



## Calprotectin

Ταχεία δοκιμασία ποιοτικής ανίχνευσης καλπροτεκτίνης σε δείγματα ανθρώπινων κοπράνων

Αυστηρά για in vitro επαγγελματική χρήση

### ΣΥΝΟΨΗ

Η **Calprotectin** είναι μια ταχεία δοκιμασία ανοσοχρωματογραφίας για τη ποιοτική ανίχνευση καλπροτεκτίνης σε δείγματα κοπράνων.

Η καλπροτεκτίνη αποτελεί περίπου το 5% της συνολικής πρωτεΐνης και μέχρι 60% της κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης των ανθρώπινων ουδετερόφιλων. Η καλπροτεκτίνη έχει βακτηριοστατικές και μυκητοστατικές ιδιότητες και βρίσκεται στα περιτώματα σε επίπεδα έξι φορές υψηλότερα από ότι στο πλάσμα. Η καλπροτεκτίνη είναι χρήσιμη για την εκτίμηση της δραστηριότητας της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (IBD), η οποία περιλαμβάνει τη Νόσο του Crohn (CD) και την ελκώδη κολίτιδα (UC). Και οι δύο νόσοι συνδέονται με αυξημένα ουδετερόφιλα.

Επίσης η δοκιμασία καλπροτεκτίνης κοπράνων είναι χρήσιμη στη διαφοροποίηση της IBD από το Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS). Ως σχετικά απλή και μη επεμβατική δοκιμασία, η καλπροτεκτίνη είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για ορισμένες κατηγορίες ασθενών που δεν μπορούν να υποστούν εύκολα κολonosκόπηση (π.χ. παιδιατρικοί ασθενείς).

### ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η **Calprotectin** είναι μια ποιοτική ανοσοδοκιμασία του τύπου sandwich κολλοειδούς χρυσού για την ανίχνευση του καλπροτεκτίνης σε κόπρανα. Η μέθοδος χρησιμοποιεί μια μεμβράνη επικαλυμμένη με αντισώματα προκειμένου να ανιχνεύσει καλπροτεκτίνη στα κόπρανα επιλεκτικά και με μεγάλο βαθμό ευαισθησίας. Κατά την εκκίνηση της εξέτασης το δείγμα αναμινύεται με το σύμπλοκο του χρωμοφόρου και αρχίζει να μετακινείται διαμέσου της μεμβράνης. Αν το δείγμα περιέχει αντιγόνο, αυτό θα αλληλεπιδράσει με το προ-κεκαλυμμένο σύμπλοκο του χρωμοφόρου, οπότε θα εμφανιστεί μια έγχρωμη γραμμή στη Ζώνη Εξέτασης (T). Τόσο τα αρνητικά όσο και τα θετικά δείγματα θα πρέπει να δημιουργήσουν μια έγχρωμη γραμμή στη Ζώνη Ελέγχου (C), γεγονός που ενδεικνύει σωστή εκτέλεση της τεχνικής, όγκο δείγματος, και λειτουργία της εξέτασης.

### ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

Λάβετε προφυλάξεις αναφορικά με τη συλλογή, διαχείριση, αποθήκευση και απόρριψη των δειγμάτων και χρησιμοποιημένων συστατικών του kit. Χειριστείτε όλα τα δείγματα σαν να περιέχουν μολυσματικούς παράγοντες. Λάβετε προφυλάξεις ενάντια στους μικροβιολογικούς κινδύνους σε όλη τη διαδικασία. Εφαρμόστε τυποποιημένες διαδικασίες για την κατάλληλη απόρριψη των δειγμάτων. Η λειτουργία της συσκευής δεν επηρεάζεται από γνωστούς περιβαλλοντικούς παράγοντες πλην της θερμοκρασίας.

### ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε το kit σε θερμοκρασία 2-30°C. Αν το kit ήταν αποθηκευμένο στο ψυγείο, θα πρέπει να μεταφερθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν διεξαχθεί η εξέταση. Υπό αυτές τις συνθήκες το kit είναι σταθερό ως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

### ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Κάθε kit περιέχει:

- σφραγισμένη πλαστική συσκευασία με την κασέτα εξέτασης (20x)
  - Φιαλίδιο Συλλογής (x20) που περιέχει διάλυμα και φέρει Στέλεχος
- Απαιτούνται επίσης:
- Δοχείο Συλλογής κοπράνων
  - Χρονόμετρο

### ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Συλλέξτε επαρκή ποσότητα των κοπράνων (1-2 g ανά ml υγρού δείγματος). Δείγματα κοπράνων θα πρέπει να συλλέγονται σε καθαρά και στεγνά δοχεία (χωρίς συντηρητικά και μέσα μεταφοράς). Τα δείγματα μπορούν να αποθηκευτούν στο ψυγείο (2-4°C) για 7 ημέρες πριν από τη δοκιμή. Για μεγαλύτερη διάρκεια αποθήκευσης, το δείγμα πρέπει να φυλάσσεται στους -20°C. Στην περίπτωση αυτή,

το δείγμα θα πρέπει να έχει εντελώς αποψυχθεί και μεταφερθεί σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη δοκιμή.

### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

**Για την επεξεργασία των συλλεχθέντων δειγμάτων κοπράνων (βλ. Σχήμα 1):**

1. Χρησιμοποιήστε ένα ξεχωριστό φιαλίδιο συλλογής δείγματος για κάθε δείγμα. Ξεβιδώστε το καπάκι του φιαλιδίου και εισαγάγετε το στέλεχος τρεις φορές στο δείγμα κοπράνων ώστε να γίνει η δειγματοληψία. Στην κατάσταση αυτή το φιαλίδιο με το δείγμα μπορεί να αποθηκευτεί ως 5 ημέρες.

2. Ανακινείστε το φιαλίδιο, ώστε να εξασφαλιστεί η καλή διασπορά του δείγματος.

3. Για υγρά δείγματα κοπράνων αναρροφήστε με πούαρ 10-20 μικρόλιτρα κοπράνων και προσθέστε τα στο φιαλίδιο συλλογής δείγματος.

**Διαδικασία δοκιμής (βλέπε Σχήμα 2):**

1. Φέρετε τα δείγματα κοπράνων και το σωληνάριο σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) πριν από τη δοκιμή. Μην αποσφραγίσετε την πλαστική συσκευασία μέχρι να είστε έτοιμοι για την εκτέλεση της δοκιμασίας.

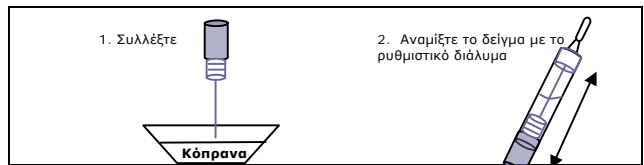
2. Αφαιρέστε την κασέτα **Calprotectin** από την σφραγισμένη συσκευασία και τοποθετήστε την σε μια καθαρή και επίπεδη επιφάνεια.

3. Ανακινήστε το φιαλίδιο συλλογής δείγματος για να εξασφαλιστεί καλή διασπορά του δείγματος. Σπάστε την άκρη του φιαλιδίου.

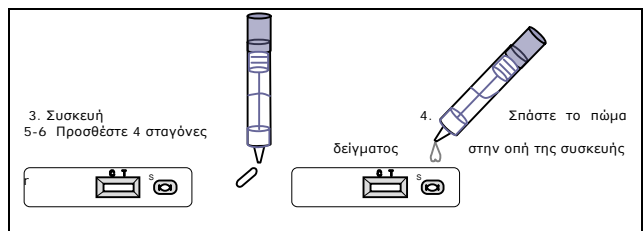
4. Χρησιμοποιώντας μια ξεχωριστή συσκευή για κάθε δείγμα, διανείμετε 4 σταγόνες ή 100 µL στην οπή δείγματος (S). Ξεκινήστε το χρονόμετρο.

5. Διαβάστε το αποτέλεσμα στα 10 λεπτά μετά την τοποθέτηση του δείγματος.

### Σχήμα 1

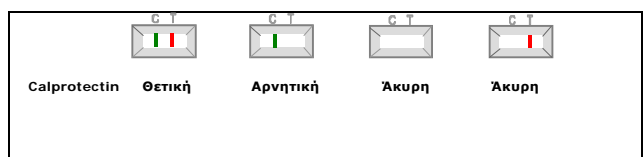


### Σχήμα 2



### Ερμηνεία Αποτελεσμάτων

### Σχήμα 3



**Αρνητικά Αποτελέσματα Calprotectin = 1 πράσινη γραμμή (C)**

Η εξέταση είναι αρνητική εφόσον μια πράσινη γραμμή εμφανίζεται στη Ζώνη Ελέγχου (C) και καμία γραμμή δεν εμφανίζεται στη Ζώνη Εξέτασης (T). Η ερμηνεία αρνητικού αποτελέσματος διασφαλίζεται στα 10 λεπτά.



#### Θετικά Αποτελέσματα **Calprotectin** = 2 έγχρωμες γραμμές.

Η εξέταση είναι θετική για εφόσον εμφανίζονται 2 έγχρωμες γραμμές. Μία κόκκινη γραμμή θα εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (T) και μία πράσινη στη Ζώνη Ελέγχου (C). Αυτό ενδεικνύει την παρουσία καλπροτεκτίνης σε συγκέντρωση τουλάχιστον 50 µg/g κοπράνων. Οποιασδήποτε κόκκινη γραμμή στη Ζώνη (T) αντιστοιχεί σε θετικό αποτέλεσμα. Η ένταση του χρώματος στη Ζώνη (T) μπορεί να είναι εντονότερη ή αχνότερη από την ένταση του χρώματος στη Ζώνη (C).

#### Άκυρο Αποτέλεσμα **Calprotectin** = Απουσία έγχρωμης γραμμής στη Ζώνη Ελέγχου (C)

Το τεστ είναι άκυρο εφόσον μετά από 10 λεπτά δεν εμφανιστεί καμία γραμμή στη Ζώνη Ελέγχου (C), ακόμα και αν μια κόκκινη γραμμή έχει εμφανιστεί στη Ζώνη Εξέτασης (T). Αν συμβεί αυτό ξαναδιαβάστε τις οδηγίες και επαναλάβετε το τεστ χρησιμοποιώντας μια νέα συσκευή. Στην περίπτωση που το πρόβλημα επιμένει επικοινωνήστε με την εταιρεία.

