

Actim[®] Calprotectin

INSTRUCTIONS FOR USE

- | | | | |
|----|----------------------|----|--------------------------|
| CS | Návod k použití | IT | Istruzioni d'uso |
| DA | Brugsvejledning | NL | Gebruiksaanwijzing |
| DE | Gebrauchsanweisung | NO | Bruksanvisning |
| ES | Instrucciones de uso | PT | Instruções de utilização |
| FI | Käyttöohje | SV | Bruksanvisning |
| FR | Notice d'utilisation | | |

Medix
Biochemica

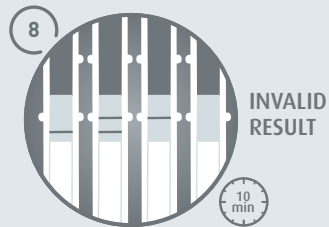
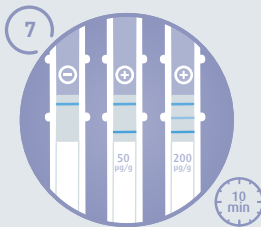
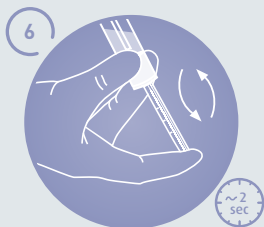
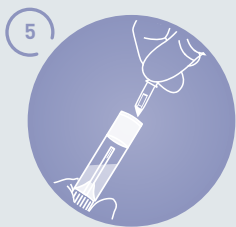


www.medixbiochemica.com

STRUCTURE OF DIPSTICK



TEST PROCEDURE AND RESULTS



INSTRUCTIONS FOR USE

Numbers ① - ⑧ refer to illustrations on inner cover.

STRUCTURE OF DIPSTICK

① Dip area ② Result area ③ Test lines ④ Control line

INTENDED USE

The Actim® Calprotectin test is a visually interpreted, semiquantitative immunochromatographic dipstick test, which is used for determination and monitoring of calprotectin concentrations in feces. The test is intended for professional use to help diagnose intestinal inflammation.

KIT COMPONENTS

The components of the Actim Calprotectin test are:

- Actim Calprotectin dipstick in a perforating device. The dipsticks (10) are packed in an aluminum container.
- Specimen Dilution Buffer (3 ml). This tris buffered solution contains bovine serum albumin (BSA), protease inhibitors and <0.1 % (w/v) sodium azide (NaN₃). One sampling stick is attached to the cap of each tube.

The kit 35032ETAC contains 2 aluminum tubes of dipsticks (35061ETAC) and 20 Specimen Dilution Buffer tubes (35071ETAC).

An instructions for use leaflet is included in all product formats. Toilet paper or a clean disposable container is needed for sampling (not provided with the test).

STORAGE

Store the dipsticks and the Specimen Dilution Buffer tubes at +2...+30 °C. Stored unopened, each component can be used until the expiry date marked on the component. After opening the aluminum container first time, the dipsticks can be stored for 4 months at +2...+30 °C. However, the expiry date must not be exceeded.

SPECIMEN COLLECTION

The specimen is feces suspension that is prepared as soon as possible after sample collection. The original feces sample can be stored for 4 days at +2...+8 °C.

Unscrew the cap of the Specimen Dilution Buffer tube. Collect the feces sample by using the sampling stick attached to the screw cap. There are two small slits in the head of each stick. Twist the stick randomly in several different places

in the feces sample so that both slits become filled with feces. In case of liquid samples, dry the stick by wiping it with a piece of e.g. toilet paper before sticking it into the sample. The slits of the stick will be filled with the liquid feces.

Put the sampling stick into the Specimen Dilution Buffer tube by pushing the stick through the cone. Close the cap tightly and shake the tube to suspend the feces in the buffer. The specimen suspension is now ready for testing. The suspension can be stored for one week at +2...+25 °C (+2...+8 °C is recommended).

TEST PROCEDURE AND INTERPRETATION OF THE RESULTS

1. If stored refrigerated, allow the aluminum container of dipsticks and the buffer tube to reach room temperature before opening. Remove the required number of perforating devices (each containing a dipstick) from the container just prior to use and close the container immediately. Do not touch the yellow dip area at the lower ends of the dipsticks. Do not touch the part of the perforating device below the stopper, as this area will come into contact with the sample. Identifying marks may be written on the upper blue-grey parts of the dipsticks.
 2. The specimen should be at room temperature upon testing. Use the sharp tip of the perforating device to puncture the perforation area in the bottom of the buffer tube **then push the device into the tube until the stopper prevents it going further ⑤**.
 3. Slowly invert the tube upside down once and immediately place the tube on the table in an upright position ⑥. **NOTE! It is important that the inverting movement is not too abrupt, a peaceful inversion is vital for the correct performance of the test. Also, the tube must not remain upside down.**
 4. The result is available in 10 minutes ⑦. **Do not pay attention to any lines appearing later than 10 minutes.**
 5. If, in addition to the blue control line in the upper part of the result area you see:
 - **no other blue lines**, the calprotectin concentration is **<50 µg/g of feces**.
 - **one blue line in the lower part of the result area**, the calprotectin concentration is **50-200 µg/g of feces**.
 - **two blue lines**, the calprotectin concentration is **>200 µg/g of feces**.
- If the control line does not appear, the test is invalid ⑧.

In case of a missing control line, please see the Notes section for troubleshooting.

The intensities of the blue lines will vary. When calprotectin concentration is low only one faint blue line in addition to the blue control line appears in 10 minutes. As the concentration of calprotectin increases, the intensity of the first line increases. A second blue line begins to appear when the calprotectin concentration exceeds 200 µg/g feces.

DISPOSAL OF THE TEST DEVICE

The contact between the Specimen Dilution Buffer tube cap and the perforating device is so close that the test device can be disposed of directly after the result has been read. Do not remove the perforating device from the tube.

LIMITATIONS OF THE TEST

The test is intended for *in vitro* diagnostic use only.

NOTES

- The test results are semiquantitative.
- Do not use a dipstick that has become wet before use, because moisture damages the dipstick.
- Do not use a dipstick if you notice a blue coloring in the result area before testing.
- Do not touch the dip area of the dipstick or the area of the perforating device below the stopper.
- When inverting the sample tube to allow the dipstick to absorb sample, do not invert the tube too fast, or for too long. The test will not work properly if the amount absorbed is too small or too large.
- If the control line does not appear, the inversion of the sample tube may have been performed too abruptly. Take a new dipstick and repeat the inversion in a controlled way.
- Improper sampling may lead to false result.
- Calprotectin is not uniformly distributed in the feces sample. Therefore, it is important to dip the sampling stick randomly in several places in the feces sample.
- Appearance of a control line confirms correct performance of the test. If a control line does not appear the test is invalid, and should be repeated using another dipstick.

- If the test result cannot be interpreted clearly (e.g. if the lines are blotched or uneven) it is recommended that the test be repeated with another dipstick.
- At ten minutes the appearance of any faint-to-dark blue line along with a control line indicates a positive result. However, do not pay attention to any lines appearing after 10 minutes.
- If only the control line is visible, the test result should be interpreted as negative only after 10 minutes have elapsed.
- If the color of the test line is not blue, the result should be interpreted as invalid and the test should be repeated with a new feces sample.
- As with all diagnostic tests, results must be interpreted in the light of other clinical findings.
- All biological specimens and materials must be treated as potentially hazardous, and disposed of in accordance with local authority guidelines.

PRINCIPLE OF THE TEST

Calprotectin is a degradation product from neutrophil granulocytes from mucosal layer of the colon. It is released in excess into the intestines when colonic inflammation is present. Fecal calprotectin testing can be used as an aid to distinguish between inflammatory bowel diseases, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, and non-inflammatory bowel diseases, such as irritable bowel syndrome. It can also be used to determine the disease activity and monitor the response to treatment in patients with ulcerative colitis or Crohn's disease.

The test is based on immunochromatography. It involves monoclonal antibodies to human calprotectin. Antibodies are bound to blue latex particles (the detecting label). In the carrier membrane there are two calprotectin specific antibody zones, to which the blue latex particles will bind if the sample contains calprotectin.

When the feces suspension comes into contact with the dip area of the dipstick, the dipstick absorbs liquid, which starts to flow up the dipstick. If the sample contains calprotectin, it binds to the antibodies attached to the latex particles. The particles are carried by the liquid flow and, if calprotectin are bound to them, they bind to the corresponding catching antibody zones. If sample contains >200 µg calprotectin /g feces two blue lines will appear. A blue control line confirms correct performance of the test.

PERFORMANCE OF THE TEST

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity, detection limit, of the Actim Calprotectin test was evaluated by two operators using samples with different concentrations of human calprotectin corresponding to the 12.5 – 10 000 µg of calprotectin/g of feces on three different lots of Actim Calprotectin test.

The detection limit of Actim Calprotectin is 50 µg/g of feces. At this point 97 % of the results were positive. The second blue line begins to appear when feces suspension contains calprotectin > 200 µg/g of feces. At this point 90 % of the results were positive. Hook effect has been tested with sample containing up to 10 000 µg of human calprotectin/g of feces giving consistently the positive result.

Repeatability and reproducibility

Intra- (repeatability) and inter- (reproducibility) assay precision were evaluated using samples containing 0 – 200 µg of human calprotectin/g of feces. For repeatability the samples were tested by two operators on the same day using 10 replicates per sample on three different lots of Actim Calprotectin, the total amount being 120 tests/Lot (360/3 lots) in one day. The agreement for the samples containing 50 µg of human calprotectin/g of feces was 97 % and for the sample, containing 200 µg of human calprotectin/g of feces was 97 %. For reproducibility the samples were tested on the five consecutive workdays using three replicates per sample on three different lots of Actim Calprotectin, the total amount being 180 tests/Lot (540/3 lots) in five days. The agreement for the samples containing 50 µg of human calprotectin/g of feces was 98 % and for the sample, containing 200 µg of human calprotectin/g of feces was 98 %.

Analytical specificity, Cross-reactivity

The Actim Calprotectin test was tested with cross-reactivity's of human and bovine transferrin and hemoglobin. No cross-reactivity was observed. The Actim Calprotectin test is specific for the human calprotectin.

Method comparison

The function of Actim Calprotectin test was evaluated by testing 100 patient samples with Actim Calprotectin and measuring the calprotectin concentration from the same fecal suspensions by Bühlmann fCAL ELISA. The evaluation of the results showed that the Actim Calprotectin results are comparable to the quantitative measurement. The results are shown in FIG 1 on the inner back cover.

NÁVOD K POUŽITÍ

Čísla ① - ⑧ se vztahují k vyobrazením vnitřní straně krytu.

STRUKTURA PROUŽKU

① Namáčecí zóna ② Výsledková zóna ③ Testovací linie ④ Kontrolní linie

ÚČEL POUŽITÍ

Test Actim® Calprotectin je vizuálně interpretovatelný semikvalitativní imunochromatografický proužkový test, který se používá k stanovení a monitorování koncentrace kalprotektinu ve stolici. Test je určen k profesionálnímu použití a pomáhá diagnostikovat střevní zánět.

SOUPRAVA OBSAHUJE

Součástí soupravy Actim Calprotectin jsou:

- Testovací proužek Actim Calprotectin v podobě perforačního prostředku. Testovací proužky (10) jsou baleny do hliníkové tuby.
- Ředící pufr na vzorek (3 ml). Tento roztok Trisového pufru obsahuje hovězí sérový albumin (BSA), inhibitory proteáz a <math><0,1\% \text{ w/v}</math> azidu sodného (NaN_3). Na každém víčku zkumavky je ukotvena jedna vzorkovací tyčinka.

Souprava 35032ETAC obsahuje 2 hliníkové tuby s testovacími proužky (35061ETAC) a 20 zkumavek s ředícím pufrem na vzorek (35071ETAC).

Pokyny k použití jsou uvedeny v letáčích u všech typů výrobků. Toaletní papír nebo čistý odběrový kontejner, které jsou nutné pro odběr vzorku (nejsou ve vybavení soupravy).

SKLADOVÁNÍ

Testovací proužky a ředící pufr pro vzorek uchovávejte při $+2...+30\text{ }^\circ\text{C}$. Každá uložená a neotevřená komponenta může být použita až do doby expirace vyznačené na komponentě. Hliníková tuba s proužky může být po prvním otevření skladována 4 měsíce při $+2...+30\text{ }^\circ\text{C}$. V žádném případě nesmí být datum expirace překročeno.

ODBĚR VZORKU

Vzorek je suspenze stolice, která je připravena co nejdříve po odběru vzorku. Původní vzorek stolice může být skladován 4 dní při $+2...+8\text{ }^\circ\text{C}$.

Odšroubujte víčko z ředícího pufru pro vzorek. Odeberte vzorek stolice za použití vzorkovací tyčinky ukotvené u uzavíracím víčku. Na každé tyčince jsou

na dolním konci dva malé zářezy. Otáčejte tyčinkou dokola na několika různých místech vzorku stolice, dokud nejsou zářezy naplněné stolicí. V případě tekutých vzorků suchou tyčinkou vytřete kousek toaletního papíru před uložením tyčinky do vzorku. Zářezy tyčinky budou naplněny tekutou stolicí.

Zatlačením přes kužel vložte tyčinku se vzorkem do zkumavky s pufrem na ředění vzorku. K vytvoření suspenze vzorku, uzavřete těsně víčko a promíchejte zkumavku. Suspenze vzorku je nyní připravena k testování. Suspenze může být uložena jeden týden při $+2...+25\text{ }^\circ\text{C}$ (doporučuje se $+2...+8\text{ }^\circ\text{C}$).

PROVEDENÍ TESTU A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. V případě uchování v chladničce nechte před otevřením hliníkovou nádobu s testovacími proužky a zkumavku s pufrem ohřát na pokojovou teplotu. Vyjměte potřebný počet perforačních prostředků (obsahujících testovací proužek) z kontejneru těsně před použitím a ihned kontejner uzavřete. Nedotýkejte se žluté namáčecí plošky na dolním konci testovacího proužku. Nedotýkejte se u perforačního proužku části pod zarážkou, jelikož v této oblasti dojde ke kontaktu se vzorkem. Identifikace může být napsána na horních modrošedých částech testovacích proužků.
 2. Vzorek by měl být testován při pokojové teplotě. Ostrým hrotem děrovacího zařízení prorazte perforovanou oblast ve spodní části zkumavky s pufrem a **zatlačte zařízení do zkumavky, dokud se nezastaví o zarážku ⑤**.
 3. Pomalu zkumavku jedenkrát otočte dnem vzhůru a okamžitě zkumavku postavte na stůl ve vzpřímené poloze ⑥. **POZNÁMKA! Je důležité, aby pohyb při obrácení nebyl příliš prudký; pomalé obrácení je kriticky důležité pro správné fungování testu. Zkumavka také nesmí zůstat dnem vzhůru.**
 4. Výsledek je k dispozici do **10 minut ⑦**. **Jakýmkoli proužkům, které se objeví až po 10 minutách, nevěnujte pozornost.**
 5. **Pokud kromě modrého kontrolního proužku v horní části výsledkové oblasti:**
 - **neuvídíte žádné jiné modré proužky**, koncentrace kalprotektinu je **<math><50\text{ }\mu\text{g/g}</math> stolice**.
 - **uvidíte jeden modrý proužek ve spodní části výsledkové oblasti**, koncentrace kalprotektinu je **$50\text{--}200\text{ }\mu\text{g/g}$ stolice**.
 - **uvidíte dva modré proužky**, koncentrace kalprotektinu je **$>200\text{ }\mu\text{g/g}$ stolice**.
- Pokud **se neobjeví kontrolní linie**, test je **nehodnotitelný ⑧**.
- Pokud kontrolní linie chybí, podívejte se do kapitoly týkající se chybových hlášení.

Intenzita modrých proužků se může lišit. Pokud je koncentrace kalprotektinu nízká, do 10 minut se kromě modrého kontrolního proužku objeví pouze jeden světle modrý proužek. S vyšší koncentrací kalprotektinu se zvyšuje intenzita prvního proužku. Druhý modrý proužek se začne objevovat, když koncentrace kalprotektinu přesáhne hodnotu 200 µg/g stolice.

LIKVIDACE TESTŮ

Kontakt mezi víčkem nádoby ředícího pufru a proužkem je tak těsný, že testovací prostředek může být zlikvidován okamžitě poté, co byl výsledek odečten. Neodstraňujte perforační proužek z nádoby.

MOŽNÁ OMEZENÍ TESTU

Test je určen pouze k použití jako diagnostikum *in vitro*.

POZNÁMKY

- Výsledky testu jsou semikvalitativní.
- Nepoužívejte proužek, který předtím přišel do styku s vlhkostí, protože vlhkost proužek poškozuje.
- Nepoužívejte proužek, u kterého jste zaznamenali modré zbarvení ještě před použitím testu.
- Nedotýkejte se testovací oblasti namáčecího proužku ani oblasti děrovacího zařízení pod zářádkou.
- Když obrátíte nádobku se vzorkem, aby proužek absorboval vzorek, neobracejte nádobku příliš vehementně nebo příliš dlouho. Test nebude pracovat správně, pokud množství absorbované tekutiny bude příliš malé nebo příliš velké.
- Pokud se neobjeví kontrolní linie, obrácení nádoby se vzorkem proběhlo příliš prudce. Vezměte nový testovací proužek a opakujte obrácení se zaměřením na kontrolu otáčení.
- Nevhodný způsob nabrání vzorku může vést k falešným výsledkům.
- Kalprotektin není ve vzorku stolice rozložen rovnoměrně. Proto je důležité, abyste tyčinku na vzorek ponořili do vzorku stolice na několika různých místech.
- Vzhled kontrolní linie potvrzuje správnost provedení testu. Pokud se neobjeví kontrolní čára, test je neplatný a je třeba jej zopakovat pomocí jiného testovacího proužku.

- Pokud není výsledková linie jasně interpretovatelná (např. linie jsou skvrnitě nebo nerovně) doporučuje se opakovat test s jiným proužkem.
- Objeví-li se spolu s kontrolní čárou do deseti minut jakákoli čára od světlé po tmavě modrou, značí to pozitivní výsledek. Nicméně nevěnujte pozornost čarám, které se objeví až po 10 minutách.
- Pokud je viditelná pouze kontrolní linie, měl by být test interpretován jako negativní, avšak pouze po uplynutí 10 minut.
- Pokud není barva testovací linie modrá, výsledek je třeba vyhodnotit jako neplatný a test bude nutné zopakovat na novém vzorku stolice.
- Tak jako všechny diagnostické testy, musí být výsledky testu interpretovány ve světle klinických nálezů.
- Všechny biologické vzorky a materiály musí být považovány za potenciálně infekční a musí s nimi být nakládáno v souladu s místními směrnici a vyhláškami.

