

# ITALIANO

Dosaggio immunocromatografico su card per la determinazione visuale degli anticorpi anti tossina tetanica nel siero, plasma o sangue intero, quale ausilio per l'accertamento dello stato immune.

TE-20B / S-GZ-20 (20 determinazioni)  
TE-40B / S-GZ-40 (40 determinazioni)

Per uso diagnostico in vitro (per esclusivo uso professionale)

## 1. INTRODUZIONE

### a) Applicazioni cliniche

Il tetano è ancora oggi un problema a livello mondiale: diverse centinaia di migliaia di persone in tutto il mondo sono affette ogni anno da questa infezione.

La tossina tetanica, una potente tossina microbica prodotta dal Clostridium tetani, ha un peso molecolare di 150.000 ed è formata da una catena pesante, contenete il sito che si lega alle cellule nervose, e da una catena leggera, che si suppone contenga la frazione tossica della molecola.

La tossina tetanica esercita la sua principale azione patogena a livello del sistema nervoso centrale inibendo il rilascio dei neurotrasmettitori.

L'immunizzazione di massa tramite l'inoculo del tossoide del tetano (la tossina inattivata con formalina) si è dimostrata pienamente efficace nel proteggere la popolazione dal tetano.

La conoscenza dello stato di immunizzazione di una popolazione verso il tetano può avere applicazioni pratiche. Può essere utile nel controllare l'efficacia dei protocolli di immunizzazione adottati e la persistenza dell'immunizzazione stessa. Può anche essere di aiuto ai medici del Pronto Soccorso nella scelta della corretta profilassi antitetanica per i pazienti a rischio di tetano.

E' generalmente riportato in letteratura che un paziente:

- è poco o per niente protetto quando il titolo di anticorpi anti-tetano presenti nel siero è  $< 0.1$  IU/mL
- è sufficientemente protetto quando il titolo è  $\geq 0.1$  IU/mL.

### b) Scopo del test

I pazienti afferenti al Pronto Soccorso con ferite esposte e quindi a rischio di contrarre il tetano, a volte commettono degli errori nella valutazione del loro stato immune.

Questa è la ragione per cui il medico può decidere di non effettuare la profilassi ad un paziente credendolo immunizzato, mentre in effetti non è protetto oppure, viceversa, effettuare la profilassi su un paziente che ritiene erroneamente non protetto.

Nel primo caso, il paziente rischia di contrarre il tetano, mentre nel secondo, il paziente rischia una sovraimmunizzazione.

La conoscenza della condizione immune di un paziente, relativamente al rischio di contrarre il tetano, è indubbiamente utile ai medici di Pronto Soccorso dell'ospedale per la scelta di effettuare o meno la profilassi antitetanica. La determinazione della concentrazione degli anticorpi verso il tetano è un modo efficiente per conoscere lo stato immune. Poterlo conoscere rapidamente rappresenta un ulteriore vantaggio.

Ora questo è possibile con il TETANOS QUICK STICK che è in grado di determinare lo stato immune di un paziente in 10 minuti. Questo test può rilevare concentrazioni di anticorpi uguali o superiori a 0.1 IU/ml nel sangue, che rappresenta un livello di protezione adeguato. In accordo con il risultato del TETANOS QUICK STICK e valutando il rischio di contagio derivante dalla ferita esposta, il medico può scegliere così la profilassi più adatta.

## 2. PRINCIPIO DEL METODO

Il TETANOS QUICK STICK è un test immunologico rapido "one-step" basato sul principio dell'immunocromatografia.

Il metodo impiega una combinazione di coniugati a l'oro fra quali la tossina del tetano e adesa alla fase solida la tossina del tetano.

Il campione di sangue o siero o plasma umano è dispensato nel pozzetto di reazione sulla piastrina. Nello stesso pozzetto viene poi aggiunto il diluente. Il diluente migra, lungo la striscia di carta assorbente cromatografia, assieme alla tossina coniugata con il complesso oro-colloidale colorato, formando quindi un complesso con le IgG anti-tetano eventualmente presenti nel campione in esame.

Questo complesso reagisce con la tossina immobilizzata formando una linea rosa nella finestra "T".

Se le IgG anti-tetano non sono presenti nel campione in esame non si evidenzierà alcuna linea colorata nella finestra "T".

