

**CHORUS
CALPROTECTIN
3RD GENERATION**



DIESSE

REF 86603

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Solo per uso diagnostico in vitro

1. DESTINAZIONE D'USO

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION è un kit immunologico per la determinazione quantitativa automatizzata della Calprotectina nelle feci.

Il test viene eseguito su feci utilizzando un dispositivo monouso applicato agli strumenti CHORUS e CHORUS TRIO. Elevata concentrazione di Calprotectina si osserva nelle feci dei pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche (IBD). Il kit, destinato alla determinazione della concentrazione di Calprotectina viene utilizzato come aiuto alla diagnosi e per la gestione delle relative misure terapeutiche. Deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

2. INTRODUZIONE

La Calprotectina è una proteina eterodimerica di 36 kDa presente prevalentemente nei neutrofili. Il suo rilascio può avvenire in presenza di numerosi effetti citotossici che rendono permeabile la membrana cellulare. La sua concentrazione tende così ad aumentare nel plasma, nel liquor, nel liquido sinoviale, nelle urine e nelle feci. La sua elevata concentrazione nelle feci può indicare un'infiammazione intestinale e la sua corretta determinazione può essere di aiuto per una diagnosi di malattia infiammatoria cronica e di guida e controllo alle scelte farmacologiche a supporto dell'evidenza clinica e di altre indagini diagnostiche pertinenti. Inoltre, un aumento dei valori può essere osservato in tutte le patologie che implicano l'attivazione di un processo infiammatorio acuto o cronico dell'apparato gastroenterico. La somministrazione di farmaci antinfiammatori, celiachia e infezioni batteriche possono variare i livelli di Calprotectina.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION è pronto all'uso per la determinazione della Calprotectina nelle feci negli strumenti CHORUS.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Gli anticorpi specifici per la Calprotectina vengono legati alla fase solida. La calprotectina si lega alla fase solida in seguito ad incubazione con l'estratto di feci. Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi monoclonali anti-calprotectina coniugati con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione di Calprotectina presente nel campione in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in mg/Kg.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento CHORUS/CHORUS TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Schede di Sicurezza (disponibile sul sito DIESSE: www.diesse.it)
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare le buste contenenti i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) per almeno 30 minuti.

Usare il dispositivo entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.

L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>

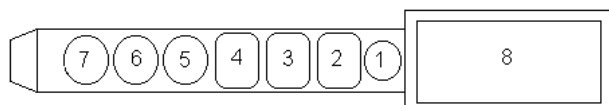
5. Controllare che lo strumento sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente CHORUS).
6. Non alterare il codice a barre posto sull'impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
11. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Pozzetto con STOP SOLUTION

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpi monoclonali anti-calprotectina (massima concentrazione 20µg/Well)

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina in tampone citrato

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione tampone proteica contenente Proclin (0.1%) e Tween (0.1%).

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-Calprotectina (concentrazione massima 0.35µg/ml) marcati con perossidasi, in soluzione tampone proteica contenente Proclin (0.1%) e Tween (0.05%).

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove è trasferito il campione.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e sigillare premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.425 ml

Contenuto: Soluzione di Calprotectina (massima concentrazione 20µg/ml) contenente Proclin (0.1%) e Tween (0.1%). Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Soluzione di Calprotectina (massima concentrazione 20µg/ml) contenente Proclin (0.1%) e Tween (0.1%). Liquido, pronto all'uso.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL 1 x 1.8 ml

Contenuto: Soluzione tampone proteica contenente Proclin (0.1%) e Tween (0.1%). Liquido, pronto all'uso.

L'affidabilità delle misurazioni del Calibratore e del Controllo positivo è garantita dalla catena di tracciabilità descritta di seguito.

Il Calibratore ed il Controllo positivo sono prodotti a partire da una soluzione contenente Calprotectina diluita per raggiungere una specifica concentrazione, il cui range è lotto-dipendente e viene assegnato durante la fase di rilascio del controllo qualità utilizzando una serie di calibratori secondari e vengono preparati e caratterizzati in accordo con un panel di campioni fecali umani di riferimento, con differenti livelli di antigene.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Strumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il controllo positivo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C
SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da estratto di feci, preparato come riportato nelle Istruzioni per l'Uso del prodotto Chorus Coprocollect (REF 86602 – 86602/40) e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Il campione può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C per un massimo di 3 mesi. Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE	50 µl/device
CALIBRATORE	50 µl/device
CONTROLLO POSITIVO	50 µl/device

Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

4. Introdurre i dispositivi sullo strumento. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Customer Care.

Tel: 0039 0577 319554
email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento fornisce il risultato in mg/Kg, calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Il test sul campione in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è > 119 mg/Kg

NEGATIVO: quando il risultato è < 51 mg/Kg

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 51 e 119 mg/Kg

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test.

I livelli riscontrati nei primi mesi di vita dei neonati possono essere superiori in modo significativo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il prodotto deve essere usato solo da personale professionale di laboratorio.

Il test non è applicabile a campioni diversi dal campione fecale estratto.

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

Il test è applicabile esclusivamente agli strumenti CHORUS e CHORUS TRIO; non è applicabile allo strumento CHORUS EVO.

I pazienti che assumono farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) o inibitori della pompa protonica (IPP) possono presentare un aumento dei livelli di calprotectina fecale.

Pazienti affetti dalle seguenti malattie possono presentare livelli elevati di calprotectina: colite microscopica, malattia diverticolare, celiachia, infezioni gastrointestinali e il cancro colorettale.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 24.-1000 mg/Kg.

Per campioni > 1000 mg/Kg ripetere il test sul campione diluito 1:5 in sample dil/neg control.

Il risultato ottenuto dallo strumento deve essere moltiplicato per 5.

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 campioni di donatori sani, erano <24mg/Kg.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni (1 Negativo e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

-	Vancomycin	(0.67 mg/50 mg stool)
-	Ciprofloxacin	(0.50 mg/50 mg stool)
-	Vitamin E	(0.10 mg/50 mg stool)
-	Lansoprazolo	(0.02 mg/50 mg stool)
-	Pentasa	(1.33 mg/50 mg stool)
-	Asacol	(1.33 mg/50 mg stool)
-	Prednisone	(0.01 mg/50 mg stool)
-	Vitamin A	(8.0 UI/50 mg stool)
-	Vitamin C	(0.05 mg/50 mg stool)
-	Vitamin D	(1.1 UI/50 mg stool)
-	Hemoglobin	(5.83 mg/50 mg stool)

La presenza nel campione fecale in esame delle sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

15. CROSS-REATTIVI

Sono stati testati 3 campioni (1 Negativo e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*. Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 185 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Totale	77	108	185

Overall Percent Agreement = 97.3% % CI_{95%}: 93.8-98.8
 Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica) = 96.1%
 CI_{95%}: 89.1 -98.6
 Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica) =98.1%
 CI_{95%}: 93.5 -99.5
 Positive Predictive Value (PPV) = 97.4% CI_{95%}: 95.1 -99.7
 Negative Predictive Value (NPV) = 97.2% CI_{95%}: 94.8 -99.6

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.94.

Dei 185 campioni, su 100 campioni quantificabili è stata testata la correlazione tra il kit Diesse e il kit del commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.98	0.97-0.99
Spearman	0.97	0.96-0.98

La correlazione tra i due metodi è molto elevata. Tale correlazione è confermata dai risultati ottenuti dai test Passing-Bablok e Bland-Altman.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	44.1	3.3	41.6	13.6
3	189.9	7.3	199.1	4.4
4	919.7	9.6	878.2	4.1

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	43.4	4.8	67.8	13.0
3	187.9	12.5	142.2	13.4
4	890.4	9.4	521.9	14.4

*I valori sperimentali ottenuti <24,0 mg/Kg sono stati trattati come 24,0 mg/Kg per consentire il calcolo dei risultati.

18. BIBLIOGRAFIA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. SEGNALE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION is an immunoassay kit for the automated quantitative determination of Calprotectin in stools.

The test is performed on feces using a disposable device attached to the CHORUS and CHORUS TRIO instruments.

High concentration of Calprotectin is observed in the feces of patients with chronic inflammatory diseases (IBD). The kit, intended for the determination of Calprotectin concentration is used as an aid to diagnosis and management of related therapeutic measures.

It is to be used only by professional laboratory personnel.

2. INTRODUCTION

Calprotectin is a 36-kDa heterodimeric protein found predominantly in neutrophils. Its release can occur in the presence of numerous cytotoxic effects that make the cell membrane permeable. Its concentration thus tends to increase in plasma, CSF, synovial fluid, urine, and feces. Its elevated concentration in feces may indicate intestinal inflammation, and its correct determination may aid in a diagnosis of chronic inflammatory disease and guide and control drug choices in support of clinical evidence and other relevant diagnostic investigations. In addition, increased values can be observed in all diseases that involve the activation of an acute or chronic inflammatory process of the gastrointestinal system. Administration of anti-inflammatory drugs, celiac disease, and bacterial infections can change Calprotectin levels.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS Calprotectin 3rd generation device is ready-to-use for the determination of Calprotectin in feces in CHORUS instruments.

The test is based on the ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) principle. Calprotectin-specific antibodies are bound to the solid phase. Calprotectin binds to the solid phase following incubation with the stool extract. After washes to remove unreacted proteins, incubation with the conjugate consisting of monoclonal anti-calprotectin antibodies conjugated with horseradish peroxidase is performed. The conjugate that has not bound is removed and the substrate for the peroxidase is added. The blue color that develops is proportional to the concentration of Calprotectin presents in the test sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied to the Chorus/Chorus TRIO instruments.

Results are expressed in mg/Kg.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

Waste disposal: samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on DIESSE website: www.diesse.it) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Before use, bring the package containing the devices to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes for at least 30 minutes.

Use the device within 60 minutes.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed, and the Instrument Operating Manual must be consulted.

The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a

Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumeto:39/>)

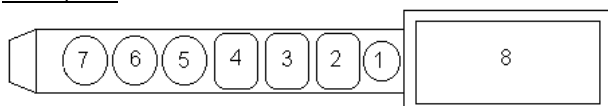
5. Check that the instrument is set up correctly (see CHORUS Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. Do not use the device after the expiry date.
11. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer (Ref. 83606)**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space available for barcode label

Position 7: Well with STOP SOLUTION

Position 6: MICROPLATE WELL.

Sensitized with monoclonal anti-calprotectin antibodies (maximum concentration 20µg/Well)

Position 5: MICROPLATE WELL

Not sensitized.

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine in citrate buffer.

Position 3: SAMPLE DILUENT

Content: Protein buffer solution containing Proclin (0.1%) and Tween (0.1%).

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-Calprotectin monoclonal antibodies (maximum concentration 0.35µg/ml) labeled with peroxidase, in protein buffer solution containing Proclin (0.1%) and Tween (0.05%).

Position 1: EMPTY WELL.

Where the sample is transferred to.

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and **seal** by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.425 ml

Contents: Calprotectin solution (maximum concentration 20µg/ml) containing Proclin (0.1%) and Tween (0.1%). Liquid, ready-to-use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.425 ml

Contents: Calprotectin solution (maximum concentration 20µg/ml) containing Proclin (0.1%) and Tween (0.1%). Liquid, ready-to-use.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL 1 x 1.8 ml

Content: Contents: Protein buffer solution containing Proclin (0.1%) and Tween (0.1%). Liquid, ready-to-use.

Confidence in measurements of Calibrator and Positive control is established with traceability to measurement standards as follows.

The Calibrator and Positive Control are produced from a solution containing Calprotectin diluted to achieve a specific concentration, the range of which is batch-dependent and assigned during the quality control release phase using a series of secondary calibrators and are prepared and characterized in accordance with a panel of human reference fecal samples with different antigen levels.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS/CHORUS TRIO/CHORUS EVO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the positive control (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	8 weeks at 2/8°C
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2/8°C
SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL	8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample type is stool extract, prepared as reported in the Instructions for Use of the product Chorus Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) and handled as required in standard laboratory procedures.

The sample can be kept for 4 days at 2/8°C; for longer storage periods, freeze at -20°C for up to 3 months. The sample may undergo up to a maximum of 3 thawings. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, shake the sample carefully before assaying.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense in well no. 1 of each device:

SAMPLE	50 µl/device
CALIBRATOR	50 µl/device
POSITIVE CONTROL	50 µl/device

At each change of batch, use a device for the calibrator.

4. Place the devices in the instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the positive control has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the positive control continues to be outside the acceptable range, contact the Customer Care.

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The instrument provides the result in mg/Kg, calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument. The test on the sample under examination can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 119 mg/Kg

NEGATIVE: when the result is < 51 mg/Kg

DOUBT/EQUIVOCAL: when the result is between 51 and 119 mg/Kg

In case of doubtful/equivocal result, repeat the test.

Levels found in infants' first months of life may be significantly higher.

11. LIMITATIONS

The product should be used only by professional laboratory personnel.

The test is not suitable for samples different from faecal sample. All values obtained need careful interpretation that does not prescind from other indicators related to the same patient.

The test, indeed, cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

The test is applicable only to the CHORUS and CHORUS TRIO instruments; it is not applicable to the CHORUS EVO instrument. Patients who are taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or proton pump inhibitors (PPIs) may have increased fecal calprotectin levels.

Patients with the following diseases may have elevated calprotectin levels: microscopic colitis, diverticular disease, celiac disease, gastrointestinal infections, and colorectal cancer.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 24.-1000 mg/Kg.

For samples > 1000 mg/Kg Repeat the test on the sample diluted 1:5 in sample dil/neg control.

The result obtained from the instrument should be multiplied by 5.

13. REFERENCE RANGE

The expected values in the normal population, determined by examining 120 healthy donor samples, were <24mg/Kg.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples (1 Negative and 2 Positive) to which the following interferers were added:

-	Vancomycin	(0.67 mg/50 mg stool)
-	Ciprofloxacin	(0.50 mg/50 mg stool)
-	Vitamin E	(0.10 mg/50 mg stool)
-	Lansoprazolo	(0.02 mg/50 mg stool)
-	Pentasa	(1.33 mg/50 mg stool)
-	Asacol	(1.33 mg/50 mg stool)
-	Prednisone	(0.01 mg/50 mg stool)
-	Vitamin A	(8.0 UI/50 mg stool)
-	Vitamin C	(0.05 mg/50 mg stool)
-	Vitamin D	(1.1 UI/50 mg stool)
-	Hemoglobin	(5.83 mg/50 mg stool)

The presence of the above interfering substances in the faecal sample under examination does not alter the test result.

15. CROSS-REACTIONS

Three samples (1 Negative and 2 Positives) were tested to which *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni* were added.