PRINCIP TESTU

Kalprotektin je produkt degradace neutrofilních granulocytů ze slizniční vrstvy tlustého střeva. V případě přítomnosti zápalu tlustého střeva se tato látka ve zvýšeném množství uvolňuje do střev. Testování kalprotektinu ve stolici lze použít jako pomůcku při odlišení zánětlivých onemocnění střev, jako jsou Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, od nezápětlivých onemocnění střev, jako je syndrom dráždivého střeva. Lze jej také použít na určení aktivity onemocnění a monitorování odezvy na léčbu u pacientů s ulcerózní kolitidou nebo Crohnovou chorobou.

Test je založen na imunochromatografické metodě. Využívá monoklonální protilátky proti lidskému kalprotektinu. Protilátky jsou vázány na modré latexové částice [detekční značka]. V nosičové membráně jsou dvě oblasti specifické pro kalprotektin, ke kterým se budou vázat modré latexové částice, pokud vzorek obsahuje kalprotektin.

Když přijde testovací oblast testovacího proužku do kontaktu se suspenzí stolice, proužek absorbuje tekutinu, která začne vzlínat proužkem. Latex vzorek obsahuje kalprotektin, naváže se na protilátky zachycené na latexových částicích. Částice jsou unášeny protékající tekutinou, a pokud je na ně kalprotektin navázan, navážou se na příslušné oblasti pro zachycení protilátky. Pokud vzorek obsahuje >200 µg/g stolice, objeví se dva modré proužky. Modrý kontrolní proužek potvrzuje správnost provedení testu.

FUNKČNOST TESTU

Analytická citlivost

Analytická citlivost a detekční limit testu Actim Calprotectin byly hodnoceny dvěma pracovníky obsluhy pomocí vzorků s lidským kalprotektinem s koncentrací 12,5 – 10 000 µg kalprotektinu/ g stolice na třech různých šaržích testu Actim Calprotectin.

Detekční limit testu Actim Calprotectin je 50 µg/g stolice. Při tomto bodě bylo 97 % výsledků pozitivních. Druhý modrý proužek se začne objevovat, když suspenze stolice obsahuje kalprotektin v koncentraci >200 µg/g stolice. Při tomto bodě bylo 90 % výsledků pozitivních. Tzv. „hook effect“ byl testován pomocí vzorku obsahujícího až 10 000 µg lidského kalprotektinu/ g stolice, test udával pokaždé pozitivní výsledek.

Opakovatelnost a reprodukovatelnost

Studie hodnotící přesnost testu ve smyslu opakovatelnosti a reprodukovatelnosti byly provedeny pomocí vzorků obsahujících 0–200 µg/l lidského kalprotektinu/g stolice. Opakovatelnost testu byla testována dvěma pracovníky obsluhy na třech různých šaržích testu Actim Calprotectin, a to v jednom dni pomocí 10 kopií vzorku, s celkovým počtem 120 testů na jednu šarži (360/3 šarže) za den. Shoda pro vzorky obsahující 50 µg lidského kalprotektinu/g stolice byla 97 % a pro vzorek obsahující 200 µg lidského kalprotektinu/g stolice byla shoda 97 %. Reprodukovatelnost testu byla testována na třech různých šaržích testu Actim Calprotectin, a to v pěti po sobě jdoucích pracovních dnech pomocí tří kopií vzorku, s celkovým počtem 180 testů na jednu šarži (540/3 šarže) za pět dní. Shoda pro vzorky obsahující 50 µg lidského kalprotektinu/g stolice byla 98 % a pro vzorek obsahující 200 µg lidského kalprotektinu/g stolice byla shoda 98 %.

Analytická specifita, zkřížená reaktivita

Test Actim Calprotectin byl testován pomocí lidského a hovězího transferinu a hemoglobinu zkřížené reaktivity. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita. Test Actim Calprotectin je specifický pro lidský kalprotektin.

Srovnání metody

Funkce testu Actim Calprotectin byla hodnocena testováním vzorků 100 pacientů testem Actim Calprotectin a měřením koncentrace kalprotektinu ze stejných suspenzí stolice pomocí testu Bühlmann iCAL ELISA. Hodnocení výsledků ukázalo, že výsledky testu Actim Calprotectin jsou srovnatelné s kvantitativním stanovením. Výsledky jsou uvedeny na obr. 1 na vnitřní straně zadního krytu.

BRUGSVEJLEDNING

Numrene ① - ⑧ henviser til illustrationerne på det indre omslag.

DIPSTICKENS OPBYGNING

① Dyppezone ② Resultatområde ③ Testlinjer ④ Kontrollinje

TILTÆNKT BRUG

Actim[®] Calprotectin-testen er en semikvantitativ immunkromatografisk strimmeltest, der fortolkes visuelt og anvendes til at bestemme og monitorere calprotectin-koncentrationerne i fæces. Testen er beregnet til professionel brug som hjælp ved diagnosticering af tarminflammation.

KIT-KOMPONENTER

Komponenterne i Actim Calprotectin er:

- Actim Calprotectin-dipsticks monteret i en perforerende enhed. Disse dipsticks (10) er pakket i en aluminiumsbeholder.
- Specimen Dilution Buffer (prøvefortyndingsrør) (3 ml). Denne Tris-bufferede opløsning indeholder BSA (bovine serum albumin), proteaseinhibitorer og < 0,1 % (vægt/volume) natriumazid (NaN₃). En prøveopsamlingske er monteret på låget af hvert glas.

Et kit 35032ETAC indeholder 2 aluminiumsrør med dipsticks (35061ETAC) og 20 prøvefortyndingsrør (35071ETAC).

En brugervejledning er tillige indeholdt i alle produktudgaver. Toilettepapir eller en egnet og ren opsamlingsbeholder er nødvendig for prøveopsamling (leveres ikke sammen med testen).

OPBEVARING

Opbevar dipstickene og Specimen Dilution Buffer (prøvefortyndingsrør) ved +2...+30 °C. Opbevaret uåbnet kan hver komponent bruges indtil udløbsdatoen markeret på komponenten. Efter første åbning af aluminiumsbeholderen kan dipstickene opbevares i indtil 4 måneder ved +2...+30 °C. Kittets udløbsdato må dog ikke på noget tidspunkt overskrides.

PRØVEOPSAMLING

Testmaterialet er en fæcessuspension, der er opblandet umiddelbart efter prøveopsamling. Den oprindelige fæcesprøve kan opbevares i op til 4 dage ved +2...+8 °C.

Skrub proppen af røret med fortyndingsbufferen. Tag en smule fæces, brug prøvetagningspinden, der sidder i skruelåget. Der er to slids i pindens ende. Indfør pinden flere steder i fæcesprøven, så disse riller fyldes med materiale. Ved prøveudtagning fra flydende prøvemateriale aftørres prøvetagningspinden med fx et stykke toilettepapir før den dypes i prøvematerialet. Slidserne på prøvetagningspinden vil fyldes med den flydende fæces.

Sæt prøvepinden i røret med Specimen Dilution Buffer ved at skubbe pinden gennem keglen. Ryst grundigt, så fæcesprøven opblandes godt med fortyndingsbufferen. Suspensionen er nu klar til analyse. Suspensionen er holdbar i en uge ved +2...+25 °C (det anbefales at opbevare ved +2...+8 °C).

TESTPROCEDURE OG RESULTATFORTOLKNING

1. Hvis aluminiumsbeholderen med strimlerne og bufferrøret opbevares på køl, skal den have stuetemperatur inden åbning. Udtag det nødvendige antal umiddelbart før brug, og luk beholderen igen med det samme. Berør ikke det gule område nederst på dipsticken. Berør ikke nogen del af dipstickens under stopkanten på denne, da det er den del af dipstickens, der kommer i kontakt med fæcessuspensionen. Identifikationsoplysninger kan anføres på den øverste blå-grå del af strimlerne.
2. Prøvesuspensionen skal have stuetemperatur ved analysering. Brug den skarpe spids på perforeringsenheden til at gennembryde perforeringsområdet i bunden af bufferrøret. **Skub derefter enheden ind i røret, indtil proppen hindrer den i at komme videre ⑤.**
3. Vend langsomt røret nedad én gang, og læg omgående røret på bordet i stående position ⑥. **BEMÆRK! Det er vigtigt, at røret ikke vendes om for pludseligt. Vend det om stille og roligt, så testen udføres korrekt. Ligeledes må røret ikke forblive i omvendt tilstand.**
4. Resultatet er tilgængeligt efter 10 minutter ⑦. **Eventuelle linjer, der opstår senere end efter 10 minutter, har ingen betydning.**
5. Hvis du ser følgende foruden den blå kontrollinje i den øverste del af resultatområdet:
 - **ingen andre blå linjer betyder**, at calprotectin-koncentrationen er **<50 µg pr. gram fæces**.
 - **en blå linje i den nederste del af resultatområdet betyder**, at calprotectin-koncentrationen er **50-200 µg pr. gram fæces**.
 - **to blå linjer betyder**, at calprotectin-koncentrationen er **>200 µg pr. gram fæces**.

Såfremt **kontrollinjen ikke** fremkommer er resultatet **ikke gyldigt** 8.

I tilfælde af manglende fremkomst af kontrollinje henvises til afsnittet vedrørende fejlfinding.

De blå linjers intensitet vil variere. Når calprotectin-koncentrationen er lav, kommer der kun en svag blå linje til syne foruden den blå kontrollinje efter 10 minutter. Efterhånden som calprotectin-koncentrationen bliver større, øges intensiteten af den første linje. Endnu en blå linje begynder at komme til syne, når calprotectin-koncentrationen overstiger 200 µg pr. gram fæces.

BORTSKAFFELSE AF PRØVERØR

Kontakten mellem dipsticken og låget på prøvefortyndingsrøret er så tæt, at enheden samlet kan kasseres efter analyse. Fjern ikke dipsticken fra låget.

TESTBEGRÆNSNINGER

Testen er kun beregnet til *in vitro* diagnostisk brug.

BEMÆRK!

- Testresultaterne er semikvantitative.
- Brug ikke en dipstick, der er blevet fugtig før brug, da fugt ødelægger dipsticken.
- Brug ikke en dipstick, hvis der er en blåfarvning i resultatfeltet.
- Berør ikke strimlens dyppefelt eller området ved perforeringsenheden under proppen.
- Vend ikke prøvesuspensionen for hurtigt eller for længe. Testen vil ikke fungere korrekt, hvis der absorberes for meget eller for lidt væske.
- Hvis en kontrollinje ikke fremkommer, kan vendingen af prøvefortyndingsrøret have været udført for hurtigt. Tag en ny dipstick og gentag vendingen som anført ovenfor.
- Ukorrekt prøveudtagning kan føre til forkerte resultater.
- Calprotectin fordeles ikke ligeligt i fæcesprøven. Det er derfor vigtigt at dyppe prøvepinden tilfældige steder i fæcesprøven.
- Fremkomst af en kontrollinje er en bekræftelse af testens korrekte udførelse. Såfremt en kontrollinje ikke fremkommer, er testresultatet ikke troværdigt, og testen bør udføres med anvendelse af en ny dipstick.
- Hvis resultatet ikke kan fortolkes klart (fx på grund af ujævn farvning eller lignende) anbefales det at gentage testen med en anden dipstick.

- Hvis der efter 10 minutter fremkommer en svag til mørk blå linje sammen med en kontrollinje, angiver dette et positivt resultat. Eventuelle linjer, der opstår senere end efter 10 minutter, har dog ingen betydning.
- Såfremt kun kontrollinjen er synlig ved 10 minutter, skal aflæsningen tolkes som negativ.
- Hvis farven på testlinjen ikke er blå, skal resultatet betragtes som ugyldigt, og testen bør gentages med en ny fæcesprøve.
- Som med alle diagnostiske tests skal resultatet vurderes i sammenhæng med andre kliniske fund.
- Alt biologisk materiale skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres og bortskaffes i overensstemmelse hermed og i henhold til lokale forskrifter.

METODEBESKRIVELSE

Calprotectin er et nedbrydningsprodukt fra neutrofile granulocytter i tyktarmens slimhinde. Det afgives i større mængder i tarmene, når der er inflammation i tyktarmen. Test af calprotectin i fæces kan anvendes som en hjælp til at skelne mellem inflammatoriske tarmsygdomme, såsom Crohns sygdom og colitis ulcerosa, og ikke-inflammatoriske tarmsygdomme, såsom irritable tyktarm. En sådan test kan ligeledes anvendes til at bestemme sygdomsaktiviteten og monitorere responsen på behandlingen hos patienter med colitis ulcerosa eller Crohns sygdom.

Testen er baseret på immunkromatografi. Den anvender monoklonale antistoffer til humant calprotectin. Antistofferne er bundet til blå latexpartikler (sporingstoffet). I bæremembranen er der to calprotectin-specifikke antistofområder, som de blå latexpartikler vil binde sig til, hvis prøven indeholder calprotectin.

Når fæcessuspensionen kommer i kontakt med strimlens dyppeområde, absorberer strimlen væske, som begynder at flyde op i strimlen. Hvis prøven indeholder calprotectin, bindes det til antistofferne, som er knyttet til latexpartiklerne. Partiklerne bæres af væskestrømmen, og hvis calprotectin er bundet til dem, bindes de til de tilsvarende fangende antistofområder. Hvis prøven indeholder >200 µg calprotectin pr. gram fæces, kommer der to blå linjer til syne. En blå kontrollinje bekræfter, at testen er korrekt udført.

TESTENS YDEEVNE

Analytisk sensitivitet

Actim Calprotectin-testens analytiske sensitivitet, sporingsgrænsen, blev vurderet af to operatører ved hjælp af prøver med forskellige koncentrationer af humant calprotectin svarende til 12,5-10.000 µg af calprotectin/g af fæces på tre forskellige partier i Actim Calprotectin-testen.

Sporingsgrænsen for Actim Calprotectin er 50 µg/g af fæces. Her var 97 % af resultaterne positive. Den anden blå linje begynder at komme til syne, når fæcessuspensionen indeholder calprotectin > 200 µg/g af fæces. Her var 90 % af resultaterne positive. Hook-effekten er testet med en prøve, der indeholder op til 10.000 µg humant calprotectin/g af fæces, hvilket konsekvent giver det positive resultat.

Repetérbarhed og reproducerbarhed

Analysens nøjagtighed med hensyn til repetérbarhed og reproducerbarhed blev vurderet ved hjælp af prøver, der indeholdt 0-200 µg humant calprotectin/g af fæces. Prøvernes repetérbarhed blev testet af to operatører på den samme dag ved hjælp af 10 replikater per prøve på tre forskellige partier af Actim Calprotectin, så det samlede antal test på én dag var 120 test/parti (360/3 partier). Overensstemmelsen for de prøver, der indeholdt 50 µg humant calprotectin/g af fæces, var 97 % og 97 % for den prøve, der indeholdt 200 µg humant calprotectin/g af fæces. Prøvernes reproducerbarhed blev testet fem arbejdsdage i træk ved hjælp af tre replikater pr. prøve på tre forskellige partier af Actim Calprotectin, så det samlede antal test på fem dage var 180/parti (540/3 partier). Overensstemmelsen for de prøver, der indeholdt 50 µg humant calprotectin/g af fæces, var 98 % og 98 % for den prøve, der indeholdt 200 µg humant calprotectin/g af fæces.

Analytisk specificitet, krydsreaktivitet

Actim Calprotectin-testen er testet for krydsreaktivitet med humant og bovint transferrin og hæmoglobin. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet. Actim Calprotectin-testen er specifik for humant calprotectin.

Metodesammenligning

Actim Calprotectin-testens funktion blev evalueret ved at teste 100 patientprøver med Actim Calprotectin og måle calprotectin-koncentrationen fra de samme fækale suspensioner af Bühlmann fCAL ELISA. Evalueringen af resultaterne viste, at Actim Calprotectin-resultaterne kan sammenlignes med den kvantitative måling. Resultaterne er vist i FIG 1 på omslagets indvendige bagside.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Die Nummern ① - ⑧ beziehen sich auf die Abbildungen auf der inneren Umschlagseite.

AUFBAU DES TESTSTREIFENS

① Eintauchbereich ② Testfeld ③ Testlinien ④ Kontroll-Bande

VERWENDUNGSZWECK

Der Actim® Calprotectin Test ist ein visuell auswertbarer, semiquantitativer, immunchromatographischer Test mit Teststreifen zur Bestimmung und Überwachung von Calprotectin-Konzentrationen im Stuhl. Der Test ist für den professionellen Gebrauch zur Diagnose von Darmentzündungen vorgesehen.

KOMPONENTEN DER TESTPACKUNG

Der Actim Calprotectin-Test besteht aus folgenden Komponenten:

- Actim Calprotectin-Teststreifen in einer Perforationsvorrichtung. Die Teststreifen (10) sind in einem Aluminiumbehälter verpackt.
- Röhrchen mit Probenverdünnungspuffer (Specimen Dilution Buffer, 3 ml). Diese dreifach gepufferte Lösung enthält bovines Serumalbumin (RSA), Protease-Inhibitoren und <math><0,1\% \text{ [m/V]}</math> Natriumazid (NaN_3). Im Deckel jedes Probenverdünnungsröhrchens befindet sich ein Stäbchen zur Probennahme.

Im Kit 35032ETAC sind zwei Aluminiumbehälter mit Teststreifen-Vorrichtungen (35061ETAC) und 20 Röhrchen mit Probenverdünnungspuffer enthalten (35071ETAC).

Eine Gebrauchsanweisung wird für alle Packungsformen mitgeliefert. Weiter werden für die Probennahme ein sauberes Einweg-Probensammelgefäß bzw. Toilettenpapier benötigt (im Kit nicht enthalten).

LAGERUNG UND STABILITÄT

Alle Komponenten sind bei +2 bis +30 °C zu lagern und können ungeöffnet bis zum Verfallsdatum, das auf dem Außenetikett angegeben ist, verwendet werden. Nach dem ersten Öffnen des Aluminiumbehälters können die Teststreifen 4 Monate bei +2 bis +30 °C aufbewahrt werden, das Verfallsdatum darf jedoch nicht überschritten werden.

PROBENNAHME

Als Probe dient eine Stuhlsuspension, die unverzüglich nach Probennahme herzustellen ist. Die Originalstuhlprobe kann für 4 Tagen bei +2 bis +8 °C aufbewahrt werden.

