new art laboratories

nal von minden

NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test (test cassette)

REF 1212002

DE Gebrauchsanweisung	2	Symbols	16
EN Instructions for use	5	Our Teams	16
ES Instrucciones de uso	8		
PL Sposób użycia	11		

IVD CE

Version 1.0, 2016-12-14

nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

Moers
Tel: +49 (2841) 99820-0
Fax: +49 (2841) 99820-1

Regensburg
Tel: +49 941 29010-0
Fax: +49 941 29010-50

www.nal-vonminden.com
info@nal-vonminden.com

Directors:
Sandra von Minden
Roland Meißner
Thomas Zander

Commercial reg. Kleve
HRB 5679
Steuer-Nr. 244/133/00130
UST-ID-Nr. DE 189 016 086

NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test (Ref. 1212002)

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test ist ein schneller, chromatographischer Immunoassay (nicht-invasiver Assay) für den qualitativen Nachweis von humanem Calprotectin und humanem Lactoferrin in humanen Stuhlproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von entzündlichen Magen-Darm-Erkrankungen bestimmt und nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Calprotectin ist ein Kalzium-bindendes Protein, das 5% des Gesamtproteins und 60% des zytosolischen Proteins von Neutrophilen ausmacht. Es besitzt bakteriostatische und fungistatische Eigenschaften und wird im Stuhl mit sechs-fach höheren Konzentrationen als im Plasma nachgewiesen.

Lactoferrin (LF) ist ein Glykoprotein, das von Neutrophilen, mononukleären Phagozyten und Epithelzellen gebildet wird und in den sekretorischen Flüssigkeiten wie z. B. Speichel und Muttermilch enthalten ist. Seine Funktion besteht darin, das Bakterienwachstum zu blockieren, indem es Eisenverfügbarkeit hemmt. Diese Wirkung wird durch die Anwesenheit von spezifischen sekretorischen IgA-Antikörpern, die gegen Bakterien gerichtet sind, verstärkt. LF hat auch eine bakterizide Wirkung, indem es zusammen mit Lysozym direkte Schäden an Zellmembranen verursacht. Wenn sich eine Entzündung im Magen-Darm-Trakt entwickelt, wandern Neutrophile und phagozytische Zellen zum Entzündungsherd und setzen LF-enthaltende Granula frei. LF ist im Stuhl stabil und ist leicht mit immunochemischen Methoden nachzuweisen.

LF und Calprotectin sind in Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (engl. inflammatory bowel disease, IBD) erhöht. IBD umfassen Colitis ulcerosa (engl. ulcerative colitis, UC) und Morbus Crohn (engl. Crohn's disease, CD), sind mit erhöhten Neutrophilen assoziiert und stellen ein Spektrum von Erkrankungen dar, die durch idiopathische und chronische Entzündungen des Magen-Darm-Traktes gekennzeichnet sind. Pädiatrische und erwachsene Patienten mit IBD können eine Vielzahl von klinischen Symptomen (einschließlich Bauchschmerzen und Durchfall) aufweisen, die nicht-spezifisch sein können.

Der NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test ist nützlich bei der Differenzierung von organischen IBD von funktionellen Magen-Darm-Erkrankungen, wie z.B. Reizdarmsyndrom (engl. irritable bowel syndrome, IBS). Er ist ein einfacher, nicht-invasiver Assay, der besonders nützlich bei Kindern ist, die sonst eine Vollnarkose für die Koloskopie bräuchten. Darüber hinaus kann der Nachweis des fäkalen Calprotectins zur Prognose eines Rückfalls angewendet werden.

3. Testprinzip

Der NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test ist ein qualitativer Immunoassay im Lateral-Flow-Format zum Nachweis von humanem Calprotectin und humanem Lactoferrin in humanen Stuhlproben. Monoklonale Antikörper gegen Calprotectin und Lactoferrin sind in den Testlinienbereichen der Membran vorbeschichtet. Während der Testung reagiert die Probe mit weiteren anti-human Calprotectin-Antikörpern und/oder anti-human Lactoferrin-Antikörpern, die auf farbigen Partikeln vorbeschichtet und auf dem internen Teststreifen vorgetrocknet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang. Bei einem positiven Ergebnis reagieren die auf der Membran vorhandenen, spezifischen Antikörper mit der Konjugat-Mischung und rufen eine oder zwei farbige Linien hervor.

Es sollte immer eine grüne Linie im Kotrolllinienbereich erscheinen, welche als Verfahrenskontrolle dient und darauf hinweist, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Testkassetten
- 10 Probennahmeröhrchen mit Puffer
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Pipette (für flüssige Stuhlproben)
- Einweghandschuhe
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Lagern Sie den Test im verschlossenen Folienbeutel bei 2-30°C. Der Test ist bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die Testkassette sollte bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Tests nicht ein.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Probennahmeröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie

gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).

- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Probennahme und -lagerung

Eine ausreichende Menge an Stuhlprobe soll gesammelt werden (1-2 g oder 1-2 mL für eine flüssige Probe). Stuhlproben sollten ohne Konservierungsmittel oder Transportmedien in einem sauberen und trockenen Behälter gesammelt werden. Die Proben können vor der Testung im Kühlschrank (2-8°C) für 7 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung (maximal 6 Monate) muss die Probe gefroren gelagert werden (-20°C). In solch einem Fall sollte die Probe vor der Testung vollkommen aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Probe werden nicht empfohlen.