No significant cross-reactions were detected.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 185 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Total	77	108	185

Overall Percent Agreement = 97.3% CI_{95%}: 93.8-98.8

Percent Positive Agreement = 96.1% CI_{95%}: 89.1 -98.6

Percent Negative Agreement =98.1% CI_{95%}: 93.5 -99.5

Positive Predictive Value (PPV) = 97.4% CI_{95%}: 95.1 -99.7

Negative Predictive Value (NPV) = 97.2% CI_{95%}: 94.8 -99.6

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.94.

Of the 185 samples, correlation between the Diesse kit and the trade kit was tested out of 100 quantifiable samples.

The data are summarized in the following table:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.98	0.97-0.99
Spearman	0.97	0.96-0.98

The correlation between the two methods is very high. This correlation is confirmed by the results obtained from the Passing-Bablok and Bland-Altman tests.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean mg/Kg	CV%	Mean mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	44.1	3.3	41.6	13.6
3	189.9	7.3	199.1	4.4
4	919.7	9.6	878.2	4.1

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean mg/Kg	CV%	Mean mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	43.4	4.8	67.8	13.0
3	187.9	12.5	142.2	13.4
4	890.4	9.4	521.9	14.4

*The obtained experimental values <24.0 mg/Kg, were treated as 24.0 mg/Kg to allow the calculation of the results.

18. REFERENCES

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectin nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME/LIJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.
- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. INCIDENT REPORTING

If any serious incident in relation to this device has occurred in the European Union market territory, please report without delay to the manufacturer and competent authority of your Member State.



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

1. VERWENDUNGSZWECK

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION ist ein immunologisches Kit für die automatisierte quantitative Bestimmung von Calprotectin in Fäkalien.

Der Test wird mit einem Einweggerät, das an den Instrumenten CHORUS und CHORUS TRIO angebracht ist, an Fäkalien durchgeführt. In den Fäkalien von Patienten mit chronisch entzündlichen Erkrankungen (IBD) werden hohe Konzentrationen von Calprotectin beobachtet. Das Kit zur Bestimmung der Calprotectin-Konzentration dient als Hilfsmittel für die Diagnose und für die Steuerung der damit verbundenen therapeutischen Maßnahmen. Er sollte nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden.

2. EINFÜHRUNG

Calprotectin ist ein heterodimeres Protein mit 36 kDa, das vor allem in Neutrophilen vorkommt. Seine Freisetzung kann in Gegenwart zahlreicher zytotoxischer Wirkungen erfolgen, die die Zellmembran durchlässig machen. Seine Konzentration im Plasma, im Liquor, in der Synovialflüssigkeit, im Urin und in den Fäkalien nimmt daher tendenziell zu. Seine erhöhte Konzentration in den Fäkalien kann auf eine Darmentzündung hinweisen, und seine korrekte Bestimmung kann bei der Diagnose einer chronisch entzündlichen Erkrankung helfen und die Auswahl von Medikamenten zur Unterstützung des klinischen Nachweises und anderer relevanter diagnostischer Untersuchungen leiten und kontrollieren. Darüber hinaus kann ein Anstieg der Werte bei allen Pathologien beobachtet werden, bei denen ein akuter oder chronischer Entzündungsprozess des Magen-Darm-Systems aktiviert wird.

Die Verabreichung von entzündungshemmenden Medikamenten, Zöliakie und bakterielle Infektionen können den Calprotectin-Spiegel verändern.

3. PRINZIP DER METHODE

Das Gerät CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Calprotectin in Fäkalien bei CHORUS-Instrumenten.

Der Test basiert auf dem ELISA-Prinzip (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Calprotectin-spezifische Antikörper werden an die feste Phase gebunden. Calprotectin bindet sich nach Inkubation mit Stuhlextrakt an die feste Phase. Nach dem Waschen zur Entfernung nicht umgesetzter Proteine erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat, das aus monoklonalen Anti-Calprotectin-Antikörpern besteht, die mit Meerrettichperoxidase konjugiert sind. Das ungebundene Konjugat wird entfernt und das Substrat für die Peroxidase hinzugefügt. Die blaue Farbe, die sich entwickelt, ist proportional zur Konzentration der Calprotectin in der Testprobe.

Die Einweggeräte enthalten alle Reagenzien zur Durchführung des Tests bei Anwendung auf Chorus/Chorus-TRIO-Instrumenten.

Die Ergebnisse sind in mg/Kg angegeben.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

NUR FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK GEEIGNET.

Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1-, Anti-HIV-2- und Anti-HCV-Antikörper getestet und für negativ befunden wurden. Da kein diagnostischer Test eine vollständige Garantie für das Nichtvorhandensein von Infektionserregern bieten kann, muss jedes Material menschlichen Ursprungs als potenziell infiziert angesehen werden. Alle Reagenzien und Proben müssen gemäß den im Labor üblichen Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung von Rückständen: Verwendete Proben, Kalibriervorrichtungen und Streifen sind wie infizierte Rückstände zu behandeln und dann gemäß den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Warnungen zur persönlichen Sicherheit

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Verwenden Sie beim Umgang mit den Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz.
3. Waschen Sie sich gründlich die Hände, nachdem Sie die Geräte in das CHORUS/CHORUS-TRIO-Instrument eingesetzt haben.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der im Kit enthaltenen Reagenzien verweisen wir auf das Sicherheitsdatenblatt (verfügbar auf der DIESSE-Website: www.diesse.it)
5. Neutralisierte Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit in ausreichender Menge desinfiziert werden, um eine Endkonzentration von mindestens 1 % zu erreichen. Eine 30-minütige Einwirkung von 1%igem Natriumhypochlorit sollte für eine wirksame Desinfektion ausreichen.
6. Verschüttetes, möglicherweise infiziertes Material muss sofort mit saugfähigem Papier entfernt werden, und der verunreinigte Bereich muss dekontaminiert werden, z. B. mit 1%igem Natriumhypochlorit, bevor die Arbeit fortgesetzt wird. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf Natriumhypochlorit erst verwendet werden, wenn der Bereich getrocknet ist.
Alle Materialien, die zur Dekontaminierung von versehentlich verschütteten Stoffen verwendet werden, einschließlich Handschuhe, müssen als potenziell infektiöser Abfall entsorgt werden.
Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Analytische Warnhinweise

Bringen Sie die Beutel, in denen sich die zu verwendenden Geräte befinden, vor der Verwendung mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur (18-30 °C). Verwenden Sie das Gerät innerhalb von 60 Minuten.

1. **Geräte mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) verwerfen.**
2. Wenn Sie die Probe in die Vertiefung geben, achten Sie darauf, dass sie sich perfekt auf dem Boden verteilt.

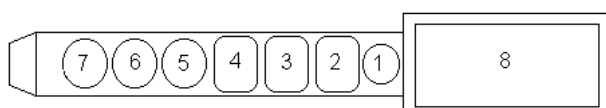
3. Überprüfen Sie das tatsächliche Vorhandensein der Reagenzien im Gerät und die Unversehrtheit des Geräts selbst. Verwenden Sie keine Geräte, die bei der visuellen Inspektion das Fehlen von Reagenzien und/oder Fremdkörpern in der Reaktionsvertiefung aufweisen.
4. Die Geräte müssen in Verbindung mit dem Chorus/Chorus TRIO Instrument verwendet werden, wobei die Gebrauchsanweisung und das Benutzerhandbuch des Instruments genau zu beachten sind.
Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Softwareversion möglich. Vergewissern Sie sich, dass die auf dem Instrument installierte Software mit der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle übereinstimmt oder eine höhere Release (Rel.) hat <https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumen-to:39/>
5. Prüfen Sie, ob das Instrument richtig eingestellt ist (siehe Benutzerhandbuch CHORUS).
6. Verändern Sie den Barcode auf dem Gerätegriff nicht, damit er vom Instrument korrekt gelesen werden kann.
7. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung.
8. Defekte Barcodes können manuell in das Instrument eingegeben werden
9. Setzen Sie die Geräte während der Lagerung und Verwendung keinem starken Licht oder Hypochlorit-Dämpfen aus.
10. Verwenden Sie das Gerät nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
11. **Vergewissern Sie sich, dass das Instrument über einen Anschluss an den Waschpuffer (Ref. 83606) verfügt.**

5. ZUSAMMENSETZUNG DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit ist ausreichend für 36 Bestimmungen.

DD-GERÄTE 6 Packungen mit je 6 Geräten

Beschreibung:



Position 8: Verfügbarer Platz für Barcode-Etikett

Position 7: Vertiefung mit STOP SOLUTION

Platz 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit monoklonalen Anti-Calprotectin-Antikörpern (maximale Konzentration 20 µg/Well)

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert.

Position 4: TMB-SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer

Position 3: VERDÜNNER FÜR PROBEN

Inhalt: Proteinpufferlösung mit Proclin (0,1%) und Tween (0,1%).

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: Peroxidase-markierte monoklonale Anti-Calprotectin-Antikörper (Höchstkonzentration 0,35µg/ml) in Proteinpuffer mit Proclin (0,1%) und Tween (0,05%).

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

Wo die Probe übergeben wird.

Anwendung: einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen, die gewünschten Geräte herausnehmen; Die anderen in den Beutel mit dem Kieselgel legen, die Luft entweichen lassen und durch Andrücken des Verschlusses **verschließen**. Bei 2/8°C aufbewahren.

CALIBRATOR | KALIBRIERVORRICHTUNG 1 x 0,425 ml

Inhalt: Calprotectin-Lösung (maximale Konzentration 20µg/ml) mit Proclin (0,1%) und Tween (0,1%). Flüssig, gebrauchsfertig.

KONTROLLE + | POSITIVE KONTROLLE 1 x 0,425 ml

Inhalt: Calprotectin-Lösung (maximale Konzentration 20µg/ml) mit Proclin (0,1%) und Tween (0,1%). Flüssig, gebrauchsfertig.

PROBENVERDÜNNER/NEGATIVE KONTROLLE 1 x 1,8 ml

Inhalt: Proteinpufferlösung mit Proclin (0,1%) und Tween (0,1%). Flüssig, gebrauchsfertig.

Die Zuverlässigkeit der Messungen der Kalibriervorrichtung und der Positivkontrolle wird durch die unten beschriebene Rückführbarkeitskette gewährleistet.

Die Kalibriervorrichtung und die Positivkontrolle werden aus einer Calprotectin-haltigen Lösung hergestellt, die auf eine bestimmte Konzentration verdünnt wird, deren Bereich chargenabhängig ist. wird während der Freigabephase der Qualitätskontrolle mit Hilfe einer Reihe von Sekundär-Kalibrier-Vorrichtungen zugewiesen und wird anhand eines Panels menschlicher Stuhlreferenzproben mit unterschiedlichen Antigenkonzentrationen hergestellt und charakterisiert.

SONSTIGES ERFORDERLICHES, ABER NICHT BEREITGESTELLTES MATERIAL:

- WASCHPUFFER **REF** 83606
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF** 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG **REF** 83604 - 83608
- Instrument CHORUS/CHORUS TRIO
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Normales Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten, mit denen sich Volumina von 50-200 µl genau entnehmen lassen.
- Einweghandschuhe
- 5%ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter für die Sammlung von potenziell infiziertem Material

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2/8°C gelagert werden. Im Falle einer falschen Lagertemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses anhand der Positivkontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Test-Validierung).

Das Verfallsdatum ist auf jedem Bestandteil und auf dem äußeren Verpackungsetikett aufgedruckt.

Die Reagenzien sind nach dem Öffnen und/oder der Zubereitung nur begrenzt stabil:

GERÄTE	8 Wochen bei 2/8°C
KALIBRIERVORRICHTUNG	8 Wochen bei 2/8°C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2/8°C
PROBENVERDÜNNER/NEGATIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2/8°C

7. ART DER PROBEN UND LAGERUNG

Die Art der Probe wird durch Stuhlextrakt repräsentiert, der gemäß der Gebrauchsanweisung des Chorus-Coprocollect-Produkts (REF 86602 – 86602/40) zubereitet und gemäß den Anforderungen der Standardlaborverfahren gehandhabt wird.

Die Probe kann 4 Tage lang bei 2/8°C aufbewahrt werden; Bei längerer Lagerung bei -20°C bis zu 3 Monate einfrieren. Die Probe kann maximal 3 Mal aufgetaut werden. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung. Nach dem Auftauen die Probe vor der Dosierung sorgfältig schütteln.

8. VERFAHREN

- Öffnen Sie den Beutel (Seite mit dem Druckverschluss), nehmen Sie die Geräte heraus, die Sie für die Prüfungen benötigen, und bewahren Sie die übrigen auf, indem Sie den Beutel nach dem Entlüften wieder verschließen.
- Führen Sie eine Sichtprüfung des Gerätestatus gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Analytische Warnhinweise durch.
- In die Vertiefung Nr. 1 jedes Geräts Folgendes geben:

PROBE	50 µl/Gerät
KALIBRIERVORRICHTUNG	50 µl/Gerät
POSITIVE KONTROLLE	50 µl/Gerät

Verwenden Sie bei jedem Charginwechsel eine Kalibriervorrichtung.

- Legen Sie die Geräte auf das Instrument. Führen Sie die Kalibrierung (falls erforderlich) und den Test gemäß dem Benutzerhandbuch des Instruments durch.

9. TEST-VALIDIERUNG

Verwenden Sie die Positivkontrolle, um die Richtigkeit des erhaltenen Ergebnisses zu überprüfen, indem Sie sie wie in der Bedienungsanleitung des Instruments beschrieben verarbeiten. Zeigt das Instrument an, dass der Wert der Positivkontrolle außerhalb des zulässigen Bereichs liegt, muss die Kalibrierung erneut durchgeführt werden. Frühere Ergebnisse werden automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, wenden Sie sich an den Kundendienst.

Tel: 0039 0577 319554

E-Mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Das Instrument gibt das Ergebnis in mg/Kg an, das aus einer im Instrument gespeicherten, chargen-abhängigen Grafik berechnet wird.

Der Test an der Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Wenn das Ergebnis > 119 mg/Kg ist.

NEGATIV: Wenn das Ergebnis < 51 mg/Kg ist.

ZWEIFEL/ZWEIFELDEUTIGKEIT: Wenn das Ergebnis zwischen 51 und 119 mg/Kg liegt.

Im Falle eines zweifelhaften/zweideutigen Ergebnisses ist der Test zu wiederholen.

In den ersten Lebensmonaten von Säuglingen können die Werte deutlich höher sein.

11. GRENZEN DES TESTS

Das Produkt sollte nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden.

Der Test ist nicht auf andere Proben als die extrahierte Stuhlprobe anwendbar.

Alle ermittelten Werte müssen sorgfältig interpretiert werden, ohne andere Indikatoren, die denselben Patienten betreffen, außer Acht zu lassen.

