



ichroma™ Calprotectin

POUŽITÍ

ichroma™ Calprotectin test je fluorescenční imunoanalýza (FIA) pro kvantitativní stanovení kalprotektinu (MRP8/14; S100A8/S100A9) v lidské stolici. Je užitečný jako pomůcka při řízení a monitorování reflexního gastrointestinálního zánětu způsobeného více patologickými stavy (zánětlivé onemocnění střev, kolorektální karcinom a některé enteropatie).

Pouze pro diagnostiku *in vitro*.

ÚVOD

Kalprotektin je cytosolový protein přítomný v neutrofilech, jehož koncentrace se zvyšuje ve stolici při zánětlivých střevních onemocněních (IBD), konkrétně při Crohnově chorobě a ulcerózní kolitidě. Stabilita kalprotektinu vůči degradaci jej udržuje ve stolici stabilní až sedm dní při pokojové teplotě a mnohem déle při -20 °C. Kalprotektin inhibuje enzymové systémy závislé na zinku, v důsledku čehož usmrcuje mikroby a indukuje apoptózu v normálních i nádorových buňkách. V přítomnosti vápníku je kalprotektin výrazně odolný vůči proteolytické degradaci, a proto je stabilní ve stolici uchovávané při pokojové teplotě po dobu sedmi dnů. Koncentrace kalprotektinu ve stolici koreluje s histologickým a endoskopickým obrazem střevního zánětu u pacientů s IBD.

PRINCIP

Test využívá metodu sendvičové imunodetekce.

Detekční protilátky v pufru se vážou na antigeny ve vzorku, vytvářejí komplexy antigen-protilátka, které migrují nitrocelulózovou maticí, kde jsou zachyceny imobilizovaným streptavidinem na testovacím proužku.

Více antigenů ve vzorku vytvoří více komplexů antigen-protilátka, což vede k silnějšímu fluorescenčnímu signálu detekčních protilátek, který je zpracován přístrojem pro testy ichroma™ a znázorňuje koncentraci kalprotektinu ve vzorku.

KOMPONENTY

ichroma™ Calprotectin test obsahuje "kazety" a "zkumavky s extrakčním pufrém".

- Kazeta obsahuje membránu ve formě testovacího proužku, který má na testovací linii protilátku proti kalprotektinu a na kontrolní linii králičí IgG. Všechny kazety jsou jednotlivě zataveny v sáčku z hliníkové fólie obsahujícím vysoušedlo a dále jsou baleny v krabici.
- Extrakční pufr obsahuje azid sodný a Tris jako konzervační látku. Je předdáván do zkumavek pro extrakční pufr. Zkumavky s extrakčním pufrém jsou zabaleny v krabici.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Dodržujte pokyny a postupy popsané v tomto "Návodu k použití".
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Vzorky by neměly být odebírány během menstruace, při výskytu hemoroidů nebo při rektální terapii.
- Vzorky by neměly být kontaminovány močí nebo vodou.
- Čísła šarží všech testovaných komponent (kazeta, zkumavka s extrakčním pufrém a identifikační čip) se musí vzájemně shodovat.
- Nezaměňujte testovací součásti mezi různými šaržemi ani nepoužívejte testovací součásti po uplynutí doby použitelnosti, protože by to mohlo vést k nesprávným výsledkům testu.
- Nepoužívejte opakovaně kazety ani extrakční pufr. Kazeta by měla být použita pouze pro testování jednoho vzorku. Zkumavka s extrakčním pufrém by měla být použita pouze pro zpracování jednoho vzorku.
- Kazeta by měla zůstat uzavřená v původním sáčku až do doby těsně před použitím. Nepoužívejte kazetu, pokud je sáček poškozen nebo již byl otevřen.
- Při přepravě musí být vzorky zabaleny v souladu s místními předpisy.
- Pokud jsou testovací komponenty a/nebo vzorek uloženy v chladničce, pak je třeba, aby kazeta, zkumavka s extrakčním pufrém a vzorek byly před použitím temperovány přibližně 30 minut při pokojové teplotě.
- Přístroj pro testy ichroma™ může během používání vykazovat mírné vibrace.
- S použitými kazetami, zkumavkami s extrakčním pufrém a pipetovacími špičkami je třeba zacházet opatrně a zlikvidovat je vhodným způsobem v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Zkumavka s extrakčním pufrém obsahuje azid sodný (NaN₃), který může způsobit určité zdravotní problémy, jako jsou křeče, nízký krevní tlak, pomalá srdeční frekvence, ztráta vědomí, poškození plic a selhání dýchání. Zabraňte kontaktu s kůží, očima a oděvem. V případě kontaktu okamžitě opláchněte tekoucí vodou.
- **ichroma™ Calprotectin** test poskytuje přesné a spolehlivé výsledky za níže uvedených podmínek.
 - **ichroma™ Calprotectin** test by měl být používán pouze spolu s přístrojem pro ichroma™ testy.