L'eccesso di complesso oro colloidale coniugati si lega quindi ad un reagente di controllo immobilizzato nella finestra "C" formando una linea rosa che indica che il test è stato eseguito correttamente.

## 3. REAGENTI CONTENUTI NEL KIT:

### TE-20B / S-GZ-20 (20 test):

I reagenti sono sufficienti per 20 test.

- 20 card confezionate individualmente in un sacchetto in alluminio (monodose) con 20 pipette in plastica monouso.  
Lo stick è inserito in una card che presenta 2 finestre:
  - 1 finestra con un pozzetto per la dispensazione del campione e del diluente
  - 1 finestra con una zona "T" dove appare la linea del test ed una zona "C", dove compare la linea di controllo
- 1 flacone di diluente, contenente 5 ml di tampone fosfato (PBS) con detergente Tween 20 (0,1%). Conservante: Na<sub>3</sub>N 0,05%.
- Istruzioni per l'uso.

### TE-40B / S-GZ-40 (40 test):

I reagenti sono sufficienti per 40 test.

- 40 card confezionate individualmente in un sacchetto in alluminio (monodose) con 40 pipette in plastica monouso.  
Lo stick è inserito in una card con 2 finestre:
  - 1 finestra con pozzetto per la dispensazione del campione e del diluente
  - 1 finestra con una zona "T", dove appare la linea del test ed una zona "C", dove compare la linea di controllo
- 2 flaconi di diluente, ognuno contenente 5 ml di tampone fosfato (PBS) con detergente Tween 20 (0,1%). Conservante: Na<sub>3</sub>N 0,05%.
- Istruzioni per l'uso.
- 40 lancette pungidito di sicurezza

## 4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Solo per uso diagnostico in vitro.
2. Non utilizzare la card se la busta in alluminio è danneggiata.
3. Trattare tutti i campioni come se fossero potenzialmente infettivi. Quando il test è terminato, gettare in sicurezza i campioni umani dopo averli posti in autoclave per almeno un'ora. In alternativa, i campioni umani possono essere trattati con una soluzione di ipoclorito di sodio da 0,5% a 1%.
4. Durante l'effettuazione del test indossare indumenti protettivi, quali camici da laboratorio, e guanti monouso.
5. Non mangiare, bere, né fumare nell'area di trattamento dei campioni e reagenti.
6. Evitare il contatto delle mani con occhi e naso durante la manipolazione dei campioni.
7. Il diluente contiene Na<sub>3</sub>N (sodio azide) allo 0,05% quale agente antimicrobico. L'Na<sub>3</sub>N è tossico, qualora fosse assorbito od ingerito. L'eliminazione tramite lo scarico in lavandino deve essere accompagnato da abbondante flusso d'acqua, per evitare l'accumulo nelle tubazioni ed il pericolo di esplosioni.

## 5. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Il kit deve essere conservato tra 4°C e 30°C.
- Non congelare il kit.
- La data di scadenza di ciascun reagente è indicata sulla rispettiva etichetta. Il kit deve essere usato non oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

## 6. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. TETANOS QUICK STICK può essere utilizzato su campioni di sangue intero, siero, plasma (citrato o EDTA) plasma ricalcificato.
2. I campioni dovrebbero essere utilizzati immediatamente dopo il prelievo. I campioni non utilizzati immediatamente possono essere conservati a 2-8°C per 3 giorni, a -20°C per tempi più lunghi. Si consiglia di non congelare e scongelare ripetutamente i campioni. Qualora i campioni debbano essere spediti, essi devono essere confezionati in accordo con le normative riguardanti il trasporto di agenti eziologici.
3. Campioni moderatamente lipemici non influenzano i risultati del dosaggio; campioni fortemente lipemici o emolizzati possono alterare i risultati. La presenza di filamenti di fibrina e precipitati può interferire nel dosaggio; assicurarsi pertanto che i campioni siano perfettamente limpidi prima di dosarli

## 7. PROCEDIMENTO OPERATIVO

1. Aprire e preparare il numero di confezioni necessarie, (strappando al punto di taglio della confezione) disponendo le card su una superficie piana.
2. Contrassegnare le card con il nome del paziente od il numero identificativo.
3. Il test può essere effettuato su sangue intero, siero o plasma.