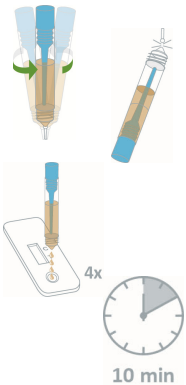
Vorbereitung der Probe

Verwenden Sie für jede Probe ein separates Probensammelröhrchen mit Puffer. Schrauben Sie die Verschlusskappe des Röhrchens ab und stechen Sie den Probennehmer (Spiralstab) viermal in die Stuhlprobe, um die Probe zu sammeln. Verschließen Sie das Probensammelröhrchen mit dem Puffer und der Stuhlprobe wieder. Schütteln Sie das Röhrchen, um eine gute Probendispersion zu gewährleisten. Bei flüssigen Stuhlproben entnehmen Sie die Probe mithilfe einer Pipette und geben Sie 15 µL davon in das Probensammelröhrchen mit Puffer.

9. Testdurchführung

Bringen Sie die Tests und Proben mit Puffer vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C). Öffnen Sie den Folienbeutel erst, wenn Sie bereit sind den Test durchzuführen. Verwenden Sie für jede Probe eine separate Testkassette.

1. Entnehmen Sie die NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich.
2. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen, um eine gute Probendispersion zu gewährleisten. Brechen Sie die Spitze des Röhrchens ab.
3. Geben Sie genau 4 Tropfen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.
4. Lesen Sie das Ergebnis genau 10 Minuten nach Zugabe der Probe ab.



10. Testauswertung

Positiv für Calprotectin:

Zwei farbige Linien erscheinen im Ergebnisfenster. Eine grüne Linie erscheint im Kontrolllinienbereich „C“ und eine rote Linie erscheint im Testlinienbereich „T1“.

Positiv für Lactoferrin:

Zwei farbige Linien erscheinen im Ergebnisfenster. Eine grüne Linie erscheint im Kontrolllinienbereich „C“ und eine rote Linie erscheint im Testlinienbereich „T2“.

Positiv für Calprotectin und Lactoferrin:

Drei farbige Linien erscheinen im Ergebnisfenster. Eine grüne Linie erscheint im Kontrolllinienbereich „C“ und jeweils eine rote Linie erscheint im Testlinienbereich „T1“ und „T2“.

Negativ:

Es erscheint nur eine grüne Linie im Kontrolllinienbereich „C“.

Ungültig:

Falls keine Kontrolllinie „C“ erscheint, ist der Test als ungültig, ungeachtet der An- oder Abwesenheit der roten Testlinien, zu werten.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.

Hinweis: Die Farbintensität der roten Linien in denTestlinienbereichen „T1“ und „T2“ kann abhängig von der Calprotectin- und/oder Lactoferrinkonzentration in der Probe variieren. Jedoch können weder der quantitative Wert noch die Anstiegsrate der Calprotectin- und/oder Lactoferrinkonzentration mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende grüne Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test weist lediglich die Anwesenheit von Calprotectin und/oder Lactoferrin in der Probe (qualitativer Nachweis) nach und sollte ausschließlich für den Nachweis von Calprotectin und Lactoferrin in Stuhlproben verwendet werden. Mit diesem Test können weder der quantitative Wert noch die Anstiegsrate der Calprotectin- und/oder Lactoferrin-Konzentration bestimmt werden.

- Eine zu große Menge an Stuhlprobe kann ein falsches Ergebnis hervorbringen (es erscheinen braune Linien). Verdünnen Sie die Probe mit der Pufferlösung und wiederholen Sie den Test.
- Manche Stuhlproben können die Intensität der grünen Kontrolllinie verringern.
- Positive Calprotectin- und/oder Lactoferrin-Ergebnisse bestätigen das Vorhandensein von humanem Calprotectin und/oder Lactoferrin in Stuhlproben. Beide Marker können jedoch aufgrund verschiedener anderer Ursachen (wie z. B. Darmkrebs und einiger Enteropathien) vorhanden sein. Positive Ergebnisse sollten mit weiteren diagnostischen Verfahren vom Arzt nachgetestet werden, um die genaue Ursache der Entzündung zu bestimmen. Endoskopische und histologische Untersuchungen von Biopsieproben sind die Methoden zum Nachweis und zur Quantifizierung von Darmentzündungen.
- Lactoferrin ist ein Bestandteil der Muttermilch. Der NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test zeigt positive Ergebnisse bei gestillten Kindern und sollte nicht verwendet werden, um Proben von Neugeborene zu evaluieren, die Muttermilch bekommen.

13. Erwartete Werte

Höhere Calprotectin-Konzentrationen im Stuhl sind mit einem erhöhten Risiko für einen Rückfall bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) assoziiert. Einige Studien etablierten den Wert ≥50 µg hCP/g Stuhl als Cut-off-Wert, um bei erwachsenen Patienten entzündliche Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes zu bestimmen.