OMEZENÍ TESTOVACÍHO SYSTÉMU

- Test může poskytnout falešně pozitivní výsledek (výsledky) v důsledku zkřížených reakcí a/nebo nespecifické adheze určitých složek vzorku k zachycujícím/detekčním protilátkám.
- Test může poskytnout falešně negativní výsledek (výsledky) v důsledku chybějící reaktivity antigenů s protilátkami, nejčastěji v případech, kdy je epitop maskován některými neznámými složkami, a proto není schopen být detekován nebo zachycen protilátkami. Nestabilita nebo degradace antigenů časem a/nebo teplotou může rovněž způsobit falešně negativní výsledek, způsobený tím, že antigeny nejsou rozpoznatelné protilátkami.
- Další faktory mohou ovlivnit test a způsobit chybné výsledky, jako jsou technické/procedurální chyby, degradace testovaných složek/reagentů nebo přítomnost interferujících látek v testovaných vzorcích.
- Jakákoli klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podložena komplexním posouzením příslušného lékaře ve spojení s klinickými příznaky a dalšími relevantními výsledky testů.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Komponenta	Podmínky skladování		Poznámka
	Teplota skladování	Doba skladování	
Kazeta	2 - 30°C	20 měsíců	Jednorázové
Zkumavka s extrakčním pufrém	2 - 30°C	20 měsíců	Jednorázové

- Po otevření sáčku s kazetou by měl být test proveden okamžitě.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

Komponenty **ichroma™ Calprotectin** testu

- Krabice s kazetami:
 - Kazeta 25
 - Zkumavky s extrakčním pufrém 25
 - Identifikační čip 1
 - Návod k použití 1

POŽÁDOVANÉ MATERIÁLY DODÁVANÉ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky lze zakoupit samostatně s **ichroma™ Calprotectin** testem. Pro více informací kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o., Ovesná 14, 77900 Olomouc

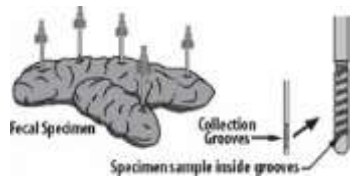
- Přístroj pro testy ichroma™
 - **ichroma™** Reader
 - **ichroma™** II
 - **ichroma™** III
 - **ichroma™** M3

- Tiskárna
- **Boditech Calprotectin** Control

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKU

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

- Odeberte vzorek stolice do čisté a suché nádoby.
- Obráťte zkumavku s extrakčním pufrém a uvolněte víčko, na kterém je připevněna tyčinka pro odběr vzorků (žlutá barva).
- Odeberte vzorek stolice přibližně 5 až 6krát na různých místech. Při odběru vzorku pomocí odběrové tyčinky dbejte na to, abyste nenabrali velké pevné hrudky. (V případě, že je stolice v kapalné formě, přeneste 10 µl vzorku do zkumavky s extrakčním pufrém pomocí pipety.)



- Vraťte tyčinku do zkumavky s extrakčním pufrém. Důkladně utáhněte uzávěr a zkumavkou asi 10krát silně zatřeste, aby se vzorek rozpůlil v celém extrakčním pufru.
- Níže je uvedena doba skladování vzorku (stolice) :
 - Vzorek (stolice) skladovaný při pokojové teplotě nevykazoval po dobu 4 hodin žádný rozdíl ve výkonnosti.
 - Vzorek (stolice) skladovaný v chladničce (2~8 °C) nevykazoval po dobu 72 hodin žádný rozdíl ve výkonnosti.
 - Vzorek (stolice) uchovávaný v mrazničce (-20 °C) nevykazoval po dobu 8 týdnů žádný rozdíl ve výkonnosti.
- Níže je uvedena doba skladování směsi vzorků ve zkumavce s extrakčním pufrém
 - Směs vzorků ve zkumavce s extrakčním pufrém uchovávaná při pokojové teplotě nevykazovala po dobu 7 dnů žádný rozdíl ve výkonu.
 - Směs vzorků ve zkumavce s extrakčním pufrém uchovávaná v chladničce (2~8 °C) nevykazovala po dobu 10 dnů žádné rozdíly ve výkonu.
- Doporučuje se však použít směs vzorků v extrakčním pufru tentýž den po odběru vzorků.
- Doba skladování se může lišit v závislosti na stavu a typu stolice.
- Opakovaný cyklus zmrazování a rozmrazování může ovlivnit výsledek testu, proto dříve zmražený vzorek znovu nezmrazujte.