Der Test kann nicht allein für eine klinische Diagnose verwendet werden, und das Ergebnis muss immer zusammen mit Daten aus der Krankengeschichte und/oder anderen diagnostischen Untersuchungen bewertet werden.

Der Test ist nur auf die Instrumente CHORUS und CHORUS TRIO und nicht auf das Instrument CHORUS EVO anwendbar.

Bei Patienten, die nicht-steroidale Antirheumatika (NSAIDs) oder Protonenpumpeninhibitoren (PPIs) einnehmen, können erhöhte Calprotectin-Werte im Stuhl auftreten.

Patienten, die an folgenden Krankheiten leiden, können erhöhte Calprotectin-Werte aufweisen: Mikroskopische Kolitis, Divertikel-Krankheit, Zöliakie, gastrointestinale Infektionen und kolorektaler Krebs.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich 24.-1000 mg/Kg.

Bei Proben > 1000 mg/kg wiederholen Sie den Test mit der 1:5 in Probenverdünnung/Negativkontrolle verdünnten Probe.

Das vom Instrument ermittelte Ergebnis muss mit 5 multipliziert werden.

13. REFERENZINTERVALLE

Die erwarteten Werte in der Normalbevölkerung, die durch die Untersuchung von 120 Proben von gesunden Spendern ermittelt wurden, lagen bei <24mg/kg.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 3 Proben getestet (1 negativ und 2 positiv), denen die folgenden Störstoffe zugesetzt wurden:

-	Vancomycin	(0,67 mg/50 mg Stuhl)
-	Ciprofloxacin	(0,50 mg/50 mg Stuhl)
-	Vitamin E	(0,10 mg/50 mg Stuhl)
-	Lansoprazol	(0,02 mg/50 mg Stuhl)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg Stuhl)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg Stuhl)
-	Prednison	(0,01 mg/50 mg Stuhl)
-	Vitamin A	(8,0 IU/50 mg Stuhl)
-	Vitamin C	(0,05 mg/50 mg Stuhl)
-	Vitamin D	(1,1 IU/50 mg Stuhl)
-	Hämoglobin	(5,83 mg/50 mg Stuhl)

Das Vorhandensein der oben genannten Störstoffe in der untersuchten Stuhlprobe hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

15. KREUZREAKTIONEN

Drei Proben wurden (1 negativ und 2 positiv) getestet, denen *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni* hinzugefügt wurden.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHENDE STUDIEN

In einem Versuch wurden 185 Proben mit Diesse-Kits und einem anderen kommerziellen Kit analysiert.

Es folgt ein Überblick über die experimentellen Daten:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Insgesamt	77	108	185

Prozentuale Gesamt-Übereinstimmung = 97,3% %
 CI_{95%}: 93,8-98,8

Prozentuale positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität) = 96,1% CI_{95%}: 89,1 -98,6

Prozentuale negative Übereinstimmung (~Diagnostische Spezifität) = 98,1% CI_{95%}: 93,5 -99,5

Positiver Prädiktiver Wert (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 -99,7

Negativer Prädiktiver Wert (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 -99,6

Der Grad der Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohens Koeffizient) von 0,94 ausgezeichnet.

Von den 185 Proben wurde die Korrelation zwischen dem Diesse-Kit und dem kommerziellen Kit anhand von 100 quantifizierbaren Proben getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch. Diese Korrelation wird durch die Ergebnisse der Passing-Bablok- und Bland-Altman-Tests bestätigt.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb der Sitzung		Zwischen Sitzungen	
	Durchschnitt mg/Kg	CV%	Durchschnitt mg/Kg	CV%
1	24,0	-	24,0	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Instrumenten	
	Durchschnitt mg/Kg	CV%	Durchschnitt mg/Kg	CV%
1	24,0	-	24,0	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Experimentell ermittelte Werte <24,0 mg/Kg wurden als 24,0 mg/Kg behandelt, damit die Ergebnisse berechnet werden können.

18. BIBLIOGRAPHIE

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8

- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.
- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. VORFALLBERICHT

Wenn sich im Zusammenhang mit diesem Gerät im Marktgebiet der Europäischen Union ein schwerer Unfall ereignet hat, melden Sie dies bitte unverzüglich dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedstaates.



NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION je imunologická souprava pro automatizované kvantitativní stanovení kalprotektinu ve stolici.

Test se provádí na stolici pomocí jednorázového zařízení připojeného k přístrojům CHORUS a CHORUS TRIO. Vysoké koncentrace kalprotektinu jsou pozorovány ve stolici pacientů trpících chronickými zánětlivými onemocněními (IBD). Souprava určená ke stanovení koncentrace kalprotektinu se používá jako pomůcka pro diagnostiku a pro řízení souvisejících terapeutických opatření. Musí jej používat pouze odborní pracovníci laboratoře.

2. ÚVOD

Kalprotektin je heterodimerický protein o velikosti 36 kDa, který se nachází převážně v neutrofilech. K jeho uvolnění může dojít za přítomnosti četných cytotoxických účinků, které způsobují propustnost buněčné membrány. Jeho koncentrace se tak zvyšuje v plazmě, mozkomíšním moku, synoviální tekutině, moči a stolici. Jeho zvýšená koncentrace ve stolici může ukazovat na střevní zánět a jeho správné stanovení může pomoci při diagnostice chronického zánětlivého onemocnění a při volbě farmakologických postupů a jejich kontrole na základě klinických důkazů a dalších příslušných diagnostických vyšetření. Kromě toho lze zvýšení hodnot pozorovat u všech onemocnění, která zahrnují aktivaci akutního nebo chronického zánětlivého procesu zažívacího traktu. Podávání protizánětlivých léků, celiakie a bakteriální infekce mohou změnit hladinu kalprotektinu.

3. PRINCIP METODY

Prostředek CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION je připraven k použití pro stanovení kalprotektinu ve stolici v přístrojích CHORUS.

Test je založen na principu ELISA (enzymově vázaná imunisorbční analýza). Na pevnou fázi se vážou protilátky specifické pro kalprotektin. Kalprotektin se po inkubaci s fekálním extraktem váže na pevnou fázi. Po promytí k odstranění nezařagovaných proteinů se provede inkubace s konjugátem sestávajícím z monoklonálních protilátek proti kalprotektinu konjugovaných s křenovou peroxidázou. Nenavázaný konjugát se odstraní a přidá se substrát pro peroxidázu. Vytvořená barva je úměrná Kalprotektin přítomnému v testovaném vzorku.

Jednorázová zařízení obsahují všechna činidla k provedení testu, pokud jsou použita na přístrojích Chorus/Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v mg/kg.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Tato sada obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními v testech na HBsAg a protilátky anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Vzhledem k tomu, že žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku nepřítomnosti infekčních agens, musí být jakýkoli materiál lidského původu považován za potenciálně infikovaný. Se všemi činidly a vzorky se musí zacházet v souladu s bezpečnostními pravidly obvyklými v laboratoři.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky, kalibrátory a proužky je třeba zacházet jako s infikovanými zbytky a poté je zlikvidovat v souladu s předpisy.

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po vložení zařízení do přístroje CHORUS/CHORUS TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v sadě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na webových stránkách společnosti DIESE: www.diesse.it)
5. Neutralizované kyseliny a jiné kapalné odpady by měly být dezinfikovány přidáním chlornanu sodného v dostatečném množství, aby bylo dosaženo konečné koncentrace alespoň 1 %. K zajištění účinné dezinfekce by mělo stačit působení 1% chlornanu sodného po dobu 30 minut.
6. Jakékoli rozlití potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena.
Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitých látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad.
Materiály s obsahem chlornanu sodného nevrhají do autoklávy.

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím nechte vytemperovat sáčky obsahující nástroje na pokojovou teplotu (18 - 30°C) alespoň po dobu 30 minut. Nástroj použijte do 60 minut.

1. **Zařízení se substrátem (jamka 4) obarveným na modro vyhoďte.**
2. Při přidávání vzorku do jamky zkontrolujte, zda je dokonale rozložen na dně.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost činidel v zařízení a neporušenost samotného zařízení. Nepoužívejte zařízení, u nichž při vizuální kontrole chybí reagentie a/nebo se v reakční jamce nacházejí cizí tělesa.
4. Zařízení je nutné používat společně s přístrojem Chorus/Chorus TRIO, přičemž je nutné striktně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku k přístroji.

Použití sady je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný v přístroji odpovídá nebo má vyšší verzi (Rel.), než je uvedeno v tabulce na webových stránkách společnosti Diesse.

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumen-to:39/>

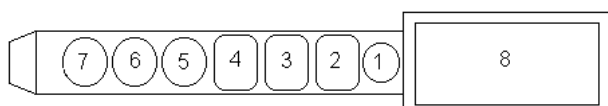
5. Zkontrolujte, zda je přístroj správně nastaveno (viz uživatelská příručka CHORUS).
6. Čárový kód na rukojeti zařízení neměňte, aby jej přístroj správně odečetl.
7. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
8. Vadné čárové kódy lze do přístroje zadat ručně.
9. Během skladování a používání nevystavujte zařízení silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Nepoužívejte zařízení po uplynutí doby použitelnosti
11. **Zkontrolujte, zda je přístroj připojen k promývacímu pufru (Ref. 83606)**

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Sada vystačí na 36 stanovení

DD ZAŘÍZENÍ 6 balení každé po 6 zařízeních

Popis:



Pozice 8: Prostor pro štítek s čárovým kódem

Pozice 7: Jamka s STOP ROZTOKU

Pozice 6: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Senzibilizováno monoklonálními protilátkami proti kalprotektinu (maximální koncentrace 20 µg/Well)

Pozice 5: JAMKA PRO MIKROTITRAČNÍ DESTIČKU

Nesenzibilizováno.

Pozice 4: SUBSTRÁT TMB

Obsah: Tetrametylbendizin v citrátovém pufru

Pozice 3: ŘEDIDLO PRO VZORKY

Obsah: Roztok proteinového pufru obsahující Proclin (0,1 %) a Tween (0,1 %).

Pozice 2: KONJUGOVANÉ

Obsah: monoklonální protilátky proti kalprotektinu (maximální koncentrace 0,35 µg/ml) značené peroxidázou v proteinovém pufru obsahujícím Proclin (0,1 %) a Tween (0,05 %).

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

Kam je vzorek přenesen.

Použití: jeden sáček vyrovnejte na pokojovou teplotu, otevřete sáček, vyjměte potřebné pomůcky; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vypustěte vzduch a **uzavřete** stisknutím na straně zavírání. Skladujte při teplotě 2/8 C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,425 ml

Obsah: Roztok kalprotektinu (maximální koncentrace 20 µg/ml) obsahující Proclin (0,1 %) a Tween (0,1 %). Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,425 ml

Obsah: Roztok kalprotektinu (maximální koncentrace 20 µg/ml) obsahující Proclin (0,1 %) a Tween (0,1 %). Tekutina připravená k použití.

ŘEDIDLO PRO VZORKY/NEGATIVNÍ KONTROLA 1 x 1,8 ml

Obsah: Obsah: Roztok proteinového pufru obsahující Proclin (0,1 %) a Tween (0,1 %). Tekutina připravená k použití.

Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena řetězcem sledovatelnosti popsaným níže.

Kalibrátor a pozitivní kontrola se vyrábějí z roztoku obsahujícího kalprotektin zředěný na specifickou koncentraci, jejíž rozsah závisí na šarži a je přiřazen během fáze uvolňování kontroly kvality pomocí řady sekundárních kalibrátorů, které se připravují a charakterizují podle panelu lidských referenčních vzorků stolice s různými hladinami antigenu.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- MYCÍ PUFR **REF** 83606
- ČISTICÍ ROZTOK **REF** 83609
- SANITAČNÍ ROZTOK **REF** 83604 - 83608
- Přístroj CHORUS/CHORUS TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: válce, zkumavky atd.
- Mikropipety schopné přesně odebrat objemy 50-200 µl.
- Jednorázové rukavice
- 5% roztok chlornanu sodného
- Nádoby pro sběr potenciálně infikovaných materiálů

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

Činidla musí být skladovány při teplotě 2/8 °C. V případě nesprávné skladovací teploty je třeba kalibraci opakovat a správnost výsledku zkontrolovat pomocí pozitivní kontroly (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každé složce a na vnějším štítku balení.

Činidla mají po otevření a/nebo přípravě omezenou stabilitu:

ZAŘÍZENÍ	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8°C
ŘEDIDLO PRO VZORKY/NEGATIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8°C

7. TYP VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Typem vzorku je výtažek ze stolice, připravený jak je uvedeno v návodu k použití přípravku Chorus Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) a zpracovaný podle standardních laboratorních postupů. Vzorek lze skladovat 4 dny při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování jej zmrazte při -20 °C až na 3 měsíce. Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Po rozmrazení vzorek před analýzou pečlivě protřepejte.

8. POSTUP

1. Otevřete sáček (stranu s tlakovým zavíráním), vyjměte tolik zařízení, kolik je potřeba k provedení testů, a zbytek uložte tak, že sáček po odstranění vzduchu znovu uzavřete.
2. Vizualně zkontrolujte stav zařízení podle pokynů v kapitole 4 Analytická upozornění.
3. Dávkujte do jamky č. 1 každého zařízení:

VZOREK	50 µl/přístroj
KALIBRÁTOR	50 µl/přístroj
POZITIVNÍ KONTROLA	50 µl/přístroj

Při každé výměně dávky použijte kalibrační zařízení.

4. Umístěte zařízení na přístroj. Proveďte kalibraci (je-li vyžadována) a test podle uživatelské příručky přístroje.

9. VALIDACE TESTU

Použijte pozitivní kontrolu k ověření správnosti získaného výsledku jeho zpracováním podle návodu k použití přístroje. Pokud přístroj indikuje, že pozitivní kontrola má hodnotu mimo přijatelnou mez, je třeba kalibraci provést znovu. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelný rozsah, kontaktujte oddělení péče o zákazníky.

Tel.: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Přístroj udává výsledek v mg/kg, vypočtený z grafu závislého na šarži, který je uložen v přístroji.

Test na zkušební vzorku lze interpretovat následovně:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 119 mg/kg

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 51 mg/kg

SPORNÝ/NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek v rozmezí 51 až 119 mg/kg

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte.

Hladiny zjištěné v prvních měsících života kojenců mohou být výrazně vyšší.

11. OMEZENÍ TESTU

Výrobek musí být používán pouze odborným laboratorním personálem.

Test není použitelný pro jiné vzorky než extrahovaný vzorek stolice.

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.

Ve skutečnosti nelze test použít pro stanovení klinické diagnózy samostatně a získaný výsledek je vždy třeba hodnotit společně s údaji z anamnézy pacienta a/nebo s dalšími diagnostickými vyšetřeními.

Test je použitelný pouze pro přístroje CHORUS a CHORUS TRIO; není použitelný pro přístroj CHORUS EVO.