Eine Probe, die Lactoferrin mit einer Konzentration ≥10 µg hLf/g Stuhl enthält, erzeugt ein positives Ergebnis mit dem NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test.

Es wurde gezeigt, dass bei Säuglingen fäkale Calprotectin-Konzentrationen mit einem Medianwert von 167 µg/g höher als die der älteren Kinder sind.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Cut-Off

Der Cut-Off des NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Tests beträgt 500 ng/mL (50 µg hCP/g Stuhl) für humanes Calprotectin und 100 ng/mL (10 µg hLf /g Stuhl) für humanes Lactoferrin.

Sensitivität und Spezifität

Stuhlproben von Patienten wurden mit dem NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test getestet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen anderer, kommerziell erhältlicher Immunoassays (Calprest®, Eurospital und IBD EZ VUE®, TechLab®) verglichen.

Es ergaben sich eine Sensitivität >94% und Spezifität >93% im Vergleich zu Calprest®, Eurospital (Calprotectin-Testlinie) und eine Sensitivität >99% und Spezifität >99% im Vergleich zu IBD EZ VUE®, TechLab® (Lactoferrin-Testlinie).

Kreuzreaktivität und Interferenz

Eine Evaluierung wurde durchgeführt, um die Kreuzreaktivität und Interferenz des NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Tests zu bestimmen. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit fäkalen Markern festgestellt, die gelegentlich im Stuhl vorhanden sind.

Rinder- und Schweinehämoglobin	**humanes Hämoglobin**
Rinder- und Schweinetransferrin	**humanes Transferrin**
Rinderlactoferrin	

15. Referenzen

1. Vieira, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
2. Hanai, H. et al. "Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
3. Bonnin Tomas, A, et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
4. Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and α-1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.
5. Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

Rev. 0, 2016-12-14 OM/UJa

NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test (Ref. 1212002)

1. Intended Use

The NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test is a rapid chromatographic immunoassay (non-invasive assay) for the qualitative detection of human calprotectin and lactoferrin in human faecal specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of inflammatory gastrointestinal disorders and is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Calprotectin is a calcium-binding protein that makes up 5% of the total protein and 60% of the cytosolic protein of neutrophils. It has bacteriostatic and fungistatic properties and is found in faeces at levels six times higher than it is in plasma.

Lactoferrin (LF) is a glycoprotein that is produced by neutrophils, mononuclear phagocytes and epithelial cells and is contained in the secretory fluids such as saliva and breast milk. Its function consists of blocking bacterial growth by limiting the availability of iron. This effect is enhanced by the presence of specific secretory IgA antibodies directed against bacteria. LF also has a bactericidal effect by causing direct damage to cell membranes in conjunction with lysozyme. When inflammation develops in the gastrointestinal tract, neutrophils and phagocytic cells migrate to the inflammatory focus and release granules containing LF. LF is stable in faeces and is easily detected with immunochemical methods.

LF and calprotectin are elevated in patients with inflammatory bowel disease (IBD). IBD, including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), is associated with elevated neutrophils and represents a spectrum of diseases characterised by an idiopathic and chronic inflammation affecting the gastrointestinal (GI) tract. Pediatric and adult patients with IBD may demonstrate a variety of clinical symptoms (including abdominal pain and diarrhoea) which can be non-specific.

The NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test is useful in differentiating organic IBD from functional gastrointestinal disease, such as irritable bowel syndrome (IBS). It is a simple, non-invasive assay that is especially useful for children, who may require general anesthesia for colonoscopy. Moreover, this faecal calprotectin detection can be used to predict a relapse.

3. Test Principle

The NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test is a qualitative lateral flow immunoassay for the detection of human calprotectin and human lactoferrin in human faecal samples. Monoclonal antibodies against calprotectin and lactoferrin are pre-coated onto the test line regions of the membrane. During testing, the sample reacts with other anti-human calprotectin antibodies and/or anti-human lactoferrin antibodies coated onto coloured particles which are pre-dried on the internal test strip. The mixture migrates along the membrane by capillary action. In the case of a positive result, specific antibodies present on the membrane react with the mixture conjugate and generate one or two coloured lines.

A green line should always appear in the control line region (C) and serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® Calprotectin/Lactoferrin test cassettes
- 10 specimen collection tubes with buffer
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Specimen collection container
- Pipette (for liquid stool samples)
- Disposable gloves
- Timer

6. Storage & Stability

Store the test as packaged in the sealed foil pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiry date printed on the foil pouch. The test cassette should remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze tests.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

Specimen Collection and Storage:

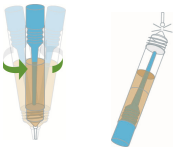
A sufficient quantity of feces should be collected (1-2 g or 1-2 mL for liquid sample). Stool samples should be collected without preservatives or transport media in clean and dry containers. Samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for up to 7 days prior to testing. For longer storage (maximum 6 months) the specimen must be kept frozen at -20°C. In such cases, the sample should be completely thawed and brought

to room temperature before testing. Repeated freezing and thawing cycles are not recommended.

