

Test rapido monofase per il rilevamento qualitativo della calprotectina in campioni di feci umane.

Esclusivamente per uso diagnostico professionale in vitro.

【USO PREVISTO】

La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è un immunodosaggio cromatografico rapido per il rilevamento qualitativo della calprotectina in campioni di feci umane, e può risultare utile per la diagnosi di disturbi gastrointestinali infiammatori.

【SINTESI】

La calprotectina è un dimero di 24 kDa composto dalle proteine leganti il calcio S100A8 e S100A9.^[1] Il complesso rappresenta fino al 60% del contenuto di proteine solubili dei citosol dei neutrofili.^[2] La calprotectina diventa disponibile nel lume intestinale attraverso rilascio da parte dei leucociti,^[3] secrezione attiva,^[2] disturbi cellulari e morte cellulare.^[3] Ciò produce livelli elevati di calprotectina fecale, che possono essere rilevati nelle feci.^[3] Livelli elevati di calprotectina fecale indicano perciò la migrazione di neutrofili nella mucosa intestinale, che si verifica durante l'infiammazione intestinale.^[4] La calprotectina fecale è stata impiegata per rilevare l'infiammazione intestinale e può fungere da marcatore di malattie infiammatorie intestinali.^[5] La calprotectina è utile come marcatore, poiché è resistente alla degradazione enzimatica e può essere facilmente misurata nelle feci.^[6]

【PRINCIPIO DEL TEST】

La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è un immunodosaggio a flusso laterale per il rilevamento qualitativo di calprotectina in campioni di feci umane. La membrana è pre-rivestita con un anticorpo anti-calprotectina nella zona della linea reattiva. Durante l'analisi, il campione reagisce con le particelle rivestite di anticorpo anti-calprotectina. La miscela migra cromatograficamente verso l'alto per capillarità sulla membrana, reagendo con l'anticorpo anti-calprotectina presente sulla membrana stessa, formando una linea colorata. La presenza di tale linea colorata nella zona della linea reattiva indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo. Come controllo procedurale, compare sempre una linea colorata nella zona di controllo, a indicare che è stato aggiunto il volume corretto di campione e che la capillarità ha agito sulla membrana.

【REAGENTI】

Il test contiene particelle di anticorpo anti-calprotectina e un rivestimento di anticorpo anti-calprotectina sulla membrana.

【PRECAUZIONI】

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale in vitro. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Il test deve rimanere nella busta sigillata fino al momento dell'uso.
- Non consumare alimenti o bevande e non fumare nell'area di manipolazione dei campioni o dei kit.
- Manipolare tutti i campioni come se contenessero agenti infettivi. Osservare le precauzioni accettate contro i rischi microbiologici per l'intera durata delle procedure, e smaltire i campioni attenendosi alle procedure standard.
- Durante l'analisi dei campioni, indossare indumenti protettivi come camici da laboratorio, guanti monouso e dispositivi di protezione degli occhi.
- I test usati devono essere smaltiti secondo le norme locali.
- L'umidità e la temperatura possono influire negativamente sui risultati.

【CONSERVAZIONE E STABILITÀ】

È possibile conservare il kit a temperatura ambiente o in frigorifero (2 - 30 °C). La cassetta per test è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla busta sigillata. La cassetta per test deve rimanere nella busta sigillata fino al momento dell'uso. NON CONGELARE. Non utilizzare dopo la data di scadenza.

【PRELIEVO E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE】

1. Il campione di feci deve essere raccolto in un contenitore pulito, asciutto e impermeabile privo di detergenti, conservarsi o terreni di trasporto.
2. Portare i reagenti necessari a temperatura ambiente prima dell'uso.

【MATERIALE】
Materiale fornito

- Cassette per test
- Provette con tampone di estrazione per la raccolta del campione
- Foglio illustrativo

Materiale necessario ma non fornito

- Contenitori per la raccolta dei campioni
- Timer
- Contagocce

【ISTRUZIONI PER L'USO】

Prima dell'analisi, attendere che il test, il campione, il tampone e/o i controlli raggiungano la temperatura ambiente (15 - 30 °C).

