



Farafan CALPROTECTIN Rapid Test تست مدفوعی تشخیص سریع CALPROTECTIN

تست مدفوعی تشخیص سریع CALPROTECTIN جهت تشخیص کیفی CALPROTECTIN با استفاده از مدفوع بر اساس روش ایمونوکروماتوگرافی به کار میرود. حساسیت این تست (501 µg hCp/gr Feces) 500ng/ml میباشد .

معرفی تست:

این تست به عنوان یک پروتئین ضد میکروبی طبیعی اولین بار در دهه هشتاد میلادی شناخته شد. این پروتئین شامل دو جزء S100A8 و S100A9 بوده که معمولاً به صورت دایمر و یا تترامر وجود دارد. در حضور اتصال کلسیم، این پروتئین میتواند به منگنز و با روی متصل شود. همه سلولهای زنده برای حیات خود به فلزاتی نظیر کلسیم، منگنز و روی وابسته هستند. Calprotectin به مقدار فراوان در سیتوزولهای نوتروفیلها موجود است. در جریان بیماری های التهابی دستگاه گوارش و وارد شدن نوتروفیلها به Lumen دستگاه گوارش، Calprotectin آزاد شده و با اتصال به کلسیم و سپس روی و منگنز این فلزات را از دسترس عوامل میکروبی خارج کرده و به این ترتیب اثرات ضد میکروبی خود را اعمال میکنند.

افزایش Calprotectin علاوه بر بیماریهای عفونی روده نظیر گاستروانتریت ها، در جریان بیماری های التهابی دستگاه گوارش نیز دیده میشود. این بیماریها (Inflammatory Bowel Disease) عمدتاً شامل Crohn Disease و Ulcerative colitis میباشد. این بیماریها پس از جنگ جهانی دوم و خصوصاً پس از افزایش مصرف پروتئین های حیوانی در رژیم غذایی انسان شیوع قابل توجهی یافته اند. Calprotectin هم در تشخیص و علی الخصوص در ارزیابی پاسخ به درمان در این بیماری ها کاربرد دارد.

بطور کلی Calprotectin در موارد زیر در مدفوع ظاهر میشود: IBD، سرطانهای کولورکتال، گاستروانتریت ها و آنتروپاتی ها و food intolerance. از این تست همچنین میتوان در تشخیص افتراقی بین IBD و سندرم روده تحریک پذیر (IBS) استفاده کرد.

اصول انجام تست:

این تست بر اساس روش ایمونوکروماتوگرافی (lateral flow immunoassay) انجام می شود و تست کیفی محسوب می شود. بر روی ذرات رنگی (قرمز) همگن پلی استیرن آنتی بادی های اختصاصی مونوکلونال موشی بر Calprotectin انسانی (hCp) قرار داده می شود. همچنین پروتئین خاصی نیز به ذرات دیگر پلی قرار داده میشود. این دو نوع پلی استیرن بر روی پد مخصوص اسپری شده و بر روی تست قرار میگیرد. در محل خط تست روی نوار نیتروسولولز نیز آنتی بادی موشی بر ضد اپی توپ دیگر hCp اسپری شده است. همچنین در روی خط کنترل آنتی بادی خرگوشی بر ضد پروتئین خاص قرار داده شده است. هنگامی که در نمونه مدفوع مثبت باشد، آنتی بادی ضد hCp به آنتی ژن مربوط متصل شده و همراه جریان بافر به سمت نیتروسولولز حرکت کرده تا به خط تست میرسد. در اینجا آنتی بادی موجود به اپی توپ دیگر hCp متصل شده و در نتیجه ذرات رنگی پلی استیرن در کنار هم قرار گرفته و ایجاد رنگ قرمز در این ناحیه میکند. باقی ذرات پلی استیرن به حرکت خود ادامه داده و بر روی خط کنترل آنتی بادی ضد پروتئین مخصوص متصل شده به ذرات پلی استیرن با پروتئین مخصوص روی خط کنترل تثبیت می شوند و خط کنترل را نیز بوجود خواهند آورد. چنانچه در مدفوع Calprotectin وجود نداشته باشد، واکنشی در خط تست ایجاد نمیشود. ولی همچنان واکنش در خط کنترل ایجاد میگردد.

