

RIDA® QUICK Calprotectin

REF GN3037



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Γερμανία

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / www.r-biopharm.com



1. Προβλεπόμενη χρήση

Για διαγνωστική *in vitro* χρήση. Η δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin είναι μια μη αυτόματη ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία πλευρικής ροής για την ποσοτική ανίχνευση της Calprotectin σε δείγματα ανθρώπινων κοπράνων.

Η δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin βοηθά στη διάγνωση ασθενών με υποψία φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (IBD), ιδίως νόσου του Crohn (CD) και ελκώδους κολίτιδας (UC) και, σε συνδυασμό με άλλους κλινικούς βιοδείκτες, στη διαφοροποίηση μεταξύ IBD και συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου. Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως αποκλειστική βάση για τη διάγνωση.

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες.

2. Περίληψη και επεξήγηση της δοκιμασίας

Η Calprotectin, γνωστή και ως MRP8/14 ή S100A8/A9, είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο και ψευδάργυρο της οικογένειας πρωτεϊνών S100⁽⁸⁾. Σχηματίζει ένα ετεροσύμπλοκο με μοριακή μάζα 36 kDA από δύο βαριές αλυσίδες (L1H) και μία ελαφριά αλυσίδα (L1L). Η Calprotectin αντιπροσωπεύει το 60 % των κοκκιοκυττάρων ουδετερόφιλων, αλλά βρίσκεται και σε μικρότερη συγκέντρωση στα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Ως εκ τούτου, εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες, όπως διαφοροποίηση των κυττάρων, ανοσολογική ρύθμιση, καρκινογένεση, απόπτωση και φλεγμονή.

Η Calprotectin παίζει σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Επάγει την έκφραση των κυτταρικών υποδοχέων που εμπλέκονται στη μετανάστευση, την προσκόλληση και τη φαγοκυττάρωση των ουδετερόφιλων. Επίσης, προκαλεί χημειοταξία και, ως πρωτεΐνη μοριακού προτύπου που σχετίζεται με βλάβες (DAMP), εμπλέκεται στη συγγενή ανοσοαπόκριση. Η Calprotectin είναι εξαιρετικά σταθερή τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* έναντι της διάσπασης από παγκρεατικές εκκρίσεις, πρωτεάσες και βακτήρια⁽⁴⁾.

Το επαναλαμβανόμενο κοιλιακό άλγος, η διάρροια ή η δυσκοιλιότητα μπορεί να είναι συμπτώματα διαφόρων νόσων, όπως η χρόνια φλεγμονώδης νόσος του εντέρου - ιδιαίτερα η νόσος του Crohn (CD) και η ελκώδης κολίτιδα (UC) - και το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου⁽⁷⁾.

Καθώς τα συμπτώματα του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου μοιάζουν πολύ με τα συμπτώματα της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (IBD), ο μόνος τρόπος για να ληφθεί μια διάγνωση είναι κυρίως η κολonosκόπηση⁽⁹⁾.

Λόγω της ομοιογενούς κατανομής και σταθερότητας της Calprotectin στα δείγματα κοπράνων, ένα δείγμα κοπράνων είναι κατάλληλο ως ειδική εργαστηριακή παράμετρος για την ανίχνευση φλεγμονής του εντέρου⁽⁴⁾. Σε πολλές μελέτες, έχει καταδειχθεί ότι η πρωτεΐνη συσχετίζεται στενά με τη φλεγμονή του εντέρου^(3, 5, 10, 2). Καταδείχθηκε ότι η συγκέντρωση Calprotectin στα κόπρανα σχετίζεται άμεσα με τον βαθμό φλεγμονής του εντερικού βλεννογόνου και ότι η παρακολούθηση της συγκέντρωσης σε CD και CU μπορεί να βοηθήσει στη διαφοροποίηση μεταξύ ενεργών και αδρανοποιημένων φάσεων της νόσου⁽⁵⁾.

Ως εκ τούτου, η μέτρηση της Calprotectin κοπράνων μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο ως βοήθημα για την παρακολούθηση ασθενών με IBD όσο και για τον εντοπισμό υποτροπής (1, 10,4). Επίσης, η τιμή της Calprotectin κοπράνων διαφοροποιεί διαγνωστικά τους ασθενείς με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου και τους ασθενείς με IBD (9, 3, 1, 4).

