

КАЛЬПРОТЕКТИН

Calprotectin

Кат. №: **ORG 280**

Дата випуску інструкції: **2018-01-02**
Версія **5**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ

Кальпротектин для Alegria® - це тест-система на базі ELISA для кількісного вимірювання кальпротектину в зразках стільця людини, які будуть використовуватися при оцінюванні запальних захворювань кишечника. Цей набір призначений тільки для професійного використання in vitro діагностики.

Підвищений фекальний рівень кальпротектину може бути встановлений у пацієнтів з хронічним запальним захворюванням кишечника (IBD) та іншими порушеннями в черевній порожнині, наприклад інфекційний гастро-ентерит, некротичний ентероколіт, кістозний фіброз та колоректальний рак. Кальпротектин у калі є чутливим маркером для IBD і особливо корисний для диференціювання синдрому подразненого кишечника (IBS). Крім того, вимірювання рівня кальпротектину може сприяти оцінці активності захворювання.

СИМВОЛИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ

	Медичний пристрій для діагностики <i>in vitro</i> Виробник		Alegria® Тест Смужки
	Каталоговий номер		Промивний буфер
	Містить достатньо для 24 випробувань Код партії		Рідинна система
	Використати до		Готовий до використання
	Обмеження температури		Екстракційний буфер для взірців стільця
	Звернутися до інструкції з використання		
	Не піддавати впливу сонячних променів		
	Не використовувати повторно		
	Дата виробництва		
	Знак CE відповідно до 98/79/EC		

280_5 Електронна інструкція для використання: версія

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Кальпротектин, що міститься в зразку калу, повинен бути виділений з калу з екстракційним середовищем. Потім виділений кальпротектин можна проаналізувати за допомогою методу аналізу Alegria® Calprotectin.

Аналіз Alegria® включає в себе 8-лункові мікрополоски зі штрих-кодами, які називаються Тест-смушками Alegria®. Кожна смушка призначена для аналізу одного зразка пацієнта. Набір складається з повного комплексу реагентів. Сюди входять ферментний кон'югант, ферментний субстрат, буфер для зразків і специфічний тестовий контроль. Крім того, кожна смушка має дві антиген пов'язаних лунки, як служать в якості реакційних лунок для одного контролю та одного зразка пацієнта.

Визначення ґрунтується на непрямій ферментно-пов'язаній імунній реакції з наступними кроками: Кальпротектин, присутній у контролі/ в позитивних зразках, зв'язується з поверхнею реакційних лунок, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Після інкубації, на першому етапі промивання видаляються непов'язані і неспецифічно пов'язані молекули. Послідовно доданий ферментний кон'югант зв'язується з іммобілізованим комплексом антитіло-антиген. Після інкубації під час другої промивки видаляється незв'язаний ферментний кон'югант. Додавання розчину ферментного субстрату призводить до гідролізації і розвитку кольору під час інкубації. Інтенсивність синього кольору відповідає концентрації комплексу антитіло-антиген і може бути виміряна фотометрично при 650 нм.

Alegria® Тестова Смушка заснована на запатентованій SMC®-технології (Sensotronic Memorized Calibration): інформація про аналіз, аналіз та його

оцінка, а також термін придатності для конкретної партії містяться на штрих-коді, зазначеному на кожній тест-смушці Alegria®.

Тест-смушку Alegria® можна використовувати з діагностичним інструментом Alegria® - повністю автоматизованим аналізатором з довільним доступом. За допомогою SMC®-Технології дані, закодовані на штрих-коді, передаються від тест-смушки Alegria® до приладу та аналіз автоматично обробляється і оцінюється. Прилад зчитує дату терміну придатності і відкидає подальшу обробку, якщо вийшов термін придатності тест-смушки Alegria®.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Всі реагенти набору призначені тільки для професійної діагностики in vitro.
- Контроль містить матеріал людського походження. Оскільки жоден тест не гарантує відсутності інфекційних агентів у матеріалах людини, ми рекомендуємо використовувати тест-смушки Alegria® як потенційно інфекційний матеріал.
- Бичачий сироватковий альбумін (БСА), використаний в компонентах, був протестований на BSE і виявився негативним.
- Уникайте контакту із субстратом ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином).
- Системна рідина містить кислоту, класифікація є безпечною. Уникайте контакту зі шкірою.
- Контроль, буфер для зразків і промивний буфер містять азид натрію 0,09% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.
- Ферментний кон'югант містить ProClin 300 0.05% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