1. Per la raccolta dei campioni di feci:

Prelevare una quantità di feci sufficiente (1-2 ml o 1-2 g) in un contenitore per la raccolta dei campioni pulito e asciutto per ottenere la quantità massima di antigeni (se presenti). Per ottenere risultati ottimali, eseguire il test entro 6 ore dal momento della raccolta. Se il test non viene eseguito entro 6 ore, è possibile conservare i

campioni raccolti per 3 giorni a 2 - 8 °C. Per la conservazione a lungo termine i campioni devono essere conservati al di sotto di -20 °C.

2. Trattamento dei campioni di feci:

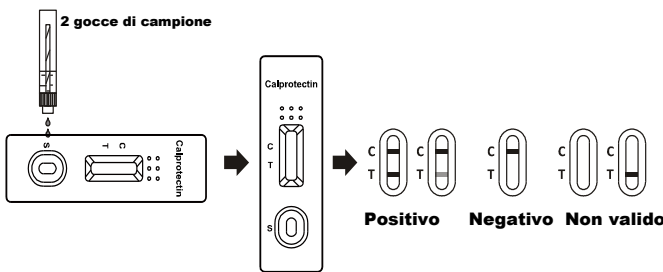
• Per campioni solidi:

Svitare il tappo della provetta per la raccolta del campione, quindi conficcare in modo casuale l'applicatore per la raccolta dei campioni in almeno 3 punti diversi del campione di feci per raccogliere circa 50 mg di feci (equivalenti a 1/4 di un pisello). Non scavare il campione di feci.

• Per campioni liquidi:

Tenere il contagocce in verticale, aspirare i campioni di feci e trasferire 2 gocce (circa 80 µl) nella provetta per la raccolta del campione contenente il tampone di estrazione.

3. Serrare il tappo sulla provetta per la raccolta del campione, quindi agitarla vigorosamente per miscelare il campione e il tampone di estrazione. Lasciare riposare la provetta per 2 minuti.
4. Portare la busta a temperatura ambiente prima di aprirla. Estrarre la cassetta per test dalla busta di pellicola e usarla entro un'ora. Per ottenere risultati ottimali, eseguire il test subito dopo l'apertura della busta di pellicola.
5. Tenere in posizione verticale la provetta per la raccolta del campione e aprirne il tappo. Rovesciare la provetta per la raccolta del campione e trasferire 2 gocce del campione estratto (circa 80 µl) nel pozzetto del campione (S) della cassetta del test, quindi avviare il timer. Evitare che nel pozzetto (S) per il campione rimangano intrappolate bolle d'aria. Vedere l'illustrazione riportata di seguito.
6. Leggere i risultati 5 minuti dopo aver dispensato il campione. Non leggere i risultati dopo 10 minuti.
7. **Nota:** se il campione non migra (presenza di particelle), centrifugare i campioni estratti contenuti nel flacone del tampone di estrazione. Raccogliere 80 µl di surnatante, dispensarlo nel pozzetto del campione (S) di una nuova cassetta del test e ricominciare dall'inizio seguendo le istruzioni riportate in precedenza.


【INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI】

(Vedere l'illustrazione precedente)

POSITIVO: * **compaiono due linee.** Una linea colorata deve trovarsi nella zona della linea di controllo (C), mentre un'altra deve essere visibile nella zona della linea reattiva (T).

***NOTA:** l'intensità del colore nella zona della linea reattiva (T) varierà a seconda della concentrazione di calprotectina presente nel campione. Pertanto ogni sfumatura nella zona della linea reattiva (T) deve essere ritenuta indicativa di un risultato positivo.

NEGATIVO: **compare una sola linea colorata nella zona della linea di controllo (C).** Non compare alcuna linea nella zona della linea reattiva (T).

NON VALIDO: **la linea di controllo non compare.** Le cause più probabili dell'assenza della linea di controllo sono un volume insufficiente del campione o un errore nelle tecniche procedurali. Rivedere la procedura e ripetere l'analisi con un nuovo test. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'uso del kit e contattare il distributore locale.

【CONTROLLO DI QUALITÀ】

Il test contiene controlli interni della procedura. La comparsa di una linea colorata nella zona di controllo (C) è un controllo procedurale interno valido. Essa conferma l'uso di una quantità di campione sufficiente e di una tecnica procedurale corretta.