Pacienti užívající nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) nebo inhibitory protonové pumpy (PPI) mohou mít zvýšené hladiny kalprotektinu ve stolici.

Zvýšené hladiny kalprotektinu mohou mít pacienti trpící následujícími chorobami: mikroskopická kolitida, divertikulární choroba, celiakie, gastrointestinální infekce a kolorektální karcinom.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 24 - 1000 mg/kg.

U vzorků > 1000 mg/kg opakujte test na vzorku zředěném 1:5 v kontrolním roztoku/negativním vzorku.

Výsledek získaný přístrojem je třeba vynásobit 5.

13. REFERENČNÍ ROZSAHY

Očekávané hodnoty v normální populaci, stanovené na základě vyšetření 120 vzorků zdravých dárců, byly < 24 mg/kg.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Byly testovány tři vzorky (1 negativní a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány následující interferenční látky:

-	Vankomycin	(0,67 mg/50 mg stolice)
-	Ciprofloxacin	(0,50 mg/50 mg stolice)
-	Vitamin E	(0,10 mg/50 mg stolice)
-	Lansoprazol	(0,02 mg/50 mg stolice)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg stolice)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg stolice)
-	Prednison	(0,01 mg/50 mg stolice)
-	Vitamin A	(8,0 IU/50 mg stolice)
-	Vitamin C	(0,05 mg/50 mg stolice)
-	Vitamin D	(1,1 IU/50 mg stolice)
-	Hemoglobin	(5,83 mg/50 mg stolice)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku stolice nemá vliv na výsledek testu.

15. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Byly testovány tři vzorky (1 negativní a 2 pozitivní), ke kterým byly přidány *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*.

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

16. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jedné studii bylo analyzováno 185 vzorků pomocí souprav Diesse a další soupravy z komerční sítě.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Celkem	77	108	185

Celkové procento shody = 97,3% CI_{95%}: 93,8-98,8

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost):= 96,1% CI_{95%}: 89,1 -98,6

Procento negativní shody: (~Diagnostická specifita) =98,1% CI_{95%}: 93,5 -99,5

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 -99,7

Negativní prediktivní hodnota (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 -99,6

Míra shody mezi oběma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) 0,94.

Ze 185 vzorků byla testována korelace mezi soupravou Diesse a obchodní soupravou ze 100 kvantifikovatelných vzorků.

Údaje jsou shrnuty v následující tabulce:

Korelace	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

Korelace mezi oběma metodami je velmi vysoká. Tuto korelaci potvrzují výsledky získané z Passing-Bablokova a Bland-Altmanova testu.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	V rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměrné mg/kg	CV%	Průměrné mg/kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměrné mg/kg	CV%	Průměrné mg/kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Experimentální hodnoty < 24,0 mg/kg byly považovány za 24,0 mg/kg, aby bylo možné vypočítat výsledky.

18. BIBLIOGRAFIE

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

Pokud došlo k vážné nehodě s tímto přístrojem na území Evropské unie, neprodleně ji nahláste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.



ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro

1. ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION είναι ένα ανοσολογικό κιτ για τον αυτοματοποιημένο ποσοτικό προσδιορισμό της Καλπροτεκτίνης στα κόπρανα.

Η εξέταση πραγματοποιείται στα κόπρανα με τη χρήση μιας συσκευής μίας χρήσης που συνδέεται με τα όργανα CHORUS και CHORUS TRIO. Υψηλές συγκεντρώσεις Καλπροτεκτίνης παρατηρούνται στα κόπρανα ασθενών που πάσχουν από χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους (IBD). Το κιτ, που προορίζεται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της Καλπροτεκτίνης, χρησιμοποιείται ως βοήθημα για τη διάγνωση και τη διαχείριση των σχετικών θεραπευτικών μέτρων. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από επαγγελματίες, προσωπικό εργαστηρίου.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Καλπροτεκτίνη είναι μια ετεροδιμερής πρωτεΐνη 36 kDa που απαντάται κυρίως στα ουδετερόφιλα. Η απελευθέρωσή της μπορεί να συμβεί παρουσία πολυάριθμων κυτταροτοξικών επιδράσεων που καθιστούν την κυτταρική μεμβράνη διαπερατή. Η συγκέντρωσή της τείνει συνεπώς να αυξάνεται στο πλάσμα, στο ENY, στο αρθρικό υγρό, στα ούρα και στα κόπρανα. Η αυξημένη συγκέντρωσή της στα κόπρανα μπορεί να υποδηλώνει εντερική φλεγμονή και ο σωστός προσδιορισμός της μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση της χρόνιας φλεγμονώδους νόσου και να καθοδηγήσει και να ελέγξει τις φαρμακολογικές επιλογές για την υποστήριξη των κλινικών στοιχείων και άλλων σχετικών διαγνωστικών ερευνών. Επιπλέον, μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση των τιμών σε όλες τις παθολογίες που αφορούν

την ενεργοποίηση μιας οξείας ή χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασίας

του γαστρεντερικού συστήματος. Η χορήγηση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, η κοιλιοκάκη και βακτηριακές λοιμώξεις μπορούν να αλλάξουν τα επίπεδα Καλπροτεκτίνης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η συσκευή CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION είναι έτοιμη προς χρήση για τον προσδιορισμό της Καλπροτεκτίνης στα κόπρανα σε όργανα CHORUS.

Η δοκιμή βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Τα ειδικά για την Καλπροτεκτίνη αντισώματα δεσμεύονται στη στερεά φάση. Η Καλπροτεκτίνη δεσμεύεται στη στερεά φάση μετά από επώαση με το εκχύλισμα κοπράνων. Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από μονοκλωνικά αντισώματα έναντι καλπροτεκτίνης συζευγμένα με υπεροξειδάση από ραφανίδα. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το μπλε χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο της συγκέντρωσης της καλπροτεκτίνης που υπάρχει στο υπό εξέταση δείγμα.

Οι συσκευές μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια για την εκτέλεση της δοκιμής όταν εφαρμόζονται στα όργανα Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/Kg.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε τεστ για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Δεδομένου ότι κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Ο χειρισμός όλων των αντιδραστηρίων και των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους κανόνες ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Διάθεση καταλοίπων: Τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και στη συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Προειδοποιήσεις προσωπικής ασφάλειας

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τις συσκευές στο όργανο CHORUS/CHORUS TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχονται στο κιτ, ανατρέξτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας (διαθέσιμο στον δικτυακό τόπο της DIESSE: www.diesse.it)
5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγυηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να έχει στεγνώσει η περιοχή. Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την απολύμανση τυχαίων διαρροών, συμπεριλαμβανομένων των γαντιών, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα.
Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές προειδοποιήσεις

Πριν από τη χρήση, φέρτε τα φακελάκια που περιέχουν τις συσκευές που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν σε θερμοκρασία δωματίου (18-30°C) για τουλάχιστον 30 λεπτά. Χρησιμοποιήστε τη συσκευή εντός 60 λεπτών.

1. **Απορρίψτε τις συσκευές με υπόστρωμα (κυψελίδα 4) χρώματος μπλε.**
2. Κατά την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα, ελέγξτε ότι το δείγμα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε την πραγματική παρουσία των αντιδραστηρίων στη συσκευή και την ακεραιότητα της ίδιας της συσκευής.

Μην χρησιμοποιείτε συσκευές οι οποίες, κατά την οπτική επιθεώρηση, παρουσιάζουν έλλειψη αντιδραστηρίου ή/και ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.

4. Οι συσκευές πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το όργανο Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

Η χρήση του kit είναι δυνατή μόνο με μια ενημερωμένη έκδοση λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που είναι εγκατεστημένο στο όργανο ταιριάζει ή έχει έκδοση (Rel.) υψηλότερη από τον πίνακα που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumen-to:39/>

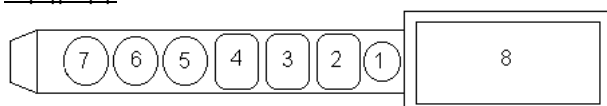
5. Ελέγξτε ότι το όργανο έχει ρυθμιστεί σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης CHORUS).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό στη λαβή της συσκευής, ώστε το όργανο να μπορεί να τον διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων.
8. Οι ελαττωματικοί γραμμωτοί κώδικες μπορούν να εισαχθούν χειροκίνητα στο όργανο.
9. Μην εκθέτετε τις συσκευές σε έντονο φως ή ατμούς υποχλωριώδους κατά την αποθήκευση και τη χρήση.
10. Μην χρησιμοποιείτε τη συσκευή μετά την ημερομηνία λήξης
11. **Ελέγξτε ότι το όργανο διαθέτει σύνδεση με το Washing Buffer (Κωδ. 83606)**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit επαρκεί για 36 προσδιορισμούς

DD ΣΥΣΚΕΥΕΣ 6 πακέτα των 6 συσκευών το καθένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κωδικού

Θέση 7: Κυψελίδα με STOP SOLUTION

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι καλπροτεκτίνης (μέγιστη συγκέντρωση 20μg/Well)

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεϊνών που περιέχει Proclin (0,1%) και Tween (0,1%).

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της καλπροτεκτίνης σημασμένα με υπεροξειδάση (μέγιστη συγκέντρωση 0,35μg/ml) σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεϊνών που περιέχει Proclin (0,1%) και Tween (0,05%).

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Όπου μεταφέρεται το δείγμα.

Χρήση: ισορροπήστε ένα φακελάκι σε θερμοκρασία δωματίου, ανοίξτε το φακελάκι, βγάλτε τις απαιτούμενες συσκευές· τοποθετήστε τις υπόλοιπες στο φακελάκι που περιέχει πυριτική γέλη, αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Φυλάσσεται στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0,425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα Καλπροτεκτίνης (μέγιστη συγκέντρωση 20μg/ml) που περιέχει Proclin (0,1%) και Tween (0,1%). Υγρό, έτοιμο προς χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0,425 ml

Περιεχόμενο: Διάλυμα Καλπροτεκτίνης (μέγιστη συγκέντρωση 20μg/ml) που περιέχει Proclin (0,1%) και Tween (0,1%). Υγρό, έτοιμο προς χρήση.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 1,8 ml

Περιεχόμενο: Περιεχόμενο: Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεϊνών που περιέχει Proclin (0,1%) και Tween (0,1%). Υγρό, έτοιμο προς χρήση.

Η αξιοπιστία των μετρήσεων του Βαθμονομητή και του Θετικού Μάρτυρα διασφαλίζεται από την αλυσίδα ιχνηλασιμότητας που περιγράφεται κατωτέρω.

Ο Βαθμονομητής και ο Θετικός Μάρτυρας παράγονται από ένα διάλυμα που περιέχει Καλπροτεκτίνη αραιωμένη σε συγκεκριμένη συγκέντρωση, το εύρος της οποίας εξαρτάται από την παρτίδα και η οποία αποδίδεται κατά τη φάση της παράδοσης του ελέγχου ποιότητας με τη χρήση μιας σειράς δευτερογενών βαθμονομητών και παρασκευάζονται και χαρακτηρίζονται σύμφωνα με μια ομάδα δειγμάτων ανθρώπινων κοπράνων αναφοράς με διαφορετικά επίπεδα αντιγόνων.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER [Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης] **KQΔ**, 83606
- CLEANING SOLUTION [Διάλυμα καθαρισμού] 2000 **KQΔ**, 83609
- SANITIZING SOLUTION [Απολυμαντικό διάλυμα] **KQΔ**, 83604 - 83608
- Όργανο CHORUS/CHORUS TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για τη συλλογή δυνητικά μολυσμένων υλικών

6. ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να συντηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση λανθασμένης θερμοκρασίας συντήρησης, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και πρέπει να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος με τη βοήθεια του θετικού μάρτυρα (βλ. κεφάλαιο 9: Επικύρωση της δοκιμής).

Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται σε κάθε συστατικό και στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα ή/και την προετοιμασία:

ΣΥΣΚΕΥΕΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ/ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	8 εβδομάδες στους 2/8°C

7. ΤΥΠΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ

Ο τύπος δείγματος είναι εκχύλισμα κοπράνων, που παρασκευάζεται

όπως αναφέρεται στις Οδηγίες Χρήσης του προϊόντος Chorus Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία

σύμφωνα με τις συνήθειες εργαστηριακές διαδικασίες.

Το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C για μεγαλύτερα διαστήματα συντήρησης, καταψύξτε στους -20°C για έως και 3 μήνες. Το δείγμα μπορεί να υποστεί το πολύ 3 αποψύξεις. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση δειγμάτων. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε προσεκτικά το δείγμα πριν από τη δοσομέτρηση.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε το φακελάκι (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όλες συσκευές που απαιτούνται για τη διενέργεια των δοκιμών και κρατήστε τις υπόλοιπες κλείνοντας και πάλι το φακελάκι αφού αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση της συσκευής σύμφωνα με τις οδηγίες του κεφαλαίου 4 Αναλυτικές Προειδοποιήσεις.
3. Διανείμετε στην κυψελίδα αριθ. 1 κάθε συσκευής:

ΔΕΙΓΜΑ	50 μ l/συσκευή
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	50 μ l/συσκευή
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ	50 μ l/συσκευή

Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε μια συσκευή βαθμονόμησης.

4. Τοποθετήστε τις συσκευές στο όργανο. Πραγματοποιήστε βαθμονόμηση (εάν απαιτείται) και τη δοκιμή σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Χρησιμοποιήστε τον θετικό μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του λαμβανόμενου αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήσης του οργάνου. Εάν το όργανο υποδείξει ότι η τιμή του θετικού μάρτυρα βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Εάν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός του αποδεκτού εύρους, επικοινωνήστε με την Εξυπηρέτηση Πελατών.

Τηλ.: 0039 0577 319554

e-mail: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το όργανο δίνει το αποτέλεσμα σε mg/Kg, το οποίο υπολογίζεται από μια γραφική παράσταση που εξαρτάται από την παρτίδα και είναι αποθηκευμένη στο όργανο.

Το τεστ στο δείγμα υπό έλεγχο μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 119 mg/Kg

ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 51 mg/Kg

ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 51 και 119 mg/Kg

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε τη δοκιμή.

Τα επίπεδα που εντοπίζονται κατά τους πρώτους μήνες της ζωής των βρεφών μπορεί να είναι σημαντικά υψηλότερα.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από επαγγελματίες, προσωπικό εργαστηρίου.

Η δοκιμή δεν εφαρμόζεται σε δείγματα άλλα εκτός από το δείγμα κοπράνων που έχει ληφθεί.

Όλες οι τιμές που λαμβάνονται χρειάζονται προσεκτική ερμηνεία χωρίς να αγνοούνται άλλοι δείκτες που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

Η δοκιμή εφαρμόζεται μόνο στα όργανα CHORUS και CHORUS TRIO, δεν εφαρμόζεται στο όργανο CHORUS EVO.