Deckel des Probenverdünnungsröhrchens abschrauben. Mit dem am Verschluss befestigten Teststäbchen eine Stuhlprobe entnehmen. Am Probennahmestäbchen befinden sich zwei kleine Einkerbungen. Durch Drehen des Teststäbchens in verschiedenen Stellen der Stuhlprobe nach dem Zufallsprinzip beide Einkerbungen ausfüllen. Bei flüssigen Proben das Stäbchen durch Abwischen z. B. an Toilettenpapier trocknen, bevor es in die Probe gedreht wird. Die Einkerbungen des Stäbchens füllen sich mit dem flüssigen Stuhl.

Den Probestab durch den Stopfen hindurch in das Röhrchen mit dem Proben-Verdünnungspuffer einführen. Sorgfältig den Verschluss schließen und Röhrchen schütteln, um die Probe mit dem Verdünnungsmittel zu mischen. Die Probensuspension ist testbereit. Die Suspension kann eine Woche bei +2 bis +25 °C gelagert werden (Empfehlung +2 bis +8 °C).

TESTDURCHFÜHRUNG UND RESULTATINTERPRETATION

1. Wenn der Test gekühlt gelagert wurde, warten Sie, bis der Aluminiumbehälter mit den Teststreifen und das Pufferröhrchen Raumtemperatur erreicht haben, bevor Sie sie öffnen. Anschließend benötigte Testvorrichtung unmittelbar vor der Verwendung entnehmen. Das Aluminiumröhrchen sofort wieder verschließen. Der untere gelbe Bereich der Testvorrichtung darf nicht berührt werden, Gleiches gilt für den Teil der Vorrichtung unterhalb des Stoppers. Der obere blau-graue Bereich des Teststreifens kann zur Kennzeichnung verwendet werden.
2. Zum Testen muss die extrahierte Probensuspension Raumtemperatur erreicht haben. Den Perforationsbereich am Boden des Pufferröhrchens mit der scharfen Spitze der Perforationsvorrichtung punktieren und **dann die Vorrichtung in das Röhrchen schieben, bis der Anschlag ein tieferes Einschieben verhindert** ⑤.
3. Das Röhrchen langsam einmal auf den Kopf drehen und dann sofort aufrecht auf den Tisch stellen ⑥. **HINWEIS! Das Umdrehen des Röhrchens darf nicht zu abrupt geschehen, ein vorsichtiges Umdrehen ist entscheidend für die richtige Durchführung des Tests. Außerdem darf das Röhrchen nicht in umgedrehter Position bleiben.**

4. Das Ergebnis liegt nach **10 Minuten** vor **7. Linien, die nach mehr als 10 Minuten erscheinen, haben keine Aussagekraft.**

5. Wenn Sie zusätzlich zur blauen Kontrolllinie im oberen Teil des Ergebnisbereiches:

- **keine weitere blaue Linie sehen**, liegt die Calprotectin-Konzentration bei **< 50 µg/g in der Stuhlprobe.**
- **eine blaue Linie im unteren Teil des Ergebnisbereichs sehen**, beträgt die Calprotectin-Konzentration **50-200 µg/g in der Stuhlprobe.**
- **zwei blaue Linie sehen**, liegt die Calprotectin-Konzentration bei **>200 µg/g in der Stuhlprobe.**

Wenn **keine Kontrollbande erscheint**, ist der Test **ungültig** ⑧.

Wenn die Kontrollbande fehlt, ziehen Sie bitte den Abschnitt „Hinweise“ zur Problemlösung zu Rate.

Die Intensitäten der blauen Linien variieren. Wenn die Calprotectin-Konzentration niedrig ist, erscheint nur eine schwache blaue Linie zusammen mit der blauen Kontrolllinie nach 10 Minuten. Wenn die Calprotectin-Konzentration ansteigt, steigt auch die Intensität der ersten Linie. Eine zweite blaue Linie erscheint, wenn die Calprotectin-Konzentration 200 µg/g in der Stuhlprobe übersteigt.

BESEITIGUNG DER TESTVORRICHTUNG

Das Stäbchen aus dem Verschlussstück nicht wieder entfernen. Durch die Verbindung des Probenverdünnungspuffer-Verschlusses mit der Testvorrichtung ist nach Erhalt des Ergebnisses eine hygienisch saubere Entsorgung gewährleistet.

TESTEINSCHRÄNKUNGEN

Der Test ist nur zur *in vitro*-Diagnostik zu verwenden.

HINWEISE

- Die Testergebnisse sind semiquantitativ.
- Keine Teststreifen verwenden, die feucht geworden sind.
- Bei einer Blaufärbung des Testfelds vor Testbeginn darf der Teststreifen nicht mehr verwendet werden.
- Berühren Sie nicht den Eintauchbereich des Teststreifens oder den Bereich der Perforationsvorrichtung unterhalb des Anschlags.

- Beim Invertieren des Probenextraktionsbehälters darauf achten, dass dies weder zu schnell noch zu lange geschieht. Die aufgenommene Probenmenge sollte weder zu groß noch zu gering sein, um die einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen.
- Wenn die Kontrollbande nicht angezeigt wird, könnte das Invertieren des Probenröhrchens zu abrupt erfolgt sein. Nehmen Sie ein neues Teststäbchen und wiederholen Sie das Invertieren kontrollierter.
- Sorgfältige Probennahme ist Voraussetzung für richtige Ergebnisse.
- Calprotectin ist in der Stuhlprobe nicht einheitlich verteilt. Deswegen ist es wichtig, den Probestab zufällig in mehrere Stellen der Stuhlprobe einzutauchen.
- Die Kontrollbande beweist dass der Test einwandfrei abgelaufen ist und richtig durchgeführt wurde. Wird keine Kontrollbande sichtbar, ist der Test ungültig und sollte mit einem neuen Teststreifen wiederholt werden.
- Ist die Interpretation des Tests unklar (z. B. gestrichelte oder punktierte Banden), muss der Test mit einem neuen Teststreifen wiederholt werden.
- Wenn nach zehn Minuten eine schwach bis stark sichtbare blaue Testlinie zusammen mit einer schwarzen Kontrolllinie sichtbar wird, ist das Ergebnis positiv. Linien, die nach mehr als 10 Minuten erscheinen, haben allerdings keine Aussagekraft.
- Wenn nur die Kontrollbande sichtbar ist, darf ein negatives Testergebnis nur nach Ablauf von 10 Minuten festgestellt werden.
- Wenn die Farbe der Testlinie nicht blau ist, muss das Ergebnis als ungültig angesehen und der Test mit einer neuen Stuhlprobe wiederholt werden.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen alle anderen klinischen Befunde des Patienten berücksichtigt werden.
- Alle biologischen Proben und Materialien sind nach Gebrauch in der für potenziell infektiöses Material vorgeschriebenen Weise zu entsorgen.

TESTPRINZIP

Calprotectin ist ein Abbauprodukt der neutrophilen Granulozyten in der Schleimhaut des Dickdarms. Es wird bei einer Darmentzündung übermäßig in den Darm abgegeben. Der Calprotectin-Test im Stuhl kann zur Abgrenzung einer entzündlichen Darmerkrankung wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa von einer nicht entzündlichen Darmerkrankung wie Reizdarmsyndrom verwendet werden. Außerdem kann er verwendet werden, um die Krankheitsaktivität festzustellen und das Ansprechen auf die Behandlung bei Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zu überwachen.

Der Test basiert auf Immunchromatographie. Dabei werden monoklonale Antikörper gegen humanes Calprotectin verwendet. Antikörper sind an blaue Latexpartikel gebunden (Nachweismarkierung). In der Trägermembran gibt es zwei Calprotectin-spezifische Antikörperbereiche, an die die blauen Latexpartikel binden, wenn die Probe Calprotectin enthält.

Wenn die Stuhlsuspension mit dem Eintauchbereich des Teststreifens in Kontakt kommt, absorbiert der Teststreifen die Flüssigkeit, die am Teststreifen aufsteigt. Enthält die Probe Calprotectin, bindet dies an die Antikörper, die wiederum an die Latexpartikel gebunden sind. Die Partikel werden im Flüssigkeitsfluss mitgetragen. Wenn Calprotectin an die Partikel gebunden ist, binden diese an die entsprechenden auffangenden Antikörperbereiche. Wenn die Calprotectin-Konzentration bei $> 200 \mu\text{g/g}$ Stuhl liegt, erscheinen zwei blaue Linien. Eine blaue Kontrolllinie bestätigt, dass der Test richtig durchgeführt wurde.

NACHWEISVERMÖGEN DES TESTS

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität bzw. Nachweisgrenze des Actim Calprotectin Tests wurde von zwei Anwendern anhand von Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen an humanem Calprotectin, die den $12,5 - 10.000 \mu\text{g}$ von Calprotectin/g Stuhl entsprechen, an drei verschiedenen Chargen des Actim Calprotectin Tests bewertet.

Die Nachweisgrenze von Actim Calprotectin liegt bei $50 \mu\text{g/g}$ Stuhlprobe. Zu diesem Zeitpunkt waren 97% der Ergebnisse positiv. Die zweite blaue Linie erscheint, wenn das im Stuhl gelöste Calprotectin $> 200 \mu\text{g/g}$ Stuhl entspricht. Zu diesem Zeitpunkt waren 90% der Ergebnisse positiv. Der Hook-Effekt wurde mit einer Probe getestet, die bis zu $10.000 \mu\text{g/l}$ humanes Calprotectin/g Stuhl enthielt. Das Ergebnis war stets positiv.

Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Die Intra-Assay-Präzision (Wiederholbarkeit) und Inter-Assay-Präzision (Reproduzierbarkeit) wurden mithilfe von Proben mit $0 - 200 \mu\text{g}$ humanem Calprotectin/g Stuhl bewertet. Zur Kontrolle der Wiederholbarkeit wurden die Proben von zwei Anwendern an einem Tag mit 10 Wiederholungen pro Probe mit drei verschiedenen Chargen des Actim Calprotectin getestet. Insgesamt wurden 120 Tests/Charge (360/3 Chargen) an einem Tag durchgeführt. Die Übereinstimmung der Tests, die $50 \mu\text{g}$ an humanem Calprotectin/g Stuhl enthielten, lag bei 97% und der Tests, die $200 \mu\text{g}$ an humanem Calprotectin/g Stuhl enthielten, bei 97%. Zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit wurden die Proben an fünf aufeinanderfolgenden Arbeitstagen mit drei Wiederholungen pro Probe mit drei verschiedenen Chargen des Actim Calprotectin Tests getestet. Insgesamt wurden 180 Tests/Charge (540/3 Chargen) an fünf Tagen durchgeführt. Die Übereinstimmung der Tests, die $50 \mu\text{g}$ an humanem Calprotectin/g Stuhl enthielten, lag bei 98% und der Tests, die $200 \mu\text{g}$ an humanem Calprotectin/g Stuhl enthielten, bei 98%.

Analytische Spezifität, Kreuzreaktivität

Der Actim Calprotectin Test wurde auf Kreuzreaktivität mit humanen und bovinen Transferrin und Hämoglobin getestet. Es wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet. Der Actim Calprotectin Test ist spezifisch für das humane Calprotectin.

Methodenvergleich

Die Funktion des Actim Calprotectin Tests wurde anhand der Prüfung von 100 Patientenproben mit Actim Calprotectin und der Messung der Calprotectin-Konzentration bei gleichen Fäkalsuspensionen durch Bühlmann fCAL ELISA bewertet. Die Bewertung zeigte, dass die Ergebnisse des Actim Calprotectin-Tests vergleichbar mit den quantitativen Messwerten sind. Die Ergebnisse sind in ABB. 1 auf der hinteren Umschlagseite innen dargestellt.

INSTRUCCIONES DE USO

Los números del ① - ⑧ se refieren a las ilustraciones en la cubierta interior.

ESTRUCTURA DE LA TIRA

① Área sumergible ② Área de resultados ③ Líneas de prueba ④ Línea control

USO RECOMENDADO

Actim® Calprotectin es un test inmunocromatográfico semicuantitativo en tira reactiva de interpretación visual que se utiliza para determinar y supervisar las concentraciones de calprotectina en las heces. El test se ha desarrollado para uso profesional para ayudar al diagnóstico de la inflamación intestinal.

COMPOSICIÓN DEL KIT

Los componentes de Actim Calprotectin son:

- La tira rápida Actim Calprotectin en elemento perforante. Éstas [10] están empaquetadas en un recipiente de aluminio.
- Tampón de dilución de Muestra (3 ml). Esta solución salina tamponada contiene albuminas de suero bovino (BSA), inhibidores de la proteasa y <0.1 % (w/v) azida de sodio (NaN₃). Cada tapón de los tubos, lleva incorporado un palillo para la toma de muestra.

El kit 35032ETAC contiene 2 tubos de aluminio de tiras rápidas [35061ETAC] y 20 tubos de tampón de dilución [35071ETAC].

Un folleto de instrucciones está incluido en todos los formatos de productos. Un papel o container para desechos es necesario para la recogida de muestra [no suministrado con el kit].

ALMACENAJE

Almacenar las tiras y el tampón de dilución de muestras refrigeradas a +2...+30 °C. Almacenadas en el envase sin abrir, los componentes pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de cada componente. Después de abrir el envase por primera vez, las tiras pueden almacenarse durante 4 meses a +2...+30 °C. Sin embargo no debe excederse la fecha de caducidad.

TOMA DE MUESTRA

La muestra es una suspensión de heces preparada lo antes posible tras su recolección. La muestra de heces original se puede mantener durante 4 días entre +2...+8 °C.

Retirar el tapón del tubo de tampón de dilución de muestra. Recoja la muestra mediante el aplicador incorporado en el tapón. El extremo del aplicador contiene 2 ranuras. Rotar este extremo en diferentes áreas de la muestra hasta que ambas ranuras estén completamente llenas de muestra. En el caso de muestras líquidas, seque la tira con papel antes de sumergirla en la muestra. De esta manera, el extremo de la tira se impregnará con las heces líquidas.

Coloque la tira de muestras en el tubo de la solución tampón de dilución de muestras empujando la tira a través del cono. Cerrar el tapón firmemente y agitar el tubo para suspender las heces en el tampón. La suspensión de muestra está lista para su uso. Esta suspensión puede almacenarse durante una semana a +2...+8 °C o a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. Si el kit se almacena refrigerado, deje que el envase de las varillas y el tubo de la solución tampón alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlo. Extraer el número de elementos perforantes (cada uno conteniendo una tira) necesarios justo antes de utilizarlos y volverlo a cerrar inmediatamente. No tocar la zona amarilla del extremo de la tira. No tocar el extremo perforante del elemento ya que esta parte se pondrá en contacto con la muestra. Los datos de identificación pueden anotarse en las zonas superiores de color gris azulado de las tiras reactivas.
2. Dejar que la muestra alcance la temperatura ambiente antes de realizar el ensayo. Utilice la punta afilada del dispositivo de perforación para penetrar la zona de perforación en la parte inferior del tubo de la solución tampón **y, a continuación, introduzca el dispositivo en el tubo hasta que el tapón bloqueador lo permita ⑤.**
3. Invierta el tubo lentamente cabeza abajo una vez e, inmediatamente, póngalo sobre la mesa en posición vertical ⑥. **NOTA! Es importante que el movimiento de inversión no sea demasiado brusco. Para que el test funcione correctamente, es esencial que la inversión se haga con suavidad. Además, el tubo no debe permanecer cabeza abajo.**
4. El resultado está disponible a los **10 minutos ⑦. No tenga en cuenta las líneas que aparezcan pasados 10 minutos.**

5. Si, además de la línea de control azul de la parte superior del área de resultados, ve lo siguiente:

- **ninguna otra línea azul**, la concentración de calprotectina es de **<50 µg/g de heces**.
- **una línea azul en la parte inferior del área de resultados**, la concentración de calprotectina es de **50-200 µg/g de heces**.
- **dos líneas azules**, la concentración de calprotectina es de **>200 µg/g de heces**.

Si la línea control no aparece, el test es **inválido** ⑧.

En caso de falta de la línea de control, por favor refiérase a la Sección de resolución de problemas.

Las intensidades de las líneas azules varían. Si la concentración de calprotectina es baja, a los 10 minutos solo aparece una línea azul pálida además de la línea de control azul. A medida que la concentración aumenta, también aumenta la intensidad de la primera línea. Empieza a aparecer una segunda línea azul cuando la concentración de calprotectina supera los 200 µg/g de heces.

DESECHO DEL TEST

El contacto entre el tubo de tampón de dilución de muestra y el elemento perforante es tan estrecho que puede desecharse directamente el conjunto después de leer los resultados. No retirar el elemento perforante del tapón del tubo.

LIMITACIONES DEL TEST

El test está diseñado para uso diagnóstico *in vitro* únicamente.

NOTAS

- Los resultados del test son semicuantitativos.
- No utilizar una tira que haya sido humedecida anteriormente, ya que la humedad daña la tira.
- No utilizar una tira en la que se aprecie una coloración azulada antes de realizar el test.
- No tocar la parte sumergible de la tira reactiva o la zona del dispositivo de perforación más abajo del tapón.
- No invertir el tubo demasiado rápido o durante demasiado tiempo. El test no

funcionará correctamente si la cantidad de líquido absorbido es demasiado pequeña o demasiado grande.

- Si la línea de control no aparece, la inversión del tubo de muestra ha sido realizada demasiado abruptamente. Utilice una nueva tira y repita la inversión más suavemente.
- Una recogida de muestra incorrecta puede conllevar un falso resultados.
- La calprotectina no se distribuye uniformemente en la muestra de heces. Por lo tanto, es importante sumergir la tira reactiva de muestra de forma aleatoria en varias zonas de la muestra de heces.
- La aparición de la línea de control confirma el correcto funcionamiento del test. Si no aparece la línea de control, el test debe considerarse inválido y debe repetirse utilizando otra tira.
- Si el test no puede interpretarse claramente (por ejemplo si las líneas aparecen muy juntas o no se perciben bien), se recomienda repetir el test con otra tira.
- A lo diez minutos, la aparición de cualquier línea azul de pálida a oscura junto con una línea de control indica un resultado positivo. Sin embargo, no preste atención a ninguna línea que aparezca pasados 10 minutos.
- Si sólo es visible la línea de control, el resultado debería ser interpretado como negativo pasado sólo los 10 minutos.
- Si el color de la línea de la prueba no es azul, el resultado deberá considerarse inválido y la prueba deberá repetirse con una nueva muestra de heces.
- Como en cualquier otro test diagnóstico, los resultados deben interpretarse de acuerdo a otras evidencias clínicas.
- Todas las muestras biológicas y materiales deben manipularse como potencialmente peligrosos, y deben ser desechados de acuerdo a las normativas locales vigentes.