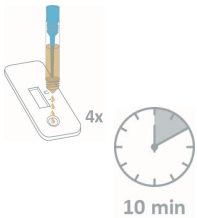
Specimen preparation:
Use a separate specimen collection tube with buffer for each sample. Unscrew the cap of the tube and insert the applicator stick into the faecal specimen four times to collect the sample. Close the tube with the buffer and stool sample. Shake the tube to ensure good sample dispersion. For liquid stool samples, collect the faecal specimen with a pipette and add 15 µL to the specimen collection tube with buffer.

9. Test Procedure

Bring the tests and samples with buffer to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open foil pouches until you are ready to perform the assay. Use a separate test cassette for each sample.



1. Remove the NADAL® Calprotectin/Lactoferrin test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection tube to ensure good sample dispersion. Break off the tip of the tube.
3. Dispense exactly 4 drops into the specimen well (S) of the test cassette. Start the timer.
4. Read the result exactly 10 minutes after dispensing the sample.



10. Result Interpretation

Positive for Calprotectin:
Two lines appear in the result window. A green line develops in the control line region 'C' and a red line develops in the test line region 'T1'.

Positive for Lactoferrin:
Two lines appear in the result window. A green line develops in the control line region 'C' and a red line develops in the test line region 'T2'.

Positive for Calprotectin and Lactoferrin:
Three lines appear in the result window. A green line develops in the control line region 'C' and a red line develops in each of the test line regions 'T1' and 'T2'.

Negative:
Only one green line appears in the control line region 'C'.

Invalid:
If no green control line 'C' develops, the assay is invalid, regardless of the presence or absence of the red test lines.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure. In this case, review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your distributor.

Note: The colour intensity of the red lines in the test line region 'T1' and 'T2' may vary depending on the concentration of calprotectin and/or lactoferrin in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in the concentration of calprotectin and/or lactoferrin can be determined with this qualitative test.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A green line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test only indicates the presence of calprotectin and/or lactoferrin in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of calprotectin and lactoferrin in faecal specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in calprotectin and/or lactoferrin can be determined with this test.
- An excess of sample may cause an inaccurate result (brown lines appear). If so, dilute the sample with buffer and repeat the test.
- Some stool samples can decrease the intensity of the control green line.
- Positive calprotectin and/or lactoferrin results confirm the presence of human calprotectin and/or lactoferrin in faecal samples (nevertheless, it can be due to several other causes, e.g. colorectal cancer and some enteropathies). Positive results should be followed up with additional diagnostic procedures by a physician to determine the exact cause of inflammation. Endoscopy and histology of biopsy specimens are the methods for detecting and quantifying bowel inflammation.
- Lactoferrin is a component of breast milk. The NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test is positive in breast-fed children and should not be used to evaluate samples from neonates receiving breast milk.

13. Expected Values

Higher calprotectin levels in the stool are associated with an increased risk of relapse in patients with inflammatory bowel disease (IBD). Some studies established the value equal or higher than 50 µg hCP/g faeces as a cut-off value to detect adult patients with GI inflammatory disorders. A sample containing lactoferrin at concentration equal to, or higher

than, 10 µg hLf/g faeces produces a positive result, using NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test.

Neonatal faecal calprotectin levels have been reported to be higher than those of older children, with a median of 167 µg/g.

14. Performance Characteristics

Cut-off

The cut-off of the NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test is 500 ng/mL (50 µg hCP/g faeces) for human calprotectin and 100 ng/mL (10 µg hLf/g faeces) for human lactoferrin.

Sensitivity and specificity

Stool samples from patients were tested using the NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test. The obtained results were compared with those obtained with other commercially available immunoassays (Calprest®, Eurospital and IBD EZ VUE®, TechLab®).

These results yield a sensitivity >94% and specificity >93% in comparison with Calprest®, Eurospital (calprotectin test line), and a sensitivity >99% and specificity >99% in comparison with IBD EZ VUE®, TechLab® (lactoferrin test line)

Cross-reactivity and interference

An evaluation was performed to determine the cross-reactivity and interference of the NADAL® Calprotectin/Lactoferrin Test. There was no cross-reactivity found with faecal markers occasionally present in faeces:

Bovine and swine haemoglobin	**Human haemoglobin**
Bovine and swine transferrin	**Human transferrin**
Bovine lactoferrin	

15. References

1. Vieira, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
2. Hanai, H. et al. "Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
3. Bonnin Tomas, A, et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
4. Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and α-1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.
5. Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

Rev. 0, 2016-12-14 OM/UJa

1. Uso previsto

El test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin es un inmunoensayo cromatográfico rápido (no invasivo) para la detección cualitativa de calprotectina y lactoferrina en muestras fecales humanas. Este test sirve para ayudar al diagnóstico de enfermedades inflamatorias gastrointestinales y sólo está indicado para el uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La calprotectina es una proteína de unión al calcio que supone el 5% del total de las proteínas y el 60% de las proteínas citosólicas de neutrófilos. Tiene propiedades bacteriostáticas y fungistáticas y se encuentra en las heces a niveles seis veces mayores que en el plasma.