Σημείωση: εμφάνιση τυχόν καφέ γραμμών στις ζώνες ή στο background του τεστ ενδεικνύει περίσσεια δείγματος κατά τη συλλογή. Το τεστ είναι άκυρο και συνιστάται αραίωση του αρχικού δείγματος κοπράνων.

#### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Τα αποτελέσματα της εξέτασης **Calprotectin** θετικά ή αρνητικά θα πρέπει να συνεκτιμώνται με άλλα συμπτώματα, κλινικά ευρήματα ή διαγνωστικά αποτελέσματα προκειμένου να τεθεί διάγνωση.
- Τα χαρακτηριστικά λειτουργίας ισχύουν μόνο εφόσον τα περιεχόμενα της συσκευασίας είναι σε καλή κατάσταση.
- Η συσκευή **Calprotectin** είναι για μια μόνο χρήση. Στην περίπτωση που ένα διαλυτοποιημένο δείγμα πρέπει να επανελεγχθεί χρησιμοποιήστε μια άλλη συσκευή.
- Η δοκιμασία **Calprotectin** απευθύνεται αποκλειστικά σε επαγγελματίες υγείας.
- Θετικά αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την παρουσία καλπροτεκτίνης σε δείγματα κοπράνων. Ωστόσο, το αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται σε φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, καρκίνο του παχέος εντέρου και μερικές εντεροπάθειες. Τα θετικά αποτελέσματα θα πρέπει να ακολουθούνται από πρόσθετες διαγνωστικές διαδικασίες για να καθοριστεί η ακριβής αιτία της φλεγμονής.
- Τα επίπεδα καλπροτεκτίνης στα νεογνά έχουν αναφερθεί να είναι υψηλότερα από αυτά των κανονικών παιδιών, έχουν δε μέσο όρο 167 µg/g.

#### ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

**Εσωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος:** Η έγχρωμη γραμμή που εμφανίζεται στη Ζώνη (C) είναι ένα εσωτερικό control της διαδικασίας. Βεβαιώνει σωστό όγκο δείγματος και σωστή τεχνική διαδικασίας. Ένα καθαρό υπόβαθρο (φόντο) είναι το εσωτερικό αρνητικό control. Αν η εξέταση δουλεύει σωστά το background στη Ζώνη Ελέγχου δεν θα πρέπει να δυσκολεύει την ερμηνεία του αποτελέσματος.

**Εξωτερικός Ποιοτικός Έλεγχος:** Κάθε εργαστήριο ή επαγγελματίας υγείας που χρησιμοποιεί το τεστ θα πρέπει να εξελίξει τις δικές του οδηγίες ελέγχου και πιστοποίησης της διαδικασίας του τεστ.

#### ΧΑΡΑΚΗΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

- Το διακριτικό όριο της εξέτασης (cutoff value) **Calprotectin** είναι 50 µg καλπροτεκτίνης ανά γραμμάριο κοπράνων. Αυτό δείχθηκε με τη μέθοδο των σειριακών αραιώσεων διαλυμάτων μαρτύρων που περιείχαν ή όχι κόπρανα αρνητικά σε καλπροτεκτίνη.
- Επιδόσεις: Η δοκιμασία **Calprotectin** ελέγχθηκε για ανίχνευση καλπροτεκτίνης σε μελέτη 64 ασθενών. Η **Calprotectin** συγκρίθηκε με ένα εμπορικά διαθέσιμο τεστ. Αρχικά όλα τα δείγματα ταυτοποιήθηκαν ως θετικά ή αρνητικά με το εμπορικό τεστ. Στη συνέχεια τα ίδια δείγματα υποβλήθηκαν στη δοκιμασία **DyonCalpro®**. Στις συνθήκες αυτές η απόδοση της συσκευής **Calprotectin** σε σχέση με ένα εμπορικό διαθέσιμο τεστ ήταν:

-Ειδικότητα & Ευαισθησία της συσκευής **Calprotectin** 92.3% και 94.4% αντίστοιχα

-Θετική Προγνωστική Αξία της συσκευής **Calprotectin** : 94.4%

-Αρνητική Προγνωστική Αξία της συσκευής **Calprotectin** : 92.9%

-Ακρίβεια της συσκευής **Calprotectin** : 93.4%

3. Παρεμβολές: Η δοκιμασία **Calprotectin** είναι ειδική για καλπροτεκτίνη και δεν επηρεάζεται από επιμολύνσεις με αιμοσφαιρίνη ή τρανσφερίνη.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- VIEIRA, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
- HANAI, H. et al. «"Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
- BONNIN TOMAS, A. et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patologia gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.



Manufacturer



Authorized representative



Contains sufficient for <n> tests



Catalogue Code



Lot Number



Sample diluent



For *in vitro* diagnostic use only



Consult instructions for use



Keep dry



Temperature limitation



Use by

