



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 v 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 mikrobu a indukce apoptózu v 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.

- Kazeta obsahuje testovací proužek - membránu s protilátkou proti lidskému kalprotektinu v testovací linii a králičí IgG v kontrolní linii. Jednotlivé kazety jsou zabalené samostatně v uzavřené hliníkové folii s desikantem v krabici.
- Extrakční pufr obsahuje hovězí sérový albumin (BSA), chlorid vápenatý, Triton X-100 jako detergent a azid sodný jako konzervační látku. Všechny extrakční pufrы jsou předem nadávkovány v každé zkumavce a zabaleny v krabici.

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.
 - Je možné použít zmrazené vzorky. Viz „ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ“.
 - Ve vzorku nesmí být žádná kontaminace s močí nebo vodou.
 - Vzorky nesmí být odebrány 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

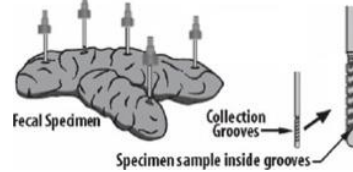
Následující položky mohou být nakoupeny separátně od **ichroma™ Calprotectinu**. Pro více informací kontaktujte prosím svého distributora.

- **ichroma™ Reader**
- **ichroma™ II**
- **ichroma™ III**
- **ichroma™ 50**
- **ichroma™ Printer**
- **Bodítech Calprotectin Control**

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

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

- Odeberte vzorek stolice do čisté nádoby
- Obraťte zkumavku s extrakčním pufrém a uvolněte víčko s připojenou tyčinkou pro odběr vzorku. (žluté 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. (Skládání vzorků)
- Vzorky uchovávejte ve zkumavce s extrakčním roztokem.
- Doba skladování vzorku v extrakčním roztoku je uvedena níže.
- Vzorky skladované při pokojové teplotě po dobu 7 dnů nevykazovaly žádný rozdíl ve výkonu.
- Vzorky skladované zmrazené při 2~8 °C po dobu 10 dnů nevykazovaly žádný rozdíl ve výkonu.
- Doba skladování se může lišit v závislosti na stavu a typu stolice.
- Doporučeno pro použití ve stejný den ihned po odběru vzorků.

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah **ichroma™ Calprotectin**: kazeta v uzavřeném sáčku, zkumavka s extrakčním pufrém ID čip a návod k použití.
 - 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/ ichroma™ III**
Režim "Multi"

- Odeberte vzorek v souladu s metodou odběru pomocí tyčinky podle odstavce "Odběr a zpracování vzorků"
- Složte odběr vzorku a extrakční pufr dohromady a protřepte cca 10-15 krát.
- Odlomte špičku z černého víčka zkumavky.
- Před aplikací vzorku na kazetu odkapejte 3 kapky směsi na papírový tampon.
- Podržte lahvičku víčkem dolů a nakapejte 3 kapky směsi vzorku do jamky pro vzorek na kazetě.
- 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.

- 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. K tomuto účelu slouží šipka na kazetě.

- 8) Stiskněte tlačítko 'Select' nebo 'START' na přístroji pro ichroma™ testy pro zahájení procesu skenování.
- 9) Přístroj pro ichroma™ testy zahájí ihned skenování kazety se vzorkem.
- 10) Odečtěte 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) Složte odběr vzorku a extrakční pufr dohromady a protřepete 10-15 krát.
- 3) Odломte špičku z černého víčka zkumavky.
- 4) Před aplikací vzorku na kazetu odkapejte 3 kapky směsi na papírový tampon.
- 5) Držte lahvičku víčkem dolů a nakapejte 3 kapky směsi vzorku do jamky pro vzorek na kazetě.
- 6) Vložte kazetu do nosiče přístroje pro ichroma™ testy. Ujistěte si správnou orientaci kazety před úplným zasunutím kazety dovnitř nosiče. K tomuto účelu slouží šipka na kazetě.
- 7) Stiskněte tlačítko 'Select' nebo 'START' na přístroji pro ichroma™ testy.
- 8) Kazeta se zasune automaticky do přístroje pro ichroma™ testy a skenování kazety se vzorkem se zahájí automaticky po uplynutí 10 minut.
- 9) Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje pro ichroma™ testy.
Pro detailní testovací metody viz. Návod k použití analyzátoru.