PRINCIPIO DEL TEST

La calprotectina es un producto de degradación de los granulocitos neutrófilos de la capa mucosa del colon. Cuando hay una inflamación del colon, se libera en exceso en los intestinos. Los test de calprotectina fecal se pueden utilizar para ayudar a distinguir las enfermedades intestinales inflamatorias, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, de las enfermedades intestinales no inflamatorias, como el síndrome del intestino irritable. También se puede usar para determinar la actividad de la enfermedad y supervisar la respuesta al tratamiento en pacientes con colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

El test se basa en inmunocromatografía. Se utilizan dos anticuerpos monoclonales a la calprotectina humana. Los anticuerpos están fijados a partículas de látex de color azul (el marcador de detección). En la membrana transportadora hay dos zonas específicas de anticuerpos de calprotectina a las que se fijan las partículas de látex azul si la muestra contiene calprotectina.

Cuando la suspensión fecal entra en contacto con el área de inmersión de la tira reactiva, la tira absorbe el líquido que empieza a subir por ella. Si la muestra contiene calprotectina, se fija a los anticuerpos ligados a las partículas de látex. El flujo de líquido transporta las partículas y, si están fijadas a calprotectina, se fijan a las zonas de anticuerpos de captura correspondientes. Si la muestra contiene > 200 µg de calprotectina por gramo de heces, aparecen dos líneas azules. Una línea de control azul confirma la correcta realización del test.

RENDIMIENTO DEL TEST

Sensibilidad analítica

Dos operadores evaluaron la sensibilidad analítica, el límite de detección de la prueba Actim Calprotectin, usando muestras con diferentes concentraciones de calprotectina humana correspondiente a 12.5 – 10 000 µg de calprotectina por gramo de heces en tres lotes diferentes del test Actim Calprotectin.

El límite de detección del Actim Calprotectin es de 50 µg por gramo de heces. En este punto, el 97 % de los resultados fueron positivos. La segunda línea azul comienza a aparecer cuando la suspensión de heces es de >200 µg de calprotectina por gramo de heces. En este punto, el 90 % de los resultados fue positivo. Se ha probado el efecto gancho con muestras que contienen hasta 10 000 mg de calprotectina humana por gramo de heces, dando sistemáticamente el resultado positivo.

Repetibilidad y reproducibilidad

Se evaluaron ensayos de precisión intra (repetibilidad) e inter (reproducibilidad) usando muestras que contenían 0 – 200 µg de calprotectina humana por gramo de heces. Para repetibilidad, dos operadores probaron las muestras el mismo día usando 10 réplicas por muestra en tres lotes diferentes de Actim Calprotectin, siendo la cantidad total de 120 pruebas por lote (360/3 lotes) en un día. El acuerdo para las muestras que contenían 50 µg de calprotectina por gramo de heces fue del 97 % para la muestra; conteniendo 200 µg de calprotectina humana por gramo de heces fue del 97 %. Para reproducibilidad, se probaron las muestras en cinco días laborables consecutivos usando tres réplicas por muestra en tres lotes diferentes de Actim Calprotectin, siendo la cantidad total 180 pruebas por lote (540/3 lotes) en cinco días. El acuerdo para las muestras que contenían 50 µg de calprotectina por gramo de heces fue 98 % y la para muestra conteniendo 200 µg de calprotectina humana por gramo de heces fue 98 %.

Especificidad analítica, reactividad cruzada

El test Actim Calprotectin se ha probado con reactividad cruzada de hemoglobina y transferrina humana y bovina. No se observó reactividad cruzada. El test Actim Calprotectin es específico para la calprotectina humana.

Comparación de métodos

La función del test Actim Calprotectin se evaluó examinando 100 muestras de pacientes con Actim Calprotectin y midiendo la concentración de calprotectina de las mismas suspensiones fecales de Bühlmann fCAL ELISA. La evaluación de los resultados mostró que los resultados de Actim Calprotectina son comparables con las medidas cuantitativas. Los resultados se muestran en la FIG 1 en la cubierta trasera interior.

KÄYTTÖOHJE

Numerot ① - ⑧ viittaavat sisäkannen kuviin.

TESTITIKUN RAKENNE

① Kastamisalue ② Tulosalue ③ Testiviivat ④ Kontrolliviiva

KÄYTTÖTARKOITUS

Actim[®] Calprotectin testi on visuaalisesti tulkittava, semikvantitatiivinen immunokromatografinen tikkutesti kalprotektiinipitoisuuksien määrittämiseen ja seurantaan ulostenäytteestä. Testi on tarkoitettu ammattikäyttöön auttamaan suolistotulehduksen diagnosoinnissa.

TESTIPAKKAUKSEN KOMPONENTIT

Actim Calprotectin -testi koostuu seuraavista komponenteista:

- Pistimessä oleva Actim Calprotectin -testitikka. Testitikut (10) on pakattu alumiinipurkkiin.
- Näytteenlaimennuspuskuri (3 ml). Liuos on Tris-puskuroitu ja sisältää nautan seerumin albumiinia (BSA), proteaasi-inhibiittoreita ja alle 0,1 % (w/v) natriumatsidia [NaN₃]. Kunkin näytteenlaimennuspukuriputken korkissa on näytteenottotikka.

Testipakkaus 35032ETAC sisältää 2 alumiinipurkkia testitikuineen (35061ETAC) ja 20 näytteenlaimennuspukuriputkea (35071ETAC).

Kukin tuotemuoto sisältää myös käyttöohjeen. Näytteenottoa varten tarvitaan lisäksi wc-paperia tai puhdas astia (esimerkiksi kertakäyttöpurkki), joita ei ole pakkauksessa mukana.

SÄILYTYS

Testitikut ja näytteenlaimennusputket säilytetään +2...+30 °C:ssä. Testin komponentit säilyvät avaamattomina kullekin komponentille ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Testitikuja voi säilyttää 4 kuukautta +2...+30 °C:ssä purkin ensimmäisen avaamisen jälkeen, ei kuitenkaan viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

NÄYTTEEN OTTAMINEN

Näytteenä on ulostesuspensio, joka tehdään mahdollisimman tuoreesta ulostenäytteestä. Alkuperäistä ulostenäytettä voidaan säilyttää 4 vuorokautta lämpötilassa +2...+8 °C.

Kierrä näytteenlaimennusputken korkki auki. Ota ulostetta korkkiin kiinnitetyllä näytteenottotikulla. Tikun päässä on kaksi lovea näytettä varten. Pyöritä tikku näytteen eri kohdissa siten, että molempiin loviin jää ulostetta. Jos näyte on nestemäistä, kuivaa näytteenottotikka esimerkiksi WC-paperiin ennen näytteeseen pistämistä. Näytteenotossa tikun lovet täyttyvät nestemäisestä ulosteesta.

Laita näytteenottotikka näytteenlaimennuspukuriputken työntämällä tikku kartion lävitse. Sulje korkki huolellisesti ja ravista putkea, jotta näyte sekoittuisi näytteenlaimennuspuskuriin. Näytesuspensio on nyt valmiina testattavaksi. Suspensiota voi säilyttää viikon lämpötilassa +2...+25 °C (suositeltavin säilytyslämpötila on +2...+8 °C).

TESTIN SUORITUS JA TULOSTEN TULKINTA

1. Jos testipakkausta säilytetään jääkaapissa, anna testitikkujen alumiinipurkin ja pukuriputken lämmentä huoneenlämpöiseksi ennen avaamista. Ota tarvitsemasi määrä testitikuja juuri ennen käyttöä ja sulje alumiinipurkki välittömästi. Älä koske testitikun keltaiseen alueeseen äläkä pistimessä olevan rajoittimen alapuolella olevaan osaan, koska ne tulevat olemaan kosketuksissa näytteen kanssa. Tunnistemerkit voidaan kirjoittaa testitikkujen siniharmaisiin osiin.
 2. Suorita testaus huoneenlämpöiselle näytteelle. Puhkaise pukuriliuosputken pohjan lävistysalue pistimen terävällä kärjellä ja **työnnä tikku putkeen niin pitkälle kuin pysäytin sallii ⑤**.
 3. Käännä putki ylös alaisin rauhallisesti ja laita putki sen jälkeen pystyasentoon ⑥. **HUOM! On tärkeää, ettei putkea käännetä liian voimakkaasti, vaan että kääntäminen tehdään rauhallisella ranneliikkeellä. Putken ei tule myöskään antaa jäädä ylösalaisin.**
 4. Tulos on käytettävissä **10 minuutissa ⑦**. Älä kiinnitä huomiota viivoihin, jotka ilmestyvät näkyviin 10 minuutin aikajakson jälkeen.
 5. **Jos tulosalueen yläosassa olevan sinisen kontrolliviivan lisäksi näkyy seuraavaa:**
 - ei muita sinisiä viivoja = kalprotektiinipitoisuus on alle **50 µg/g ulosteessa**
 - yksi sininen viiva tulosalueen alaosassa = kalprotektiinipitoisuus on **50–200 µg/g ulosteessa**
 - kaksi sinistä viivaa = kalprotektiinipitoisuus on **yli 200 µg/g ulosteessa**.
- Jos **kontrolliviiva ei ilmesty**, testi on **mitätön ⑧**.

Jos kontrolliviiva ei ilmesty, katso Huomautuksia-kappaleesta mahdollisia syitä tähän.

Sinisten viivojen tummuus saattaa vaihdella. Kun kalprotektiinipitoisuus on pieni, 10 minuutissa tulee sinisen kontrolliviivan lisäksi näkyviin vain yksi heikko sininen viiva. Kalprotektiinipitoisuuden kasvaessa ensimmäisen viivan tummuus lisääntyy. Toinen sininen viiva alkaa tulla näkyviin, kun kalprotektiinipitoisuus on yli 200 µg/g ulosteessa.

TESTATUN PURKIN HÄVITYS

Kun olet testannut näyteen, älä ota testitikkupistintä pois korkista vaan hävitä näyte sellaisenaan. Putki on tiivis hävitettäväksi näin.

TESTIN RAJOITUKSET

Testi on tarkoitettu vain *in vitro*-diagnostiseen käyttöön.

HUOMAUTUKSIA

- Testitulokset ovat semikvantitatiivisia.
- Älä käytä testitikkua, joka on kastunut, sillä kosteus vahingoittaa tikkua.
- Älä käytä testitikkua, jossa tulosalueella näkyy sinistä jo ennen testin suorittamista.
- Älä koske testitikin kastamisalueeseen tai pistimen pysäyttimen alapuolella olevaan osaan.
- Kun imeytät näytettä testitikkuun, älä käännä ulostesuspensioputkea liian nopeasti äläkä liian kauan. Testi ei toimi kunnolla, jos imeytynyt näytemäärä on liian pieni tai liian suuri.
- Jos kontrolliviiva jää ilmestymättä, saattaa olla, että ulostesuspensioputki on käännetty liian äkillisesti. Ota uusi testitikka ja suorita kääntö kontrolloidusti uudelleen.
- Virheellinen näyteenotto voi johtaa väärään tulokseen.
- Kalprotektiini ei ole jakautunut tasaisesti ulostenäytteeseen. Siksi on tärkeää, että näyteenottotikka kastetaan satunnaisesti useisiin kohtiin ulostenäytteessä.
- Kontrolliviivan muodostuminen osoittaa, että testi on toiminut ja suoritettu oikein. Jos kontrolliviivaa ei näy, testi on mitätön ja se tulisi uusida uudella testitikulla.

- Mikäli tuloksen tulkinta on epäselvä (esimerkiksi epäyhtenäiset tai pistemäiset viivat), suosittelemme testin toistamista uudella testitikulla.
- Jos kymmenen minuutin kuluessa on tullut näkyviin minkä tahansa vahvuinen (vaalea tai tumma) sininen viiva yhdessä kontrolliviivan kanssa, tulos on positiivinen. Älä kuitenkaan kiinnitä huomiota viivoihin, jotka ilmestyvät näkyviin 10 minuutin aikajakson jälkeen.
- Jos vain kontrolliviiva on näkyvissä, tulee tulos tulkita negatiiviseksi vasta kun 10 minuuttia on kulunut.
- Jos testiviivan väri ei ole sininen, tulos tulee todeta mitättömäksi ja testi on toistettava uudella ulostenäytteellä.
- Tuloksia tulkitessa tulee ottaa huomioon potilaan muut kliiniset tiedot.
- Kaikkia biologisia näytteitä ja materiaaleja on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina, ja ne on hävitettävä paikallisten määräysten mukaan.

TESTIN PERIAATE

Kalprotektiini on koolonin limakalvon neutrofiilisten granulosyyttien hajoamistuote. Sitä erittyy suolistoon runsaasti paksusuolitulehduksen yhteydessä. Ulostenäytteen kalprotektiinistä voidaan käyttää apuna, kun on tarpeen erottaa tulehdukselliset suolistosairaudet, kuten Crohnin tauti ja haavainen paksusuolen tulehdus, ei-tulehdusperäisistä suolistosairauksista, kuten ärtyvän suolen oireyhtymästä. Sitä voidaan käyttää myös haavaista paksusuolen tulehdusta tai Crohnin tautia sairastavan potilaan sairauden aktiivisuuden määrittämiseen ja hoitotulosten seurantaan.

Testi perustuu immunokromatografiaan. Se käyttää ihmisen kalprotektiinin monoklonaalisia vasta-aineita. Vasta-aineet on sidottu sinisiin lateksihiukkasiin (toteamisetiketti). Kantokalvossa on kaksi kalprotektiinispesiifää vasta-ainealuetta, joihin siniset lateksihiukkaset sitoutuvat, jos näyte sisältää kalprotektiinia.

Kun testitikin kastamisalue asetetaan ulostesuspensioon, testitikka imee nestettä, joka alkaa nousta ylös testitikkua pitkin. Jos näytteessä on kalprotektiinia, se sitoutuu vasta-aineisiin, jotka ovat kiinnittyneet lateksihiukkasiin. Hiukkaset kulkeutuvat nestevirtauksen mukana, ja jos niihin on sitoutunut kalprotektiinia, ne sitoutuvat vastaaviin sieppausvasta-ainealueisiin. Jos ulostenäytteessä on kalprotektiinia yli 200 µg/g, näkyviin tulee kaksi sinistä viivaa. Sininen kontrolliviiva vahvistaa testin onnistumisen.

TESTIN SUORITUSKYKY

Analyyssiherkkyys

Actim Calprotectin testin analyyssiherkkyttä (toteamisrajaa) arvioitiin siten, että kaksi henkilöä mittasi näytteitä, joissa ihmisen kalprotektiinin pitoisuus vastasi 12,5 – 10 000 µg/g ulosteessa. Arvioinnissa käytettiin kolmea Actim Calprotectin testin valmistuserää.

Actim Calprotectin testin toteamisraja on 50 µg/g ulosteessa. Tällöin 97 % tuloksista oli positiivisia. Toinen sininen viiva alkaa tulla näkyviin, kun ulostesusension kalprotektiinipitoisuus vastaa yli 200 µg/g pitoisuutta ulosteessa. Tällöin 90 % tuloksista oli positiivisia. Hook-efekti on testattu näytteillä, jotka sisältävät ihmisen kalprotektiinia jopa 10 000 µg/g ulosteessa, ja testi antoi johdonmukaisesti positiivisen tuloksen.

Toistettavuus ja uusittavuus

Mittaussarjan sisäistä (toistettavuus) ja sarjojen välistä (uusittavuus) tarkkuutta arvioitiin käyttämällä näytteitä, jotka sisälsivät ihmisen kalprotektiinia 0–200 µg/g ulosteessa. Toistettavuutta arvioitiin siten, että kaksi henkilöä teki samana päivänä kustakin näytteestä 10 rinnakkaismääritystä kolmella Actim Calprotectin testin valmistuserällä, eli yhteensä 120 testiä/erä (360 testiä / 3 erää) yhtenä päivänä. Näytteille, jotka sisälsivät ihmisen kalprotektiinia 50 µg/g ulosteessa, vastaavuus oli 97 %, ja näytteille, jotka sisälsivät ihmisen kalprotektiinia 200 µg/g ulosteessa, vastaavuus oli 97 %. Uusittavuutta arvioitiin tekemällä viitenä peräkkäisenä työpäivänä kustakin näytteestä kolme rinnakkaismääritystä Actim Calprotectin testin kolmella eri valmistuserällä, eli yhteensä 180 testiä/erä (540 testiä / 3 erää) viiden päivän aikana. Näytteille, jotka sisälsivät ihmisen kalprotektiinia 50 µg/g ulosteessa, vastaavuus oli 98 %, ja näytteille, jotka sisälsivät ihmisen kalprotektiinia 200 µg/g ulosteessa, vastaavuus oli 98 %.

Analysin spesifisyys, ristireaktiivisuus

Actim Calprotectin testin ristireaktiivisuutta on testattu ihmisen ja naudan transferrinilla ja hemoglobiinilla. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Actim Calprotectin testi todettiin spesifiksi ihmisen kalprotektiinille.

Menetelmien vertailu

Actim Calprotectin testin toimintaa arvioitiin testaamalla 100 potilasnäytettä Actim Calprotectin testillä ja mittaamalla kalprotektiinipitoisuus samoista ulostesusensioista Bühlmann fCAL ELISA testillä. Tulosten arviointi osoitti, että Actim Calprotectin testin tulokset olivat vertailukelpoisia kvantitatiivisen mittauksen tulosten kanssa. Tulokset on esitetty sisätakakannen kuvassa 1.

NOTICE D'UTILISATION

Les numéros ① - ⑧ se réfèrent aux images d'illustration de la couverture interne.

STRUCTURE DE LA BANDELETTE

① Zone d'immersion ② Zone de résultats ③ Lignes de test ④ Ligne-contrôle

BUT DU TEST

Actim® Calprotectine est un test immunochromatographique semi-quantitatif sur bandelette à interprétation visuelle, qui est utilisé pour déterminer et surveiller le taux de calprotectine dans les selles. Le test est destiné à être utilisé par des professionnels de santé comme aide au diagnostic de l'inflammation intestinale.

COMPOSITION DU COFFRET

Les composants du test Actim Calprotectin sont:

1. Bandelette Actim Calprotectin sur un support. Les bandelettes (10) sont emballées dans un tube en aluminium.
2. Tampon de dilution pour échantillons (3 ml). Cette solution tamponnée au tris contient de l'albumine bovine sérique (BSA), des inhibiteurs de protéases et < 0,1 % (w/v) d'azide de sodium (NaN₃). Une baguette de prélèvement est fixée au bouchon de chaque flacon.

Le kit 35032ETAC contient 2 tubes en aluminium de bandelettes (35061ETAC) et 20 tubes de tampon de dilution pour échantillon (35071ETAC).

Une notice d'instruction est fournie. Du papier toilette et un récipient jetable propre sont requis pour l'échantillonnage (non fournis avec le coffret).