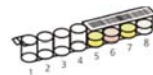
Під час обробки всіх реагентів, контролів і зразків сироватки дотримуватися існуючих правил лабораторної безпеки і належної лабораторної практики:

- Заходи першої допомоги: При попаданні на шкіру, негайно ретельно промити водою з милом. Зняти забруднений одяг і взуття і вимити перед повторним використанням. Якщо рідина системи вступає в контакт зі шкірою, ретельно промийте водою. Після контакту з очима ретельно промити відкрите око проточною водою щонайменше протягом 10 хвилин. Зверніться до лікаря, якщо це необхідно. Дихальні шляхи: виведіть людину на свіже повітря. Ковтання: Промийте рот і випльонте рідину. Випийте 1 - 2 склянки води негайно. Під час спонтанної блювоти утримуйте голову потерпілого з тілом у похилому положенні, щоб уникнути потрапляння блювоти в повітряну трубку.
- Особиста безпека, захисне спорядження і надзвичайні заходи: Дотримуватися правил техніки безпеки лабораторії. Уникайте контакту зі шкірою та очима. Не ковтайте. Не піпуйте ротом. Не їжте, не пийте, не куріть і не наносіть макіяж в тих місцях, де знаходяться зразки або реагенти набору. При розливанні зберіть інертним матеріалом і утилізуйте.
- Засоби індивідуального захисту: Одягайте захисні рукавички з нітрильного каучуку або натурального латексу. Носіть захисні окуляри. Застосовуються відповідно за призначенням.
- Умови, яких слід уникати: Так як розчин субстрату є світлочутливим, зберігати смушки Alegria® в темряві.
- Для утилізації лабораторних відходів дотримуватися національного або регіонального законодавства.

Дотримуйтеся рекомендацій для виконання контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю і/або об'єднаних сироваток.

ВМІСТ НАБОРУ

24	ORG 280	Достатньо для проведення 24 аналізів
	Тестові смушки Alegria 24	Тест-смушки Alegria® є модулями з 8 лунок кожна, які складаються з:
		Лунка 1+2: Порожні і без нанесення (лунки для розведення зразків)
		Лунка 3+4: Вкриті антигеном (реакційні лунки)



Лунка 5: **Контроль**; жовтого кольору; містить Кальпротектин, PBS, БСА, миючий засіб, консервант азида натрію 0,09% та ProClin 300 0.05%.

Лунка 6: **Ферментний кон'югант**; світло-червоного; містить анти-Кальпротектин антитіла, мічені HRP; PBS, BSA, миючий засіб, консервант ProClin 0.05%.

Лунка 7: **Буфер для зразків**: жовтий; містить PBS, BSA, миючий засіб, консервант азида натрію 0,09% та ProClin 300 0.05%

Лунка 8: **ТМВ субстрат:** прозорий; містить 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин.

Анти-Кальпротектин антитіла розміщені в мікролунках.

Штрих-код: **Calprotectin** На роздруківці: **Calpro**
1 x 20 мл Промивний буфер, що містить Трис, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09%; 50 x концентрат
1 x 2.5 мл Системна рідина, містить кислоту; 1000 x концентрат **Екстракційний буфер для зразків стільця;** містить TBS, стабілізуючий білок, екстракційний реагент, консервант азиду натрію 0.09%. Готовий до використання. (**F5126**)
1 Сертифікат аналізу

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Вихровий міксер, шейкер-гойдалка, настільна центрифуга, опціонально: прецизійні ваги
- Піпетки на 10 мкл
- Мірний циліндр на 1000 мл і 2500 мл, мікропробірки
- Дистильована або деіонізована вода

ДОПОМІЖНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ IVD

- **F5126** Екстракційний буфер для зразків стільця. Цей компонент набору також доступний окремо.