### \* campione di sangue intero

Pulire accuratamente il dito del paziente. Dopo la puntura con una lancetta pungidito monouso, prelevare il volume necessario di sangue per mezzo della pipetta in plastica direttamente dalla ferita procurata e dispensarlo nel pozzetto di reazione, come da schema

### \* campione di siero o plasma

Prelevare 20 µL di campione e dispensarlo nel pozzetto di reazione.

4. Aggiungere, entro 10 secondi dalla dispensazione del campione, 3 gocce di diluente tenendo il flacone con contagocce sopra il pozzetto di reazione ed evitando che l'estremità del contagocce entri in contatto diretto con il bordo o il fondo del pozzetto.
5. Dopo 10 minuti dalla dispensazione del diluente, leggere il risultato.

Nel caso che non appaia dopo 2 minuti alcuna traccia di liquido colorato nella seconda finestra, è possibile aggiungere una goccia di diluente supplementare nel pozzetto del campione..

## 8. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### 1 Convalida del test

Una linea di colore rosa deve comparire nella zona di controllo (C), indicando così che il test è stato effettuato correttamente.

### 2 Lettura del risultato

- Se non appare nessuna linea colorata di rosa nella zona test (T) il test è negativo per la presenza di anticorpi anti-tetano.
- Se in aggiunta alla linea colorata della zona controllo (C) si presenta una linea colorata di rosa nella zona test (T), il test indica un risultato positivo e quindi la presenza di anticorpi anti-tetano nel campione in esame.
- Un risultato positivo indica che la concentrazione di anticorpi nel campione è superiore alla soglia di sensibilità del test e cioè di 0,1 IU/ml. Un titolo anticorpale superiore a questa concentrazione è considerato come immunoprotettivo nei confronti del tetano. In caso di dubbio sulla presenza o meno di una linea colorata nella zona test (T) e quindi in presenza di un risultato al limite della sensibilità del test, il risultato va considerato negativo. Talvolta possono presentarsi differenze di intensità di colore tra le due linee nelle zone test (T) e di controllo (C), ma ciò non modifica l'interpretazione del risultato.

## 9. CONTROLLO QUALITÀ

La Buona Pratica di Laboratorio raccomanda l'uso di reagenti di controllo per accertare il corretto funzionamento del kit. A questo scopo può essere utilizzato un siero di controllo positivo a concentrazione nota ed effettuare così il controllo di qualità del test. Il siero di controllo positivo, fornito su richiesta dal produttore (cod. S-GZ-C2), può essere utilizzato nel modo seguente: dispensare una goccia del controllo positivo nel pozzetto campione, quindi dispensare nello stesso pozzetto 3 gocce del diluente e proseguire come descritto nel Procedimento Operativo.

## 10. VALORI ATTESI

Il TETANOS QUICK STICK è in grado di rilevare la presenza di anticorpi anti tetano nel campione in esame alle seguenti concentrazioni:

≥ 0,1 IU/ml, in campioni di siero o di plasma umano

≥ 0,2 IU/ml, in campioni di sangue intero.

Normalmente, dopo 10 minuti dalla dispensazione del diluente nella card, il test è in grado di rilevare la presenza di anticorpi anti tetano ai predetti livelli di sensibilità.

## 11. PRESTAZIONI DEL TESTO

### A. Riproducibilità

#### 1. Intra-saggio

La precisione intra-saggio è stata determinata utilizzando 10 replicati di 3 campioni diversi contenenti rispettivamente 0; 0.5 e 20 IU/mL di IgG anti-tetano.

I valori negativi e positivi sono stati correttamente identificati nel 100% dei casi.

#### 2. Inter-saggio

La precisione inter-saggio è stata determinata utilizzando gli stessi campioni del punto 1., contenenti 0; 0.5 e 20 IU/mL in 10 sedute differenziate e con 3 lotti diversi di TETANOS QUICK STICK.

I valori negativi e positivi sono stati correttamente identificati nel 100% dei casi.

### B. Validazione clinica

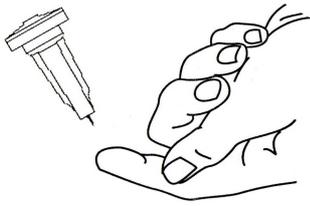
200 campioni di siero sono stati dosati dalla Gamma utilizzando il kit Tetanos Gamma in ELISA ed il Tetanos Quick Stick.