Οι ασθενείς που λαμβάνουν μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) ή αναστολείς αντλίας πρωτονίων (PPI) μπορεί να έχουν αυξημένα επίπεδα καλπροτεκτίνης στα κόπρανα.

Οι ασθενείς που πάσχουν από τις ακόλουθες νόσους μπορεί να έχουν αυξημένα επίπεδα καλπροτεκτίνης: μικροσκοπική κολίτιδα, εκκολπωματική νόσο, κοιλιοκάκη, γαστρεντερικές λοιμώξεις και καρκίνο του παχέος εντέρου.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 24,-1000 mg/Kg.

Για δείγματα > 1000 mg/Kg επαναλάβετε τη δοκιμή στο δείγμα αραιωμένο κατά 1:5 με τη χρήση αραιωτικού δειγμάτων/αρν. μάρτυρα.

Το αποτέλεσμα που λαμβάνεται από το όργανο πρέπει να πολλαπλασιαστεί επί 5.

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στον φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν από την εξέταση 120 δειγμάτων υγιών δοτών, ήταν <24mg/kg.

14. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Εξετάστηκαν 3 δείγματα (1 Αρνητικό και 2 Θετικά) στα οποία προστέθηκαν οι ακόλουθες ουσίες παρεμβολής:

-	Βανκομικίνη	(0,67 mg/50 mg κοπράνων)
-	Σιπροφλοξασίνη	(0,50 mg/50 mg κοπράνων)
-	Βιταμίνη E	(0,10 mg/50 mg κοπράνων)
-	Λανσοπραζόλη	(0,02 mg/50 mg κοπράνων)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg κοπράνων)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg κοπράνων)
-	Πρεδνιζόνη	(0,01 mg/50 mg κοπράνων)
-	Βιταμίνη A	(8,0 IU/50 mg κοπράνων)
-	Βιταμίνη C	(0,05 mg/50 mg κοπράνων)
-	Βιταμίνη D	(1,1 IU/50 mg κοπράνων)
-	Αιμοσφαιρίνη	(5,83 mg/50 mg κοπράνων)

Η παρουσία των ανωτέρω ουσιών παρεμβολής στο δείγμα κοπράνων δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα της εξέτασης.

15. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Εξετάστηκαν 3 δείγματα (1 Αρνητικό και 2 Θετικά) στα οποία προστέθηκαν *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*

Δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διασταυρούμενες αντιδράσεις.

16. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος, αναλύθηκαν 185 δείγματα με το kit Diesse και ένα άλλο εμπορικό kit.

Ακολουθεί συνοπτική παρουσίαση των πειραματικών δεδομένων:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Σύνολο	77	108	185

Συνολική επί τοις εκατό συμφωνία = 97,3% % CI_{95%}: 93,8-98,8

Επί τοις εκατό θετική συμφωνία (~διαγνωστική ευαισθησία) = 96,1% CI_{95%}: 89,1 -98,6

Επί τοις εκατό αρνητική συμφωνία (~διαγνωστική ειδικότητα) = 98,1% CI_{95%}: 93,5 -99,5

Θετική προγνωστική αξία (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 -99,7

Αρνητική προγνωστική αξία (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 -99,6

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0,94.

Από τα 185 δείγματα, η συσχέτιση μεταξύ του kit Diesse και του εμπορικού kit ελέγχθηκε σε 100 ποσοτικοποιήσιμα δείγματα. Τα δεδομένα συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Συσχέτιση	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

Η συσχέτιση μεταξύ των δύο μεθόδων είναι πολύ υψηλή. Η συσχέτιση αυτή επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα των δοκιμών Passing-Bablok και Bland-Altman.

17. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση τιμή mg/Kg	CV%	Μέση τιμή mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ οργάνων	
	Μέση τιμή mg/Kg	CV%	Μέση τιμή mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Οι πειραματικές τιμές που προέκυψαν <24,0 mg/Kg αντιμετωπίστηκαν ως 24,0 mg/Kg για να είναι δυνατός ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων.

18. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectin nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8

- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.
- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. ΑΝΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΩΝ

Εάν έχει συμβεί σοβαρό περιστατικό σε σχέση με τη συσκευή αυτή στην επικράτεια της Ευρωπαϊκής Ένωσης, παρακαλείστε να το αναφέρετε χωρίς καθυστέρηση στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους σας.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Sólo para uso diagnóstico in vitro

1. USO PREVISTO

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION es un kit inmunológico para la determinación cuantitativa automatizada de Calprotectina en heces.

La prueba se realiza en las heces mediante un dispositivo desechable acoplado a los instrumentos CHORUS y CHORUS TRIO. Se observan concentraciones elevadas de Calprotectina en las heces de los pacientes que padecen enfermedades inflamatorias crónicas (EII). El kit, destinado a la determinación de la concentración de Calprotectina, se utiliza como ayuda al diagnóstico y para la gestión de las medidas terapéuticas relacionadas. Sólo debe ser utilizado por personal profesional de laboratorio.

2. INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína heterodimérica de 36 kDa que se encuentra predominantemente en los neutrófilos. Su liberación puede producirse en presencia de numerosos efectos citotóxicos que hacen permeable la membrana celular. Así, su concentración tiende a aumentar en el plasma, el LCR, el líquido sinovial, la orina y las heces. Su concentración elevada en las heces puede indicar inflamación intestinal y su determinación correcta puede ayudar en el diagnóstico de una enfermedad inflamatoria crónica y orientar y controlar la elección de fármacos en apoyo de las pruebas clínicas y otras investigaciones diagnósticas pertinentes. Además, se observa un aumento de los valores en todas las patologías que implican la activación de un proceso inflamatorio agudo o crónico del tracto gastrointestinal. La administración de antiinflamatorios, la celiaquía y las infecciones bacterianas pueden modificar los niveles de Calprotectina.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION está listo para su uso en la determinación de Calprotectina en heces en instrumentos CHORUS.

La prueba se basa en el principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Los anticuerpos específicos de la calprotectina se unen a la fase sólida. La calprotectina se une a la fase sólida tras la incubación con extracto fecal. Tras el lavado para eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado consistente en anticuerpos monoclonales anti-calprotectina conjugados con peroxidasa de rábano picante. Se elimina el conjugado no unido y se añade el sustrato para la peroxidasa. El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de calprotectina presentes en la muestra de la prueba.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se aplican a los instrumentos CHORUS/CHORUS TRIO.

Los resultados se expresan en mg/Kg.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido analizados y han resultado negativos tanto para el HBsAg como para los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba de diagnóstico puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, todo material de origen humano debe considerarse potencialmente infectado. Todos los reactivos y muestras deben manipularse de acuerdo con las normas de seguridad normalmente adoptadas en el laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras, los calibradores y las tiras usadas deben tratarse como residuos infectados y, por lo tanto, eliminarse de acuerdo con las disposiciones de la ley.

Advertencias de seguridad personal

1. No pipetear con la boca.
 2. Utilizar guantes desechables y protección ocular al manipular las muestras.
 3. Lavarse bien las manos después de insertar los dispositivos en el instrumento CHORUS/CHORUS TRIO.
 4. En cuanto a las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (disponible en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
 5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos deben desinfectarse añadiendo hipoclorito sódico en volumen suficiente para alcanzar una concentración final de al menos el 1%. Una exposición al 1% de hipoclorito sódico durante 30 minutos debería ser suficiente para garantizar una desinfección eficaz.
 6. Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe descontaminarse, por ejemplo con hipoclorito sódico al 1%, antes de continuar el trabajo. Si hay un ácido presente, no debe utilizarse hipoclorito sódico hasta que la zona se haya secado.
- Todos los materiales utilizados para descontaminar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos.
- No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

Antes de utilizarlos, ponga las bolsas que contienen los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) durante al menos 30 minutos. Utiliza el aparato como en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) coloreado de azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, compruebe que esté perfectamente distribuida en el fondo.
3. Compruebe la presencia real de los reactivos en el dispositivo y la integridad del propio dispositivo. No utilice

aparatos que al inspeccionarlos visualmente muestren falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.

- Los dispositivos deben utilizarse junto con el instrumento Chorus/Chorus TRIO, siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del usuario del instrumento.

El uso del kit sólo es posible con una versión de software actualizada. Asegúrese de que el software instalado en el instrumento coincide o tiene una versión (Rel.) superior a la de la tabla publicada en el sitio web de Diesse.

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>

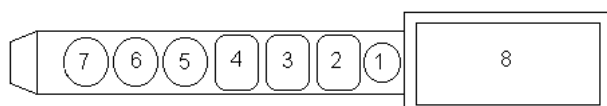
- Compruebe que el aparato está correctamente configurado (véase el manual del usuario CHORUS).
- No altere el código de barras del mango del aparato para que éste pueda leerse correctamente.
- Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras.
- Los códigos de barras defectuosos pueden introducirse manualmente en el instrumento.
- No exponga los aparatos a una luz intensa ni a vapores de hipoclorito durante su almacenamiento y uso.
- No utilice el aparato después de la fecha de caducidad.
- Compruebe que el instrumento dispone de una conexión con el Tampón de Lavado (Ref. 83606)**

5. COMPOSICIÓN DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El kit es suficiente para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 paquetes de 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio disponible para etiqueta de código de barras

Posición 7: Cabina con STOP SOLUTION

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-calprotectina (concentración máxima 20µg/Well)

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina en tampón citrato

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: Solución tampón de proteínas que contiene Proclin (0,1%) y Tween (0,1%).

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-calprotectina marcados con peroxidasa (concentración máxima 0,35µg/ml) en tampón proteico que contiene Proclin (0,1%) y Tween (0,05%).

Posición 1: POCILLO VACÍO

Donde se transfiere la muestra.

Utilización: equilibrar un sobre a temperatura ambiente, abrir el sobre, sacar los dispositivos necesarios; introducir los

demás en el sobre que contiene el gel de sílice, dejar salir el aire y **sellar** presionando sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,425 ml

Contenido: Solución de Calprotectina (concentración máxima 20µg/ml) que contiene Proclin (0,1%) y Tween (0,1%). Líquido, listo para usar

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,425 ml

Contenido: Solución de Calprotectina (concentración máxima 20µg/ml) que contiene Proclin (0,1%) y Tween (0,1%). Líquido, listo para usar

DILUYENTE DE MUESTRAS/CONTROL NEGATIVO 1 x 1,8 ml

Contenido: Solución tampón de proteínas que contiene Proclin (0,1%) y Tween (0,1%). Líquido, listo para usar

La fiabilidad de las mediciones del calibrador y del control positivo está garantizada por la cadena de trazabilidad descrita a continuación.

El Calibrador y el Control Positivo se producen a partir de una solución que contiene Calprotectina diluida a una concentración específica, cuyo rango depende del lote y se asigna durante la fase de liberación del control de calidad utilizando una serie de calibradores secundarios y se preparan y caracterizan de acuerdo con un panel de muestras fecales humanas de referencia con diferentes niveles de antígeno.

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

- TAMPÓN DE LAVADO **REF** 83606
- SOLUCIÓN LIMPIADORA 2000 **REF** 83609
- SOLUCIÓN DESINFECTANTE **REF** 83604
- Instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de vidrio normal de laboratorio: cilindros, probetas, etc.
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 50-200 µl.
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito sódico al 5%
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8°C. En caso de que la temperatura de almacenamiento sea incorrecta, deberá repetirse el calibrado y comprobar el resultado con el control positivo (véase el capítulo 9: Validación de pruebas).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta exterior del envase.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada tras su apertura y/o preparación:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C
DILUYENTE DE MUESTRAS/CONTROL NEGATIVO	8 semanas a 2/8 °C

7. TIPO DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

El tipo de muestra es extracto de heces, preparado

como se indica en las instrucciones de uso del producto Chorus Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) y gestionado como requerido en los procedimientos estándar de laboratorio. La muestra puede conservarse durante 4 días a 2/8°C; para periodos de conservación más largos, congelar a -20°C durante un máximo de 3 meses. La muestra puede someterse a un máximo de 3 descongelaciones. Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras. Tras la descongelación, agitar cuidadosamente la muestra antes de la dosificación.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abra el sobre (lado que contiene el sello de presión), saque el número de dispositivos necesarios para realizar los exámenes y conserve los demás cerrando de nuevo el sobre tras dejar salir el aire.
2. Compruebe visualmente el estado del aparato según las instrucciones del capítulo 4 Advertencias analíticas.
3. Dispensar en el pocillo nº 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	50 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	50 µl/dispositivo

En cada cambio de lote, utilice un dispositivo calibrador.

4. Coloque los dispositivos en el instrumento. Realice la calibración (si es necesario) y la prueba tal como se indica en el Manual del usuario del instrumento.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

Utilice el control positivo para verificar la veracidad del resultado obtenido procesándolo como se indica en el Manual del usuario del instrumento. Si el instrumento indica que el control positivo tiene un valor fuera del límite aceptable, debe realizarse de nuevo la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo sigue estando fuera del intervalo aceptable, póngase en contacto con el Servicio de Asistencia al Cliente.

Tel: 0039 0577 319554
 correo scientificsupport@diesse.it
 electrónico: customercare@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El instrumento proporciona el resultado en mg/Kg, calculado a partir de un gráfico dependiente del lote almacenado en el instrumento.

La prueba de la muestra de ensayo puede interpretarse del siguiente modo:

POSITIVO: cuando el resultado es > 119 mg/Kg

NEGATIVO: cuando el resultado es < 51 mg/Kg

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 51 y 119 mg/Kg

En caso de resultado dudoso/equívoco, repita la prueba.

Los niveles encontrados en los primeros meses de vida de los bebés pueden ser significativamente más altos.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

El producto sólo debe ser utilizado por personal profesional de laboratorio.

La prueba no es aplicable a muestras distintas de la muestra fecal extraída.

Todos los valores obtenidos necesitan una interpretación cuidadosa sin dejar de lado otros indicadores relativos al mismo paciente.

De hecho, la prueba no puede utilizarse por sí sola para un diagnóstico clínico y el resultado obtenido debe evaluarse siempre junto con los datos de la historia clínica del paciente y/u otras investigaciones diagnósticas.

La prueba sólo es aplicable a los instrumentos CHORUS y CHORUS TRIO; no es aplicable al instrumento CHORUS EVO.

Los pacientes que toman antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o inhibidores de la bomba de protones (IBP) pueden presentar un aumento de los niveles de calprotectina fecal.

Los pacientes que padecen las siguientes enfermedades pueden presentar niveles elevados de calprotectina: colitis microscópica, enfermedad diverticular, enfermedad celíaca, infecciones gastrointestinales y cáncer colorrectal.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 24.-1000 mg/Kg.