ДОДАТКОВІ АКСЕСУАРИ

- ORG 282 Пробірки для екстракції зразків стільця; складається зі 100 пробірок.
 - SSCO Забірник для зразків стільця
- Ці додаткові засоби також доступні окремо.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати набір при 2 - 8 °C у темряві.
- Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла в перебігу зберігання та використання.
- Зберігати Alegria® Тестові смужки в герметичному пакеті з осушувачем.
- Термін придатності закритого набору становить **15** місяців від дати виготовлення. Закриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору. Дивитись етикетки для окремих партій.
- Розведений Промивний Буфер та Системна Рідина стабільні щонайменше 30 днів при 2-8 °C. Рекомендується використання в той же день.

ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Всі матеріали слід привести до кімнатної температури (20-28°C) перед використанням.
- Для запобігання забруднення міняйте наконечники піпетки між зразками.

ЗАБІР, ПІДГОТОВКА, ЗБЕРІГАННЯ ТА ОБРОБКА ЗРАЗКА

Забір зразків стільця

Можна використати Забірник для зразків стільця (SSCO).

- Уникайте забруднення туалетною водою, яка містить дезінфікуючі засоби.
- Зберігайте зібрані зразки стільця не більше 5 днів при температурі 2-8°C. Крім того, можна зберігати при -20°C.

Підготовка зразка стільця до Екстракції

Зразок стільця та EXTRACT повинні бути кімнатної температури. Для проведення аналізу Alegria® Кальпротектин, зразок стільця потрібно розбавити **1:50** у даному EXTRACT. Негомозеговані зразки повинні бути гомогенізовані перед відбором, наприклад за допомогою циклу інокуляції. Для рідких зразків стільця рекомендується зважувати зразок.

Екстракція кальпротектину з використанням пробірки для екстракції зразків стільця (org 282)

Підготуйте пробірку для екстракції зразків стільця (ORG282)

- Наповніть **750 мкл EXTRACT** у прозору трубку, щоб досягнути розведення у співвідношенні **1:50**.
- Використовуйте пробірки для екстракції зразків стільця відповідно до інструкції з використання ORG 282
- Екстракція

Прокрутіть 30 сек при 1800 обр/хв, щоб видалити зразок стільця із виїмок лопатки. Далі гомогенізуйте протягом 15 хв при максимальній швидкості на змішувачі.

Відкрийте пробірку на синій вставці конуса і перемістіть гомогенат у мікропробірку.

Центрифугуйте протягом 2 хв при 3000хg. Перенесіть прозору рідину до іншої мікролунки і протестуйте **негайно** на Кальпротектин.

Екстракція кальпротектину з використанням інших пробірок

- Зважте порожні пробірки. Візьміть і помістіть зразок стільця у пробірку. Зважте та визначте чисту вагу зразка.
- Додайте **EXTRACT** у пробірку: 49-кратна вага нетто зразка необхідна для отримання 1:50 розведення

Зразок стільця	+ EXTRACT	Зразок стільця	+ EXTRACT
15мг	+ 0.75 мл	60мг	+ 2.9 мл
20 мг	+ 1.0 мл	70мг	+ 3.4 мл
30 мг	+ 1.5 мл	80мг	+ 3.9 мл
40 мг	+ 2.0 мл	90мг	+ 4.4 мл
50 мг	+ 2.5 мл	100мг	+ 4.9 мл

Закрийте пробірку. Прокрутіть 30 сек при 1800 обр/хв. Потім гомогенізуйте протягом 15 хв при максимальній швидкості на змішувачі. Відкрийте пробірку. Помістіть гомогенат у мікропробірку. Центрифугуйте протягом 2 хв при 3000хg. Помістіть прозору рідину у іншу мікропробірку та протестуйте на Кальпротектин **негайно**.