Con questo kit non vengono forniti standard di controllo, ma si raccomanda di analizzare controlli positivi e negativi come una buona pratica di laboratorio per verificare la procedura di analisi e le sue prestazioni.

【LIMITI】

1. La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è destinata esclusivamente all'uso diagnostico in vitro.
2. La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) indicherà solo la presenza della calprotectina; la concentrazione precisa non è confermata dal test rapido.
3. Come per tutti i test diagnostici, è indispensabile considerare tutti i risultati unitamente alle altre informazioni cliniche a disposizione del medico.
4. In caso di risultati dubbi, sono necessari altri test disponibili a livello clinico.

【VALORI PREVISTI】

La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è stata confrontata con un altro test rapido commerciale di uso comune. La correlazione tra i due sistemi è del 98,5%.

【PRESTAZIONI】
Accuratezza

La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è stata confrontata con un altro test rapido commerciale di uso comune utilizzando campioni clinici.

Metodo	Altro test rapido		Risultato totale
	Positivo	Negativo	
Cassetta per il test rapido della calprotectina (feci)	133	2	135
	3	198	201
Risultato totale	136	200	336

Sensibilità relativa: 97,8% (IC 95%*: 93,7%-99,5%);

Specificità relativa: 99,0% (IC 95%*: 96,4%-99,9%);

Accuratezza: 98,5% (IC 95%*: 96,6%-99,5%).

* Intervalli di confidenza

Sensibilità

La cassetta per il test rapido della calprotectina (feci) è in grado di rilevare livelli di calprotectina pari a soli 50 µg/g o 140 ng/ml di feci.

Precisione
Intra-saggio

La precisione intra-serie è stata determinata utilizzando 15 repliche di tre campioni positivi con concentrazioni pari a 140 ng/ml, 500 ng/ml e 10 µg/ml. I campioni sono stati identificati correttamente in oltre il 99% dei casi.

Inter-saggio

La precisione inter-serie è stata determinata mediante 15 dosaggi indipendenti sugli stessi tre campioni positivi con concentrazioni pari a 140 ng/ml, 500 ng/ml e 10 µg/ml. Su tali campioni sono stati utilizzati tre lotti distinti di cassette per il test rapido della calprotectina (feci). I campioni sono stati identificati correttamente in oltre il 99% dei casi.

【BIBLIOGRAFIA】

1. Brophy, Megan Brunjes; Nolan, Elizabeth M. (16 January 2015). "Manganese and Microbial Pathogenesis: Sequestration by the Mammalian Immune System and Utilization by Microorganisms". ACS Chemical Biology. 10: 150116125412006.
2. Striz, I; Trebichavsky, I (2004). "Calprotectin - a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation.". Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 53 (3): 245-53.
3. Lehmann, F. S.; Burri, E.; Beglinger, C. (13 October 2014). "The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease". Therapeutic Advances in Gastroenterology. 8 (1): 23-36.
4. Gupta, Ramesh (2014). Biomarkers in toxicology. San Diego, CA: Academic Press. pp. 272-273. ISBN 9780124046498
5. Marshall, William Marshall.; Lapsley, Marta; Day, Andrew; Ayling, Ruth (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects (3 ed.). Elsevier Health Sciences, 2014. ISBN 9780702054785.
6. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I (2000). "A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease". Gut. 47 (4): 506-13.

Indice dei simboli

	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso		N. test per kit		Rappresentante autorizzato
	Esclusivamente per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2 - 30 °C		Numero di lotto	REF	Codice n.
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

ACRO Biotech, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.

CE
EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany



Calprotectin Rapid Test Cassette

(Feces)

Package Insert

REF OCAL-602 English

A rapid, one step test for the qualitative detection of Calprotectin in human feces specimen.

For professional in vitro diagnostic use only.

INTENDED USE

The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Calprotectin in human feces specimen which might be useful for the diagnosis of inflammatory gastrointestinal disorders.