La lactoferrina (LF) es una glicoproteína producida por los neutrófilos, células mononucleares fagocitas y epiteliales y se encuentra en fluidos de secreción como la saliva y la leche materna. Su función consiste en bloquear el crecimiento bacteriano limitando la disponibilidad de hierro. Este efecto se ve potenciado por la presencia de anticuerpos IgA secretores específicos dirigidos contra bacterias. La LF también tiene un efecto bactericida causando daño directo a las membranas celulares junto con la lisozima. Cuando la inflamación se desarrolla en el tracto gastrointestinal, los neutrófilos y las células fagocíticas migran al foco inflamatorio y liberan los gránulos que contienen LF. La LF es estable en las heces y se detecta fácilmente con métodos inmunoquímicos.

La LF y la calprotectina están elevadas en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). La EII, incluyendo la colitis ulcerosa (UC) y la enfermedad de Crohn (CD), se asocia con neutrófilos elevados y representa un espectro de enfermedades caracterizadas por una inflamación idiopática y crónica que afecta al tracto gastrointestinal (GI). Los pacientes pediátricos y adultos con IBD pueden demostrar una variedad de síntomas clínicos (incluyendo dolor abdominal y diarrea) que pueden no ser específicos.

El test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin es útil para la diferenciación entre la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) orgánica y enfermedades gastrointestinales funcionales, como el síndrome de intestino irritable (SII). Es un ensayo simple y no invasivo, especialmente útil para niños que, de otro modo, necesitarían anestesia general para una colonoscopia. Por otra parte, la detección de la calprotectina fecal puede utilizarse para predecir recaídas.

3. Principio del test

El test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de calprotectina y lactoferrina en muestras fecales humanas. Los anticuerpos monoclonales contra la calprotectina y la lactoferrina recubren las regiones de la línea de test de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con otros anticuerpos de calprotectina anti-humana recubiertos con partículas que se encuentran presecadas en la tira de test. La mezcla se desplaza a lo largo de la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionan con la mezcla del conjugado generando una o dos líneas coloreadas.

La aparición de una línea verde en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin
- 10 tubos con búfer para la recolección de la muestra
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Recipiente para la recolección de la muestra
- Pipeta (para muestras fecales líquidas)
- Guantes desechables
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene el casete de test en su bolsa sellada a 2-30°C. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele los test.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Trate las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

Recolección de la muestra, preparación y almacenamiento:
Recolecte una cantidad suficiente de heces (1-2 g o 1-2 ml para muestras líquidas). Las muestras fecales se deben recolectar sin conservantes ni medios de transporte en

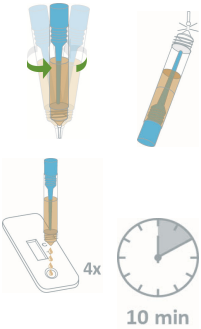
recipientes limpios y secos. Puede refrigerar las muestras (de 2 a 8°C) hasta 7 días antes de su utilización. Para almacenarlas durante un tiempo prolongado (máximo 6 meses), congele las muestras a -20°C. En este caso, descongele las muestras y llévelas a temperatura ambiente antes de la prueba. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Preparación de las muestras:
Utilice un nuevo tubo con búfer para la recolección de cada muestra. Desenrosque la tapa del tubo e inserte el aplicador en la muestra fecal cuatro veces para recoger la muestra. Cierre el vial con el búfer y la muestra. Agite el vial de recogida para asegurar una buena dispersión de la muestra. Para la recogida de muestras fecales líquidas, utilice un cuentagotas y añada 15 µL al tubo recolector con búfer.

9. Procedimiento del test

Lleve los dispositivos y las muestras con el búfer a temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase hasta que todo esté preparado para realizar el test. Utilice un casete de test diferente para cada muestra.

1. Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible.
2. Agite el vial de recogida para asegurar una buena dispersión de la muestra. Rompa la parte de arriba del vial.
3. Añada exactamente 4 gotas en el pocillo de muestra (S) del casete. Active el cronómetro.
4. Lea el resultado a los 10 minutos de añadir la muestra.



10. Interpretación del resultado

Positivo para calprotectina:
Aparecen dos líneas en la ventana de resultados: una línea verde en el área de control "C" y una línea roja en el área de test "T1".

Positivo para lactoferrina:
Aparecen dos líneas en la ventana de resultados: una línea verde en el área de control "C" y una línea roja en el área de test "T2".

Positivo para calprotectina y lactoferrina:
Aparecen tres líneas en la ventana de resultados: una línea verde en el área de control "C" y una línea roja en cada área de test "T1" y "T2".

Negativo:
Aparece una línea verde en la región de control "C".

No válido:
Si no aparece la línea verde de control "C", el test no es válido, independientemente de la presencia o ausencia de las líneas rojas de test.