CONSERVATION

Avant ouverture du tube, conserver les bandelettes à +2...+30 °C. Conserver les flacons de tampon de dilution pour échantillon à +2...+30 °C. Chaque composant, conserver sans être ouvert, peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur le composant. Après ouverture du tube en aluminium lors de la première utilisation, les bandelettes peuvent être conservées pendant 4 mois à +2...+30 °C. Ne pas dépasser la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

RECUEIL DE L'ÉCHANTILLON

La suspension de selles doit être préparée le plus tôt possible après le recueil des selles. L'échantillon de selles d'origine peut être conservé 4 jours à +2...+8 °C.

Dévisser le bouchon du flacon de tampon de dilution pour échantillon. Prélever l'échantillon de selles à l'aide de la baguette fixée au bouchon. Il y a 2 petites rainures à l'extrémité de chaque baguette. Bien tourner la baguette à différents endroits de l'échantillon afin que les rainures se remplissent de selles. En cas d'échantillons liquides, sécher la bandelette en l'essuyant avec un morceau de papier toilette avant de l'enfoncer dans l'échantillon. Les rainures de la baguettes seront remplies par l'échantillon liquide.

Placez le bâtonnet de prélèvement dans le tube du tampon pour dilution d'échantillons en le poussant via le cône. Refermer soigneusement le flacon de tampon de dilution pour échantillon et l'agiter pour mettre les selles en suspension. La suspension de selles est alors prête pour réaliser le test. Cette suspension peut être conservée pendant 1 semaine à +2...+25 °C (+2...+8 °C est recommandée).

MODE D'EMPLOI ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. En cas de conservation au réfrigérateur, laisser le conteneur en aluminium de bandelettes et le tube de solution tampon revenir à température ambiante avant ouverture. Prélever du tube le nombre de bandelettes nécessaires juste avant leur utilisation, puis refermer immédiatement le tube. Ne pas toucher la zone absorbante jaune située à l'extrémité inférieure de la bandelette. Ne pas toucher la partie pointue de la bandelette située au dessous de l'onglet car cette zone sera en contact avec la suspension de selles. Un repère peut être inscrit sur les extrémités supérieures gris-bleu des bandelettes.
2. Avant de réaliser le test, laisser la suspension de selles revenir à température ambiante. Utilisez l'embout pointu du dispositif de perforation pour percer la zone de perforation située à la base du tube du tampon, **puis poussez le dispositif dans le tube jusqu'à ce que la butée l'empêche d'aller plus loin** ⑤.
3. Retournez le tube lentement une fois et placez-le immédiatement sur la table en position droite ⑥. **REMARQUE! Il est important de ne pas retourner le tube de manière trop abrupte, un mouvement lent garantissant la bonne performance du test. Enfin, le tube ne doit pas être maintenu à l'envers.**

4. Le résultat est disponible en **10 minutes** ⑦. **Il ne faut pas faire attention aux lignes qui apparaissent après ces 10 minutes.**

5. **Si, en plus de la ligne de contrôle bleue dans la partie supérieure de la zone de résultat, vous voyez :**

- **aucune autre ligne bleue**, le taux de calprotectine est **< 50 µg/g de selles**.
- **une ligne bleue dans la partie inférieure de la zone de résultat**, le taux de calprotectine se situe entre **50 et 200 µg/g de selles**.
- **deux lignes bleues**, le taux de calprotectine est **> 200 µg/g de selles**.

En absence de ligne-contrôle, le résultat est **Ininterprétable** ⑧.

En cas d'absence de ligne-contrôle, se reporter aux incidents du paragraphe "Remarques".

La couleur des lignes bleues peut être plus ou moins prononcée. Quand le taux de calprotectine est bas, on voit apparaître, au bout de 10 minutes, une ligne d'un bleu pâle en plus de la ligne de contrôle bleue. Plus le taux de calprotectine augmente, plus la couleur de la première ligne est marquée. Une deuxième ligne bleue commence à apparaître quand le taux de calprotectine dépasse 200 µg/g de selles.

ELIMINATION DU TEST

Le contact entre le bouchon du flacon de tampon de dilution de l'échantillon et la bandelette insérée est suffisamment hermétique pour que le système soit jeté directement après que le résultat ait été lu. Ne pas retirer la bandelette usagée du flacon de tampon de dilution.

LIMITES DU TEST

Pour usage *in vitro* uniquement.

REMARQUES

- Les résultats du test sont semi-quantitatifs.
- Ne pas utiliser de test si la bandelette a été préalablement exposée à l'humidité (l'humidité endommageant l'intégrité de la bandelette).
- Ne pas utiliser de test si présence de coloration bleue dans la zone de résultats.
- Ne pas toucher la zone absorbante ou la zone de perforation située au-dessous de l'onglet.

- Lors de la mise en contact de la suspension de selles avec la zone absorbante, ne pas retourner le flacon trop vite, ni le maintenir retourné trop longtemps. Une quantité de suspension de selles absorbée insuffisante ou trop importante risquerait d'entraîner des résultats erronés.
- Si la ligne-contrôle n'apparaît pas, le retournement du flacon peut avoir été réalisé trop vite. Prendre une nouvelle bandelette et recommencer de manière adaptée.
- Un échantillon inapproprié peut donner un mauvais résultat.
- La calprotectine peut ne pas être répartie de façon uniforme dans l'échantillon fécal. Par conséquent, il est important de plonger le bâtonnet de prélèvement de manière aléatoire à plusieurs endroits dans l'échantillon fécal.
- L'apparition de la ligne-contrôle valide le test. Si tel n'est pas le cas, le résultat est ininterprétable et le test doit être répété avec une nouvelle bandelette.
- Si le test ne peut être interprété correctement (par exemple si les lignes sont marbrées ou irrégulières), il est recommandé de répéter le test avec une nouvelle bandelette.
- L'apparition au bout de dix minutes d'une ligne bleue pâle à foncée en association avec une ligne de contrôle indique un résultat positif. Cependant, il ne faut pas faire attention aux lignes qui apparaissent après ces 10 minutes.
- Si seule la ligne-contrôle est visible, le résultat doit être considéré comme négatif après avoir attendu les 10 minutes.
- Si la ligne de test n'est pas de couleur bleue, le résultat est non valide et le test doit être réitéré sur un nouvel échantillon fécal.
- Dans tous les cas, il est nécessaire d'intégrer l'ensemble des données cliniques avant d'établir le diagnostic final.
- Tout échantillon et matériel biologiques doit être considéré comme potentiellement infectieux, manipulé avec précaution et éliminé selon les recommandations en vigueur.

PRINCIPE DU TEST

La calprotectine est un produit de dégradation des granulocytes neutrophiles issus de la muqueuse du côlon. Elle est libérée en excès dans les intestins en présence d'une inflammation du côlon. On peut s'aider du test de calprotectine fécale pour faire la différence entre les maladies intestinales inflammatoires, comme la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse, et les maladies intestinales non inflammatoires, comme le syndrome de l'intestin irritable. On peut aussi l'utiliser pour déterminer l'activité de la maladie et surveiller la réponse au traitement chez des patients souffrant de colite ulcéreuse ou de la maladie de Crohn.

La détection est assurée par immunochromatographie. Le test utilise des anticorps monoclonaux de la calprotectine humaine. Les anticorps sont fixés à des particules de latex bleues (la zone de détection). Dans la membrane poreuse, il y a deux zones d'anticorps anti-calprotectine spécifiques, auxquelles les particules de latex bleues vont se fixer si l'échantillon contient de la calprotectine.

Lorsque la suspension fécale entre en contact avec la zone d'immersion de la bandelette, la bandelette absorbe le liquide, qui remonte alors le long de la bandelette. Si l'échantillon contient de la calprotectine, celle-ci se lie aux anticorps fixés aux particules de latex. Les particules sont entraînées par le flux de liquide et, si de la calprotectine est liée à ces particules, elles se fixent aux zones d'anticorps capteurs correspondantes. Si l'échantillon contient un taux de calprotectine > 200 µg/g de selles, deux lignes bleues apparaîtront. Une ligne bleue de contrôle confirme le bon déroulement du test.

PERFORMANCES DU TEST

Sensibilité de l'analyse

La sensibilité analytique (ou limite de détection) du test Actim Calprotectin a été évaluée par deux opérateurs à l'aide d'échantillons présentant différentes concentrations en calprotectine humaine dans la gamme de 12,5 à 10 000 µg de calprotectine/g de selles sur trois lots différents de test Actim Calprotectin.

La limite de détection du test Actim Calprotectin est de 50 µg/g de selles. À ce stade, 97 % des résultats étaient positifs. La deuxième ligne bleue commence à apparaître quand la concentration en calprotectine dans la suspension fécale est > 200 µg/g de selles. À ce stade, 90 % des résultats étaient positifs. L'effet crochet a été testé avec des échantillons contenant une concentration en calprotectine humaine/g de selles allant jusqu'à 10 000 µg. Le résultat reste toujours positif.

Répétabilité et reproductibilité

Les précisions de la répétabilité intradosage et de la reproductibilité interdosage ont été évaluées en utilisant des échantillons contenant de 0 à 200 µg de calprotectine humaine/g de selles. Pour la répétabilité, les échantillons ont été testés le même jour par deux opérateurs qui ont utilisé 10 doublons par échantillon sur trois lots différents de test Actim Calprotectin, soit un total de 120 tests/lot (360/3 lots) en une journée. La concordance était de 97 % pour les échantillons contenant 50 µg de calprotectine humaine/g de selles et de 97 % pour les échantillons contenant 200 µg de calprotectine humaine/g de selles. Pour la reproductibilité, les échantillons ont été testés pendant cinq jours ouvrables consécutifs, avec trois doublons par échantillon sur trois lots différents de test Actim Calprotectin, soit un total de 180 tests/lot (540/3 lots) en cinq jours. La concordance était de 98 % pour les échantillons contenant 50 µg de calprotectine humaine/g de selles et de 98 % pour les échantillons contenant 200 µg de calprotectine humaine/g de selles.

Spécificité de l'analyse, réactivité croisée

Le test Actim Calprotectine a été testé avec une réactivité croisée de la transferrine et de l'hémoglobine humaines et bovines. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Le test Actim Calprotectine est spécifique pour la calprotectine humaine.

Comparaison des méthodes

La fonction du test Actim Calprotectin a été évaluée en testant 100 échantillons de patients à l'aide du test Actim Calprotectin et en mesurant les concentrations en calprotectine des mêmes suspensions fécales à l'aide du test Bühlmann fCAL ELISA. L'évaluation a montré que les résultats obtenus avec Actim Calprotectin sont comparables à la mesure quantitative. Les résultats sont présentés à la FIG 1 en dos de couverture interne.

ISTRUZIONI D'USO

Fare riferimento alle illustrazioni ① - ⑧ nella copertina interna.

STRUTTURA DEL DIPSTICK

① Area ad immersione ② Area di reazione ③ Linee test ④ Linea di controllo

SCOPO DI UTILIZZO DEL TEST

Actim[®] Calprotectin è un test rapido, immunocromatografico, semiquantitativo a interpretazione visiva, su dipstick, per la determinazione e il monitoraggio della concentrazione di calprotectina nelle feci. Il test è destinato a un utilizzo professionale per facilitare la diagnosi dell'inflammatione intestinale.

COMPONENTI DEL KIT

I componenti del Actim Calprotectin test sono:

- Actim Calprotectin dipstick in un sistema di perforazione. I dipstick (10) sono confezionati in un contenitore di alluminio.
- Il tampone di diluizione (3 ml). Questa soluzione in tampone Tris contiene albumina serica bovina (BSA), inibitori della proteasi e meno dello 0,1% (w/v) di sodio azide (Na₃N₃). Ogni stick di campionamento è attaccato al tappo di ogni provetta.

Il kit 35032ETAC contiene 2 contenitori in alluminio di dipstick (35061ETAC) e 20 provette con tampone di diluizione (35071ETAC).

Un foglietto di istruzioni è incluso in ogni confezione. Carta igienica o un contenitore pulito a perdere servono per il campionamento (non forniti con il test).

CONSERVAZIONE

Mantenere i dipstick e le provette con il tampone di diluizione a +2...+30 °C. Conservato chiuso, ogni componente può essere usato fino alla data di scadenza evidenziata sul componente. Quando viene aperto il contenitore in alluminio per la prima volta, i dipstick possono essere tenuti per 4 mesi a +2...+30 °C. Comunque, non deve essere superata la data di scadenza.

RACCOLTA DEL CAMPIONE

Il campione è una sospensione di feci che è preparato al più presto dopo la raccolta del campione. Il campione originale di feci può essere conservato a +2...+8 °C per 4 giorni.

Svitare il tappo della provetta di diluizione del campione. Prelevare delle feci, usando lo stick di campionamento attaccato al tappo a vite della provetta. Ci sono 2 fessure nella parte superiore di ogni stick. Immergere lo stick in punti diversi del campione così che entrambe le scanalature si riempiano con il campione di feci. In caso di feci liquide, asciugare lo stick con un pezzo di carta igienica prima di immergerlo nel campione. Le scanalature dello stick saranno riempite con le feci liquide.

Inserire il bastoncino per il campionamento all'interno della provetta del tampone di diluizione del campione premendolo contro il cono. Chiudere il tappo con forza e agitare la provetta per risospendere le feci nel tampone. Il campione in sospensione sarà pronto per l'esecuzione del test. La sospensione può essere conservata per una settimana a +2... +25 °C (si consiglia +2...+8 °C).

PROCEDURA DI UTILIZZO E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. Se conservati in ambiente refrigerato, attendere che il contenitore in alluminio di dipstick e la provetta con soluzione tampone raggiungano la temperatura ambiente. Prelevare il numero richiesto di sistemi di perforazione (ognuno contenente un dipstick) dal contenitore e chiudere immediatamente. Non toccare la parte in giallo dei dipstick. Non toccare la parte sotto il tappo del sistema di perforazione, perché verrà in contatto con il campione. Nella parte superiore blu-grigia del dipstick possono essere scritti dei contrassegni di identificazione.
2. Il campione dovrebbe essere a temperatura ambiente quando viene esaminato. Utilizzare la parte appuntita del dispositivo di perforazione per lacerare l'apposita area nella provetta del tampone, **quindi premere il dispositivo all'interno della provetta, fino a quando l'arresto non ne previene l'avanzamento** ⑤.
3. Capovolgere lentamente la provetta una sola volta e poggiarla immediatamente sul tavolo in posizione verticale ⑥. **NOTA! Per la corretta esecuzione del test, è di fondamentale importanza che la provetta non venga capovolta troppo bruscamente e che non rimanga capovolta.**
4. Il risultato è disponibile dopo **10 minuti** ⑦. **Non considerare eventuali linee che compaiono dopo i 10 minuti.**
5. **Se, oltre alla linea di controllo blu nella parte superiore dell'area di reazione, è visibile quanto segue:**
 - **nessuna ulteriore linea blu**, la concentrazione di calprotectina è **<50 µg/g di feci**

- **una linea blu nella parte inferiore dell'area di reazione**, la concentrazione di calprotectina è **50-200 µg/g feci**.
- **due linee blu**, la concentrazione di calprotectina è **>200 µg/g di feci**.

Se **non appare la linea di controllo**, il test deve essere **ripetuto** ⑧.

Se non appare la linea di controllo, consultare la sezione Note.

L'intensità delle linee blu è variabile. Quando la concentrazione di calprotectina è bassa, dopo 10 minuti risulta visibile solo una linea blu chiaro oltre alla linea di controllo blu. Man mano che la concentrazione di calprotectina aumenta, l'intensità della prima linea aumenta. Una seconda linea blu inizia ad apparire quando la concentrazione di calprotectina supera i 200 µg/g di feci.

SMALTIMENTO DEL CAMPIONE

Il contatto tra il tappo della provetta con tampone di diluizione e il sistema di perforazione è così stretto che il campione può essere smaltito direttamente dopo che il campione è stato letto. Non rimuovere il sistema di perforazione dalla provetta.

LIMITI DEL TEST

Il test deve essere utilizzato solo per indagini *in vitro*.

NOTE

- I risultati del test sono semiquantitativa.
- Non utilizzare un dipstick che è diventato umido prima di essere utilizzato, perché l'umidità danneggia il dipstick.
- Non utilizzare un dipstick se si evidenzia un colore blu diffuso nella area di reazione prima di essere utilizzato.
- Non toccare l'area a immersione del dipstick o l'area del perforatore al di sotto dell'arresto.
- Quando si capovolge la provetta di campionamento per permettere al dipstick di assorbire il campione, non capovolgere la provetta troppo velocemente o troppo lentamente. Il test non lavorerà in modo appropriato se la quantità assorbita è poca o tanta.
- Se la linea di controllo non compare, l'inversione del tubo non è stata fatta in modo appropriato. Prendere un nuovo dipstick e ripetere l'inversione come consigliato.
- Un campionamento improprio può portare a risultati falsi.

- La calprotectina non è distribuita in maniera uniforme nel campione fecale. Pertanto è importante immergere il bastoncino per il campionamento casualmente in diversi punti del campione fecale.
- La comparsa di una linea di conferma è sinonimo di una corretta esecuzione del test. Se non si evidenzia una linea di controllo il test non è valido, e dovrebbe essere ripetuto usando un altro dipstick.
- Se il risultato di un test non può essere evidenziato chiaramente (per esempio le linee sono macchiate o irregolari) si consiglia di ripetere il test con un altro dipstick.
- La comparsa di qualsiasi linea test blu chiaro o blu scuro con una linea di controllo entro 10 minuti indica un risultato positivo. Tuttavia, non considerare eventuali linee che compaiono dopo 10 minuti.
- Se solo la linea di controllo è visibile, il test va considerato negativo solo dopo che i 10 minuti sono passati.
- Se il colore della linea di test non è blu, il risultato dovrebbe essere interpretato come non valido e il test dovrebbe essere ripetuto con un altro campione fecale.
- Come tutti i tests diagnostici, i risultati devono essere interpretati alla luce di altre indagini cliniche.
- Tutti i campioni biologici e materiali devono essere trattati come potenzialmente pericolosi, e eliminati in accordo con linee guida locali.

PRINCIPIO DEL METODO

La calprotectina è un prodotto di degradazione dei granulociti neutrofili presenti nello strato mucoso del colon. Viene rilasciato in eccesso nell'intestino quando è presente un'inflammatione del colon. L'analisi della calprotectina fecale può essere utilizzata per distinguere fra le malattie infiammatorie dell'intestino, come la malattia di Crohn e la colite ulcerosa, e quelle non infiammatorie come la sindrome del colon irritabile. Inoltre può essere utilizzata per determinare l'attività della patologia e monitorare la risposta al trattamento in pazienti affetti da colite ulcerosa o malattia di Crohn.