Καθώς ο προσδιορισμός της Calprotectin κοπράνων είναι εύκολος και μη επεμβατικός, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως σημαντικό βοήθημα στον εντοπισμό ασθενών με IBD (1). Η συγκέντρωση της Calprotectin κοπράνων είναι μια μέτρηση της φλεγμονώδους δραστηριότητας στον εντερικό βλεννογόνο και, ως εκ τούτου, μπορεί να βοηθήσει στην παρακολούθηση και την πρόγνωση μιας υποτροπής σε ασθενείς με IBD.

Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως αποκλειστική βάση για τη διάγνωση.

Η Calprotectin δεν μπορεί να εντοπίσει ειδικά τη φλεγμονή ή να επιτρέψει τη διαφοροποίηση μεταξύ της φλεγμονής και των καρκίνων (1,6).

3. Αρχές της δοκιμασίας

Η δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin είναι μια ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία. Τα μονοκλωνικά και πολυκλωνικά αντισώματα κατά της Calprotectin σχηματίζουν σύμπλοκα αντισώματος-αντιγόνου. Για να είναι ορατό, χρησιμοποιούνται σημασμένα κολλοειδή χρυσά σωματίδια. Το σήμα μέτρησης που παράγεται με αυτόν τον τρόπο μετράται με χρήση του RIDA®QUICK SCAN II (ZRQS2-KD) και μετατρέπεται σε συγκέντρωση δείγματος ADM με βάση μια μέθοδο που είναι αποθηκευμένη στη συσκευή και μια τυπική καμπύλη που μπορεί να διαβαστεί από τον γραμμωτό κώδικα.

4. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια στο κιτ επαρκούν για 20 προσδιορισμούς.

Πίνακας 1: Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Εξαρτήματα κιτ	Ποσότητα	Περιγραφή
Cassette	20 τεμάχια	20 κασέτες δοκιμασίας
Sample diluent Κίτρινο καπάκι	50 mL	Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης δείγματος, έτοιμο για χρήση
Tube Λευκό κάλυμμα	2x10 τεμάχια.	Σωληνάρια λήψης και εκχύλισης κοπράνων, με έτοιμο προς χρήση διάλυμα εκχύλισης
Control + Κόκκινο καπάκι	250 µL	Δείγμα θετικού ελέγχου, έτοιμο προς χρήση, συγκέντρωση 480 - 1680 mg/kg
Control - Διαφανές καπάκι	250 µL	Δείγμα αρνητικού ελέγχου, έτοιμο προς χρήση, συγκέντρωση < 70 mg/kg
Caps Λευκό κάλυμμα	20 τμχ.	Πώματα για σωληνάρια εκχύλισης κοπράνων

5. Οδηγίες φύλαξης

Ακολουθήστε τις οδηγίες χειρισμού που φαίνονται στον Πίνακα 2 και φυλάξτε το κιτ αμέσως μετά τη χρήση, σύμφωνα με τις πληροφορίες που αναγράφονται. Αφού παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή η συνιστώμενη περίοδος φύλαξης των ανοιγμένων αντιδραστηρίων, δεν ισχύει πλέον η εγγύηση ποιότητας. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων ή η ανάμειξη των αντιδραστηρίων μεταξύ τους μπορεί να καταστήσει τα αντιδραστήρια ακατάλληλα προς χρήση. Εάν η εξωτερική συσκευασία έχει υποστεί ζημιά, δεν είναι εγγυημένη η χρηστικότητα της κασέτας εξέτασης.

Πίνακας 2: Συνθήκες φύλαξης και πληροφορίες

	Θερμοκρασία φύλαξης	Μέγιστος χρόνος φύλαξης	Συμπληρωματικές σημειώσεις σχετικά με τη φύλαξη
μη ανοιγμένη συσκευασία	2 - 8 °C	Μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την τυπωμένη ημερομηνία λήξης	-
ανοιγμένη συσκευασία	2 - 8 °C	2 μήνες	Μην αφήνετε τα αντιδραστήρια να παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου για μεγάλο χρονικό διάστημα. Μετά τη χρήση, αποθηκεύστε τα όσο το δυνατόν γρηγορότερα σε θερμοκρασία 2 - 8 °C.

6. Απαιτούμενα αλλά μη παρεχόμενα αντιδραστήρια

6.1 Αντιδραστήρια

Τα δείγματα ελέγχου για τη δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin περιέχονται στο κιτ. Δεν απαιτούνται άλλα αντιδραστήρια.