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

Nota: la intensidad de color de las líneas rojas "T1" y "T2" en la región de test puede variar dependiendo de la concentración de calprotectina y/o lactoferrina en la muestra. Sin embargo, con este ensayo cualitativo no se puede determinar ni el valor cuantitativo ni la velocidad de aumento de la concentración de calprotectina y/o lactoferrina.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

se trata de la línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Las *buenas prácticas de laboratorio (BLP)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin sólo indicará la presencia de de calprotectina y/o lactoferrina en la muestra (detección cualitativa) y sólo se debe utilizar para la detección de calprotectina y lactoferrina en muestras fecales. Este test no detecta ni la cantidad ni el aumento de la calprotectina y/o lactoferrina.
- Un exceso de muestra puede dar lugar a resultados erróneos (aparición de líneas marrones). En ese caso, mezcle la muestra con el búfer y repita la prueba.
- Algunas muestras fecales pueden hacer disminuir la intensidad de la línea verde de control.
- Los resultados positivos de calprotectina y/o lactoferrina confirman la presencia de calprotectina humana y/o lactoferrina en muestras fecales (sin embargo, puede ser debido a otras causas, como por ejemplo cáncer colorrectal y algunas enteropatías). Los resultados positivos deben ser confirmados por un médico con procedimientos de diagnóstico adicionales para determinar la causa exacta de la inflamación. La endoscopia y la histología de las muestras de biopsia son los métodos para detectar y cuantificar la inflamación intestinal.
- La lactoferrina es un componente de la leche materna. El test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin es positivo en niños que reciben lactancia materna y no debe usarse para evaluar muestras de neonatos que reciben leche materna.

13. Valores esperados

Los niveles elevados de calprotectina están asociados con un incremento del riesgo de recaída en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Algunos estudios establecen un valor igual o mayor que 50 µg hCP/g de heces

como punto de corte para detectar pacientes adultos con enfermedades inflamatorias gastrointestinales. Una muestra que contiene lactoferrina en concentraciones iguales o superiores a 10 µg hLf/g de heces produce un resultado positivo con el test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin.

Se han registrado niveles neonatales de calprotectina fecal superiores a los de niños mayores, con una media de 167 µg/g.

14. Características del rendimiento

Punto de corte

El punto de corte del test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin es de 500 ng/ml (50 µg hCP/g de heces) para calprotectina humana y 100 ng/mL (10 µg hLf/g de heces) para lactoferrina humana.

Sensibilidad y especificidad

Se analizaron muestras de heces de pacientes utilizando el test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin. Los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos con otros inmunoensayos disponibles comercialmente (Calprest®, Eurospital e IBD EZ VUE®, TechLab®).

Estos resultados arrojan una sensibilidad >94% y una especificidad >93% en comparación con Calprest®, Eurospital (línea de test de calprotectina), una sensibilidad >99% y una especificidad >99% en comparación con IBD EZ VUE®, TechLab® (línea de test de lactoferrina)

Reacciones cruzadas y estudios de interferencia

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas del test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin. No se encontraron reacciones cruzadas con los microorganismos gastrointestinales comunes presentes ocasionalmente en las heces.

Hemoglobina bovina y porcina	**Hemoglobina humana**
Transferrina bovina y porcina	**Transferrina humana**
Lactoferrina bovina	

15. Referencias

1. Vieira, A. et al., “Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes”, BMC Research Notes 2009, 2:221.
2. Hanai, H. et al. “Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis” Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
3. Bonnin Tomas, A, et al. “Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional”. Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
4. Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and α-1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.
5. Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

Rev. 0, 2016-12-14 MP

Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin (Ref. 1212002)

1. Zastosowanie

Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin jest szybkim testem immunochromatograficznym (badaniem nieinwazyjnym) do jakościowego oznaczania ludzkiej kalprotektyny i ludzkiej laktoferyny w ludzkich próbkach kału. Test ten służy jako środek pomocniczy przy diagnozie chorób przewodu pokarmowego i przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego użytku.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Kalprotektyna jest białkiem wiążącym wapń, które stanowi 5% całkowitej ilości białka i 60% w cytozolu białka neutrofilii. Zawiera bakteriostatyczne i fungistatyczne właściwości i oznaczana jest w kale z sześciokrotnie wyższym stężeniem niż w osoczu. Laktoferyna jest glikoproteiną, która jest wytwarzana przez neutrofilnę, jednojądrzaste fagocyty i komórki nabłonkowe i zawarte w wydzielinach takich jak np. ślina, czy mleko matki. Jego zadaniem jest blokowanie rozwoju bakterii, hamując dostępność żelaza. Działanie te zostaje wzmocnione przez obecność specyficznych sektorowych przeciwciał IgA, które skierowane są przeciwko bakteriom. Laktoferyna ma również działanie bakteryjne, wraz z lizozymami, poprzez powodowanie bezpośrednich szkód membran komórek. Jeżeli w przewodzie pokarmowym rozwinie się zapalenie, komórki neutrofilne oraz fagocytarne wędrują do ogniska zapalenia i uwalniają granulaty zawierające laktoferynę. Laktoferyna jest stabilna w kale i łatwo wykrywalna przy pomocy metod immunochemicznych.

Laktoferyna i kalprotektyna są podwyższone u pacjentów z przewlekłym zapaleniem jelit (ang. inflammatory bowel disease, IBD) IBD zawierają Colitis ulcerosa (ang. ulcerative colitis, UC) oraz Morbus Crohn (ang. Crohn's disease, CD), są powiązane z podwyższonymi neutrofilami i stanowią spektrum chorób, które mają cechy charakterystyczne dla idiopatycznych i przewlekłych zapaleń przewodu pokarmowego. Pediatryczni i dorośli pacjenci z IBD, mogą wykazywać wiele objawów klinicznych (łącznie z bólami brzucha i biegunką), które mogą być niespecyficzne.

Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin jest przydatny przy rozróżnianiu organicznych IBD od funkcjonalnych chorób jelit jak np. zespół jelita wrażliwego (ang. irritable bowel syndrome, IBS). Jest to prosty, nieinwazyjny test, który znajduje szczególne zastosowanie u dzieci, które w przeciwnym przypadku potrzebowałyby pełnej narkozy przy kolonoskopii. Ponadto oznaczenie kalprotektyny w kale, może być zastosowane przy prognozowaniu nawrotów.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin jest jakościowym testem immunologicznym typu Lateral Flow do oznaczania ludzkiej kalprotektyny i ludzkiej laktoferyny w ludzkich próbkach kału. Linia testowa na membranie jest pokryta monoklalnymi przeciwciałami przeciwko kalprotektynie i laktoferynie. Podczas badania, próbka reaguje z kolejnymi ludzkimi przeciwciałami przeciw kalprotektynie i/lub ludzkimi przeciwciałami przeciw laktoferynie, które są powleczone i wstępnie wysuszone na kolorowych cząsteczkach wewnętrznego paska testowego. Mieszanina wędruje przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany. Podczas wyniku pozytywnego, specyficzne przeciwciała zawarte w membranie, reagują z mieszaniną konjugatu oraz powodują pojawienie się jednej lub dwóch kolorowych linii.

W obszarze linii kontrolnych, zawsze powinna pojawić się zielona linia, która służy kontroli procesowej i wskazuje na to, że dodana została wystarczająca ilość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® Calprotectin/Lactoferrin
- 10 probówek na próbkę z buforem
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemniki na próbkę
- Pipeta (dla płynnych próbek kału)
- Rękawiczki jednorazowe
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Przechowywać test w zamkniętym worku foliowym przy temperaturze 2-30°C. Test jest stabilny do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Kaseta testowa powinna zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać testów.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane, jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać połknięcia lub wdychania).
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.

- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobieranie i przechowywanie próbek

Powinna zostać zebrana wystarczająca ilość próbki kału (min 1-2 g lub 1-2 mL płynnej próbki). Próbki kału powinny być zbierane bez środków konserwujących lub podłoży transportowych do czystego i suchego zbiornika. Przed badaniem próbki mogą być przechowywane w lodówce (2-8°C) przez okres 7 dni. W celu dłuższego przechowywania (maksymalnie 6-ciu miesięcy) próbka musi zostać zamrożona (-20°C). W takim przypadku próbka powinna być zupełnie rozmrożona i doprowadzona do temperatury pokojowej przed przeprowadzeniem testu. Nie zaleca się ponownego zamrażania oraz rozmrażania próbek.

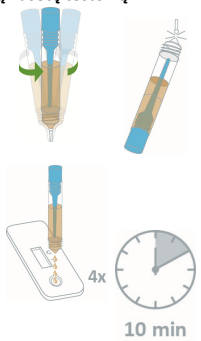
Przygotowanie próbki

Użyć dla każdej próbki osobną probówkę z buforem. Odkręcić pokrywkę probówki i nakłuć za pomocą przyrządu do pobierana próbki (spiralna szpatułka) cztery razy próbkę kału, aby zebrać próbkę. Zamknąć probówkę z buforem i próbką kału. Potrząsnąć probowką z próbką, aby zagwarantować dobre rozproszenie się próbki. Przy płynnych próbkach kału, pobrać próbkę przy pomocy pipety i dodać 15 µL do probowki z buforem.

9. Przeprowadzanie testu

Przed rozpoczęciem testu doprowadzić testy oraz próbkę z buforem do temperatury pokojowej (15-30°C). Otworzyć opakowanie foliowe dopiero tuż przed przeprowadzeniem testu. Dla każdej próbki użyć osobną kasetę testową.

1. Wyciągnąć kasetę testową NADAL® Calprotectin/Lactoferrin z zamkniętego opakowania foliowego i przeprowadzić test tak szybko, jak jest to tylko możliwe.
2. Wstrząsnąć probówką, aby dokładnie wymieszać próbkę. Wyłamać końcówkę probówki.
3. Dodać dokładnie 4 krople do zagłębienia próbki (S) na kasecie testowej. Włączyć stoper.
4. Odczytać wynik po 10 minutach od naniesienia próbki.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny dla kalprotektyny:

W polu wyników pojawią się dwie kolorowe linie. Zielona linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C) i czerwona linia pojawi się w obszarze linii testowej „T1“.

Pozytywny dla laktoferyny:

W polu wyników pojawią się dwie kolorowe linie. Zielona linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C) i czerwona linia pojawi się w obszarze linii testowej „T2“.

Pozytywny dla kalprotektyny i laktoferyny:

W polu wyników pojawią się trzy kolorowe linie. Zielona linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C“ i czerwona linia pojawi się w obszarze linii testowej „T1“ oraz „T2“.

Negatywny:

Pojawia się tylko zielona linia w obszarze linii kontrolnej „C“.

Nieważny:

Jeżeli w obszarze linii kontrolnej „C“ nie pojawi się linia, to test jest nieważny, niezależnie od obecności lub braku czerwonej linii testowej.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Wskazówka: Intensywność koloru czerwonych linii „T1“ i „T2“ może różnić się w zależności od stężenia kalprotektyny i/lub laktoferynyw próbce.