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 | Positivní |

- V případě pozitivního výsledku (nad 50 mg/kg), konzultujte výsledek 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 a validity testů a měla by se provádět v pravidelných intervalech.
- Před použitím každé nové šarže diagnostika se by 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) 2.475 mg/kg
 - Limit detekce (LoD) 4.76 mg/kg
 - Limit kvantifikace (LoQ) 10 mg/kg
 - **Analytická specifita**
 - Křížová reaktivita
- Biomolekuly, jako jsou níže uvedené v tabulce, byly přidány do testovaného vzorku (vzorků) v koncentracích mnohem vyšších, než jsou jejich normální fyziologické hladiny v krvi. Výsledky testu ichroma™ Calprotectin neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami.

ichroma™ Calprotectin

| Reakční materiály | Conc. (mg/kg) | | |
|------------------------|------------------|-------|-------|
| | 10 | 50 | 500 |
| | Interference (%) | | |
| Helicobacter pylori | 1.81 | -0.83 | -0.86 |
| Campylobacter jejuni | -1.11 | -0.05 | 1.23 |
| Candida albicans | -1.84 | 0.38 | -1.89 |
| Enterobacter cloacae | -1.62 | -1.67 | -2.58 |
| Escherichia coli | 0.39 | -0.42 | 3.31 |
| Pseudomonas aeruginosa | 2.09 | -1.33 | -3.65 |

- Interference

Interferenční materiály, jako jsou níže uvedené materiály v tabulce, byly přidány k testovanému vzorku (vzorkům) stejně jako níže uvedené koncentrace. Výsledky testu ichroma™ Calprotectin neprokázaly žádnou významnou interferenci s těmito materiály.

Calprotectin.

| Interference materials | Conc. (mg/kg) | | |
|------------------------|------------------|-------|------|
| | 10 | 50 | 500 |
| | Interference (%) | | |
| Human hemoglobin | 1.03 | -0.74 | 0.72 |

| | | | |
|---------------|-------|-------|-------|
| Transferrin | 1.7 | 3.19 | 0.86 |
| Prednisolone | 2.67 | 0.25 | -2.35 |
| Ciprofloxacin | 1.46 | 1.99 | 1.94 |
| Stearic acid | -0.35 | 0.53 | 1.58 |
| Palmitic acid | -0.66 | -0.46 | -1.28 |
| Metronidazole | -2.67 | -3.77 | 1.07 |
| Vancomycin | -2.73 | 2.16 | 1.14 |
| DMF | 0.77 | -2.67 | 2.11 |
| DMSO | -3.69 | -2.72 | -1.51 |

■ Preciznost

3 šarže ichroma™ Calprotectinu byly testovány po dobu 30 dnů (10 dnů na 1 šarži na 1 místě jedním operátorem). Každý standardní materiál byl testován 2krát denně. Pro každý test byl každý materiál duplikován.

- Opakovatelnost (přesnost v rámci běhu)
Opakovatelnost ichroma™ Calprotectinu byla hodnocena s výsledky 1 šarže.
- Naprostá přesnost (v rámci laboratoře)
Celková přesnost ichroma™ Calprotectinu byla vyhodnocena s výsledky 1 šarže.
- Přesnost mezi šaržemi
Přesnost šarže ichroma™ Calprotectinu byla hodnocena s výsledky 3 šarží.

- Mezi osobami

Tři různé osoby testovaly jednu šarži ichroma™ Calprotectinu, desetkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.

- Mezi pracovišti

Jedna osoba testovala jednu šarži ichroma™ Calprotectinu na třech různých místech, desetkrát pro každou koncentraci kontrolního standardu.

| Conc. [mg/kg] | Opakovatelnost | | Celková přesnost | |
|---------------|-----------------|-------|------------------|-------|
| | AVG | CV(%) | AVG | CV(%) |
| 25 | 23.77 | 4.4 | 23.70 | 4.2 |
| 50 | 49.25 | 4.6 | 48.94 | 5.0 |
| 250 | 245.83 | 3.8 | 246.33 | 3.5 |
| Conc. [mg/kg] | Mezi šaržemi | | Mezi osobami | |
| | AVG | CV(%) | AVG | CV(%) |
| 25 | 24.90 | 5.6 | 25.19 | 6.9 |
| 50 | 50.46 | 6.1 | 50.66 | 5.2 |
| 250 | 248.93 | 4.5 | 248.27 | 5.2 |
| Conc. [mg/kg] | Mezi pracovišti | | | |
| | AVG | CV(%) | | |
| 25 | 24.75 | 7.1 | | |
| 50 | 50.54 | 5.4 | | |
| 250 | 249.03 | 5.4 | | |

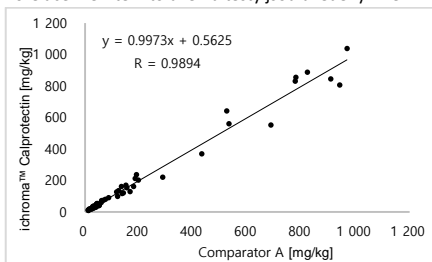
■ Přesnost

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 60 klinických vzorků byly kvantifikovány nezávisle pomocí ichroma™ Calprotectinu (ichroma™-50) a komparátoru A podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnány a jejich srovnatelnost byla zkoumána pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Lineární regrese a koeficient korelace mezi těmito dvěma testy jsou uvedeny níže.



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> |
|  | 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 |


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