SUMMARY

Calprotectin is a 24 kDa dimer of calcium binding proteins S100A8 and S100A9. The complex accounts for up to 60% of the soluble protein content of the neutrophil cytosol. Calprotectin becomes available in the intestinal lumen via leukocyte shedding, active secretion, cell disturbance, and cell death. Elevated faecal calprotectin levels, which can be detected in the stool. Elevated faecal calprotectin levels therefore indicate migration of neutrophils into the intestinal mucosa, which occurs during intestinal inflammation. Faecal calprotectin has been used to detect intestinal inflammation, and can serve as a marker for inflammatory bowel diseases. Calprotectin is useful as a marker, as it is resistant to enzymatic degradation, and can be easily measured in faeces.

PRINCIPLE

The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) is a qualitative, lateral flow immunoassay for the detection of Calprotectin in human feces specimen. The membrane is precoated with anti-Calprotectin antibody on the test line region of the test. During testing, the specimen reacts with the particle coated with an Calprotectin antibody. The mixture migrates upward on the membrane chromatographically by capillary action to react with anti-Calprotectin antibody on the membrane and generate a colored line. The presence of this colored line in the test line region indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. To serve as a procedural control, a colored line will always appear in the control line region, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

REAGENTS

The test contains anti-Calprotectin antibody particles and anti-Calprotectin antibody coated on the membrane.

PRECAUTIONS

- For professional in vitro diagnostic use only. Do not use after expiration date.
The test should remain in the sealed pouch until use.
Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled.
Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions against microbiological hazards throughout all procedures and follow the standard procedures for proper disposal of specimens.
Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are assayed.
The used test should be discarded according to local regulations.
Humidity and temperature can adversely affect results.

STORAGE AND STABILITY

The kit can be stored at room temperature or refrigerated (2-30°C). The test cassette is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test cassette must remain in the sealed pouch until use. DO NOT FREEZE. Do not use beyond the expiration date.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- The feces specimen must be collected in clean, dry, waterproof container containing no detergents, preservatives or transport media.
Bring the necessary reagents to room temperature before use.

MATERIALS

Materials Provided

- Test cassettes
Specimen collection tubes with extraction buffer
Package insert

Materials Required But Not Provided

- Specimen collection containers
Timer
Droppers

DIRECTIONS FOR USE

Allow the test, specimen, buffer and/or controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing.

- To collect fecal specimens:

Collect sufficient quantity of feces (1-2 mL or 1-2 g) in a clean, dry specimen collection container to obtain maximum antigens (if present). Best results will be obtained if the assay is performed within 6 hours after collection. Specimen collected may be stored for 3 days at 2-8°C if not tested within 6 hours. For long term storage, specimens should be kept below -20°C.

- To process fecal specimens:

For Solid Specimens:

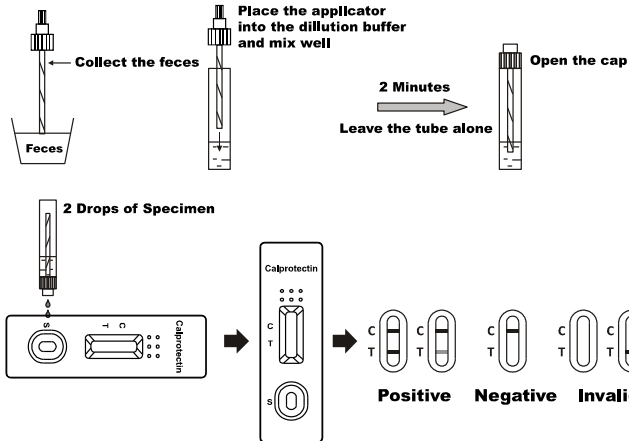
Unscrew the cap of the specimen collection tube, then randomly stab the specimen collection applicator into the fecal specimen in at least 3 different sites to collect

approximately 50 mg of feces (equivalent to 1/4 of a pea). Do not scoop the fecal specimen.

For Liquid Specimens:

Hold the dropper vertically, aspirate fecal specimens, and then transfer 2 drops (approximately 80 µL) into the specimen collection tube containing the extraction buffer.