Si tratta di un test immunocromatografico. Il test impiega anticorpi monoclonali contro la calprotectina umana. Gli anticorpi sono legati a particelle di lattice blu (il marcatore di rilevamento). Nella membrana di trasporto sono presenti due zone anticorpali specifiche per la calprotectina a cui le particelle di lattice blu si legano se il campione contiene la calprotectina.

Quando la sospensione fecale entra in contatto con l'area a immersione del dipstick, il dipstick assorbe il liquido che inizia a inumidirne la superficie. Se il campione contiene calprotectina, questa si lega agli anticorpi adesi alle particelle di lattice. Le particelle vengono quindi trasportate dal flusso del liquido e, se sono legate alla calprotectina, si legano alla zona che contiene l'anticorpo di cattura corrispondente. Se il campione contiene >200 µg di calprotectina/g di feci vengono visualizzate due linee blu. La comparsa di una linea blu di controllo conferma l'esecuzione corretta del test.

PERFORMANCE DEL TEST

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica, il limite di rilevamento, del test Actim Calprotectin è stata valutata da due operatori utilizzando campioni con varie concentrazioni di calprotectina umana (da 12,5 – 10.000 µg di calprotectina/g di feci) su tre diversi lotti di test Actim Calprotectin.

Il limite di rilevamento del test Actim Calprotectin è 50 µg/g di feci. A questo punto il 97% dei risultati era positivo. La seconda linea blu comincia a comparire quando la calprotectina nella sospensione di feci supera 200 µg/g di feci. A questo punto il 90% dei risultati era positivo. L'effetto Hook è stato testato con campioni contenenti fino a 10.000 µg di calprotectina/g di feci e ha fornito un risultato positivo coerente.

Ripetibilità e riproducibilità

La precisione intra-analisi (ripetibilità) e inter-analisi (riproducibilità) è stata valutata mediante campioni contenenti 0 – 200 µg/l calprotectina umana/g di feci. Per la ripetibilità, i campioni sono stati testati con 10 ripetizioni per campione da due operatori nel corso dello stesso giorno con tre lotti diversi del test Actim Calprotectin, per un totale di 120 test/lotto (360/3 lotti) in un giorno. La concordanza per i campioni contenenti 50 µg di calprotectina umana/g di feci era pari al 97% e per il campione contenente 200 µg di calprotectina umana/g di feci era pari al 97%. Per la riproducibilità, i campioni sono stati testati con tre ripetizioni per campione in cinque giorni consecutivi con tre lotti diversi del test Actim Calprotectin, per un totale di 180 test/lotto (540/3 lotti) in cinque giorni. La concordanza per i campioni contenenti 50 µg di calprotectina umana/g di feci era pari al 98% e per il campione contenente 200 µg di calprotectina umana/g di feci era pari al 98%.

Specificità analitica, reattività crociata

Il test Actim Calprotectin è stato testato per la reattività crociata di transferrina ed emoglobina umana e bovina. Non è stata osservata alcuna reattività crociata. Il test Actim Calprotectin è specifico per la calprotectina umana.

Confronto dei metodi

La funzione del test Actim Calprotectin è stata valutata testando i campioni di 100 pazienti con Actim Calprotectin e misurando la concentrazione di calprotectina nel formare le medesime sospensioni fecali tramite Bühlmann fCAL ELISA. La valutazione dei risultati ha mostrato che i risultati di Actim Calprotectin sono confrontabili alla misurazione quantitativa. I risultati sono illustrati nella FIG 1 nella terza di copertina.

GEBRUIKSIINSTRUCTIES

Nummers ① - ⑧ refereren naar de illustraties aan de binnenkant van de deksel.

SAMENSTELLING VAN DE DIPSTICK

① Monstergebied ② Resultaatgebied ③ Testlijnen ④ Controlelijn

ACHTERGROND

De Actim® Calprotectin test is een visueel geïnterpreteerde, semi-kwantitatieve immunochromatografische dipsticktest die wordt gebruikt om de concentraties calprotectine in ontlasting te bepalen en te controleren. De test is ontwikkeld voor professioneel gebruik als hulpmiddel bij de diagnose van een darmontsteking.

KITCOMPONENTEN

De Actim Calprotectin test bestaat uit:

- Actim Calprotectin teststrip in een perforatiehouder. De teststrips (10) zijn verpakt in een aluminium container.
- Buffer om de monsters te verdunnen (3 ml). Deze tris-bufferoplossing bevat BSA (bovin serumalbumine), proteaseremmers en <0,1% (g/v) natriumazide (NaN₃). Een monsterstick is verbonden met de dop van iedere buis.

De set 35032ETAC bevat 2 aluminium buisjes met dipsticks (35061ETAC) en 20 buisjes met bufferoplossing voor het verdunnen van de monsters (35071ETAC).

Alle verpakkingswijzen bevatten een gebruiksaanwijzing op papier. Een schoon fecespotje is nodig voor het monster. Dit wordt niet meegeleverd met de kit.

OPSLAG

De verpakking dient opgeslagen te worden bij +2...+30 °C. Elk onderdeel van de kit kan gebruikt worden tot de op de verpakking vermelde expiratie datum, mits de verpakking ongeopend is en bij de juiste temperatuur bewaard wordt. Nadat de aluminium container voor de eerste keer is geopend, kunnen de teststrips gedurende 4 maanden worden opgeslagen bij +2...+30 °C. De vervaldatum mag echter niet worden overschreden.

MONSTERAFNAME

Het monster is een fecessuspensie, dat zo spoedig mogelijk na monsterafname wordt gemaakt. Het oorspronkelijke fecesmonster kan gedurende 4 dagen worden bewaard bij +2...+8 °C.

Schroef de dop van het buisje met verdunningsbuffer. Verzamel het fecesmonster met behulp van de monsterstick die vastzit aan de schroefdop. Er zijn 2 kleine openingen aan het einde van iedere stick. Draai de stick op een willekeurig aantal verschillende plaatsen in de feces totdat de openingen gevuld zijn met feces. In geval van vloeistofmonsters droogt u de stick door deze af te vegen met een stuk toiletpapier voordat u deze in het monster steekt. De openingen van de stick zullen worden gevuld met vloeibare feces.

Steek de monsterstick in het Specimen Dilution Buffer-buisje door de stick door de kegel te duwen. Sluit de dop goed en meng het buisje voorzichtig zodat de feces oplost in de buffer. De monstersuspensie is nu gereed voor de test. De oplossing kan gedurende 1 week worden opgeslagen bij +2...+25 °C (+2...+8 °C aanbevolen).

TESTPROCEDURE EN INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

1. Laat de aluminium container met de dipsticks en het bufferbuisje op kamertemperatuur komen als de container en het bufferbuisje gekoeld zijn bewaard voordat u de container en het buisje opent. Verwijder het benodigde aantal perforatiehouders (die ieder een teststrip bevatten) uit de container juist voordat u deze gebruikt en sluit de container onmiddellijk. Raak het gele gebied van de teststrip niet met de vingers aan. Raak ook het gedeelte van de perforatiehouder om de strip niet aan dat in het buisje wordt aangebracht. Dit omdat dit gedeelte in contact komt met het monster. Identificatiegegevens kunnen eventueel op het blauwgrijze bovenste gedeelte van de dipsticks worden geschreven.
2. Laat het monster op kamertemperatuur komen. Gebruik de scherpe punt van het perforatieapparaat om een gaatje in het perforatiegebied onder in het bufferbuisje te prikken **en duw vervolgens het apparaat in het buisje totdat het niet verder kan** ⑤.
3. Draai het buisje langzaam eenmaal ondersteboven en plaats het onmiddellijk in rechtopstaande positie op tafel ⑥. **OPMERKING! Het is belangrijk dat het omkeren niet te abrupt gebeurt. Een rustige omkering is cruciaal voor de juiste uitvoering van de test. Ook mag het buisje niet ondersteboven worden gehouden.**

4. Het resultaat wordt binnen **10 minuten** weergegeven **7**. **Lijnen die na deze 10 minuten worden weergegeven, kunt u negeren.**

5. **Ziet u naast de blauwe controlelijn in het bovenste gedeelte van het resultaatgebied:**

- **geen andere blauwe lijnen**, dan is de concentratie calprotectine **<50 µg/g ontlasting**
- **één blauwe lijn in het onderste gedeelte van het resultaatgebied**, dan is de concentratie calprotectine **50-200 µg/g ontlasting**
- **twee blauwe lijnen**, dan is de concentratie calprotectine **>200 µg/g ontlasting**.

Indien er **geen controlelijn verschijnt**, is de test **niet afleesbaar 8**.

Indien een controlelijn ontbreekt, raadpleeg dan het onderdeel opmerkingen om dit probleem op te lossen.

De intensiteit waarin de blauwe lijnen worden weergegeven, varieert. Bij een lage concentratie calprotectine verschijnt er naast de blauwe controlelijn binnen 10 minuten slechts één vage blauwe lijn. Hoe hoger de concentratie calprotectine, des te sterker de intensiteit van de eerste lijn. Wanneer de concentratie calprotectine hoger wordt dan 200 µg/g, verschijnt er langzaam een tweede blauwe lijn.

AFVOEREN VAN DE TESTDEVICE

Aangezien de dop van de verdunningsbuffer goed afgesloten blijft nadat de testdevice door de dop is geperforeerd, kan het geheel direct na aflezen via het medisch afval worden verwijderd. Verwijder de testdevice nooit van de buis.

BEPERKINGEN VAN DE TEST

Deze test is uitsluitend ontwikkeld voor *in vitro* gebruik.

OPMERKINGEN

- De testresultaten zijn semi-kwantitatief.
- Gebruik nooit een teststrip die voor gebruik nat is geworden, daar vocht de teststrip onbruikbaar maakt.
- Gebruik nooit een teststrip waarin binnen het reactiegebied voor uitvoering van de analyse een blauwe kleur waarneembaar is.
- Raak niet het dipgedeelte van de dipstick of het gedeelte van het perforatieapparaat onder de stop aan.

- Indien u het buisje omdraait om de teststrip in contact te brengen met de vloeistof, keer deze dan niet te snel om, en ook niet gedurende te lange tijd. Indien er te weinig of teveel vloeistof wordt geabsorbeerd door de teststrip zal de test niet goed werken.

- Indien de controlelijn niet verschijnt, is het monsterbuisje mogelijk te snel omgekeerd. Neem een nieuwe teststrip en herhaal het omkeren op een beheerste wijze.

- Onjuiste monstername kan leiden tot foutieve resultaten.

- Calprotectine is niet gelijkmatig verdeeld in het fecesmonster. Het is daarom van belang om de dipstick op meerdere willekeurige plaatsen in het fecesmonster te steken.

- Het verschijnen van de controlelijn betekent dat de test goed is uitgevoerd. Indien de controlelijn niet zichtbaar wordt, kan de test niet worden afgelezen en dient men de test opnieuw uit te voeren met een nieuwe teststrip.

- Indien het resultaat niet duidelijk kan worden geïnterpreteerd (bijvoorbeeld door een niet duidelijke blauwe lijn), wordt aanbevolen de test opnieuw uit te voeren.

- Indien na tien minuten een vage tot donkerblauwe lijn verschijnt in combinatie met een controlelijn, is het resultaat positief. Lijnen die na 10 minuten worden weergegeven, kunt u echter negeren.

- Indien de controlelijn zichtbaar is, mogen de testresultaten alleen als negatief worden geïnterpreteerd nadat 10 minuten zijn verstreken.

- Als de kleur van de testlijn niet blauw is, moet het resultaat worden beschouwd als ongeldig en moet de test worden herhaald met een nieuw fecesmonster.

- Zoals bij elk diagnosticum, moet het resultaat geïnterpreteerd worden in relatie met andere klinische gegevens.

- Alle biologische monsters dienen als infectieus behandeld te worden en te worden afgevoerd conform de richtlijnen van de lokale overheid.

PRINCIPE VAN DE TEST

Calprotectine is een afvalproduct van neutrofiële granulocyten uit de spierlaag van het colon. Bij een darmontsteking worden verhoogde hoeveelheden hiervan afgegeven aan de darmen. Een calprotectinetest van de ontlasting kan als hulpmiddel dienen bij het maken van onderscheid tussen inflammatoire darmaandoeningen, zoals de ziekte van Crohn of colitis ulcerosa, en niet-inflammatoire darmaandoeningen, zoals het prikkelbare-darmsyndroom. De test kan ook worden gebruikt om activiteit van de ziekte vast te stellen en het effect van een behandeling op patiënten met colitis ulcerosa of ziekte van Crohn te volgen.

De test is gebaseerd op immunochromatografie. Hierin zijn twee monoklonale antistoffen voor menselijk calprotectine opgenomen. De antistoffen hechten zich aan blauwe latexdeeltjes [het detecterende label]. Het draagmembraan bevat twee calprotectinespecifieke antistofzones, waaraan de blauwe latexdeeltjes zich hechten als het monster calprotectine bevat.

Wanneer de fecessuspensie in contact komt met het dipgedeelte van de dipstick, absorbeert de dipstick vloeistof, die omhoog begint te kruipen. Als het monster calprotectine bevat, hecht het zich aan de antistoffen op de latexdeeltjes. De deeltjes worden meegevoerd door de vloeistof en worden weggevangen door de specifieke antistofzones als zich calprotectine aan de deeltjes heeft gehecht. Als het monster > 200 µg calprotectine/g bevat, verschijnen er twee blauwe lijnen. Een blauwe controlelijn geeft aan dat de test correct werkt.

DE TEST UITVOEREN

Gevoeligheid van de analyse

De gevoeligheid van de analyse (detectielimiet) van de Actim Calprotectin test werd door twee personen beoordeeld aan de hand van monsters met verschillende concentraties menselijk calprotectine die overeenkwamen met de 12,5 - 10.000 µg calprotectine/g ontlasting in drie verschillende lots van de Actim Calprotectin test.

De detectielimiet van de Actim Calprotectin test is 50 µg/g ontlasting. Op dit punt waren 97% van de resultaten positief. Wanneer de fecessuspensie > 200 µg calprotectine/g ontlasting bevat, verschijnt langzaam de tweede blauwe lijn. Op dit punt waren 90% van de resultaten positief. Het Hook-effect werd getest met een monster met maximaal 10.000 µg menselijk calprotectine/g ontlasting. Dit gaf consequent een positief resultaat.

Herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid

De nauwkeurigheid van de intra-analyse (herhaalbaarheid) en interanalyse (reproduceerbaarheid) werd beoordeeld aan de hand van monsters die 0 - 200 µg menselijk calprotectine/g ontlasting bevatten. Voor de herhaalbaarheid werden de monsters door twee personen dezelfde dag tien keer per monster getest op drie verschillende lots van de Actim Calprotectin test, wat uitkwam op een totaal van 120 tests/lot (360/3 lots) op één dag. De monsters met 50 µg menselijk calprotectine/g ontlasting kwamen voor 97% overeen. De monsters met 200 µg menselijk calprotectine/g ontlasting kwamen voor 97% overeen. Voor de reproduceerbaarheid werden de monsters op vijf achtereenvolgende werkdagen drie keer per monster getest op drie verschillende lots van de Actim Calprotectin test, wat uitkwam op een totaal van 180 tests/lot (540/3 lots) in vijf dagen. De monsters met 50 µg menselijk calprotectine/g ontlasting kwamen voor 98% overeen. De monsters met 200 µg menselijk calprotectine/g ontlasting kwamen voor 98% overeen.

Specificiteit van de analyse, kruislingse reactiviteit

De Actim Calprotectin test is getest op kruislingse reactiviteit van menselijk en rundertransferrine en -hemoglobine. Er werd geen kruislingse reactiviteit waargenomen. De Actim Calprotectin test is specifiek bedoeld voor menselijke calprotectine.

Methoden vergelijken

De werking van de Actim Calprotectin test werd geanalyseerd door monsters van 100 patiënten te testen met de Actim Calprotectin test en door de concentratie calprotectine uit dezelfde fecessuspensies te meten door middel van Bühlmann fCAL ELISA. Uit de beoordeling blijkt dat de resultaten van de Actim Calprotectin test vergelijkbaar zijn met die van de kwantitatieve meting. De resultaten worden weergegeven in Afb. 1 aan de binnenkant van de omslag.

BRUKSANVISNING

Tallene ① - ⑧ refererer til illustrasjonene på 2. omslagsside.

TESTSTRIMMELENS KONSTRUKSJON

① Dyppeområde ② Avlesningsfelt ③ Testlinjer ④ Kontrollinje

TILTENKT BRUK

Actim[®] Calprotectin-testen er en visuelt fortolket, semikvantitativ immunokromatografisk dipsticktest som brukes til å påvise og overvåke konsentrasjoner av kalprotektin i feces. Testen er beregnet på profesjonell bruk som et hjelpemiddel ved diagnostisering av tarminfeksjon.

INNHold

Actim Calprotectin test består av følgende komponenter:

- Actim Calprotectin dipstick (teststrimler) som er montert på en perforerende enhet. Disse teststrimlene (10) er pakket i en aluminiumboks.
- Specimen Dilution Buffer (bufferløsning til fortykning av prøve) (3 ml). Løsningen er trisbufret og inneholder bovint serumalbumin (BSA), proteasehemmere og <0,1 % (w/v) natriumazid [NaN₃]. Til hver prøvebeholder er det festet en prøvepinne i lokket.

Hvert kit (35032ETAC) inneholder 2 aluminiumsbokser med teststrimler (35061ETAC) og 20 prøveholdere med fortykningsbuffer (35071ETAC).

En bruksanvisning er inkludert i alle produktgaver. Toalettpapir eller ren (engangs)beholder er nødvendig til prøvetakingen. Dette følger ikke med testen.

OPPBEVARING OG HOLDBARHET

Teststrimler og prøvetakingsbokser oppbevares ved +2...+30 °C. Komponentene er holdbare i uåpnet forpakning til den holdbarhetsdatoen som er merket på den respektive komponent. Teststrimlenes holdbarhetstid er 4 måneder ved +2...+30 °C etter at aluminiumboksen er åpnet første gang. Holdbarhetsdatoen må ikke overskrides.

PRØVETAKING

Som prøve anvendes feces-løsning laget av så fersk feces som mulig. Den originale fecesprøven kan lagres i 4 dagene ved +2...+8 °C.

Skru opp prøvebeholderen. Ta feces-prøven ved bruk av prøvepinne som sitter i skrukorken. Det er to små spalter foran på hver pinne. Roter pinnen

flere steder i prøven, slik at begge spaltene fylles med fecesmateriale. Hvis prøvematerialet er flytende, tørkes prøvepinne med, for eksempel, et stykke toalettpapir før den stikkes i prøven. Spaltene på pinnen vil da fylles med flytende feces.