Такий екстракційний зразок стільця може зберігатися при температурі 2-8 ° C до 5 днів або при -20 ° C до 4 місяців. Екстракційний зразок стільця не стабільний при кімнатній температурі!

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розбавте вміст концентрату Промивного буфера (50x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Внести розбавлений промивний буфер в контейнер для реагенту інструменту. Якщо проводитиметься тільки один аналіз на день, ми рекомендуємо вносити тільки 500 мл розведеного Промивного Буфера.

Системна рідина

Розбавте вміст концентрату Системної Рідини (1000x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 2500 мл перед використанням. Перенесіть розбавлену Системну Рідину в контейнер для реагенту інструменту.

Тестові смужки

Дістаньте необхідну кількість Alegria® тест-смужок з упаковки і доведіть їх до кімнатної температури (20-28 °C). Не знімайте покриття з порожніх лунок, поки ви не готові розпочати аналіз.

EXTRACT

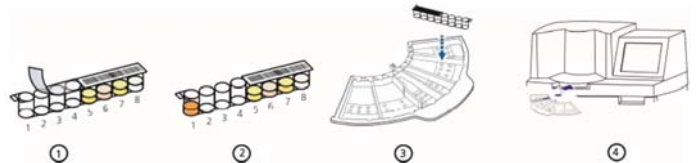
Готовий до використання.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

Тест-смужки Alegria® з технологією SMC® використовуються з діагностичним інструментом Alegria®.

Детальну інформацію про роботу з приладом можна знайти в інструкції щодо застосування.

- 1) Зніміть покриття з порожніх лунок 1-4 на тест-смужках Alegria®.
Не знімайте покриття з лунок 5-8 з нанесеним на них штрих-кодом.
- 2) Піпетуйте **10 мкл** екстракційного зразка стільця на дно лунки 1.
- 3) Помістіть смужку в SysTray.
- 4) Розмістіть завантажений SysTray в правильному положенні на приладі Alegria® і почніть роботу. Всі подальші кроки будуть зроблені автоматично. Проведення аналізу вважається завершеним, коли прилад починає друкувати результати.



КАЛІБРУВАННЯ

Система аналізу відкалібрована з використанням референтної підготовки Calprotectin, очищеної від нейтрофілів людини.

ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

За допомогою SMC® Технології всі тестові дані передаються в систему через окремі штрих-коди на тест-смужках Alegria®. Розрахунок та інтерпретація результатів виконуватимуться автоматично.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Діапазон вимірювання

Діапазон розрахунку цього аналізу Alegria®: 0-1000 мкг/г

Очікувані результати

У нормальному діапазоні дослідження зі зразками здорових донорів крові з таким аналізом Alegria® встановлено наступні діапазони:

Cut-off 50 мкг / г

Інтерпретація результатів

Нормальний діапазон: < 50 мкг/г
Трохи підвищені значення: 50-200 мкг/г
Значно підвищені значення: ≥ 200 мкг/г

Рівень Кальпротектину в нормі: запалення шлунково-кишкового тракту майже виключено; подальші інвазивні діагностичні дії, як правило, не потрібні.

Кальпротектин трохи підвищений: низький рівень запальної активності в шлунково-кишковому тракті (наприклад, IBD при ремісії); рекомендується повторне тестування та подальші діагностичні заходи.

Рівень Кальпротектину значно підвищений: активне органічне захворювання шлунково-кишкового тракту; терміново необхідне подальше інтенсивне діагностичне дослідження та лікування спеціалізованим гастроентерологом.

Лінійність

Зразки, які містять Кальпротектин, були серійно розведені у буфері для зразка для демонстрації динамічного діапазону аналізу. Активність для кожного розведення розраховується за допомогою технології SMC®.