6.2 Εργαστηριακός εξοπλισμός

Για την πραγματοποίηση της δοκιμασίας RIDA®QUICK Calprotectin απαιτείται ο ακόλουθος εξοπλισμός:

Εξοπλισμός
Δοκιμαστικό σωληνάριο με αραιώση εκχυλισμάτων κοπράνων
Αναδευτήρας τύπου Vortex
Αναδευτήρας σωληναρίων
Μικροπιπέτα για όγκους 5 - 200 µL και 1 mL
Φυγόκεντρος για τα δοχεία μικροαντίδρασης
Χρονόμετρο
RIDA®QUICK SCAN II (διαθέσιμο από την R-Biopharm AG, κωδ. είδους ZRQS2-KD)

7. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις για τους χρήστες

Αυτή η δοκιμασία πρέπει να διεξάγεται μόνο από πιστοποιημένο προσωπικό εργαστηρίου.

Τηρείτε τις οδηγίες σχετικά με την εργασία σε ιατρικά εργαστήρια (ορθή εργαστηριακή πρακτική). Τηρείτε πάντα αυστηρά τις οδηγίες χρήσης του εγχειριδίου για τη διεξαγωγή αυτής της δοκιμασίας. Μην ανταλλάσσετε και μην αναμιγνύετε τα περιεχόμενα μίας παρτίδας kit με αυτά άλλης παρτίδας. Μην μεταφέρετε μέσω πιπέτας δείγματα ή αντιδραστήρια χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Αποφύγετε την επαφή με δέρμα που παρουσιάζει τραύματα και βλεννογόνους υμένες.

Χρησιμοποιείτε εξοπλισμό ατομικής προστασίας (κατάλληλα γάντια, εργαστηριακή ποδιά, προστατευτικά γυαλιά) κατά τον χειρισμό αντιδραστηρίων και δειγμάτων και πλένετε τα χέρια μετά την ολοκλήρωση της δοκιμασίας. Τα δείγματα ασθενών θα πρέπει να θεωρούνται ως πιθανώς μολυσματικά. Μην καπνίζετε, τρώτε ή πίνετε σε χώρους όπου γίνεται χειρισμός δειγμάτων.

Το σωληνάριο εκχύλισης κοπράνων, τα δείγματα ελέγχου και τα ρυθμιστικά διαλύματα αραίωσης δειγμάτων περιέχουν ένα μίγμα 5-χλωρο-2-μεθυλ-2H-ισοθειαζολ-3-όνης και 2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνης, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τους βλεννογόνους υμένες.

Τα επικίνδυνα υλικά υποδεικνύονται σύμφωνα με τις υποχρεώσεις επισήμανσης. Μπορείτε να βρείτε περαιτέρω λεπτομέρειες για το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας [Safety Data Sheet (SDS)] με τον κωδικό προϊόντος στη διεύθυνση <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι για τη δέουσα απόρριψη όλων των αντιδραστηρίων και των υλικών μετά τη χρήση. Εφαρμόστε τους εθνικούς κανονισμούς για τη διαδικασία απόρριψης.

Για τους χρήστες στην Ευρωπαϊκή Ένωση: Αναφέρετε όλες τις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το προϊόν στην R-Biopharm AG και τις αρμόδιες κρατικές αρχές.

8. Συλλογή και φύλαξη δειγμάτων

Συλλέξτε δείγματα κοπράνων σε καθαρούς πρότυπους περιέκτες. Τα δείγματα κοπράνων δεν θα πρέπει να συλλέγονται σε περιέκτες μεταφοράς που περιέχουν μέσα μεταφοράς με συντηρητικά ή σταθεροποιητικά, ορούς ζώων, μεταλλικά ιόντα, οξειδωτικούς παράγοντες ή απορρυπαντικά, καθώς ενδέχεται να επηρεαστεί η δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin.

Ακολουθήστε τις οδηγίες φύλαξης δειγμάτων στον Πίνακα 3. Τα δείγματα κοπράνων θα πρέπει να παραδοθούν στο εργαστήριο και να εκχυλιστούν 3 ημέρες μετά τη συλλογή. Η θερμοκρασία κατά τη μεταφορά δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τους 30 °C. Συνιστάται η μεταφορά με ψυγείο.

Πίνακας 3: Φύλαξη δειγμάτων

Εγγενές δείγμα κοπράνων		Υπόδειξη
2 - 8 °C	2 ημέρες	-
-20 °C	1 έτος	3 κύκλοι κατάψυξης/απόψυξης το μέγιστο
Δείγμα εκχύλισης στο Tube		Υπόδειξη
20 - 25 °C (θερμοκρασία δωματίου)	3 ημέρες	-
2 - 8 °C	14 ημέρες	-
-20 °C	90 ημέρες	4 κύκλοι κατάψυξης/απόψυξης το μέγιστο

9. Διεξαγωγή της δοκιμασίας

9.1. Γενικές πληροφορίες

Όλα τα αντιδραστήρια, τα σωληνάρια εκχύλισης κοπράνων **Tube** και οι κασέτες δοκιμασίας **Cassette** πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20 - 25 °C) πριν από τη χρήση. Εάν χρησιμοποιηθούν, οι κασέτες εξέτασης δεν πρέπει να επαναχρησιμοποιηθούν. Μην πραγματοποιείτε τη διεξαγωγή της δοκιμασίας σε συνθήκες απευθείας έκθεσης στον ήλιο. Μην επιστρέψετε τα αντιδραστήρια που περισσεύουν στα φιαλίδια, διότι μπορεί να προκληθεί επιμόλυνση. Το RIDA®QUICK SCAN II πρέπει να ενεργοποιηθεί πριν από την έναρξη της δοκιμασίας. Κατά την πρώτη χρήση της παρτίδας του kit, ο γραμμωτός κώδικας που περιέχει τη μέθοδο της δοκιμασίας και την ειδική για την παρτίδα παράμετρο πρέπει να σαρωθεί με συσκευή ανάγνωσης γραμμωτού κώδικα και, στη συνέχεια, να αποθηκευτεί στο RIDA®QUICK SCAN II για περαιτέρω μετρήσεις (ανατρέξτε επίσης στο εγχειρίδιο του RIDA®QUICK SCAN II). Ο κωδικός QR βρίσκεται στο πιστοποιητικό ανάλυσης (Certificate of Analysis - CoA) που συνοδεύει το kit.

9.2. Εκχύλιση δειγμάτων κοπράνων

A. Τυπική διαδικασία για την εκχύλιση κοπράνων κανονικής σύστασης

Συλλέξτε το δείγμα κοπράνων σε καθαρούς πρότυπους περιέκτες. Αφαιρέστε το ραβδί του σωληναρίου εκχύλισης κοπράνων περιστρέφοντας το βιδωτό πώμα αριστερόστροφα. Στη συνέχεια, βυθίστε το ραβδί στο δείγμα κοπράνων και περιστρέψτε το πολλές φορές έως ότου γεμίσουν όλες οι αυλακώσεις με δείγμα κοπράνων. Πριν επιστρέψετε το ραβδί στο σωληνάριο εκχύλισης κοπράνων,

αφαιρέστε την περίσσεια κοπράνων περιστρέφοντας το ραβδί στο εσωτερικό τοίχωμα του πρότυπου περιέκτη. Στη συνέχεια, εισαγάγετε πλήρως το ραβδί εντός του σωληναρίου με το υγρό εκχύλισης, διαμέσου της χοάνης (μπλε), και περιστρέψτε το πώμα δεξιόστροφα έως ότου κλείσει καλά.

B. Μέθοδος εκχύλισης για χαλαρά κόπρανα

Αυτή η διαδικασία απαιτεί μικροπιπέτα για την εκχύλιση 56 µL δείγματος χαλαρών κοπράνων. Αφαιρέστε το ραβδί του σωληναρίου εκχύλισης κοπράνων περιστρέφοντας το βιδωτό πώμα αριστερόστροφα. Στη συνέχεια, μεταφέρετε με πιπέτα τα χαλαρά κόπρανα απευθείας στο σωληνάριο κοπράνων με το διάλυμα εκχύλισης. Έπειτα, εισαγάγετε πλήρως το ραβδί εντός του σωληναρίου με το υγρό εκχύλισης, διαμέσου της χοάνης (μπλε), και περιστρέψτε το πώμα δεξιόστροφα έως ότου κλείσει καλά.

9.3. Διαδικασία εκχύλισης

Αναδεύστε σε αναδευτήρα τύπου vortex το σωληνάριο εκχύλισης κοπράνων **Tube** που είναι γεμάτο με το δείγμα, για 30 - 60 δευτερόλεπτα, ώστε να ομογενοποιηθεί καλά το εναιώρημα. Οι εσοχές στο ραβδί πρέπει να είναι ορατά απαλλαγμένες από υπολείμματα κοπράνων. Διαφορετικά, αναδεύστε για άλλα 30 - 60 δευτερόλεπτα (120 δευτερόλεπτα το μέγιστο, ανεξαρτήτως εάν υπάρχουν ορατά υπολείμματα κοπράνων στις εσοχές). Εναλλακτικά, μετά την αρχική ανάδευση με αναδευτήρα τύπου vortex, τα σωληνάρια κοπράνων μπορούν να τοποθετηθούν σε αναδευτήρα σωληναρίων για 20 λεπτά. Αρχικά, αφαιρέστε το ραβδί με το πώμα (λευκό) μαζί με τη χοάνη (μπλε) στρέφοντάς το δεξιόστροφα και, στη συνέχεια, σφραγίστε το σωληνάριο εκχύλισης κοπράνων με ένα από τα παρεχόμενα **Caps**. Στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε το δείγμα κοπράνων για 10 λεπτά στα 1000 - 3000 x g για να αφαιρέσετε όλα τα υπολειπόμενα σωματίδια κοπράνων από το υπερκείμενο. Στη συνέχεια, το διαυγασμένο δείγμα κοπράνων μπορεί να αναλυθεί.

9.4. Διεξαγωγή της δοκιμασίας

Το RIDA®QUICK Calprotectin έχει εύρος μέτρησης 50 - 2100 mg/kg. Αραιώστε το δείγμα 1:300 προσθέτοντας 5 µL εκχυλίσματος δείγματος + 1495 µL ρυθμιστικού διαλύματος αραιώσης δείγματος **Sample diluent**. Αναμείξτε καλά την αντίδραση. Τοποθετήστε την κασέτα δοκιμασίας **Cassette** που αφαιρέσατε από τη συσκευασία σε μια επίπεδη επιφάνεια. Στη συνέχεια, χρησιμοποιήστε την πιπέτα για να προσθέσετε 100 µL του αραιωμένου δείγματος κοπράνων/100 µL του δείγματος θετικού ή αρνητικού ελέγχου στο πεδίο εφαρμογής της ταινίας δοκιμασίας. Διαβάστε τα αποτελέσματα της δοκιμασίας από το RIDA®QUICK SCAN II μετά από **20 λεπτά**. Ο χρόνος πρέπει να τηρείται με ακρίβεια. Μετρήσεις πριν ή μετά από 20 λεπτά μπορούν να παράγουν εσφαλμένο αποτέλεσμα.

10. Ποιοτικός έλεγχος - ένδειξη αστάθειας ή λήξης των αντιδραστηρίων

Η δοκιμασία θα πρέπει να αξιολογείται μόνο εάν είναι άθικτες η κασέτα εξέτασης και η μεμβράνη πριν από τη μεταφορά με πιπέτα του εναιωρήματος δειγμάτων και δεν διακρίνονται αλλαγές στο χρώμα ή τις γραμμές. Η γραμμή ελέγχου (με την ένδειξη C στην κασέτα εξέτασης) πρέπει να εμφανίζεται κάθε φορά που εκτελείται η δοκιμασία. Εάν δεν εμφανιστεί η γραμμή, ελέγξτε τα παρακάτω πριν να επαναλάβετε τη δοκιμασία:

- Ημερομηνία λήξης των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων
- Ορθή λειτουργία των μικροπιπετών που χρησιμοποιούνται (π.χ. βαθμονόμηση)
- Ορθή διεξαγωγή της δοκιμασίας
- Οπτικός έλεγχος των εξαρτημάτων του kit για τυχόν επιμόλυνση ή διαρροές

Αν οι προϋποθέσεις εξακολουθούν να μην πληρούνται μετά την επανάληψη της δοκιμασίας, επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή ή τον τοπικό διανομέα της R-Biopharm.

11. Αξιολόγηση και ερμηνεία

Η ανάλυση πραγματοποιείται με χρήση του RIDA®QUICK SCAN II (βλ. επίσης το εγχειρίδιο του RIDA®QUICK SCAN II).

Η γραμμή ελέγχου (με την ένδειξη C στην κασέτα εξέτασης) πρέπει να εμφανίζεται κάθε φορά που εκτελείται η δοκιμασία. Εάν λείπει αυτή η γραμμή, ακολουθήστε τις οδηγίες στην ενότητα 10.

Ανάλογα με τη συγκέντρωση Calprotectin στο δείγμα, η γραμμή σήματος (με την ένδειξη T στην κασέτα εξέτασης) μπορεί να εμφανιστεί μετά από διαφορετικές διάρκειες και σε διαφορετικές εντάσεις. Περιμένετε για συνολικό χρόνο εκτέλεσης 20 λεπτών. Στη συνέχεια, μπορείτε να πραγματοποιήσετε μια τελική ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας χρησιμοποιώντας τη συσκευή ανάγνωσης RIDA®QUICK SCAN II.