Sett prøvetakingspinnen inn i røret med prøvefortynningsbuffer ved å presse pinnen gjennom lokket. Skru fast korken, og rist deretter beholderen slik at prøven blandes med bufferen. Nå er prøven klar til å undersøkes. Etter prøvetaking kan prøvebeholderen oppbevares i en uke ved +2...+25 °C (+2...+8 °C anbefales).

PRØVEUTFØRELSE OG TOLKNING AV RESULTAT

1. Dersom de oppbevares nedkjølt, lar du aluminiumsbeholderen med dipsticker og røret med bufferen nå romtemperatur før du åpner dem. Ta frem det antall teststrimler som behøves, rett før bruk, og lukk deretter boksen umiddelbart. Ikke berør det gule dyppeområdet på teststrimmelen. Ikke berør den delen av perforeringsenheten som er nedenfor stopperen, da dette området vil komme i kontakt med prøven. Identifikasjonsknader kan skrives på dipstickens øvre blågrå delerl.
2. Prøven må ha fått romtemperatur før testen kan utføres. Bruk den skarpe enden av prøvetakingsenheten til å stikke gjennom forseglingen i bunnen av røret med bufferen, og **press deretter enheten inn i røret til stoppehakene hindrer den i å gå lenger inn** ⑤.
3. Vend røret sakte opp ned én gang, og sett det deretter umiddelbart på bordet i stående stilling ⑥. **MERK! Det er viktig at røret ikke vendes for fort. Testresultatet avhenger av at denne bevegelsen utføres rolig og kontrollert. Påse også at røret ikke blir stående opp ned.**
4. Resultatet er tilgjengelig i 10 minutter ⑦. Ignorer linjer som dukker opp etter at det er gått 10 minutter.
5. Hvis du i tillegg til den blå kontrollinjen øverst i kontrollområdet ser:
 - ingen andre blå linjer, er kalprotektinkonsentrasjonen lavere enn 50 µg per gram feces.
 - én blå linje i den nedre delen av resultatområdet, er kalprotektinkonsentrasjonen på 50–200 µg per gram feces.
 - to blå linjer, er kalprotektinkonsentrasjonen høyere enn 200 µg per gram feces.

Dersom det ikke sees **noen kontrollinje** i avlesningsfeltet er, testen **mislykket** ⑧.

Dersom kontrollinjen mangler, les avsnittet "Bemerk" for feilsøking.

Intensiteten i blåfargen på de blå linjene varierer. Når kalprotektinkonsentrasjonen er lav, blir bare én lyseblå linje i tillegg til den blå kontrollinjen synlig i løpet av 10 minutter. Når kalprotektinkonsentrasjonen øker, blir den første linjen mørkere. Nok en blå linje blir synlig når kalprotektinkonsentrasjonen overstiger 200 µg per gram feces.

AVFALLSHÅNDTERING

Det er så tett kontakt mellom prøvebeholderen og perforeringsenheten at hele enheten kan kastes som den er, etter at resultatet er avlest. Ikke fjern perforeringsenheten fra prøvebeholderen.

TESTENS BEGRENSNINGER

Testen er kun for *in vitro* diagnostisk bruk.

BEMERK

- Testresultatene er semikvantitative.
- Bruk ikke en teststrimmel som er blitt våt før bruk, fordi fukt skader strimmelen.
- Bruk ikke en teststrimmel som allerede har en blåfarge i avlesningsfeltet før den er brukt.
- Dyppeområdet på dipsticken og delen av prøvetakingsenheten nedenfor proppen må ikke berøres.
- Når prøvebeholderen vendes rundt for at teststrimmelen skal kunne absorbere prøven, er det viktig å ikke utføre bevegelse for raskt eller for lenge. Testen fungerer ikke som den skal dersom den oppsugde prøvemengden er for liten eller for stor.
- Hvis kontrollinjen ikke synes, kan prøvebeholderen ha blitt vendt for brått tilbake. Ta en ny teststrimmel og gjenta bevegelsen på en kontrollert måte.
- Ufullstendig prøvetaking kan gi feil resultat.
- Kalprotektin er ikke jevnt fordelt i avføringsprøven. Derfor er det viktig å dyppe prøvetakingspinnen tilfeldig på flere steder i avføringsprøven.
- Kontrollinjen bekrefter at testen har fungert og er riktig utført. Hvis man ikke kan se noen kontrollinje, er testen mislykket. Den bør da gjøres på nytt med ny teststrimmel.

- Hvis det er vanskelig å lese av testresultatet (for eksempel usammenhengende eller punktformede streker) anbefales det å ta testen om igjen med en ny teststrimmel.
- Etter ti minutter indikerer en svak til mørk blå linje, sammen med en kontrollinje, et positivt resultat. Ignorer linjer som dukker opp etter at det er gått 10 minutter.
- Hvis bare kontrollinjen er synlig, skal resultatet tolkes som negativt først når det er gått 10 minutter.
- Hvis fargen på testlinjen ikke er blå, må resultatet regnes som ugyldig, og testen må gjentas med en ny avføringsprøve.
- Som ved alle diagnostiske tester, bør testresultatet tolkes i lys av pasientens øvrige kliniske data.
- Biologiske prøver og materiale skal behandles som smittefarlige, og bør destrueres i samsvar med lokale bestemmelser.

TESTPRINSIPP

Kalprotektin er et nedbrytingsprodukt av nøytrofile granulocytter fra slimhinnen i tykktarmen. Ved kolonisk inflammasjon frigis dette stoffet i høye mengder. Testing av fekal kalprotektin kan være et nyttig hjelpemiddel til å skille mellom inflammatoriske tarmsykdommer (f.eks. Crohns sykdom og ulcerøs kolitt), og ikke-inflammatoriske tarmsykdommer (f.eks. irritable tarmsyndrom). Testen kan også brukes til å påvise sykdomsaktivitet og overvåke behandlingsresponsen i pasienter med ulcerøs kolitt eller Crohns sykdom.

Testen er basert på immunokromatografi. Testen omfatter monoklonale antistoffer mot humant kalprotektin. Antistoffene er bundet til blåfargede latekspartikler (påvisningsmerket). Bæremembranen har to soner med kalprotektin-spesifikke antistoffer. De blå latekspartiklene bindes til disse sonene hvis prøven inneholder kalprotektin.

Når suspensjonen med avføringsprøven kommer i kontakt med dyppeområdet på dipsticken, absorberes væsken, og væsken trekker oppover i dipsticken. Hvis prøven inneholder kalprotektin, binder den seg til antistoffene på latekspartiklene. Partiklene vandrer med væskeflyten, og hvis de har kalprotektin bundet til seg, binder de seg til de korresponderende antistoffsonene. Hvis prøven inneholder mer enn 200 µg kalprotektin per gram feces, vises to blå linjer. En blå kontrollinje vises som tegn på at testen er riktig utført.

TESTENS YTELSE

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitiviteten (deteksjonsgrensen) til Actim Calprotectin-testen ble evaluert av to operatører som brukte prøver med konsentrasjoner av humant kalprotektin tilsvarende 12,5–10 000 µg kalprotektin/g feces i tre ulike loter av Actim Calprotectin-testen.

Deteksjonsgrensen for Actim Calprotectin er 50 µg/g feces. På dette punktet var 97 % av resultatene positive. Nok en blå linje blir synlig når fecessuspensjonen inneholder kalprotektin > 200 µg/g feces. På dette punktet var 90 % av resultatene positive. Hook-effekten er testet med prøver som inneholdt opptil 10 000 µg av humant kalprotektin/g feces, og resultatet ble konsekvent positivt.

Repeterbarhet og reproducerbarhet

Presisjon av intra-analyser (repeterbarhet) og inter-analyser (reproduserbarhet) ble evaluert ved bruk av prøver som inneholdt 0–200 µg humant kalprotektin/g feces. Med hensyn til repeterbarhet ble prøvene testet av to operatører samme dag med 10 replikater per prøve på tre ulike loter av Actim Calprotectin, med totalt 120 tester/lot (360/3 loter) på én dag. Resultatene for prøvene som inneholdt 50 µg human kalprotektin/g feces samsvarte 97 %, og for prøven som inneholdt 200 µg av human kalprotektin/g feces samsvarte resultatene 97 %. Med hensyn til reproducerbarhet ble prøvene testet på fem etterfølgende arbeidsdager med bruk av tre replikater per prøve på tre ulike loter av Actim Calprotectin, med totalt 180 tester/lot (540/3 loter) i løpet av fem dager. Resultatene for prøvene som inneholdt 50 µg humant kalprotektin/g feces samsvarte 98 %, og for prøven som inneholdt 200 µg humant kalprotektin/g feces samsvarte resultatene 98 %.

Analytisk spesifisitet, kryssreaktivitet

Actim Calprotectin-testen er testet for kryssreaktivitet med humant og bovin transferrin og hemoglobin. Ingen kryssreaktivitet ble observert. Actim Calprotectin-testen er spesifikk for humant kalprotektin.

Sammenligning av metoder

Funksjonen til Actim Calprotectin-testen ble evaluert ved å teste 100 pasientprøver med Actim Calprotectin og måle kalprotektinkonsentrasjonen fra samme fekalsuspensjoner med Bühlmann fCAL ELISA. Evalueringen av resultatene viste at Actim Calprotectin-resultatene kan sammenlignes med den kvantitative målingen. Resultatene vises i FIG 1 på den innvendige baksiden.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Pontos 1 - 8 correspondem a ilustrações na capa interior.

ESTRUTURA DA TIRA

1 Área de imersão 2 Zona de reacção 3 Linhas de teste 4 Linha de controlo

USO RECOMENDADO

O teste Actim® Calprotectin é um teste imunocromatográfico, semiquantitativo e de interpretação visual em tira utilizado para determinação e monitorização das concentrações de calprotectina nas fezes. O teste destina-se a ser utilizado por profissionais como auxiliar de diagnóstico de inflamação intestinal.

COMPONENTES DO KIT

Os componentes do Teste Actim Calprotectin são:

- Tiras Actim Calprotectin num dispositivo perfurante. As tiras (10) são embaladas num invólucro de alumínio.
- Tampão de diluição da amostra (3 ml). Esta solução de tampão Tris contém albumina sérica bovina (BSA), inibidores de proteases e azida de sódio a <0,1 % (w/v) [NaN₃]. Uma zaragatoa para colheita da amostra está anexada à parte interna da tampa de cada tubo.

O Kit 35032ETAC contém dois tubos de alumínio com tiras [35061ETAC] e 20 tubos para tampão de diluição da amostra [35071ETAC].

Um folheto de instruções de utilização está incluído em todos os formatos do produto. É necessário papel absorvente ou um recipiente limpo e descartável para as amostras (não incluído no teste).

CONSERVAÇÃO

Conservar as tiras e os tubos de tampão de diluição da amostra entre +2 e +30 °C. Cada componente do kit que não tenha sido aberto pode ser usado até à data de validade indicada em cada invólucro. Após a primeira abertura do invólucro de alumínio, as tiras podem ser conservadas por um período de quatro meses entre +2 e +30 °C. De qualquer modo, o prazo de validade não deve ser ultrapassado.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A amostra é constituída por uma suspensão de fezes que é preparada imediatamente após a colheita da amostra. A amostra de fezes inicial pode ser conservada até 4 dias entre +2 a +8 °C.

Abrir o tubo de diluição da amostra, desenroscando a tampa. Recolher uma amostra de fezes, utilizando a zaragatoa que está inserida no interior da tampa do tubo. Existem duas fendas na extremidade de cada zaragatoa. Rodar a zaragatoa na amostra de fezes, para que ambas as fendas colham as fezes. Em caso de amostras líquidas, secar a zaragatoa com papel absorvente antes de a colocar na amostra. As fendas da zaragatoa são assim preenchidas com as fezes líquidas.

Coloque a vareta de amostragem no tubo do Tampão de Diluição da Amostra, introduzindo a vareta através do cone. Enroscar firmemente a tampa do tubo de diluição da amostra e agitar para suspender as fezes no tampão. A amostra em suspensão poderá então ser utilizada para a realização do teste. A suspensão pode ser conservada durante uma semana entre +2 e +25 °C (+2 e +8 °C é a temperatura recomendada).

PROCEDIMENTO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. Se forem conservados no frigorífico, deixe o recipiente de alumínio com tiras de teste e o tubo de tampão atingir a temperatura ambiente antes de abrir. De seguida, retirar os dispositivos perfurantes necessários (cada um contendo uma tira) logo antes de utilizar o Kit e, de seguida fechar o invólucro imediatamente. Não tocar na zona amarela na parte inferior da tira. Não tocar na parte do dispositivo perfurante abaixo do limite saliente superior da zona amarela, visto que é esta zona que irá ter contacto com a amostra. Podem existir marcas de identificação nas partes superiores cinzentas azuladas das tiras de teste.
2. A amostra deverá estar à temperatura ambiente antes de se iniciar o teste. Utilize a extremidade afiada do dispositivo de perfuração para efetuar a punção da área de perfuração na parte inferior do tubo de tampão e, em seguida, **pressione o dispositivo para o interior do tubo até atingir o limite do batente 5**.
3. Inverta lentamente o tubo uma vez e coloque imediatamente o tubo na mesa em posição vertical 6. **NOTA! É importante não inverter o tubo com um movimento demasiado brusco; uma inversão calma é essencial para a realização correta do teste. Além disso, o tubo não deve permanecer invertido.**

4. O resultado fica disponível em **10 minutos** 7. **Ignore quaisquer linhas que apareçam para além do período de 10 minutos.**

5. **Se, para além da linha de controlo azul na parte superior da área de resultados:**

- **não forem visíveis outras linhas azuis**, a concentração de calprotectina é de **<50 µg/g de fezes.**
- **for visível uma linha azul na parte inferior da área de resultados**, a concentração de calprotectina é de **50-200 µg/g de fezes.**
- **forem visíveis duas linhas azuis**, a concentração de calprotectina é de **>200 µg/g de fezes.**

Se a **linha de controlo não surgir**, o teste será considerado **inválido** 8.

Neste caso, consultar a secção das Notas para resolução de problemas.

A intensidade das linhas azuis varia. Quando a concentração de calprotectina é baixa, apenas será apresentada uma linha azul clara, além da linha de controlo azul, em 10 minutos. À medida que a concentração de calprotectin aumenta, também aumentará a intensidade da primeira linha. Uma segunda linha azul começa a aparecer quando a concentração de calprotectin excede os 200 µg/g de fezes.

ELIMINAÇÃO DO DISPOSITIVO DE TESTE APÓS UTILIZAÇÃO

A tampa do tubo e o dispositivo perfurante estão próximos pelo que o dispositivo de teste pode ser eliminado imediatamente após a leitura do resultado do teste. Não remover o dispositivo perfurante do tubo.

LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste destina-se à aplicação no diagnóstico *in vitro* apenas.

NOTAS

- Os resultados do teste são semiquantitativos.
- Não utilizar tiras que tenham sido humedecidas antes de serem utilizadas, uma vez que a humidade altera as propriedades da tira.
- Não utilizar a tira se verificar uma coloração azul na zona de reacção antes da execução do teste.
- Não tocar na zona de imersão da tira ou na área do dispositivo de perfuração abaixo do batente.

- Quando se inclina o tubo para permitir a absorção da amostra pela tira, não é aconselhável fazê-lo de um modo demasiado brusco ou durante muito tempo. O teste não funcionará correctamente se a quantidade de amostra absorvida for demasiado pequena ou grande.
- Caso a linha de controlo não surja, é possível que a inclinação do tubo tenha sido efectuado de forma demasiado brusca. Utilizar uma nova tira e repetir todo o procedimento até à inclinação, a qual deve fazer suavemente.
- O tratamento inadequado das amostras pode levar a resultados falsos.
- A calprotectina não se encontra uniformemente distribuída na amostra de fezes. Assim, é importante mergulhar a vareta de amostragem aleatoriamente em vários pontos da amostra de fezes.
- O aparecimento da linha de controlo confirma o correcto desempenho do teste. Se a linha de controlo não aparecer, o teste deve ser considerado inválido e, neste caso, deverá repetir-se o teste, utilizando uma nova tira.
- Se não for possível interpretar o resultado do teste com clareza (por exemplo, no caso de as linhas surgirem manchadas ou desniveladas) é aconselhável repetir o teste com outra tira.
- Após dez minutos, o aparecimento de qualquer linha azul claro a azul escuro, em conjunto com uma linha de controlo, indica um resultado positivo. Contudo, ignore quaisquer linhas que apareçam para além do período de 10 minutos.
- Se visualizar apenas a linha de controlo, o resultado de teste deve ser interpretado como sendo negativo após os 10 minutos.
- Se a cor da linha de teste não for azul, o resultado deverá ser interpretado como inválido e o teste deve ser repetido com uma nova amostra de fezes.
- Como sucede em todos os testes de diagnóstico, os resultados obtidos deverão estar em conformidade com a sintomatologia clínica apresentada pelo doente.
- Todas as amostras biológicas e materiais deverão ser manuseados como potencialmente perigosos e eliminados de acordo com as normas locais.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

A calprotectina é um produto de degradação dos granulócitos neutrófilos da camada mucosa do cólon. É libertada em excesso nos intestinos quando existe inflamação do cólon. O teste da calprotectina fecal pode ser usado como auxiliar para distinção entre doenças inflamatórias intestinais, tais como doença de Crohn e colite ulcerosa, e doenças intestinais não inflamatórias, tais como síndrome do cólon irritável. Também pode ser usado para determinar a atividade da doença e monitorizar a resposta ao tratamento em pacientes com colite ulcerosa ou doença de Crohn.

O teste é baseado em imunocromatografia. Envolve anticorpos monoclonais contra a calprotectina humana. Os anticorpos estão ligados a partículas de látex azul (o marcador de deteção). Na membrana de transporte, existem duas zonas de anticorpos específicos para calprotectina, aos quais as partículas de látex azul se ligarão se a amostra contiver calprotectina.

Quando a suspensão de fezes entra em contacto com a área para imersão da tira de teste, a tira absorve e é percorrida pelo líquido. Se a amostra contiver calprotectina, esta liga-se aos anticorpos associados às partículas de látex. As partículas são transportadas pelo fluxo do líquido e, se estiverem ligadas a calprotectina, ligam-se às zonas de anticorpos de captura correspondentes. Se a amostra contiver > 200 µg de calprotectina/g de fezes, serão apresentadas duas linhas. O aparecimento de uma linha de controlo azul confirma que o teste teve um desempenho correto.

DESEMPENHO DO TESTE

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica, ou limite de deteção, do teste Actim Calprotectin foi avaliada por dois operadores que utilizaram amostras com concentrações diferentes de calprotectina humana correspondendo a 12,5 - 10 000 µg de calprotectina/g de fezes em três lotes diferentes do teste Actim Calprotectin.