Зразок	Розведення	Отримане значення	Очікуване значення	Очк./Отр
		мкг/г	мкг/г	[%]
1	1:1	746.8	746.8	100
.	1:2	366.7	373.4	98
.	1:4	186.7	186.7	100
.	1:8	89.5	93.4	96
2	1:16	625.5	626.5	100
.	1:1	325.0	313.3	104
.	1:2	151.1	156.6	97
.	1:4	65.2	78.3	83
3	1:8	112.9	112.9	100
.	1:1	59.5	56.5	105
.	1:2	26.5	28.2	94
.	1:4	14.6	14.1	103

Чутливість

Найнижче визначення концентрації: 5.2 мкг/г

Відтворюваність

Точність в межах тесту: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 24 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Точність між тестами: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 6 визначень в 3 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу			Між аналізами		
Зразок	Середнє значення мкг/г	КВ [%]	Зразок	Середнє значення мкг/г	КВ [%]
1	49.5	5.5	1	47.8	8.7
2	218.2	6.1	2	107.1	6.5
3	847.9	9.9	3	335.8	7.1

Інтерферуючі речовини

Наступні речовини були перевірені на 15 мг зразка стільця і не виявили жодного втручання: Ванкоміцин гідрохлорид 0,201 мг, Ципрофлоксацин 0,15 мг, Превазид 0,006 мг, Азатиоприн 0,021 мг, Преднізон 0,003 мг, Пентаса 0,399 мг, вітамін А 2,4 МО, Вітамін С 0,015 мг, Вітамін Е 0,03 мг, Вітамін D3 0,33 МО, Гемоглобін 1,749 мг. Наступні мікроорганізми були протестовані при $1,1 \times 10^7$ CFU на 15 мг зразка стільця і не виявили втручання: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*.

Результати досліджень

Досліджуване населення	n	n pos	%
Запальне захворювання кишечника	186	182	97.8
Розлади черевної порожнини	144	10	6.9
Здорові донори	18	0	0.0

Результати діагностики

ORG 280	поз	результати		348
		поз	нег	
нег	поз	182	10	
	нег	4	152	
Чутливість:	97.8	%		
Специфічність:	93.8	%		
Загальне узгодження:	96.0	%		

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Цей аналіз є діагностичною допомогою. Визначений клінічний діагноз не повинен ґрунтуватися на результатах єдиного тесту, але повинен проводитися лікарем після того, як всі клінічні та лабораторні дані були оцінені щодо всієї клінічної картини пацієнта. Також кожне рішення для терапії приймається індивідуально.

Вищезазначені патологічний та нормальний референтні діапазони у зразках стільця пацієнтів слід розглядати лише як рекомендації. Кожна лабораторія повинна встановити власні діапазони відповідно до ISO 15189 або інших відповідних правил лабораторії.

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) викликають ентеропатію у 20-65% пацієнтів, які приймають ці препарати. НПЗП може призвести до підвищеної концентрації фекального кальпротектину. У цих випадках слід враховувати переоцінку фекального кальпротектину після припинення НПЗП.

ВИРОБНИК



ОРДЖЕНТЕК Діагностика ГмбХ
Карл-Цайс-Штрассе 49-51
55129 Майнц - Німеччина
Телефон: +49 (0) 61 31/92 58-0
Факс: +49 (0) 61 31/92 58-58
Інтернет: www.orgentec.com

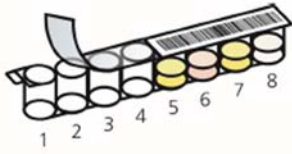


УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

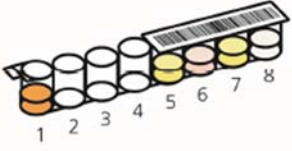
ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua



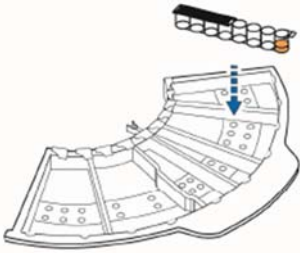
1



2



3



4