Τηρείτε πάντα με ακρίβεια τον καθορισμένο χρόνο επώασης των 20 λεπτών.

Οι προσδιοριζόμενες τιμές και διακυμάνσεις βρίσκονται στο Πιστοποιητικό ανάλυσης (CoA) [Certificate of Analysis (CoA)].

11,1. Αποτέλεσμα δοκιμασίας

Διεξήχθη μια εσωτερική μελέτη για τον προσδιορισμό του ορίου αποκοπής του RIDA®QUICK Calprotectin. Από μια τιμή ορίου αποκοπής > 140 mg/kg ανθρώπινης Calprotectin στα κόπρανα, το αποτέλεσμα πρέπει να θεωρείται θετικό. Εάν το αποτέλεσμα είναι μεταξύ 70 - 140 mg/kg, συνιστάται επανάληψη εκχύλισης δείγματος και αξιολόγηση μετά από 4 έως 6 εβδομάδες. Δείγματα < 70 mg/kg μπορούν να αξιολογηθούν ως αρνητικά.

Συνιστούμε σε κάθε εργαστήριο να καθορίζει τις δικές του πρότυπες τιμές εύρους.

12. Περιορισμοί της μεθόδου

Από αυτήν τη μέθοδο, δεν μπορεί να συναχθεί συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της Calprotectin που ανιχνεύεται και της εμφάνισης της σοβαρότητας των κλινικών συμπτωμάτων. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τα πλήρη κλινικά συμπτώματα.

13. Χαρακτηριστικά επιδόσεων

13.1 Χαρακτηριστικά κλινικών επιδόσεων

Οι κλινικές επιδόσεις της δοκιμασίας RIDA®QUICK Calprotectin ελέγχθηκαν σε μια μελέτη με συνολικά 81 δείγματα ασθενών. Σαράντα δύο ασθενείς διαγνώστηκαν με νόσο του Crohn, ελκώδη κολίτιδα ή μικροσκοπική κολίτιδα. Το θετικό αποτέλεσμα διαγνώστηκε με βάση τα κλινικά ευρήματα ή/και επιβεβαιώθηκε με κολonosκόπηση. Τα 39 αρνητικά δείγματα προέρχονταν από ασθενείς με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, επαναλαμβανόμενο πόνο στον στομάχο και άλλες νόσους.

Πίνακας 4: Κλινικές επιδόσεις της δοκιμασίας RIDA®QUICK Calprotectin.

Αξιολόγηση των δειγμάτων στο όριο ανίχνευσης ως θετικά				
		RIDA®QUICK Calprotectin (Όριο αποκοπής = 70 mg/kg)		
		Θετικό	Αρνητικό	Σύνολο
Κλινική διάγνωση	IBD	42	0	42
	Δεν είναι IBD	12	27	39
	Σύνολο	54	27	81
Ευαισθησία		100 %	95 % CI* (91,6 % - 100,0 %)	
Ειδικότητα		69,2 %	95 % CI* (53,6 % - 81,4 %)	
PPV**		76,5 %	95 % CI* (67,0 % - 83,9 %)	
NPV**		100 %	95 % CI* (100,0 % - 100,0 %)	

Αξιολόγηση των δειγμάτων στο όριο ανίχνευσης ως αρνητικά				
		RIDA®QUICK Calprotectin (Όριο αποκοπής = 140 mg/kg)		
		Θετικό	Αρνητικό	Σύνολο
Κλινική διάγνωση	IBD	40	2	42
	Δεν είναι IBD	4	35	39
	Σύνολο	44	37	81
Ευαισθησία		95,2 %	95 % CI* (84,2 % - 98,7 %)	
Ειδικότητα		89,7 %	95 % CI* (76,4 % - 95,9 %)	
PPV**		90,9 %	95 % CI* (79,8 % - 96,2 %)	
NPV**		94,6 %	95 % CI* (81,8 % - 98,5 %)	

*CI = διάστημα εμπιστοσύνης (Mercaldo-Wald)

**PPV = θετική προγνωστική τιμή

***NPV = αρνητική προγνωστική τιμή

13.2 Χαρακτηριστικά επιδόσεων ανάλυσης

13.2.1 Αναλυτική ευαισθησία (LoB, LoD και LoQ)

Η αναλυτική ευαισθησία της δοκιμασίας RIDA®QUICK Calprotectin προσδιορίστηκε με την εύρεση του ορίου τυφλού (LoB), του ορίου ανίχνευσης (LoD) και του ορίου ποσοτικοποίησης (LoQ).

