre, di utilizzare un siero di controllo positivo e uno di controllo negativo per verificare le prestazioni del test per ogni nuovo lotto. Aggiungere 40 µl (1 goccia) di controllo positivo o una goccia di controllo negativo sul pozzetto contenente il campione. Aggiungere 2 gocce di tampone di diluizione. Seguire il procedimento come riportato nel paragrafo "Procedimento". **Nel caso in cui il controllo positivo sia necessario, è possibile richiederlo a BIOSYNEX.**

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

TETANOTOP fornisce un risultato semi-quantitativo degli anticorpi IgG anti-tetano su sangue intero, plasma o siero.

L'assenza della banda Test dopo 10 minuti indica un titolo basso di anticorpi, non protettivo.

La scelta della profilassi deve basarsi su criteri clinici (profondità e contaminazione della ferita).

PRESTAZIONI

Sensibilità

Limite di rilevazione: La determinazione del limite di rilevazione per TETANOTOP è stata eseguita con lo standard NIBSC 76/589. Il limite di rilevazione dell'anti tossoide tetanico è stato saggiato su siero. Questo studio riporta un limite di rilevazione per TETANOTOP di 0,1 IU/mL per un campione di 10 µl di siero.

Il limite di rilevazione nel sangue intero è determinato per trasposizione del limite di rilevazione in siero. Un limite di rilevazione di 0,1 IU/ml per un campione di siero di 10 µl applicato al sangue intero prevede il raddoppio del volume, cioè 20 µl di sangue.

Effetto gancio: Lo standard #02/232 NIBSC (anticorpi liofilizzati anti tossina tetanica) è stato saggiato, su tre lotti, ad alta concentrazione, fino a 12 IU/ml. Non è stato osservato alcun effetto gancio. Possono essere saggiati campioni con un'elevata concentrazione di anticorpi.

Specificità

Interferenze: Sono stati saggiati in triplo campioni contenenti bilirubina, trioleina e albumina a diverse concentrazioni. Per questi tre componenti, i risultati dei test soddisfano i risultati attesi: non è stata rilevata alcuna interferenza.

Anticoagulanti: Il sangue intero è stato campionato con provette contenenti EDTA e con Eparina per ottenere campioni di plasma. Entrambi i tipi di campionamento sono stati testati per confrontare i risultati. Non è stata osservata alcuna differenza tra il plasma con EDTA e con eparina. Il sangue intero può quindi essere campionato senza differenza con EDTA o con eparina.

Precisione

Riproducibilità: La riproducibilità è stata valutata e validata su diversi lotti. I campioni (negativi, positivi a basso/medio ed alto titolo) sono stati testati numerose volte, in giorni diversi e da personale diverso. Per tutti i test, i risultati ottenuti soddisfano i risultati attesi.

Ripetibilità: I campioni (negativi, positivi a basso/medio ed alto titolo) sono stati testati 10 volte con uno stesso lotto. Per tutti i test, i risultati ottenuti soddisfano i risultati attesi.

Studio clinico

Uno studio clinico è stato condotto in pronto soccorso su sangue capillare. Gli stessi pazienti sono stati testati in laboratorio su siero e sangue venoso. I sieri corrispondenti sono stati analizzati anche in ELISA (Genzyme Virotech ref EC 124.00). I risultati sono riassunti qui di seguito:

Sangue capillare (lettura in pronto soccorso)		Titolazione ELISA			Totale
		Positivo	Limite (0,1)	Negativo	
TETANOTOP	Positivo	139	1	0	140
	Negativo	29	8	1	38
	Totale	168	9	1	178

Negativo se=0,1		Positivo se=0,1	
Specificità	90,00%	Specificità	100,00%
Sensibilità	82,74%	Sensibilità	79,10%

Sangue venoso (lettura in laboratorio)		Titolazione ELISA			Totale
		Positivo	Limite (0,1)	Negativo	
TETANOTOP	Positivo	156	0	0	156
	Negativo	12	9	1	22
	Totale	168	9	1	178

Negativo se=0,1		Positivo se=0,1	
Specificità	100,00%	Specificità	100,00%
Sensibilità	92,86%	Sensibilità	88,14%

Siero (lettura in laboratorio)		Titolazione ELISA			Totale
		Positivo	Limite (0,1)	Negativo	
TETANOTOP	Positivo	154	0	0	154
	Negativo	14	9	1	24
	Totale	168	9	1	178

Negativo se=0,1		Positivo se=0,1	
Specificità	100,00%	Specificità	100,00%
Sensibilità	91,67%	Sensibilità	87,01%

- La specificità di TETANOTOP è stata inoltre definita per le preparazioni di sangue intero

TETANOTOP (sangue intero)		ELISA	
		Campioni positivi	Campioni negativi
	Positivo	1	0
	Negativo	1	12

BIBLIOGRAFIA

- Kennedy, J.W., Carey, R.N., Coolen, R.B., et al, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Powers, D.M., Glick, M.R., et al, Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline (EP7-P). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Passey, R.B., Bee, D.E., Caffo, A., et al, Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods (EP6-P). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Wang, A.S., Burns, G.F., Kronborg, I.J. and Mackay, I.R., Detection of antibodies to tetanus toxoid: comparison of a direct hemagglutination method with a radioimmunoassay, Journal of Clinical Pathology 35: 1138-1141 (1982).
- Kiessig, S.T., Hentschel, C., Jahn, S., Mehl, M., Starke, R. and Porstmann, T., A solid-phase enzyme immunoassay for the detection of tetanus toxin using human and murine monoclonal antibodies, Journal of Basic Microbiology 31: 135-140 (1991).
- Gergen, P.J., McQuillan, G.M., Kiely, M., Ezzati-Rice, T.M., Sutter, R.W. and Virella, G., A Population-Based Serologic Survey of Immunity to Tetanus in the United States, The New England Journal of Medicine 332(12): 761-766 (1995).
- Simonsen, O., Bentzon, M.W. and Heron, I., ELISA for the routine determination of antitoxic immunity to tetanus, Journal of Biological Standardization 14: 231-239 (1986).

SIMBOLI

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso		Numero di lotto
	Per esclusivo uso diagnostico <i>in vitro</i>		Fabbricante
	Conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 30°C		Monouso
	Test per kit		Numero di catalogo
	Scadenza		Tampone di diluizione

DISTRIBUITO IN ITALIA DA: **Version 03 IT 05/2016**

Meridian Healthcare srl

Via Caronda, 446 SC/A - 95129 Catania - Italy
Tel. +39 095 725 68 69 - Fax: +39 095 725 44 54
info@meridianhealthcare.it
www.meridianhealthcare.it



EDMA: 15 70 01 90 CND: W0105011709 RDM 1542938



BIOSYNEX
12, rue Ettore Bugatti - CS28006
67038 STRASBOURG Cedex - France

Tél. : +33 3 88 77 57 00
Fax : +33 3 59 81 21 74