Jednakże nie można oznaczać ani ilościowej wartości, ani stopnia wzrostu stężenia kalprotektyny i/albo laktoferyny przy pomocy tego jakościowego testu.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową:

zielona linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola wewnętrzna. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin wykazuje wyłącznie obecność kalprotektyny lub laktoferyny w próbce (oznaczenie jakościowe) i powinien być stosowany wyłącznie do oznaczania kalprotektyny i laktoferyny w próbkach kału. Przy pomocy tego testu nie można oznaczać ani ilościowej wartości, ani stopnia wzrostu stężenia kalprotektyny i/albo laktoferyny.
- Za duża ilość próbki kału może spowodować fałszywy wynik (pojawią się brązowe linie). Rozcieńczyć próbkę przy pomocy roztworu bufora i powtórzyć test.
- Niektóre próbki kału mogą zmniejszać intensywność zielonej linii kontrolnej.
- Pozytywne wyniki dla kalprotektyny i/lub laktoferyny potwierdzają obecność ludzkiej kalprotektyny i/lub laktoferyny w próbkach kału. Obydwa markery mogą występować na skutek różnych innych przyczyn (jak np. rak jelita lub kilku enteropatii). Wyniki pozytywne powinny być ponownie przebadane przez lekarza w celu stwierdzenia

dokładnej przyczyny zapalenia. Badania endoskopowe oraz histologiczne badania próbek z biopsji są metodami do oznaczania oraz kwantyfikacji zapalenia jelita.

- Laktoferyna jest elementem składowym mleka matki. Test NADAL® Calprotectin/Lactoferrin wykazuje pozytywne wyniki u dzieci karmionych piersią i nie powinien być stosowany przy ewaluacji próbek noworodków, które dostają mleko matki.

13. Oczekiwane wartości

Wyższe stężenia kalprotektyny są ryzykiem u pacjentów z przewlekłym zapaleniem jelit (IBD). Niektóre badania ustalają wartość ≥50 µg hCP/g kału jako wartość cut-off, aby móc oznaczyć choroby zapalne układu żołądkowo-jelitowego u osób dorosłych.

Próbka zawierająca stężenie laktoferyny na poziomie ≥10 µg hLf/g kału, wytwarza pozytywny wynik przy pomocy testu NADAL® Calprotectin/Lactoferrin .

Wykazano, że stężenia kalprotektyny w kale u niemowląt, o średniej wartości 167 µg/g, są wyższe niż u starszych dzieci.

14. Charakterystyka testu

Punkt odcięcia cut-off

Punkt odcięcia cut-off testu NADAL® Calprotectin/Lactoferrin wynosi 500 ng/ml (50 µg hCP/g kału) dla ludzkiej kalprotektyny oraz 100 ng/ml (10 µg hLf /g kału) dla ludzkiej laktoferyny.

Czułość i swoistość

Próbki kału pacjentów zostały przebadane przy pomocy testu NADAL® Calprotectin/Lactoferrin. Otrzymane wyniki zostały porównane z wynikami innych, komercyjnie dostępnych testów immunochromatograficznych (Calprest®, Eurospital und IBD EZ VUE®, TechLab®).

Otrzymane wartości to: czułość >94% i swoistość >93% w porównaniu do Calprest®, Eurospital (kalprotektyna - linia testowa) oraz czułość >99% i swoistość >99% w porównaniu do IBD EZ VUE®, TechLab® (laktoferyna-linia testowa).

Reakcje krzyżowe i interferencje

W celu określenia reakcji krzyżowej przeprowadzona została ewaluacja testu NADAL® Calprotectin/Lactoferrin. Nie stwierdzono żadnej reakcji krzyżowej z markerami z kału, które mogą sporadycznie znajdować się w kale.

Hemoglobina pochodzenia zwierzęcego (wołowa i wieprzowa)	**Ludzka hemoglobina**
Transferryna pochodzenia zwierzęcego (wołowa i wieprzowa)	**Ludzka transferryna**
Laktoferryna pochodzenia zwierzęcego (wołowa)	

15. Bibliografia

1. Vieira, A. et al., “Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes”, BMC Research Notes 2009, 2:221.
2. Hanai, H. et al. “Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis” Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
3. Bonnin Tomas, A, et al. “Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional”. Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
4. Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and α-1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.
5. Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

Rev. 0, 2016-12-14 AM

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
CE	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
IVD	*in-vitro*-Diagnostika	*in-vitro* diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic *in-vitro*	Producto sanitario para diagnóstico *in-vitro*	Dispositivo medico-diagnostico *in-vitro*	Tylko do diagnostyki *in-vitro*
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límites de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
LOT	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
REF	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
Σ	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Our Teams

Germany:
Regensburg
Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers
Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:
Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:
Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel –UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:
France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland
Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium
Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg
Lux. Tel: 800 211 16
Lux. Fax: 800 261 79

Spain:
Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:
Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:
Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:
Tel: +49 941 290 10-735
Tel. Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:
Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax 0800 024 9519

Nordic countries (Finland, Norway, Sweden, Denmark):
Tel: +31 703075 607
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:
Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50

nal von minden GmbH
Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany
www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com
Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1