Hodnota	Interpretace
< 50 mg/kg	Negativní
50 - 100 mg/kg	Hraniční oblast, opakovaně (během 4-6 týdnů)
> 100 mg/kg	Pozitivní

■ Pracovní rozsah: 10-1 000 mg/kg

KONTROLA KVALITY

- Testy kontroly kvality jsou součástí správné laboratorní praxe pro potvrzení očekávaných výsledků a platnosti testu a měly by se provádět v pravidelných intervalech.
- Testy kontroly kvality by měly být prováděny také vždy, když existuje jakákoliv pochybnost o platnosti výsledků testu.
- Kontrolní materiály jsou poskytovány na vyzvání s **testem ichroma™ Calprotectin**. Pro více informací ohledně získání kontrolních materiálů kontaktujte **EXBIO Olomouc s.r.o., Ovesná 14, 779 00 Olomouc**. (Viz návod k použití kontrolního materiálu.)

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- **Analytická citlivost**
 - Limit blanku (LoB) 2,475 mg/kg
 - Mez detekce (LoD) 4,76 mg/kg
 - Mez stanovitelnosti (LoQ) 10 mg/kg
- **Analytická specifita**
 - Zkřížená reaktivita
Do testovaného vzorku (vzorků) byly přidány biomolekuly uvedené v následující tabulce v koncentracích mnohem vyšších, než jsou jejich běžné fyziologické hladiny ve stolici. Výsledky testu **ichroma™ Calprotectin** neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami.

Látky pro zkříženou reaktivitu	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

Interferenční látky uvedené v následující tabulce byly přidány do testovaného vzorku v uvedené koncentraci. Výsledky testu **ichroma™ Calprotectin** neprokázaly žádné významné interference s těmito materiály.

Interferenční látky	Koncentrace
Lidský hemoglobin	10 g/dl
Transferin	4 00 mg/dl
Prednisolon	8,31 μmol/l
Ciprofloxacín	30,2 μmol/l
Kyselina stearová	0,4 mmol/l
Kyselina palmitová	6 mmol/l
Metronidazol	701 μmol/l
Vankomycin	69 μmol/l
DMF	2%
DMSO	2%

■ Přesnost

- Studie na 1 místě

Opakovatelnost (v rámci série)

Přesnost v rámci laboratoře (totální přesnost)

Přesnost mezi šaržemi a mezi osobami

3 standardní materiály byly testovány po dobu 20 dnů na jednom místě jednou osobou. Pro každý test, každý standardní materiál byly provedeny 2 testovací série denně duplicitně.

Kalprotectin [mg/kg]	Studie na 1 místě					
	Opakovatelnost		Celková přesnost		Přesnost mezi šaržemi	
	AVG [mg/kg]	CV (%)	AVG [mg/kg]	CV (%)	AVG [mg/kg]	CV (%)
25	25,20	4,2	25,19	4,0	25,40	6,6
50	50,37	4,4	50,47	4,2	50,77	5,1
250	253,56	3,5	253,39	3,4	252,65	3,8

- Studie na více místech

Opakovatelnost (přesnost v rámci série)

Byly testovány 3 referenční materiály na 3 různých místech (jeden tester a jeden přístroj pro lokaci) při použití stejné šarže po dobu 5 dnů. Byla provedena 1 série za den s pěti replikacemi.

Kalprotectin [mg/kg]	Studie na více místech	
	Reprodukovatelnost	
	AVG [mg/kg]	CV (%)
25	24,39	6,2
50	51,33	5,5
250	260,12	5,3

■ Přesnost

Přesnost byla potvrzena testováním 3 různých šarží **ichroma™ Calprotectin** testu. Testy byly opakovány 10krát při každé koncentraci kontrolního standardu.