Para muestras > 1000 mg/Kg, repita la prueba sobre la muestra diluida 1:5 en muestra dil/control neg.

El resultado obtenido por el instrumento debe multiplicarse por 5.

13. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados examinando 120 muestras de donantes sanos, eran <24mg/kg.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 3 muestras (1 Negativa, 2 Positiva) a las que se añadieron los siguientes interferentes:

-	Vancomicina	(0,67 mg/50 mg heces)
-	Ciprofloxacina	(0,50 mg/50 mg heces)
-	Vitamina E	(0,10 mg/50 mg heces)
-	Lansoprazol	(0,02 mg/50 mg heces)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg heces)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg heces)
-	Prednisona	(0,01 mg/50 mg heces)
-	Vitamina A	(8,0 UI/50 mg heces)
-	Vitamina C	(0,05 mg/50 mg heces)
-	Vitamina D	(1,1 UI/50 mg heces)
-	Hemoglobina	(5,83 mg/50 mg heces)

La presencia de las sustancias interferentes mencionadas en la muestra fecal no altera el resultado de la prueba.

15. REACTIVIDAD CRUZADA

Se analizaron tres muestras (1 Negativa y 2 Positivas) a las que se añadieron *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*. No se detectaron reacciones cruzadas significativas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En un ensayo, se analizaron 185 muestras con kits Diesse y otro kit comercial.

A continuación se resumen los datos experimentales:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Total	77	108	185

Overall Percent Agreement = (acuerdo porcentual general)
97,3% % CI_{95%}: 93,8-98,8

Porcentaje de acuerdo positivo (~Sensibilidad diagnóstica)=
96,1% CI_{95%}: 89,1 -98,6

Porcentaje de concordancia negativa (~Especificidad diagnóstica) =98,1% CI_{95%}: 93,5 -99,5

Valor predictivo positivo (VPP) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 -99,7

Valor predictivo negativo (VPN) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 -99,6

El grado de concordancia entre los dos métodos es excelente, con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 0,94.

De las 185 muestras, se comprobó la correlación entre el kit Diesse y el kit comercial en 100 muestras cuantificables.

Los datos se resumen en el cuadro siguiente:

Correlación	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

La correlación entre ambos métodos es muy alta. Esta correlación se ve confirmada por los resultados obtenidos en las pruebas de Passing-Bablok y Bland-Altman.

17. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Muestra	Dentro de la sesión		Entre sesiones	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Muestra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Los valores experimentales obtenidos <24,0 mg/Kg se trataron como 24,0 mg/Kg para poder calcular los resultados.

18. BIBLIOGRAFÍA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME L/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its

structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

Si se ha producido un incidente grave relacionado con este aparato en el territorio comercial de la Unión Europea, notifíquelo sin demora al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.



MODE D'EMPLOI

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Pour le diagnostic in vitro uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

CHORUS CALPROTECTINE 3RD GENERATION est un kit immunologique pour la détermination quantitative automatisée de la Calprotectine dans les selles.

Le test est effectué sur les selles à l'aide d'un dispositif jetable fixé aux instruments CHORUS et CHORUS TRIO. Des concentrations élevées de Calprotectine sont observées dans les selles des patients souffrant de maladies inflammatoires chroniques (MICI). Le kit, destiné à la détermination de la concentration en Calprotectine, est utilisé comme aide au diagnostic et à la gestion des mesures thérapeutiques associées. Il ne doit être utilisé que par le personnel professionnel du laboratoire.

2. INTRODUCTION

La Calprotectine est une protéine hétérodimérique de 36 kDa que l'on trouve principalement dans les neutrophiles. Sa libération peut se produire en présence de nombreux effets cytotoxiques qui rendent la membrane cellulaire perméable. Sa concentration a donc tendance à augmenter dans le plasma, le liquide cébrospinal (LCR), le liquide synovial, l'urine et les selles. Sa concentration élevée dans les selles peut indiquer une inflammation intestinale et sa détermination correcte peut aider au diagnostic d'une maladie inflammatoire chronique et guider et contrôler les choix pharmacologiques à l'appui des preuves cliniques et d'autres investigations diagnostiques pertinentes. Par ailleurs, une augmentation des valeurs peut être observée dans toutes les pathologies impliquant

l'activation d'un processus inflammatoire aigu ou chronique de l'appareil digestif. L'administration de médicaments anti-inflammatoires, la maladie coélique et les infections bactériennes peuvent modifier les taux de Calprotectine.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION est prêt à l'emploi pour la détermination de la Calprotectine dans les selles avec les instruments CHORUS.

Le test est basé sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Les anticorps spécifiques de la Calprotectine sont liés à la phase solide. La Calprotectine se lie à la phase solide après incubation avec un extrait fécal. Après lavage pour éliminer les protéines n'ayant pas réagi, une incubation est réalisée avec le conjugué constitué d'anticorps monoclonaux anti-calprotectine conjugués à la peroxydase de raifort. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté. La couleur bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration des Calprotectine présents dans l'échantillon de test.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test lorsqu'ils sont appliqués aux instruments CHORUS/CHORUS TRIO.

Les résultats sont exprimés en mg/Kg.

4. PRÉCAUTIONS

À DES FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT.

Ce kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés et se sont révélés négatifs pour le HBsAg et les anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-HCV. Aucun test de diagnostic ne pouvant garantir l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être manipulés conformément aux règles de sécurité normalement adoptées dans le laboratoire.

Élimination des résidus : les échantillons, les étalons et les bandelettes utilisées doivent être traitées comme des résidus infectés, puis éliminés conformément aux dispositions de la loi.

Avertissements en matière de sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'instrument CHORUS/CHORUS TRIO.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur le site Internet de DIESE : www.diese.it)
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium dans un volume suffisant pour obtenir une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à 1 % pendant 30 minutes devrait suffire à garantir une désinfection efficace.
6. Tout déversement de matériaux potentiellement infectés doit être immédiatement éliminé à l'aide de papier absorbant et la zone polluée doit être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de sodium à 1 %, avant de poursuivre le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé avant que la zone ait été séchée. Tous les matériaux utilisés pour décontaminer les déversements accidentels, y compris les gants, doivent être éliminés comme des déchets potentiellement infectieux. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Avertissements analytiques

Avant utilisation, les sacs contenant les dispositifs à utiliser doivent être amenés à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes. Utiliser le dispositif dans les 60 minutes.

1. **Jeter les dispositifs dont le substrat (puits 4) est coloré en bleu.**
2. Lors de l'ajout de l'échantillon dans le puits, vérifier qu'il soit parfaitement réparti sur le fond.
3. Vérifier la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif en question. Ne pas utiliser de

dispositifs dont l'examen visuel révèle l'absence de tout réactif et/ou de corps étrangers dans le puits de réaction.

4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en respectant strictement le mode d'emploi et le manuel de l'utilisateur de l'instrument.

L'utilisation du kit n'est possible qu'avec une version actualisée du logiciel. S'assurer que le logiciel installé dans l'instrument corresponde ou a une Release (Rel.) supérieure au tableau publié sur le site web de Diesse <https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>

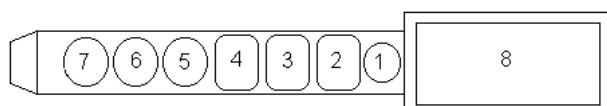
5. Vérifier que l'instrument est correctement configuré (voir le manuel de l'utilisateur CHORUS).
6. Ne pas modifier le code-barres de la poignée du dispositif afin qu'il puisse être lu correctement par l'instrument.
7. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.
8. Les codes-barres défectueux peuvent être introduits manuellement dans l'instrument
9. Ne pas exposer les dispositifs à une lumière forte ou à des vapeurs d'hypochlorite pendant le stockage et l'utilisation.
10. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption
11. **Vérifier que l'instrument dispose d'une connexion au tampon de lavage (Réf. 83606)**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit est suffisant pour 36 déterminations

DD DISPOSITIFS 6 paquets de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 8 : Espace disponible pour l'étiquette code-barres

Position 7 : Puits avec STOP SOLUTION

Position 6 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Sensibilisé avec des anticorps monoclonaux anti-calprotectine (concentration maximale 20µg/puits)

Position 5 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine dans un tampon au citrate

Position 3 : DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : Solution tampon protéique contenant du Proclin (0,1%) et du Tween (0,1%).

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-calprotectine marqués à la peroxydase (concentration maximale de 0,35µg/ml) dans un tampon protéique contenant du Proclin (0,1%) et du Tween (0,05%).

Position 1 : PUIITS VIDE

Lieu de transfert de l'échantillon.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, retirer les dispositifs nécessaires ; placer les autres dans le sachet contenant le gel de silice, laisser l'air s'échapper et **sceller** en appuyant sur la fermeture. Conserver à 2/8 °C.

CALIBRATOR ÉTALON 1 x 0.425 ml

Contenu : Solution de Calprotectine (concentration maximale 20µg/ml) contenant du Proclin (0,1%) et du Tween (0,1%). Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.425 ml

Contenu : Solution de Calprotectine (concentration maximale 20µg/ml) contenant du Proclin (0,1%) et du Tween (0,1%). Liquide, prêt à l'emploi.

DILUENT D'ÉCHANTILLON/CONTRÔLE NÉGATIF 1 x 1,8 ml

Contenu : Solution tampon protéique contenant du Proclin (0,1%) et du Tween (0,1%). Liquide, prêt à l'emploi.

La fiabilité des mesures de l'étalon et du contrôle positif est garantie par la chaîne de traçabilité décrite ci-dessous.

L'étalon et le contrôle positif sont produits à partir d'une solution contenant de la Calprotectine diluée à une concentration spécifique, dont l'étendue dépend du lot et est assigné pendant la phase de libération du contrôle de qualité en utilisant une série d'étalons secondaires et sont préparés et caractérisés selon un panel d'échantillons de référence fécaux humains avec différents niveaux d'antigènes.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI :

- TAMPON DE LAVAGE **RÉF** 83606
- SOLUTION DE NETTOYAGE 2000 **RÉF** 83609
- SOLUTION D'ASSAINISSEMENT **RÉF** 83604 - 83608
- Instrument CHORUS/CHORUS TRIO
- Eau distillée ou désionisée
- Verrerie de laboratoire normale : cylindres, tubes à essai, etc.
- Micropipettes capables de prélever avec précision des volumes de 50 à 200 µl.
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium à 5 %
- Récipients pour la collecte de matériel potentiellement infecté

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8 °C. En cas de température de stockage incorrecte, l'étalonnage doit être répété et l'exactitude du résultat doit être vérifiée à l'aide du contrôle positif (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette externe de l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
ÉTALON	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C
DILUANT D'ÉCHANTILLON/CONTRÔLE NÉGATIF	8 semaines à 2/8 °C

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET STOCKAGE

Le type d'échantillon est un extrait de selles, préparé comme indiqué dans le mode d'emploi du produit Chorus Coprocollect (RÉF 86602 - 86602/40) est manipulé conformément aux procédures standards de laboratoire. L'échantillon peut être conservé pendant 4 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C jusqu'à 3 mois. L'échantillon peut subir un maximum de 3 décongelations. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant de le doser.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (côté contenant le joint à pression), retirer le nombre de dispositifs nécessaires à la réalisation des tests et conserver les autres en fermant le sachet après avoir laissé sortir l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif conformément aux instructions du chapitre 4 Mises en garde analytiques.
3. Distribuer dans le puits n° 1 de chaque dispositif :

ÉCHANTILLON	50 µl/dispositif
ÉTALON	50 µl/dispositif
CONTRÔLE POSITIF	50 µl/dispositif

À chaque changement de lot, utiliser un dispositif pour l'étalon.

4. Placer les dispositifs sur l'instrument. Effectuer l'étalonnage (si nécessaire) et les tests conformément au manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu en le traitant comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle positif a une valeur en dehors de la limite acceptable, l'étalonnage doit être effectué à nouveau. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du contrôle positif continue à se situer en dehors de la fourchette acceptable, contacter le service clientèle.

Tél : 0039 0577 319554
courriel : scientificsupport@diesse.it;
: customercare@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

L'instrument donne le résultat en mg/Kg, calculé à partir d'un graphique dépendant du lot et enregistré dans l'instrument. Le test sur l'échantillon peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est ≥ 119 mg/Kg

NÉGATIF : lorsque le résultat est < 51 mg/Kg

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE : lorsque le résultat est compris entre 51 et 119 mg/Kg

En cas de résultat douteux/équivoque, répéter le test.

Les niveaux trouvés dans les premiers mois de vie des nourrissons peuvent être considérablement plus élevés.

11. LIMITES DU TEST

Le produit ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire professionnel.

Le test n'est pas applicable aux échantillons autres que l'échantillon fécal extrait.

Toutes les valeurs obtenues doivent être interprétées avec soin, sans négliger les autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat obtenu doit toujours être évalué avec les données de l'histoire du patient et/ou d'autres investigations diagnostiques.

Le test ne s'applique qu'aux instruments CHORUS et CHORUS TRIO ; il ne s'applique pas à l'instrument CHORUS EVO.

Les patients prenant des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) peuvent présenter des taux de calprotectine fécale plus élevés.

Les patients souffrant des maladies suivantes peuvent présenter des taux élevés de calprotectine : colite microscopique, maladie diverticulaire, maladie cœliaque, infections gastro-intestinales et cancer colorectal.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 24.-1000 mg/Kg.

Pour les échantillons > 1000 mg/Kg, répéter le test sur l'échantillon dilué à 1:5 dans l'échantillon dilué/contrôle négatif.

Le résultat obtenu par l'instrument doit être multiplié par 5.

13. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées en examinant 120 échantillons de donneurs sains, étaient < 24 mg/kg.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons ont été testés (1 Négatif et 2 Positifs) auxquels les interférents suivants ont été ajoutés :

-	Vancomycine	(0,67 mg/50 mg de selles)
-	Ciprofloxacine	(0,50 mg/50 mg de selles)
-	Vitamine E	(0,10 mg/50 mg de selles)
-	Lansoprazole	(0,02 mg/50 mg de selles)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg de selles)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg de selles)
-	Prednisone	(0,01 mg/50 mg de selles)
-	Vitamine A	(8,0 UI/50 mg de selles)
-	Vitamine C	(0,05 mg/50 mg de selles)
-	Vitamine D	(1,1 UI/50 mg de selles)
-	Hémoglobine	(5,83 mg/50 mg de selles)

La présence des substances interférentes susmentionnées dans l'échantillon fécal à tester ne modifie pas le résultat du test.

15. CROSS-RÉACTIFS

3 échantillons ont été testés (1 négatif et 2 positifs) auxquels ont été ajoutés *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*

Aucune réaction croisée significative n'a été détectée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans un essai, 185 échantillons ont été analysés avec des kits Diesse et un autre kit commercial.