Numero di campioni	34	9	157
Titolo d'anticorpi (ELISA) IU/ml	<0,1	compreso tra 0,1 e 0,14	>0,14

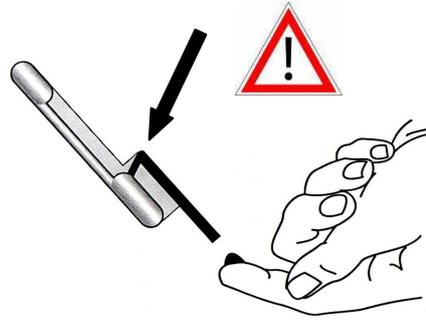
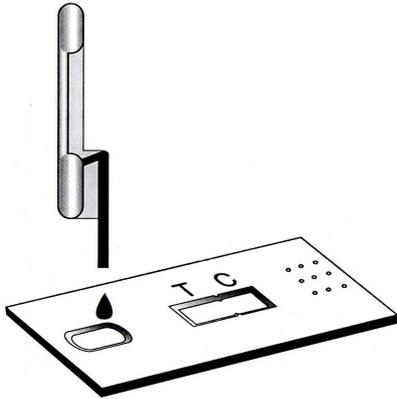
34 campioni < 0,1 IU/ml con il metodo ELISA sono risultati negativi con il TQS.

157 campioni > 0,14 IU/ml con il metodo ELISA sono risultati positivi con il TQS.

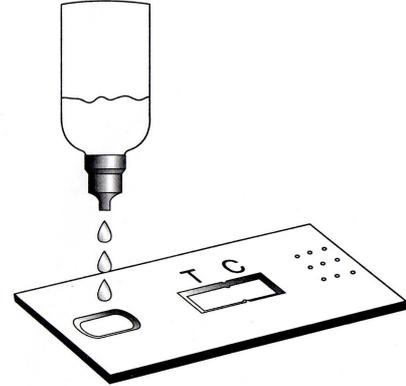
Dei 9 campioni con titolo di anticorpi compreso tra 0,1 e 0,14 IU/ml con il metodo ELISA, dopo una seconda prova di conferma, sei campioni con concentrazione di anticorpi anti tetano di 0,10, 0,11 e 0,12 IU/ml con il metodo ELISA, sono risultati negativi con il TQS.



①



②

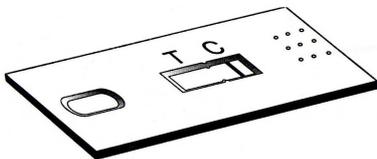


**(en)** Correct Filling  
**(fr)** Remplissage Correct  
**(it)** Livello di riempimento adeguato

**(en)** 1. Dispense 1 drop of sample in sample well  
 2. Within 10 seconds, dispense 3 drops of diluent in sample well  
 Read results after 10 minutes

**(fr)** 1. A l'aide de la pipette, déposer **la totalité du sang** dans la fenêtre de dépôt  
 2. Ajouter rapidement (dans les 10 secondes) 3 gouttes de diluant dans la fenêtre de dépôt  
 Lire les résultats après 10 minutes

**(it)** 1. Dispensare una goccia del campione nel pozzetto di reazione.  
 2. Tra i 10 secondi, dispensare 3 gocce di diluente nel medesimo pozzetto  
 Leggere il risultato dopo 10 minuti



**Negative**

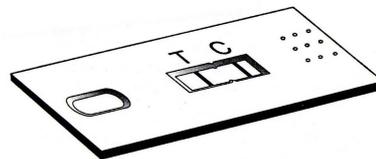
One coloured band appears in control windows (C)

**Négatif**

Une ligne colorée apparaît dans la zone contrôle (C)

**Negativo**

1 banda colorata compare solamente nelle zona di controllo (C)



**Positive**

Two coloured band appear in test (T) and colored (C) windows

**Positif**

2 lignes colorées apparaissent dans la zone test (T) et la zone contrôle (C)

**Positivo**

2 bande colorate compaiono rispettivamente nella zona del test (T) e nella zona di controllo (C)