Kalprotectin [mg/kg]	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	AVG [mg/kg]	Recovery (%)
250,0	260,64	257,14	261,42	259,73	104
205,0	205,25	195,84	201,71	200,93	98
160,0	157,10	159,15	155,51	157,25	98
115,0	116,83	119,40	120,73	118,99	103
70,0	66,75	68,66	66,94	67,45	96
25,0	26,14	25,70	26,71	26,18	105

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah balení **ichroma™ Calprotectin** testu: V sáčku zatavené kazety, zkumavky s extrakčním pufrém, identifikační čip a návod k použití.
- Ujistěte se, že se číslo šarže kazety shoduje s číslem extrakčního pufru ve zkumavce a také s identifikačním čipem.
- Pokud byla v sáčku zatavená kazeta a zkumavka s extrakčním pufrém uloženy v chladničce, položte je před testováním na čistý a rovný povrch temperovat při pokojové teplotě alespoň na 30 minut.
- Zapněte přístroj pro testy **ichroma™**.
- Vložte identifikační čip do "portu pro identifikační čip".
- ※ **Kompletní informace a návod k použití naleznete v návodu k obsluze přístroje pro testy ichroma™.**

TESTOVACÍ POSTUP

► **ichroma™ Reader, ichroma™ II, ichroma™ M3**

Režim "Multi"

- 1) Odeberte vzorek pomocí odběrové tyčinky podle metody odběru vzorku popsané v části "Odběr a zpracování vzorku".
- 2) Sestavenou zkumavku s extrakčním pufrém asi 10 až 15krát protřepejte.
- 3) Držte zkumavku dnem vzhůru a odlomte černou špičku na černém uzávěru.
- 4) Před nanesením na kazetu nakapejte 5 kapek směsi na papírovou utěrku.
- 5) Nakapejte 3 kapky směsi se vzorkem do jamky pro vzorek na kazetě.
- 6) Kazetu s inkubujte 10 minut při pokojové teplotě.
▲ Po uplynutí inkubační doby kazetu se vzorkem naskenujte ihned. V opačném případě dojde k nepřesnému výsledku testu.
- 7) Pro naskenování kazety se vzorkem ji vložte do nosiče kazety v přístroji pro testy **ichroma™**. Před zasunutím kazety do nosiče kazety až na doraz, zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
- 8) Stiskněte tlačítko "Select" nebo klepněte na tlačítko "Start" na přístroji pro testy **ichroma™**. (**ichroma™ M3** po vložení kazety spustí test automaticky.)
- 9) Přístroj pro testy **ichroma™** začne okamžitě skenovat kazetu se vzorkem.
- 10) Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

Režim "Single"

- 1) Postup testu je stejný jako u režimu "Multi" 1)-5).
- 2) Vložte kazetu se vzorkem do nosiče přístroje pro testy **ichroma™**. Před zasunutím kazety do nosiče zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
- 3) Stiskněte tlačítko "Select" nebo klepněte na tlačítko "Start" na přístroji pro testy **ichroma™**. (**ichroma™ M3** po vložení kazety spustí test automaticky.)
- 4) Kazeta se zasune do přístroje pro testy **ichroma™** a po 10 minutách se automaticky spustí skenování kazety.
- 5) Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

► **ichroma™ III**

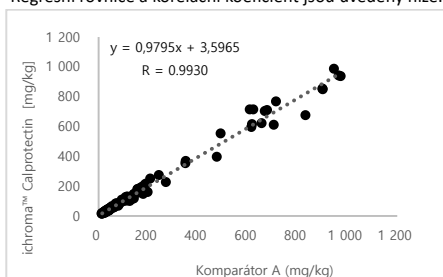
- 1) Postup testu je stejný jako v režimu "Single".

INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

- Přístroj pro testy **ichroma™** automaticky vypočítá výsledek testu a zobrazí koncentraci kalprotectinu v testovaném vzorku v mg/kg.
- Referenční hodnota:

■ Porovnatelnost

Koncentrace kalprotektinu byly nezávisle kvantifikovány ve 100 klinických vzorcích pomocí **ichroma™ Calprotectin** testu (**ichroma™ II**) a **komparátoru A** podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnány a jejich porovnatelnost byla zkoumána pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Regresní rovnice a korelační koeficient jsou uvedeny níže.



ODKAZY

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



Distribuce a technická podpora:

EXBIO Olomouc s.r.o.

Ovesná 14

779 00 Olomouc

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 Brusel, BELGIUM

Tel: +(32)-2-732-59-54

Fax: +(32)-2-732-60-03

E-mail: mail@obelis.net