Voici un aperçu des données expérimentales :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Total	77	108	185

Pourcentage global d'accord = 97.3% % CI_{95%} : 93.8-98.8

Pourcentage d'accord positif (~sensibilité diagnostique)= 96,1 %
IC_{95%} : 89.1 -98.6

Pourcentage d'accord négatif (~spécificité diagnostique)=98,1%
CI_{95%} : 93.5 -99.5

Valeur prédictive positive (PPV) = 97,4 % CI_{95%} : 95.1 -99.7

Valeur prédictive négative (VPN) = 97,2 % CI_{95%} : 94.8 -99.6

Le degré de concordance entre les deux méthodes est excellent avec une valeur K (coefficient de Cohen) de 0,94.

Sur les 185 échantillons, la corrélation entre le kit Diesse et le kit commercial a été testée sur 100 échantillons quantifiables.

Les données sont résumées dans le tableau suivant :

Corrélation	r	IC 95 %
Pearson	0.98	0.97-0.99
Spearman	0.97	0.96-0.98

La corrélation entre les deux méthodes est très élevée. Cette corrélation est confirmée par les résultats obtenus par les tests de Passing-Bablok et de Bland-Altman.

17. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

Échantillon	Au sein de la session		Entre les sessions	
	Moyenne mg/Kg	CV%	Moyenne mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	44.1	3.3	41.6	13.6
3	189.9	7.3	199.1	4.4
4	919.7	9.6	878.2	4.1

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne mg/Kg	CV%	Moyenne mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	43.4	4.8	67.8	13.0
3	187.9	12.5	142.2	13.4
4	890.4	9.4	521.9	14.4

*Les valeurs expérimentales obtenues <24,0 mg/Kg ont été traitées comme 24,0 mg/Kg pour permettre le calcul des résultats.

18. BIBLIOGRAPHIE

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectin nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its

structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. SIGNALISATION D'INCIDENT

Si un incident grave s'est produit en relation avec cet appareil sur le territoire de l'Union européenne, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS CALPROTECTINA 3ª GERAÇÃO

Apenas para utilização em diagnóstico in vitro

1. OBJETIVO PRETENDIDO

CALPROTECTINA CHORUS 3ª GERAÇÃO é um kit de imunoensaio para a determinação quantitativa automatizada da Calprotectina nas fezes.

O teste é efetuado nas fezes utilizando um dispositivo descartável ligado aos instrumentos CHORUS e CHORUS TRIO. Observam-se concentrações elevadas de Calprotectina nas fezes de pacientes que sofrem de doenças inflamatórias crônicas (DII). O kit, destinado à determinação da concentração de Calprotectina, é utilizado como auxiliar de diagnóstico e para a gestão das medidas terapêuticas relacionadas. Só deve ser utilizado por pessoal profissional de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

A Calprotectina é uma proteína heterodímera de 36 kDa encontrada predominantemente nos neutrófilos. A sua libertação pode ocorrer na presença de numerosos efeitos citotóxicos que tornam a membrana celular permeável. Assim, a sua concentração tende a aumentar no plasma, no LCR, no líquido cefalorraquidiano, na urina e nas fezes. A sua concentração elevada nas fezes pode indicar inflamação intestinal e a sua determinação correta pode ajudar no diagnóstico da doença inflamatória crônica e orientar e controlar as escolhas farmacológicas em apoio da evidência clínica e de outras investigações de diagnóstico relevantes. Além disso, observa-se um aumento dos valores em todas as patologias que envolvem

a ativação de um processo inflamatório agudo ou crônico do trato gastrointestinal. A administração de medicamentos anti-inflamatórios, a doença celíaca e as infecções bacterianas podem alterar os níveis de Calprotectina.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O aparelho CALPROTECTINA CHORUS 3ª GERAÇÃO está pronto a ser utilizado para a determinação da Calprotectina nas fezes em aparelhos CHORUS.

O teste é baseado no princípio ELISA (Ensaio Imunoenzimático por Ligação de Anticorpo Sorvente). Os anticorpos específicos para a Calprotectina são ligados à fase sólida. A Calprotectina liga-se à fase sólida após incubação com extrato fecal. Após a lavagem para remover proteínas não reagidas, é realizada a incubação com o conjugado constituído por anticorpos monoclonais anti-calprotectina conjugados com peroxidase de rábano. O conjugado não ligado é removido e é adicionado o substrato para a peroxidase. A cor azul que se desenvolve é proporcional à concentração dos Calprotectina presentes na amostra de teste.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em mg/Kg.

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e apresentaram resultado negativo para o HBsAg, assim como para os anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Uma vez que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia total da ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. Todos os reagentes e amostras devem ser manuseados de acordo com as regras de segurança normalmente adotadas no laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratados como resíduos infetados e depois eliminados de acordo com as disposições legais.

Avisos de segurança pessoal

1. Não utilize a pipeta por via oral.
2. Utilizar luvas descartáveis e proteção ocular ao manusear as amostras.
3. Lave bem as mãos depois de inserir os dispositivos no instrumento CHORUS/CHORUS TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consulte a Ficha de Dados de Segurança (disponível no sítio Web da DIESSE: www.diesse.it)
5. Os ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados por adição de hipoclorito de sódio em volume suficiente para se obter uma concentração final de, pelo menos, 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deve ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Quaisquer derramamentos de materiais potencialmente infetados devem ser removidos imediatamente com papel absorvente e a área poluída deve ser descontaminada, por exemplo, com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não deve ser utilizado até que a área tenha sido seca. Todos os materiais utilizados para descontaminar derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infecciosos. Não autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes da utilização, colocar os envelopes que contêm os dispositivos a utilizar à temperatura ambiente (18-30°C) durante pelo menos 30 minutos. Utilizar o aparelho no prazo de 60 minutos.

1. **Descartar os dispositivos com substrato (poço 4) de cor azul.**
2. Ao adicionar a amostra ao poço, verificar se está perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo. Não utilizar dispositivos

que, após inspeção visual, revelem falta de qualquer reagente e/ou corpos estranhos no poço de reação.

4. Os dispositivos devem ser utilizados em conjunto com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

A utilização do kit só é possível com uma versão atualizada do software. Certificar-se de que o software instalado no instrumento corresponde ou tem uma versão (Rel.) superior à indicada na tabela publicada no sítio Web da Diesse

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>

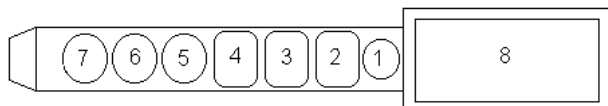
5. Verifique se o instrumento está corretamente configurado (consulte o Manual do Utilizador do CHORUS).
6. Não alterar o código de barras da alça do dispositivo para permitir a sua leitura correta pelo aparelho.
7. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelamento para o armazenamento de amostras.
8. Os códigos de barras defeituosos podem ser introduzidos manualmente no instrumento
9. Não expor os aparelhos a luz intensa ou a vapores de hipoclorito durante o armazenamento e a utilização.
10. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade
11. **Verificar se o instrumento tem uma ligação ao Tampão de Lavagem (Ref. 83606)**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 testes

DISPOSITIVOS **DD** 6 pacotes de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para a etiqueta de código de barras

Posição 7: Poço com SOLUÇÃO DE PARAGEM

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos monoclonais anti-calprotectina (concentração máxima 20µg/Poço)

Posição 5: POÇO DE MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina em tampão citrato

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: Solução tampão de proteínas contendo Proclin (0,1%) e Tween (0,1%).

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-calprotectina (concentração máxima 0,35 µg/ml) marcados com peroxidase, em solução tampão de proteínas contendo Proclin (0,1%) e Tween (0,05%).

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde a amostra é transferida.

Utilização: equilibrar um envelope à temperatura ambiente, abrir o envelope, retirar os dispositivos necessários; colocar os

outros no envelope que contém o gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** pressionando o fecho. Conservar a 2/8°C.

CALIBRADOR 1 x 0,425 ml

Conteúdo: Solução de calprotectina (concentração máxima 20µg/ml) com Proclin (0,1%) e Tween (0,1%). Líquido, pronto a utilizar.

CONTROLO+ CONTROLO POSITIVO 1 x 0,425 ml

Conteúdo: Solução de calprotectina (concentração máxima 20µg/ml) com Proclin (0,1%) e Tween (0,1%). Líquido, pronto a utilizar.

AMOSTRA DE DILUENTE/ CONTROLO NEGATIVO 1 x 1,8 ml

Conteúdo: Solução tampão de proteínas contendo Proclin (0,1%) e Tween (0,1%). Líquido, pronto a utilizar.

A fiabilidade das medições do Calibrador e do Controlo Positivo é garantida pela cadeia de rastreabilidade descrita a seguir.

O Calibrador e o Controlo Positivo são produzidos a partir de uma solução que contém Calprotectina diluída até uma concentração específica, cuja gama depende do lote, e é atribuído durante a fase de libertação do controlo de qualidade utilizando uma série de calibradores secundários e são preparados e caracterizados de acordo com um painel de amostras de referência fecal humana com diferentes níveis de antígeno.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

- TAMPÃO DE LAVAGEM **REF** 83606
- SOLUÇÃO DE LIMPEZA 2000 **REF** 83609
- SOLUÇÃO DESINFETANTE **REF** 83604 - 83608
- instrumento CHORUS/CHORUS TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Material de vidro normal de laboratório: cilindros, tubos de ensaio, etc.
- Micropipetas capazes de recolher com exatidão volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Contentores para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser armazenados a 2/8°C. No caso de uma temperatura de armazenamento incorreta, a calibração deve ser repetida e a correção do resultado verificado através do controlo positivo (ver Capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo da embalagem exterior.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada após a abertura e/ou preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8°C
DILUENTE DE AMOSTRA/CONTROLO NEGATIVO	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO

O tipo de amostra é o extrato de fezes, preparado como indicado nas instruções de utilização do produto Chorus

Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) e tratado como exigidos nos procedimentos laboratoriais normais. A amostra pode ser conservada durante 4 dias a 2/8°C; para períodos de conservação mais longos, congelar a -20°C até 3 meses. A amostra pode ser descongelada no máximo 3 vezes. Evitar a utilização de congeladores de auto-descongelção para o armazenamento de amostras. Após a descongelação, agitar cuidadosamente a amostra antes de a dosear.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o envelope (lado que contém o selo de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para efetuar os ensaios e guardar os restantes, fechando novamente o envelope depois de deixar sair o ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo de acordo com as instruções do Capítulo 4 Precauções Analíticas.
3. Dispensar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	50 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	50 µl/dispositivo

Em cada mudança de lote, utilizar um dispositivo de calibração.

4. Colocar os dispositivos no instrumento. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste de acordo com o Manual do Utilizador do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DE ENSAIOS

Utilizar o controlo positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, processando-o como indicado no manual do utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o controlo positivo tem um valor fora do limite aceitável, a calibração deve ser efetuada novamente. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar a estar fora do intervalo aceitável, contactar o Serviço de Apoio ao Cliente.

Te.l: 0039 0577 319554
 correio: scientificsupport@diesse.it;
 eletrónico: customercare@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento fornece o resultado em mg/Kg, calculado a partir de um gráfico dependente do lote armazenado no instrumento. O teste da amostra de ensaio pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado é > 119 mg/Kg

NEGATIVO: quando o resultado é < 51 mg/Kg

DUVIDOSO/AMBÍGUO: quando o resultado está entre 51 e 119 mg/Kg

Em caso de resultado duvidoso/ambíguo, repetir o teste.

Os níveis encontrados nos primeiros meses de vida dos bebés podem ser significativamente mais elevados.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

O produto só deve ser utilizado por pessoal profissional de laboratório.

O teste não é aplicável a outras amostras que não a amostra fecal extraída.

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidada sem descurar outros indicadores relativos ao mesmo paciente.

Na verdade, o teste não pode ser usado sozinho para um diagnóstico clínico e o resultado obtido deve sempre ser avaliado em conjunto com dados do histórico do paciente e/ou outras investigações diagnósticas.

O teste só é aplicável aos instrumentos CHORUS e CHORUS TRIO; não é aplicável ao instrumento CHORUS EVO.

Os pacientes que tomam medicamentos anti-inflamatórios não esteróides (AINE) ou inibidores da bomba de prótons (IBP) podem ter níveis de calprotectina fecal aumentados.

Pacientes que sofrem das seguintes doenças podem ter níveis elevados de calprotectina: colite microscópica, doença diverticular, doença celíaca, infeções gastrointestinais e câncer colorretal.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Gama de calibração 24.-1000 mg/Kg.

Para amostras > 1000 mg/Kg, repetir o teste na amostra diluída 1:5 no controlo dil/neg da amostra.

O resultado obtido pelo instrumento deve ser multiplicado por 5.

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados através do exame de 120 amostras de doadores saudáveis, foram <24mg/kg.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas três (3) amostras (1 Negativa e 2 Positivas) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

-	Vancomicina	(0,67 mg/50 mg de fezes)
-	Ciprofloxacina	(0,50 mg/50 mg de fezes)
-	Vitamina E	(0,10 mg/50 mg de fezes)
-	Lansoprazole	(0,02 mg/50 mg de fezes)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg de fezes)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg de fezes)
-	Prednisona	(0,01 mg/50 mg de fezes)
-	Vitamina A	(8,0 UI/50 mg de fezes)
-	Vitamina C	(0,05 mg/50 mg de fezes)
-	Vitamina D	(1,1 UI/50 mg de fezes)
-	Hemoglobina	(5,83 mg/50 mg de fezes)

A presença dos interferentes acima referidos na amostra fecal não altera o resultado do teste.

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas três (3) amostras (1 Negativa e 2 Positivas) às quais foram adicionadas *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS COMPARATIVOS

Num ensaio, foram analisadas 185 amostras com kits Diesse e outro kit comercial.

Segue-se um esboço dos dados experimentais:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Total	77	108	185

Percentagem Global de Concordância = 97.3% %
 CI_{95%}: 93.8-98.8

Percentagem de concordância positiva (~Sensibilidade de diagnóstico) = 96.1% CI_{95%}: 89.1 - 98.6

Percentagem de concordância negativa (~especificidade do diagnóstico) = 98.1% CI_{95%}: 93.5 - 99.5

Valor preditivo positivo (VPP) = 97.4% CI_{95%}: 95.1 - 99.7

Valor Preditivo Negativo (VPN) = 97.2% CI_{95%}: 94.8 - 99.6

O grau de concordância entre os dois métodos é excelente, com um valor K (Coeficiente de Cohen) de 0,94.

Das 185 amostras, a correlação entre o kit Diesse e o kit comercial foi testada em 100 amostras quantificáveis.