اجزا موجود در تست:

- ۱- نوار تست
- ۲- بالشکت حاوی سیلکانل (رطوبت گیر)
- ۳- ویال قطره چکان دار سفید
- ۴- ویال حاوی بافر مخصوص
- ۵- سواب

نحوه نمونه گیری:

- ۱- نمونه مدفوع باید در حدود ۲۵۰ میلی گرم و ترجیحاً در روز آزمایش تهیه شده باشد.
- ۲- در صورتی که زمان نمونه گیری از زمان انجام آزمایش بیش از ۲ ساعت فاصله داشته باشد، بهتر است نمونه در دمای ۲ تا ۸ درجه و حداکثر برای یک تا دو روز نگهداری شود.

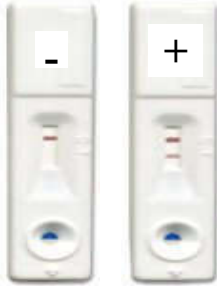
نحوه انجام تست :

- ۱- ویال حاوی بافر را باز کنید و در ویال حاوی سوآب را بیرون آورده و روی میز قرار دهید .
- ۲- نمونه مدفوع را آماده نمایید.در نظر داشته باشید بافر ، نمونه و کاست بایستی به دمای اتاق برسند.
- ۳- سوآب را در مدفوع مورد آزمایش فروکنید، بطوریکه حداکثر ۵ میلی متر از سوآب داخل مدفوع قرار گیرد و به آهستگی آنرا به طرفین بچرخانید.
- ۴- سوآب آغشته به مدفوع را در ویال حاوی بافر قرار داده وانرا ببندید . سپس ویال را در حدود ۱ دقیقه تکان داده تا محلول یکنواختی تهیه گردد.ید .
- ۵- کاست مخصوص تست را از محفظه پوچ خارج کنید و به صورت افقی روی میز قرار دهید.
- ۶- قسمت فوقانی را بشکنید یا با قیچی آنرا جدا نمایید. سپس با فشردن ویال ۱ الی ۲ قطره از بافر مخلوط شده با مدفوع را در حفره بیضی شکل روی کاست بریزید.
- ۷- **حدوداً ۱۰ دقیقه** صبر نموده و سپس جواب تست را بخوانید.

- ۸- ممکن است تکنسین آزمایشگاه در هنگام آماده سازی مدفوع (مراحل ۴-۶) خوب عمل نکرده ودر نتیجه محلول یکنواخت در ویال ایجاد نشده باشد. در این صورت تکه های جامد مدفوع ممکن است در داخل حفره بیضی تشکیل شده و مانع است بالا رفتن محلول در طول تست گردد. لذا چنانچه خطی تشکیل نشد ، سوآب را به آرامی در حفره بیضی فرو کرده و کمی تکان دهید. در صورتی که باز محلول در طول تست بالا نرفت یک قطره بافر به حفره بیضی اضافه کنید.

خواندن نتایج تست:

- تست مثبت : ظهور یک خط سبز رنگ در بالا و یک خط صورتی رنگ در پایین
- تست منفی : فقط یک خط سبز رنگ در بالا
- تست مثبت ضعیف : یک خط سبز پر رنگ در بالا و یک خط قرمز کم رنگ در پایین
- چنانچه اصلاً خطی ظاهر نشود و یا تنها خط پایینی ظاهر شود ، در این حالت تست باید تکرار شود.
- تاکید می شود جوابها باید قبل از **۱۰ دقیقه** خوانده شود. تفسیر نتایج با پزشک معالج خواهد بود.



حساسیت و مشخصات تست:

این تست با تست مشابه خارجی مورد مقایسه قرار گرفته است .. در مجموع از ۸۴ نمونه استفاده شد ونتایج به شرح زیر است:

جدول ۱: محاسبه دقت تست

Method		Foreign Manufacturer of Calprotectin Stoll rapid test		Total Result
FD CALPROTECTIN stool Rapid Test	Results	Positive	Negative	
	Positive	14	0	14
	Negative	0	72	72
Total Result		14	72	86
% agreement		>99%	>99%	>99%

FD CALPROTECTIN vs Foreign Manufacturer of Calprotectin Stoll rapid test	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	>99%	>99%	>99%	>99%

محدودیت های تست:

استفاده از داروهای Proton Pump Inhibitor نظیر Omeprazol و Pentaprazol سبب ظاهر شدن Calprotectin در روده شده و باعث مثبت شدن تست میگردد.