- Tighten the cap onto the specimen collection tube, then shake the specimen collection tube vigorously to mix the specimen and the extraction buffer. Leave the tube alone for 2 minutes.
Bring the pouch to room temperature before opening it. Remove the test cassette from the foil pouch and use it within one hour. Best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch.
Hold the specimen collection tube upright and open the cap onto the specimen collection tube. Invert the specimen collection tube and transfer 2 full drops of the extracted specimen (approximately 80 µL) to the specimen well (S) of the test cassette, then start the timer. Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S). See illustration below.
Read results at 5 minutes after dispensing the specimen. Do not read results after 10 minutes.
Note: If the specimen does not migrate (presence of particles), centrifuge the extracted specimens contained in the extraction buffer vial. Collect 80 µL of supernatant, dispense into the specimen well (S) of a new test cassette and start afresh following the instructions mentioned above.



INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration above)

POSITIVE: Two lines appear. One colored line should be in the control line region (C) and another apparent colored line should be in the test line region (T).

NOTE: The intensity of the color in the test line region (T) will vary depending on the concentration of Calprotectin present in the specimen. Therefore, any shade of color in the test line region (T) should be considered positive.

NEGATIVE: One colored line appears in the control line region (C). No line appears in the test line region (T).

INVALID: Control line fails to appear. Insufficient specimen volume or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A colored line appearing in the control region (C) is an internal valid procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

Control standards are not supplied with this kit; however, it is recommended that positive and negative controls be tested as a good laboratory practice to confirm the test procedure and to verify proper test performance.

LIMITATIONS

- The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) is for in vitro diagnostic use only.
The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) will only indicate the presence of Calprotectin, the detail concentration of Calprotectin was not confirmed with the rapid test.
As with all diagnostic tests, all results must be considered with other clinical information available to the physician.
Other clinically available tests are required if questionable results are obtained.

EXPECTED VALUES

The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) has been compared with another leading commercial rapid test. The correlation between this two system is 98.5%

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Accuracy

The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) has been compared with another leading commercial rapid test using clinical specimens.

Method	Other Rapid Test		Total Result	
	Results	Positive		Negative
Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces)	Positive	133	2	135
	Negative	3	198	201
Total Result		136	200	336

Relative sensitivity: 97.8% (95%CI*: 93.7%~99.5%);

Relative specificity: 99.0% (95%CI*: 96.4%~99.9%);

Accuracy: 98.5% (95%CI*: 96.6%~99.5%).

*Confidence Intervals

Sensitivity

The Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) can detect levels of Calprotectin as low as 50 µg/g or 140 ng/ml feces.

Precision

Intra-Assay

Within-run precision has been determined by using 15 replicates of three specimens: 140ng/ml, 500ng/ml and 10µg/ml positive specimens. The specimens were correctly identified >99% of the time.

Inter-Assay

Between-run precision has been determined by 15 independent assays on the same three specimens: 140ng/ml, 500ng/ml and 10µg/ml positive specimens. Three different lots of the Calprotectin Rapid Test Cassette (Feces) have been tested using these specimens. The specimens were correctly identified >99% of the time.

BIBLIOGRAPHY

- Brophy, Megan Brunjes; Nolan, Elizabeth M. (16 January 2015). "Manganese and Microbial Pathogenesis: Sequestration by the Mammalian Immune System and Utilization by Microorganisms". ACS Chemical Biology. 10: 150116125412006.
Striz, I; Trebichavsky, I (2004). "Calprotectin - a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation.". Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 53 (3): 245-53.
Lehmann, F. S.; Burri, E.; Beglinger, C. (13 October 2014). "The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease". Therapeutic Advances in Gastroenterology. 8 (1): 23-36.
Gupta, Ramesh (2014). Biomarkers in toxicology. San Diego, CA: Academic Press. pp. 272-273. ISBN 9780124046498
Marshall, William Marshall.; Lapsley, Marta; Day, Andrew; Ayling, Ruth (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects (3 ed.). Elsevier Health Sciences, 2014. ISBN 9780702054785.
Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I (2000). "A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease". Gut. 47 (4): 506-13.

Index of Symbols

	Attention, see instructions for use		Tests per kit		Authorized Representative
	For in vitro diagnostic use only		Use by		Do not reuse
	Store between 2-30°C		Lot Number		Catalog #
	Do not use if package is damaged				



ACRO Biotech, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.



EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany

Number:
Effective date: