



ichroma™ Calprotectin

POUŽITÍ

ichroma™ Calprotectin je imunofluorescenční test (FIA) pro kvantitativní detekci kalprotektinu (MRP8/14; S100A8/S100A9) v lidské stolici. Je to užitečný prostředek pro management a monitoring gastrointestinálních zánětů způsobených více onemocněními (zánětlivé onemocnění střev, kolorektální nádory a některé enteropatie).

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

ÚVOD

Kalprotektin je kalcium vázající protein obsažený v neutrofilech, jehož koncentrace stoupá ve stolici při zánětlivém onemocnění střev (IBD), zvláště u Chronovy choroby a ulcerózní kolitidy. Odolnost kalprotektinu vůči degradaci udržuje jeho stabilitu ve stolici po dobu 7 dní při pokojové teplotě a výrazně delší dobu při -20 °C. Kalprotektin tlumí enzymatické systémy závislé na zinku s výsledným ničením mikrobů a indukce apoptózy u normálních a nádorových buňkách. Za přítomnosti kalcia je kalprotektin výrazně rezistentní vůči proteolytické degradaci a je stabilní ve stolici při pokojové teplotě po dobu 7 dní. Koncentrace kalprotektinu ve stolici koreluje s histologickým a endoskopickým nálezem střevního zánětu u pacientů s IBD.

PRINCIP

Test používá sendvičovou imunodetekční metodu; detekční protilátky se naváží na antigeny ve vzorku, vytvoří komplexy antigenu s protilátkou, které migrují nitrocelulózovou membránou, kde jsou zachyceny imobilizovanými protilátkami na testovacím proužku.

Čím více antigenů je ve vzorku, tím více se formuje antigen-protilátkových komplexů se silnějším fluorescenčním signálem, který je následně vyhodnocen přístrojem ichroma™ se znázorněnou koncentrací kalprotektinu ve vzorku.

KOMPONENTY

ichroma™ Calprotectin obsahuje testovací kazety, zkumavky s extrakčním pufrém, ID čip a návod k použití.

- Kazeta obsahuje testovací proužek - membránu s protilátkou proti lidskému kalprotektinu v testovací linii a králičí IgG v kontrolní linii.
- Každá kazeta je individuálně zabalena v sáčku z hliníkové folie s desikantem. 25 uzavřených kazet je zabaleno v krabici, která také obsahuje ID čip.
- Extrakční pufr obsahuje hovězí albumin (BSA), detergent a azid sodný jako konzervant v HEPES pufru.
- Extrakční pufr je předozplněný ve zkumavkách. V krabici s kazetami je 25 zkumavek s pufrém.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
 - Dodržujte instrukce a postupy uvedené v návodu k použití.
 - Používejte pouze čerstvé vzorky a vyvarujte se přímému slunečnímu svítu.
 - Ve vzorku nesmí být žádná kontaminace s močí nebo vodou.
 - Vzorky nesmí být odebírány během menstruace, při hemoroidech nebo při rektální medikaci.
 - Číslo šarže všech složek testu (kazety, zkumavky s extrakčním pufrém a ID čipu) musí souhlasit.
 - Nezaměňujte jednotlivé součásti testu různých šarží a nepoužívejte je po datu expirace, může to vést k nesprávnému výsledku testu.
 - Nepoužívejte opakovaně kazetu a zkumavky s extrakčním pufrém. Extrakční pufr může být použit pouze pro 1 vzorek. Kazeta může být použita pouze pro testování 1 vzorku.
 - Kazeta musí zůstat ve svém původním obalu až do doby použití. Nepoužívejte testovací kazetu v případě, pokud je sáček porušen nebo poškozen.
 - Pro přepravu musí být vzorky zabaleny v souladu s příslušnými nařízeními.
 - Před použitím ponechte kazetu, extrakční pufr a vzorek vytemperovat při pokojové teplotě po dobu cca 30 minut.
 - Přístroj pro ichroma™ testy může při použití generovat slabé vibrace.
 - S použitými kazetami, zkumavkami s pufrém a pipetovacími špičkami zacházejte opatrně a při likvidaci postupujte v souladu s příslušnými místními nařízeními.
 - Expozice většímu množství azidu sodného může způsobovat zdravotní obtíže jako křeče, nízký krevní tlak a srdeční frekvenci, ztrátu vědomí, poškození plic a respirační selhání.
 - **ichroma™ Calprotectin** vykazuje přesné a spolehlivé výsledky za níže uvedených podmínek.
- **ichroma™ Calprotectin** může být použit pouze v spojení s přístrojem pro ichroma™ testy.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky skladování		
Komponenty	Teplota skladování	trvanlivost
Kazeta	4 - 30 °C	20 měsíců
Extrakční pufr	4 - 30 °C	20 měsíců

- Po otevření sáčku s kazetou musí být test proveden neprodleně.

OMEZENÍ TESTOVACÍHO SYSTÉMU

- Test může zobrazovat falešně pozitivní výsledky způsobené křížovou reakcí a/nebo nespecifickou adhezí určitých komponent vzorku na vazebné/detekční protilátky.

- Test může zobrazovat falešně negativní výsledky způsobené nereagováním antigenu s protilátkami, obvykle pokud je antigenní epitop maskovaný některou neznámou komponentou, takže nemůže být rozeznán nebo zachycen protilátkou. Nestabilita nebo degradace antigenu, která je výsledkem degradace v čase nebo tepelná degradace, může rovněž způsobovat falešně negativní výsledky a způsobit, že antigen není protilátkami rozpoznatelný.

- Dalšími faktory, které mohou interferovat s testem a způsobovat chybné výsledky, jsou např. technické/procesní chyby, degradace komponent testu nebo přítomnost interferujících látek v testovacích vzorcích.

- Každá klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podpořena komplexním posouzením příslušným lékařem, včetně klinických symptomů a výsledků dalších relevantních testů.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Komponenty **ichroma™ Calprotectin**

- Krabice s kazetami:
 - Kazety 25
 - Zkumavky s extrakčním pufrém 25
 - ID čip 1
 - Návod k použití 1

POŽADOVANÝ MATERIÁL NA VYŽÁDÁNÍ

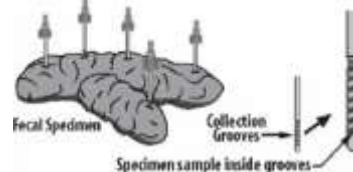
Následující položky mohou být nakoupeny separátně od **ichroma™ Calprotectinu**. Pro více informací kontaktujte prosím svého distributora.

- **ichroma™ Reader**
- **ichroma™ II**
- **ichroma™ Printer**
- **Boditech Calprotectin Control**

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Typem vzorků pro **ichroma™ Calprotectin** test je lidská stolice.

- Na zkumavce s extrakčním pufrém a uvolněte víčko s připojenou tyčinkou pro odběr vzorku. (žlutá barva).
- Zaveďte tyčinku do vzorku stolice na 6 různých místech. Abyste zajistili rovnoměrné nabrání vzorku pouze do spirálovité drážky tyčinky, aby tak byl zajištěn odpovídající poměr vzorku s pufrém, nenabírejte shluky ve vzorku stolice.



- Vraťte tyčinku do zkumavky s extrakčním pufrém. Důkladně utáhněte víčko a intenzivně protřepávejte zkumavku tak, aby se vzorek ve zkumavce dokonale rozptýlil.
- Pokud nemůže být vzorek použit po odebrání ze stolice ihned, měla by být zkumavka s extrakčním pufrém uložena v lednici a následně analyzována použitím testovací kazety do 7 dnů.
- Pokud se testování opozdí nad uvedený časový rámec, vzorky musí být zmrazeny při teplotě -20 °C.
- Zamražené vzorky mohou být skladovány při teplotě -20 °C po dobu 6 měsíců bez vykazování jakékoliv odchylky.
- Opakované zmražení a rozmražení může způsobit změny v testovaných hodnotách.

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah **ichroma™ Calprotectin**: kazeta v uzavřeném sáčku, zkumavka s extrakčním pufrém a ID čip.
- Ujistěte se, že šarže všech komponent testu tj. kazet, zkumavek s extrakčním pufrém a ID čipu souhlasí.
- Před testem ponechte zabalenou kazetu a zkumavku s detekčním pufrém (pokud jsou skladovány v ledničce) při pokojové teplotě po dobu cca 30 minut. Položte kazetu na čistý, bezprašný a rovný povrch.
- Zapněte přístroj pro ichroma™ testy.

(Pro kompletní informace a operační pokyny viz operační manuál.)

TESTOVACÍ POSTUP

► ichroma™ Reader / ichroma™ II

Režim "Multi"

- 1) Odeberte vzorek v souladu s metodou odběru pomocí tyčinky podle odstavce "Odběr a zpracování vzorků"
- 2) Odломte špičku z černého víčka zkumavky.
- 3) Před aplikací vzorku na kazetu odkapejte 3 kapky směsi na papírový tampon.
- 4) Nakapejte 3 kapky směsi vzorku do jamky pro vzorek na kazetě.
- 5) Ponechte kazetu se vzorkem při pokojové teplotě po dobu 10 min.
 - ⚠ *Provedte skenování kazety se vzorkem ihned po uplynutí inkubační doby. V opačném případě to může vést k nepřesným výsledkům.*
- 6) Pro skenování kazety se vzorkem vložte do kazetu do nosiče přístroje pro ichroma™ testy. Ujistěte si správnou orientaci kazety před úplným zasunutím kazety dovnitř nosiče.
- 7) Stiskněte tlačítko 'Select' nebo 'START' na přístroji pro ichroma™ testy pro zahájení procesu skenování.

8) Přístroj pro ichroma™ testy zahájí ihned skenování kazety se vzorkem .

9) Odečtete výsledek testu na displeji přístroje ichroma™ testy.

Režim "Single"

1) Odeberte vzorek v souladu s odběrovou metodou s použitím tyčinky podle odstavce "Odběr a zpracování vzorků"

2) Odломte špičku z černého víčka zkumavky.

3) Před aplikací vzorku na kazetu odkapejte 3 kapky směsi na papírový tampon.

4) Nakapejte 3 kapky směsi vzorku do jamky pro vzorek na kazetě.

5) Vložte kazetu do nosiče přístroje pro ichroma™ testy. Ujistěte si správnou orientaci kazety před úplným zasunutím kazety dovnitř nosiče.

6) Stiskněte tlačítko 'Select' nebo 'START' na přístroji pro ichroma™ testy.

7) Kazeta se zasune automaticky do přístroje pro ichroma™ testy a skenování kazety se vzorkem se zahájí automaticky po uplynutí 10 minut.

8) Odečtete výsledek testu na displeji přístroje pro ichroma™ testy.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

■ Přístroj pro ichroma™ testy vypočítá výsledky automaticky a zobrazí koncentrace kalprotektinu z v testovaném vzorku v hodnotách mg/kg.

■ **Cut-off: 50 mg/kg**

■ Referenční hodnoty :

Hodnota	Interpretace
< 50 mg/kg	Negativní
50 – 100 mg/kg	Mezní pole, mělo by se opakovat v rozmezí 4-6 týdnů
> 100 mg/kg	Pozitivní

■ V případě pozitivního výsledku (nad 50 mg/kg), konzultujte výsledky testu s lékařem, který by měl rozhodnout o dalším postupu.

■ Pracovní rozsah : 10-1,000 mg/kg

KONTROLA KVALITY

■ Kontrola kvality, jako součást správné laboratorní praxe, slouží k ověření očekávaných výsledků a validity testů a měla by se provádět v pravidelných intervalech.

■ Před použitím každé nové šarže diagnostika by se kontrolní testy měly provádět k ověření, zda nedošlo ke snížení účinnosti testu.

■ Kontrolní testy by se měly provádět v případě jakékoli pochybnosti, týkající se validity výsledků testů.

■ Kontrolní materiály nejsou poskytovány společně s testy ichroma™ Calprotectin. Pro více informací o dostupnosti kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Analytická citlivost

- Limit blanku (LoB) 2.91 mg/kg
- Limit detekce (LoD) 4.35 mg/kg
- Limit kvantifikace (LoQ) 10 mg/kg

Analytická specifita

- Křížová reaktivita
- Nebyla zjištěna žádná významná křížová reaktivita s níže uvedenými materiály a testy ichroma™ Calprotectin

Křížová reaktivita materiálů	Koncentrace
Helicobacter pylori	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL
Campylobacter jejuni	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL
Candida albicans	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL
Enterobacter cloacae	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL
Escherichia coli	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL
Pseudomonas aeruginosa	1.2 x 10 ⁸ CFU/mL

Interference

- Nebyla zjištěna žádná významná interference s následujícími materiály a testy ichroma™ Calprotectin.

Interferenční materiály	Koncentrace
Lidský hemoglobin	2,000 µg/mL
Transferin	4,000 mg/mL
Prednizolon	8.31 µmol/L
Ciprofloxacín	30.2 µmol/L
Kyselina stearová	0.4 mmol/L
Kyselina palmátová	6 mmol/L
Metronidazol	701 µmol/L
Vancomycin	69 µmol/L

Preciznost

Mezi šaržemi

Jedna osoba testovala 3 různé šarže testu ichroma™ Calprotectin, 5 x při každé koncentraci kontrolního standardu.

Mezi osobami

Tři různé osoby testovaly 1 šarži testu ichroma™ Calprotectin, 5 x při každé koncentraci

kontrolního standardu.

Mezi dny

Jedna osoba testovala test ichroma™ Calprotectin po dobu 5 dní, 5 x při každé koncentraci kontrolního standardu.

Mezi pracovišti

Jedna osoba testovala 1 šarži ichroma™ Calprotectin na 3 různých pracovištích, 5 x při každé koncentraci kontrolního standardu.

Kalprotektin (mg/kg)	Mezi šaržemi		Mezi osobami	
	AVG	CV(%)	AVG	CV(%)
10	9.7	10.04	9.86	10.9
50	48.5	5.69	50.16	6.56
500	495.63	3.66	493.26	3.37

Kalprotektin (mg/kg)	Mezi dny		Mezi pracovišti	
	AVG	CV(%)	AVG	CV(%)
10	9.78	5.57	9.95	9.02
50	49.52	1.87	50.22	6.27
500	498.33	3.44	501.59	3.1

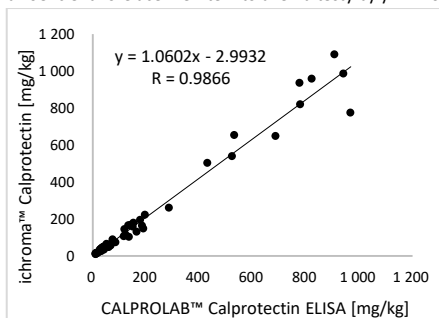
■ Přesnost

Přesnost byla potvrzena u 3 různých šarží testovaných 10x při různých koncentracích.

Kalprotektin (mg/kg)	Lot 1	Lot 2	Lot 3	AVG	Recovery (%)
10	10.47	9.46	9.70	9.88	99%
50	49.73	50.49	51.04	50.42	101%
500	493.96	500.90	506.58	500.48	100%

■ Porovnatelnost

Koncentrace kalprotektinu v 60 klinických vzorcích byly testovány nezávisle s testem ichroma™ Calprotectin a CALPROLAB™ Calprotectin ELISA (Calpro AS, Norway) podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testování byly porovnány a jejich porovnatelnost byla ověřena lineární regresi a koeficientem korelace (R). Lineární regrese a koeficient korelace mezi těmito dvěma testy byly $Y = 1.0602x - 2.9932$ a $R = 0.9866$.



LITERATURA

1. Buun SK et al., Fecal Calprotectin: Validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2001; 33(1): 14-22.
2. Gaya D.R.m et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. *Q J Med* 2005, Vol 98, May 2005, p. 435-441.
3. Quail, M.A. et al. Fecal Calprotectin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756-759.
4. Angriman I. et. al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. *Clinica Chimica Acta* 381 Feb 2007, p. 63-68.
5. Henderson P, Anderson NH, Wilson DC. The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109:637-645.
6. Walsham NE and Sherwood RA, Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 2016; 9: 21-29.
7. Bjarnason I, The use of fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, *Gastroenterology & Hepatology*, 2017; 13(1): 53-56.

UPOZORNĚNÍ: Pro identifikaci různých symbolů slouží níže uvedená tabulka.

	Dostačující pro <n>
	Čtete návod k použití
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Upozornění
	Výrobce
	Zplnomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skládajte při (omezení teploty)
	Nepoužívejte opakovaně
	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC pro diagnostické prostředky in vitro

Pro technickou podporu kontaktujte:

EXBIO Olomouc s.r.o.

Tel: 587 301 011

Email: info@exbio.com



Boditech Med Incorporated
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,
Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398
Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr



Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53,
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: +(32) -2-732-59-54
Fax: +(32) -2-732-60-03
E-Mail: mail@obelis.net

CE