Πίνακας 5: Αποτελέσματα αναλυτικής ευαισθησίας για τη δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin

	mg/kg
LoB	17,7
LoD	29,4
LoQ	35,0

13.2.2 Αναλυτική ειδικότητα

Παρεμποδίζουσες ουσίες

Για τον έλεγχο των επιδράσεων παρεμβολών, η αντίστοιχη ουσία προστέθηκε σε δείγματα που κατανεμήθηκαν σε όλο το εύρος μέτρησης και το καθένα υποβλήθηκε σε δοκιμασία σε σύγκριση με «μη μολυσμένα» δείγματα ελέγχου. Οι δυνητικά παρεμποδίζουσες ουσίες που υποβλήθηκαν σε δοκιμασία παρατίθενται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Πιθανώς παρεμποδίζουσες ουσίες

Παρεμβαλλόμενη ουσία	Ποσότητα που υποβλήθηκε σε δοκιμασία/50 mg κοπράνων
Αιμοσφαιρίνη	5,83 mg
Βανκομυκίνη	0,67 mg
Σιπροφλοξασίνη	0,50 mg
Prevacid	0,02 mg
Αζαθειοπρίνη	0,07 mg
Πρεδνιζόνη	0,01 mg
5-αμινοσαλικυλικό οξύ	1,33 mg
Βιταμίνη Α	8 IU
Βιταμίνη D	1,1 IU
Βιταμίνη C	0,05 mg
Βιταμίνη E	0,10 mg
Θειικό βάριο	0,25 mg
Λοπεραμίδη HCl	0,34 µg
Υποσαλικυλικό βισμούθιο	0,04 mg
Μετρονιδαζόλη	0,63 mg
Μυκίνη	0,17 mg

Υδροξείδιο αλουμινίου + υδροξείδιο μαγνησίου	0,21 mg
Παλμιτικό οξύ	0,07 mg
Στεατικό οξύ	0,13 mg
Πολυαιθυλενογλυκόλη 3350	3,95 mg
Ομεπραζόλη	0,03 mg
Πρωτεΐνη S100A12	1,05 μg
Σιμεθικόνη	0,03 mg
Σιμετιδίνη	0,03 mg
Ανθρακικό ασβέστιο	0,03 mg

Όλες οι ουσίες που υποβλήθηκαν σε δοκιμασία θεωρούνται μη κρίσιμες, διότι δεν επηρεάζουν σημαντικά τα αποτελέσματα της δοκιμασίας εάν υπάρχουν στις καθορισμένες συγκεντρώσεις στα δείγματα κοπράνων.

13.2.3 Ακρίβεια

Ακρίβεια

Τα δεδομένα ακριβείας συλλέχθηκαν με 6 δείγματα ελέγχου (4 θετικά δείγματα, 1 δείγμα στο οριακό εύρος και 1 αρνητικό δείγμα). Κάθε δείγμα ελέγχθηκε εις τριπλούν σε δύο εκτελέσεις ανά ημέρα, σε 20 ημέρες. Για τον έλεγχο μεταξύ διαφορετικών παρτίδων (Inter-Lot), εκχυλίστηκαν και υποβλήθηκαν σε δοκιμασία 6 διαφορετικά δείγματα κοπράνων (4 θετικά δείγματα, 1 δείγμα στο οριακό εύρος και 1 αρνητικό δείγμα) με προσδιορισμό 5 φορές ανά εκτέλεση/ημέρα, για 5 ημέρες με 3 διαφορετικές παρτίδες. Οι καθορισμένες τιμές CV % πρέπει να είναι ίσες με ή μικρότερες από 20%. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα ακρίβειας για τη δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin

Αρ. αναγνωριστικού	N	Μέση τιμή (mg/kg)	Εντός της εκτέλεσης		Μεταξύ εκτελέσεων		Μεταξύ ημερών		Σύνολο	
			SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV
1	120	56,0	6,9	12,4 %	3,1	5,5 %	2,9	5,1 %	7,6	13,6 %
2	120	75,9	10,5	13,8 %	2,9	3,8 %	3,0	3,9 %	10,8	14,3 %
3	120	238,0	29,5	12,4 %	7,2	3,0 %	9,4	4,0 %	30,4	12,8 %
4	120	446,6	58,9	13,2 %	12,8	2,9 %	19,3	4,3 %	60,4	13,5 %
5	120	783,5	87,8	11,2 %	14,8	1,9 %	20,4	2,6 %	89,2	11,4 %
6	120	1559,2	300,0	19,2 %	0,0	0,0 %	28,9	1,9 %	290,9	18,7 %

Πίνακας 8: Αποτελέσματα ακρίβειας για τη δοκιμασία RIDA®QUICK Calprotectin

Αρ. αναγνωριστικού	N	Μέση τιμή (mg/kg)	Επαναληψιμότητα		Εντός παρτίδας		Μεταξύ παρτίδων		Σύνολο	
			SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV	SV (mg/kg)	CV
1	75	54,4	6,2	11,4 %	7,1	13,1 %	5,9	10,9 %	9,2	17,0 %
2	75	66,4	8,3	12,6 %	9,0	13,6 %	7,6	11,4 %	11,7	17,7 %
3	75	277,6	34,3	12,4 %	39,0	14,1 %	0,0	0,0 %	39,0	14,1 %
4	75	409,8	44,8	10,9 %	52,4	12,8 %	16,1	3,9 %	54,8	13,4 %
5	75	764,7	109,6	14,3 %	127,5	16,7 %	0,0	0,0 %	127,5	16,7 %
6	75	1326,3	182,6	13,8 %	184,7	13,9 %	41,1	3,1 %	189,2	14,3 %

13.2.4 Γραμμικότητα










Οι δοκιμασίες της μελέτης γραμμικότητας έδωσαν αποδεκτά αποτελέσματα για τη γραμμικότητα καθώς και την ακρίβεια της δοκιμασίας RIDA®QUICK Calprotectin, για συγκεντρώσεις Calprotectin εντός του εύρους 40 mg/kg - 2100 mg/kg.

14. Ιστορικό εκδόσεων

Αριθμός έκδοσης	Ενότητα και ονομασία
2022-04-25	Αρχική έκδοση

15. Επεξήγηση συμβόλων

Γενικά σύμβολα

	Για διαγνωστική <i>in vitro</i> χρήση
	Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης
	Αριθμός παρτίδας
	Χρήση πριν από
	Θερμοκρασία φύλαξης
	Κωδικός προϊόντος
	Αριθμός δοκιμασιών
	Κατασκευαστής
	Να μην επαναχρησιμοποιείται

Ειδικά σύμβολα δοκιμασίας

Cassette	Κασέτα δοκιμασίας
Sample Diluent	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης δείγματος
Tube	Σωληνάριο λήψης και εκχύλισης κοπράνων
Caps	Πώματα
Control +	Δείγμα θετικού ελέγχου
Control -	Δείγμα αρνητικού ελέγχου

16. Παραπομπές

1. Chang MH, Chou JW, Chen SM, Tsai MC, Sun YS, Lin CC, Lin CP. Faecal calprotectin as a novel biomarker for differentiating between inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Mol Med Rep.* 2014 Jul;10(1):522-6.
2. D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S, Baert F, Noman M, Moortgat L, Geens P, Iwens D, Aerden I, Van Assche G, Van Olmen G, Rutgeerts P. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2012 Dec;18(12):2218-24.
3. Gisbert JP, McNicholl AG. Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis.* 2009 Jan;41(1):56-66
4. Pathirana WGW, Chubb SP, Gillett MJ, Vasikaran SD. Faecal Calprotectin. *Clin Biochem Rev.* 2018 Aug;39(3):77-90.
5. Smith LA, Gaya DR. Utility of faecal calprotectin analysis in adult inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2012 Dec 14;18(46):6782-9.
6. Summerton CB, Longlands MG, Wiener K, Shreeve DR. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002 Aug;14(8):841-5.
7. Walsham NE, Sherwood RA. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol.* 2016 Jan 28;9:21-9.
8. Wang S, Wang Z, Shi H, Heng L, Juan W, Yuan B, Wu X, Wang F. Faecal calprotectin concentrations in gastrointestinal diseases. *J Int Med Res.* 2013 Aug;41(4):1357-61.
9. Waugh N, Cummins E, Royle P, Kandala NB, Shyangdan D, Arasaradnam R, Clar C, Johnston R. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2013 Nov;17(55):xv-xix, 1-211
10. Zhulina Y, Cao Y, Amcoff K, Carlson M, Tysk C, Halfvarson J. The prognostic significance of faecal calprotectin in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016 Sep;44(5):495-504.