O limite de deteção do teste Actim Calprotectin é de 50 µg/g de fezes. Neste ponto, 97% dos resultados foram positivos. A segunda linha azul começa a aparecer quando a suspensão de fezes contém calprotectina > 200 µg/g de fezes. Neste ponto, 90% dos resultados foram positivos. O efeito de hook foi testado com amostra que continha até 10 000 µg de calprotectina humana/g de fezes, fornecendo consistentemente um resultado positivo.

Capacidade de repetição e de reprodução

A precisão intra-ensaio (capacidade de repetição) e entre ensaios (capacidade de reprodução) foi avaliada utilizando amostras com 0 - 200 µg de calprotectina humana/g de fezes. Para avaliar a capacidade de repetição, as amostras foram testadas por dois operadores no mesmo dia utilizando 10 réplicas por amostra em três lotes diferentes do teste Actim Calprotectin, obtendo um total de 120 testes/lote (360/3 lotes) num dia. A concordância para as amostras que continham 50 µg de calprotectina humana/g de fezes foi de 97% e, para a amostra que continha 200 µg de calprotectina humana/g de fezes, foi de 97%. Para avaliar a capacidade de reprodução, as amostras foram testadas nos cinco dias úteis consecutivos utilizando três réplicas por amostra em três lotes diferentes do teste Actim Calprotectin, obtendo um total de 180 testes/lote (540/3 lote) em cinco dias. A concordância para as amostras que continham 50 µg de calprotectina humana/g de fezes foi de 98% e, para a amostra que continha 200 µg de calprotectina humana/g de fezes, foi de 98%.

Especificidade analítica, reactividade cruzada

O teste Actim Calprotectin foi testado com reatividade cruzada de transferrina e hemoglobina humana e bovina. Não foi observada qualquer reatividade cruzada. O teste Actim Calprotectin é específico para a calprotectina humana.

Comparação do método

A função do teste Actim Calprotectin foi avaliada através do teste de 100 amostras de pacientes com o teste e medindo a concentração de calprotectina a partir das mesmas suspensões fecais por Bühlmann fCAL ELISA. A avaliação dos resultados demonstrou que os resultados do teste Actim Calprotectin são comparáveis à medição quantitativa. Os resultados são apresentados na Fig. 1 no interior da contra-capa.

BRUKSANVISNING

Numren ① - ⑧ hänvisar till illustrationerna på insidan av pärmen.

TESTSTICKANS KONSTRUKTION

① Doppområde ② Avläsningsfält ③ Testlinjer ④ Kontrollinje

AVSEDD ANVÄNDNING

Actim[®] Calprotectin-testet är ett semikvalitativt immunokromatografiskt snabbtest som tolkas visuellt som används för bestämning och övervakning av calprotektinkoncentrationer i faeces. Testet är avsett för professionell användning som hjälp vid diagnostisering av intestinal inflammation.

INNEHÅLL

Actim Calprotectin test består av följande komponenter:

- En aluminiumburk innehållande 10 stycken teststickor.
- Provtagningsburkar (3 mL) med provspädningsbuffert. Denna trisbuffrade lösning innehåller bovint serumalbumin (BSA), proteashämmare och < 0,1 % natriumazid (NaN₃). I varje provtagningsburk finns en provpinne fäst i burkens lock.

Actim Calprotectin test kit (35032ETAC) innehåller två stycken aluminiumburkar med teststickor (35061ETAC) och 20 provtagningsburkar (35071ETAC).

Bruksanvisning finns i alla kit. Toalettpapper eller en ren (engångs-) behållare för uppsamling av prov behövs för provtagningen men ingår ej.

FÖRVARING

Teststickorna och provtagningsburkarna förvaras vid +2...+30 °C. Komponenterna är hållbara i oöppnad förpackning till det utgångsdatum som anges på respektive förpackning. Efter det att burken med teststickornas öppnats för första gången är förvaringstiden 4 månader vid +2...+30°C, dock ej efter utgångsdatum.

PROVTAGNING

Som prov användes avföringslösning gjord på så färsk avföring som möjligt. Avföring kan förvaras i 4 dagar i +2...+8 °C.

Skruva bort locket på provburken. Ta avföringsprovet med pinnen som sitter i korken på provburken. Det finns två små fåror i änden av provtagningspinnen. Roterar pinnen på flera ställen i feces så att båda fårorna fylls. Om provet är

flytande, torka av provtagningspinnen på ett toalettpapper innan den sticks i fecesen. Fårorna kan då fyllas med det flytande provet.

För in provstickan i provröret med spädningsbuffert genom att trycka stickan genom korken. Skruva fast korken ordentligt och skaka därefter burken så att provet blandas med bufferten. Provet är nu klart för att undersökas. Efter provtagning kan burken förvaras i en vecka vid +2...+25 °C (+2...+8 °C rekommenderas).

PROVUTFÖRANDE OCH TOLKNING AV RESULTAT

1. Om testkitet förvaras kallt ska aluminiumburk med teststickor och buffetröret uppnå rumstemperatur före användning. Ta fram det antal stickor du behöver från burken och stäng den noga omedelbart därefter. Vidrör ej teststickans gula yta (nedanför "stoppert"). Identifierande märkningar kan skrivas på den övre blågrå delen av mätstickan.
2. Provet bör uppnå rumstemperatur innan testet kan utföras. Punktera perforeringsområdet i botten av provtagningsflaskan med den spetsiga delen av teststickan. **Tryck in teststickan tills det tar stopp ⑤.**
3. Vänd provtuben upp och ner en gång och ställ den noga omedelbart på en plan yta. Hela proceduren ska ta 2 sekunder ⑥. **OBS: Det är mycket viktigt att provburken vänds sakta bara en gång och att den inte hålls upp och ner.**
4. Resultatet blir tillgängligt inom **10 minuter ⑦. Beakta inte eventuella linjer som framträder senare än efter 10 minuter.**
5. **Om du, utöver den blågrå kontrollinjen i den övre delen av resultatområdet, ser:**
 - **inga andra blå linjer** är calprotektinkoncentrationen <50 µg/g faeces.
 - **en blå linje i den nedre delen av resultatområdet** är calprotektinkoncentrationen 50-200 µg/g faeces.
 - **två blå linjer** är calprotektinkoncentrationen >200 µg/g faeces.

Om **ingen kontrollinje** ses i avläsningsfältet är testet **ogiltigt ⑧.**

Om kontrollinje saknas, se avsnittet för felsökning.

De blå linjernas intensitet varierar. När calprotektinkoncentrationen är låg framträder endast en svag blå linje utöver den blå kontrollinjen inom 10 minuter. Allt eftersom koncentrationen av calprotektin ökar, ökar intensiteten på den första linjen. En andra blå linje börjar framträda när calprotektinkoncentrationen överstiger 200 µg/g faeces.

KASSERING AV PROVBURKEN

Efter det att analys utförts ska stickan lämnas i provburkens kork och allt kastas tillsammans. Provburken är tillräckligt tät för att kastas som sådan.

TESTENS BEGRÄNSNINGAR

Testet är endast avsett för *in vitro* bruk.

ATT NOTERA

- Testresultaten är semikvantitativa.
- Använd inte en teststicka som blivit fuktig före användning, eftersom fukt inverkar skadligt på teststickan.
- Använd inte en teststicka ifall du ser en blå färgning i avläsningsfältet före testning.
- Undvik att röra vid teststickans gula del eller provstickans nedre del med fingrarna.
- Det är mycket viktigt att provburken vänds sakta runt innan den hålls upp och ner i två sekunder. Testen fungerar ej om den uppsugna provmängden är för liten eller för stor.
- Om kontrollinjen inte syns kan vändandet av burken ha skett för hastigt. Ta en ny teststicka och utför analysen korrekt.
- Felaktig provtagning kan leda till falska resultat.
- Calprotektin är inte jämnt fördelat i faecesprovet. Därför är det viktigt att doppa provstickan slumpmässigt på flera ställen i faecesprovet.
- Kontrollinjen är tecken på att testen fungerat och utförts rätt. Om kontrollinjen inte uppkommer, är testet ogiltigt och bör upprepas med en ny teststicka.
- Om testresultatet är svåravläst (brutna eller punktlika linjer) rekommenderas att testet görs om med en ny teststicka.
- Efter tio minuter anger uppträdandet av varje blekblå till mörkblå linje tillsammans med en kontrollinje ett positivt resultat. Beakta dock inte eventuella linjer som framträder senare än efter 10 minuter.
- Om bara kontrollinjen syns ska testresultatet tolkas som negativt först när 10 minuter har gått.
- Om färgen på testlinjen inte är blå ska resultatet tolkas som ogiltigt och testet ska upprepas med ett nytt faecesprov

- Vid tolkning av testresultat ska patientens övriga kliniska data beaktas.
- Biologiska prov och material skall behandlas som smittobärande och bör förstöras enligt lokala bestämmelser.

PRINCIP

Calprotektin är en nedbrytningsprodukt från neutrofila granulocyter från sleminneskiktet i kolon. Den frisätts i stora mängder i inälvorna när koloninflammation föreligger. Test av fekalt calprotektin kan användas som ett hjälpmedel för att skilja mellan inflammatorisk tarmsjukdom som exempelvis Crohns sjukdom och ulcerativ kolit, och icke-inflammatorisk tarmsjukdom som exempelvis irriterad tarmsyndrom. Det kan även användas för att fastställa sjukdomsaktiviteten och övervaka behandlingssvaret hos patienter med ulcerativ kolit eller Crohns sjukdom.

Testet är baserat på immunokromatografi. Det använder monoklonala antikroppar mot humant calprotektin. Antikropparna binds till blåfärgade latexpartiklar (detektionssignalen). I bärmembranet finns det två calprotektinspecifika antikroppszoner, till vilka de blå latexpartiklarna binds om provet innehåller calprotektin.

När faecessuspensionen kommer i kontakt med teststickans doppområde absorberar teststickan vätska, vilken börjar vandra uppåt längs teststickan. Om provet innehåller calprotektin binds det till antikropparna som är anslutna till latexpartiklarna. Partiklarna bärs av vätskeflödet och om calprotektin finns bundet till dem fångas de upp och binds till motsvarande antikroppszoner. Om provet innehåller >200 µg/g faeces kommer två blå linjer att framträda. En blå kontrollinje bekräftar att testet har fungerat på rätt sätt.

TESTETS PRESTANDA

Analytisk sensitivitet

Den analytiska sensitiviteten, detektionsgränsen, för Actim Calprotectin-testet utvärderades av två operatörer med hjälp av prover med olika koncentrationer av humant calprotektin motsvarande 12,5–10 000 µg calprotektin/g faeces i tre olika satser av Actim Calprotectin-testet.

Detektionsgränsen för Actim Calprotectin är 50 µg/g faeces. Vid denna punkt var 97 % av resultaten positiva. Den andra blå linjen börjar framträda när faecessuspensionen innehåller calprotektin > 200 µg/g faeces. Vid denna punkt var 90 % av resultaten positiva. Hookeffekten har testats med prover innehållande upp till 10 000 µg humant calprotektin/g faeces, vilket konsekvent gett positivt resultat.

Repeterbarhet och reproducerbarhet

Intra- (repeterbarhet) och inter- (reproducerbarhet) analysprecision utvärderades med hjälp av prover som innehöll 0 – 200 µg humant calprotektin/g faeces. För att kontrollera repeterbarheten testades proverna av två operatörer på samma dag med 10 replikat per prov på tre olika satser av Actim Calprotectin. Totalantalet var 120 tester/sats (360/3 satser) på en dag. Överensstämmelsen för de prover som innehöll 50 µg human calprotektin/g faeces var 97 % och för det prov som innehöll 200 µg humant calprotektin/g faeces 97 %. För att kontrollera reproducerbarheten testades proverna under fem på varandra följande dagar med tre replikat per prov på tre olika satser av Actim Calprotectin. Totalantalet var 180 tester/sats (540/3 satser) på fem dagar. Överensstämmelsen för de prover som innehöll 50 µg human calprotektin/g faeces var 98 % och för det prov som innehöll 200 µg humant calprotektin/g faeces 98 %.

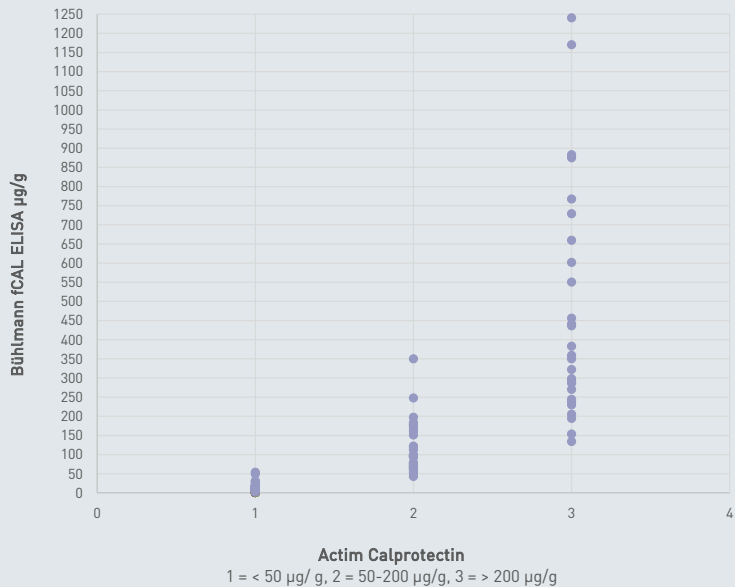
Analytisk specificitet, korsreaktivitet

Actim Calprotectin-testet har testats för korsreaktivitet mellan humant och bovin transferrin och hemoglobin. Ingen korsreaktivitet observerades. Actim Calprotectin-testet är specifikt för humant calprotektin.

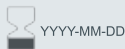
Metodjämförelse

Funktionen på Actim Calprotectin-testet utvärderades genom att testa 100 patientprover med Actim Calprotectin och mäta calprotektinkoncentrationen i samma avföringssuspensioner med Bühlmann fCAL ELISA. Utvärderingen av resultaten visade att resultaten för Actim Calprotectin är jämförbara med kvantitativ mätning. Resultaten visas i fig. 1 på omslagets insida.

FIG 1.



EXPLANATION OF SYMBOLS • Vysvětlení symbolů • Symbolforklaring • Interpretation der Symbole • Significado de los símbolos • Symbolien selitykset • Explication des symboles • Spiegazione dei simboli • Interpretatie van de symbolen • Symbolforklaring • Explicação dos símbolos • Teckenförklaringar



YYYY-MM-DD

Use By
Použitelné do
Anvendes inden
Verwendbar bis
Fecha de caducidad
Viimeinen käyttöpäivä
Utiliser jusque
Utilizzare entro
Houdbaar tot
Brukes før
Válido até
Använd före



Temperature limitation
Teplotní rozmezí od do
Temperaturbegrensning
Temperaturbereich
Limite de temperatura
Lämpötilarajoitus
Limites de température
Limiti di temperatura
Temperatuurlimiet
Temperaturbegrensning
Limite da temperatura
Temperaturbegrensning



Manufacturer
Výrobce
Producent
Hersteller
Fabricante
Valmistaja
Fabricant
Fabbriicante
Fabrikant
Produsent
Fabricante
Tillverkare

LOT

Batch code
Číslo šarže
Batchnumber
Chargenbezeichnung
Código de lote
Erä
Code du lot
Codice del lotto
Lot nummer
Lotnummer
Número de lote
Lot nummer

REF

Catalogue number
Katalogové číslo
Katalognummer
Bestellnummer
Número de catálogo
Tuotenumero
Référéncia du catalogue
Numero di catalogo
Catalogusnummer
Katalognummer
Código do produto
Katalognummer



Single use
Jednorázové použití
Engangsbrug
Nicht wiederverwendbar
No reutilizar
Kertakäyttöinen
Ne pas réutiliser
Non riutilizzare
Niet opnieuw gebruiken
Ikke til gjenbruk
De uso único
Återanvänds ej



Contains sufficient for <n> tests
Lze použít pro <n> testů
Indeholder tilstrækkeligt til "n" test
Ausreichend für "n" Tests
Contenido suficiente para "n" ensayos
Sisältö on riittävä "n" testiä varten
Contenu suffisant pour "n" tests
Contenuto sufficiente per "n" saggi
Inhoud voldoende voor "n" testen
Inneholder nok til "n" tester
Conteúdo suficiente para <n> exames
Räcker till "n" antal tester

DILSPE

Specimen dilution buffer
Pufř k ředění vzorku
Fortyndingsbuffer
Probenverdünnungspuffer
Tampón de dilución de Muestra
Näytteenlaimennuspuskuri
Tampon de dilution
Tampone di diluzione
Buffer om de monsters te verdunnen
Fortynningsbuffer
Tampão para diluição da amostra
Provutspädningslösning

STICK

Dipstick
Testovací proužek
Teststrimmel
Teststreifen
Tira reactiva
Testitikk
Bandelette
Dipstick
Dipstick
Teststrimmel
Tira reactiva
Teststicka



Consult instructions for use
Viz návod k použití
Se brugsanvisningen
Gebrauchsanweisung zurate ziehen
Consultar las instrucciones de uso
Katso käyttöohjeet
Consulter la notice d'utilisation
Consultare le istruzioni d'uso
Raadpleeg de gebruiksinstructies
Se bruksanvisningen
Consultar as instruções de utilização
Läs i bruksanvisningen

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device
In Vitro diagnostický zdravotnický prostředek
Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik
In vitro Diagnostikum
Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu
lääkinnällinen laite
Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*
Medisch hulpmiddel voor *in-vitro*diagnostiek
Medisinsk utstyr for *in vitro* diagnostikk
Dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*
Medicintekniska produkter för *in vitro* diagnostik

CONT NaN₃ <0.1%

Contains <0.1 % NaN₃
Obsahuje <0,1 % NaN₃
Indeholder <0,1 % NaN₃
Enthält <0,1 % NaN₃
Contiene <0,1 % NaN₃
Sisältää <0,1 % NaN₃
Contient <0,1 % NaN₃
Contiene <0,1 % NaN₃
Bevat <0,1 % NaN₃
Inneholder <0,1 % NaN₃
Contém <0,1 % NaN₃
Innehåller <0,1 % NaN₃

Actim[®] Calprotectin

Medix Biochemica



Oy Medix Biochemica Ab
Klovinpellontie 3, FI-02180 Espoo, Finland
Tel. +358 9 547 680
www.medixbiochemica.com
medix@medixbiochemica.com

© Medix Biochemica. All rights reserved.
Actim is a trademark of Medix Biochemica.

OACE35032-1 2017-10-25