Os dados são resumidos no quadro seguinte:

Correlação	r	IC 95%
Pearson	0.98	0-97-0.99
Spearman	0.97	0-96-0.98

A correlação entre os dois métodos é muito elevada. Esta correlação é confirmada pelos resultados obtidos com os testes Passing-Bablok e Bland-Altman.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Em execução		Entre execuções	
	Média mg/Kg	CV%	Média mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	44.1	3.3	41.6	13.6
3	189.9	7.3	199.1	4.4
4	919.7	9.6	878.2	4.1

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média mg/Kg	CV%	Média mg/Kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	43.4	4.8	67.8	13.0
3	187.9	12.5	142.2	13.4
4	890.4	9.4	521.9	14.4

*Os valores experimentais obtidos <24,0 mg/Kg foram tratados como 24,0 mg/Kg para permitir o cálculo dos resultados.

18. BIBLIOGRAFIA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME L/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its

structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. COMUNICAÇÃO DE INCIDENTES

Se tiver ocorrido algum incidente grave relacionado com este dispositivo no território do mercado da União Europeia, informe imediatamente o fabricante e a autoridade competente do seu Estado-Membro.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Numai pentru diagnosticare in vitro

1. UTILIZAREA PREVĂZUTĂ

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION este un kit imunologic pentru determinarea cantitativă automată a Calprotectinei în fecale.

Testul se efectuează pe fecale, folosind un dispozitiv de unică folosință aplicat la instrumentele CHORUS și CHORUS TRIO. În fecalele pacienților care suferă de boli inflamatorii cronice (IBD) se observă concentrații ridicate de calprotectină. Kitul, destinat determinării concentrației de calprotectină, este utilizat ca ajutor pentru diagnostic și pentru gestionarea măsurilor terapeutice aferente. Acesta trebuie utilizat numai de către personal profesionist de laborator.

2. INTRODUCERE

Calprotectina este o proteină heterodimeră de 36 kDa care se găsește predominant în neutrofile. Eliberarea sa poate avea loc în prezența a numeroase efecte citotoxice care fac permeabilă membrana celulară. Astfel, concentrația sa tinde să crească în plasmă, lichidul cefalorahidian, lichidul sinovial, urină și fecale. Concentrația sa ridicată în fecale poate indica inflamația intestinală, iar determinarea sa corectă poate ajuta la diagnosticarea unei boli inflamatorii cronice și poate ghida și controla alegerile farmacologice în sprijinul dovezilor clinice și a altor investigații diagnostice relevante. Mai mult, o creștere a valorilor poate fi observată în toate patologii care implică activarea unui proces inflamator acut sau cronic al tractului gastrointestinal. Administrarea de medicamente antiinflamatorii, boala celiacă și infecțiile bacteriene pot modifica nivelul de calprotectină.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION este gata de utilizare pentru determinarea Calprotectinei în fecale utilizând instrumentele CHORUS.

Testul se bazează pe principiul ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Anticorpii specifici pentru calprotectină sunt legați de faza solidă. Calprotectina se leagă de faza solidă în urma incubării cu extractul fecal. După spălare, pentru a îndepărta proteinele care nu au reacționat, se efectuează incubarea cu conjugatul constând din anticorpi monoclonali anti-calprotectină conjugați cu peroxidază de hrean. Conjugatul nelegat este îndepărtat și se adaugă substratul pentru peroxidază. Culoarea albastră care se dezvoltă este proporțională cu concentrația de Calprotectina prezente în proba examinată.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate la instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în mg/Kg.

4. PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO.

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și s-au dovedit negative, în urma testării, atât pentru prezența HBsAg, cât și pentru prezența anticorpilor anti-HIV-1, anti-HIV-2 și anti-HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Toți reactivii și toate probele trebuie manipulate în conformitate cu normele în materie de siguranță adoptate în mod normal în laborator.

Eliminarea reziduurilor: probele, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și prin urmare, trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Avertismente privind siguranța personală

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă pe site-ul DIESE: www.diesse.it)
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu într-un volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Expunerea la hipoclorit de sodiu 1% timp de 30 de minute ar trebui să fie suficientă pentru a asigura o dezinfecție eficientă.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă este prezent un acid, hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat până când zona nu a fost uscată.
Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri accidentale, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase.
Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți pungile care conțin dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute. Utilizați dispozitivul în interval de 60 de minute.

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența efectivă a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză. Nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.

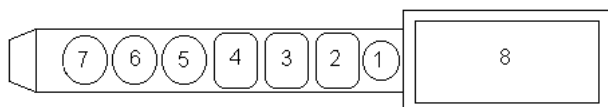
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kitului este posibilă numai cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument coincide sau are o Versiune (Ver.) mai recentă decât cea prezentată în tabelul publicat pe site-ul DIESSE
<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>
5. Verificați dacă instrumentul este setat corect (vezi Manualul de utilizare CHORUS).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului, pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Codurile de bare defecte pot fi introduse manual în instrument
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare
11. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare (Ref. 83606)**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 8: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 7: Godeu cu STOP SOLUTION

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Sensibilizat cu anticorpi monoclonali anti-calprotectină (concentrație maximă 20 μg/godeu)

Poziția 5: GODEU DE MICROPLACĂ

Nesensibilizat.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină în tampon citrat

Poziția 3: DILUANT PENTRU PROBE

Conținut: Soluție tampon proteică care conține Proclin (0,1%) și Tween (0,1%).

Poziția 2: CONJUGAT

Conținut: anticorpi monoclonali anti-calprotectină (concentrație maximă 0,35 μg/ml) marcați cu peroxidază în soluție tampon proteică ce conține Proclin (0,1%) și Tween (0,05%).

Poziția 1: GODEU GOL

Unde este transferată proba.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,425 ml

Conținut: Soluție de calprotectină (concentrație maximă 20 μg/ml) care conține Proclin (0,1%) și Tween (0,1%). Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,425 ml

Conținut: Soluție de calprotectină (concentrație maximă 20 μg/ml) care conține Proclin (0,1%) și Tween (0,1%). Lichid, gata de utilizare.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL / DILUENT PROBĂ/CONTROL NEGATIV 1 x 1,8 ml

Conținut: Conținut: Soluție tampon proteică ce conține Proclin (0,1%) și Tween (0,1%). Lichid, gata de utilizare.

Fiabilitatea măsurătorilor calibratorului și ale controlului pozitiv este garantată de procesul de trasabilitate descris mai jos.

Calibratorul și controlul pozitiv sunt produse pornind de la o soluție care conține Calprotectină diluată pentru a ajunge la o concentrație specifică, al cărei interval depinde de lot și este atribuit în timpul fazei de eliberare a controlului calității, utilizând o serie de calibratoare secundare și sunt preparate și caracterizate în funcție de un panel de probe fecale umane de referință cu diferite niveluri de antigen.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE:

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumentul CHORUS/CHORUS TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 μl.
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu 5%
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. METODE DE PĂSTRARE ȘI STABILITATE A REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi de depozitare incorecte, calibrarea trebuie repetată și trebuie verificată corectitudinea rezultatului prin intermediul controlului pozitiv (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta exterioară a ambalajului.

Reactivii au stabilitate limitată după deschidere și/sau preparare:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C
SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL	8 săptămâni la 2/8°C

7. TIPUL DE PROBE ȘI DEPOZITARE

Tipul de probă este un extract de fecale, preparat așa cum se menționează în instrucțiunile de utilizare pentru produsul Chorus

Coprocollect (REF 86602 – 86602/40) și trebuie manipulat conform

indicațiilor din procedurile standard de laborator.

Proba poate fi păstrată timp de 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de păstrare, congelați la -20°C timp de maxim 3 luni. Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

8. PROCEDURA

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	50 μ l/dispozitiv
CALIBRATOR	50 μ l/dispozitiv
CONTROL POZITIV	50 μ l/dispozitiv

La fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.

4. Introduceți dispozitivele pe instrument. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatului obținut, procesându-l așa cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că controlul pozitiv are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul controlului pozitiv continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență.

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAREA TESTULUI

Instrumentul furnizează rezultatul în mg/Kg, calculat pe baza unui grafic dependent de lot memorat în instrument.

Testul pe proba examinată poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este > 119 mg/Kg

NEGATIV: când rezultatul este < 51 mg/Kg

ÎNDOIELNIC/ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 51 și 119 mg/Kg

În cazul unui rezultat îndoielnic/echivoc, repetați testul.

Nivelurile observate în primele luni de viață ale sugarilor pot fi semnificativ mai ridicate.

11. LIMITĂRILE TESTULUI

Produsul trebuie utilizat numai de către personalul profesionist de laborator.

Testul nu se aplică la alte probe decât proba fecală extrasă.

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă, care nu trebuie să facă abstracție de alți indicatori referitori la același pacient.

De fapt, testul nu poate fi folosit singur pentru un diagnostic clinic iar rezultatul obținut trebuie să fie evaluat întotdeauna împreună cu datele obținute din anamneza pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

Testul se aplică exclusiv la instrumentele CHORUS și CHORUS TRIO; nu se aplică instrumentului CHORUS EVO.

Pacienții care urmează un tratament cu medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) sau cu inhibitori ai pompei de protoni (IPP) pot prezenta niveluri crescute de calprotectină fecală.

Pacienții care suferă de următoarele boli pot prezenta niveluri ridicate de calprotectină: colită microscopică, boala diverticulară, boala celiacă, infecții gastrointestinale și cancer colorectal.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare 24-1000 mg/Kg.

Pentru probe > 1000 mg/Kg, se repetă testul pe proba diluată 1:5 în probă diluată/control negativ.

Rezultatul obținut de instrument trebuie înmulțit cu 5.

13. INTERVALE DE REFERINȚĂ

Valorile așteptate la populația normală, determinate prin examinarea a 120 de probe de la donatori sănătoși, sunt <24mg/Kg.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 3 probe (1 negativă și 2 pozitive) la care s-au adăugat următorii interferenți:

/	Vancomicină	(0,67 mg/50 mg de fecale)
-	Ciprofloxacina	(0,50 mg/50 mg de fecale)
-	Vitamina E	(0,10 mg/50 mg fecale)
-	Lansoprazol	(0,02 mg/50 mg de fecale)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg de fecale)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg de fecale)
-	Prednison	(0,01 mg/50 mg de fecale)
-	Vitamina A	(8,0 UI/50 mg de fecale)
-	Vitamina C	(0,05 mg/50 mg de fecale)
-	Vitamina D	(1,1 UI/50 mg de fecale)
-	Hemoglobină	(5,83 mg/50 mg de fecale)

Prezența substanțelor interferente de mai sus în probele de fecale examinate nu modifică rezultatul testului.

15. CROSS-REACTIVI

Au fost testate 3 probe (1 negativă și 2 pozitive) la care s-au adăugat *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*. Nu au fost detectate reacții încrucișate semnificative.

16. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment au fost analizate 185 probe cu kitul Diesse și cu un alt kit disponibil în comerț.

În continuare sunt prezentate pe scurt datele obținute în urma experimentului:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Total	77	108	185

Procentul de acord global = 97,3% % CI_{95%}: 93,8-98,8

Procent de acord pozitiv (~Sensibilitate diagnostic) = 96,1%
CI_{95%}: 89,1 -98,6

Procent de acord negativ (~Specificitate diagnostic) = 98,1%
CI_{95%}: 93,5 -99,5

Valoare predictivă pozitivă (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 -99,7

Valoare predictivă negativă (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 -99,6

Gradul de concordanță între cele două metode este optim cu o valoare a K (Coeficientul lui Cohen) de 0,94.

Din cele 185 de probe, corelația dintre kitul Diesse și kitul comercial a fost testată pe 100 de probe cuantificabile.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelare	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

Corelația dintre cele două metode este foarte mare. Această corelație este confirmată de rezultatele obținute prin testele Passing-Bablok și Bland-Altman.

17. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Media mg/Kg	CV%	Media mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Valorile experimentale obținute <24,0 mg/Kg au fost tratate ca 24,0 mg/Kg pentru a permite calcularea rezultatelor.

18. BIBLIOGRAFIE

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin the proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectin nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIMeL/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. RAPORTAREA INCIDENTELOR

Dacă a avut loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv pe teritoriul pieței Uniunii Europene, vă rugăm să îl raportați fără întârziere producătorului și autorității competente din Statul dumneavoastră membru.



KASUTUSJUHE

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATSIOON

Ainult in vitro diagnostiliseks kasutamiseks

1. KAVANDATUD KASUTAMINE

CHORUS kolmanda põlvkonna kalprotektiin on immunoloogiline komplekt kalprotektiini automaatseks kvantitatiivseks määramiseks väljaheites.

Test tehakse väljaheitega, kasutades CHORUS ja CHORUS TRIO instrumentidele paigaldatud ühekordselt kasutatavat seadet. Kroonilise põletikulise haigusega (IBD) patsientide väljaheites on täheldatud kalprotektiini kõrget kontsentratsiooni. Kalprotektiini kontsentratsiooni määramiseks mõeldud komplekti kasutatakse abivahendina diagnoosimisel ja sellega seotud ravimeetmete juhtimisel. Seda peaksid kasutama ainult professionaalsed laboratooriumi töötajad.

2. SISSEJUHATUS

Kalprotektiin on peamiselt neutrofiilides sisalduv 36 kDa heterodimeerne valk. Selle vabanemine toimub mitme tsütotoksilise mõju toime, mis muudavad rakumembraani läbilaskvaks. Seeläbi suureneb kalprotektiini kontsentratsioon plasmas, vedelikus, sünoviaalvedelikus, uriinis ja väljaheites. Kalprotektiini suur kontsentratsioon väljaheites võib viidata soolepõletikule ja selle õige määramine võib aidata diagnoosida kroonilist põletikulist haigust ning suunata ja kontrollida farmakoloogilisi valikuid kliiniliste tõendite ja muude diagnostiliste uuringute toetuseks. Lisaks võib täheldada väärtuste suurenemist kõigi haiguste puhul, mis on seotud ägeda või kroonilise põletiku aktiveerimisega seedetraktis. Põletikuvastaste ravimite manustamine, tsöliaakia ja bakteriaalne infektsioon võib kalprotektiini taset muuta.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

CHORUS kolmanda põlvkonna kalprotektiiniseade on kasutusvalmis väljaheites kalprotektiini määramiseks CHORUSE instrumentidega.

Test põhineb ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) põhimõttel. Kalprotektiinile spetsiifilised antikehad seonduvad tahke faasiga. Kalprotektiin seonduv tahke faasiga, millele järgneb väljaheiteekstraktiga inkubeerimine. Pärast pesemist, et eemaldada reageerimata valgud, inkubeeritakse määratõika-peroksidaasiga konjugeeritud anti-kalprotektiini antikehadega. Sidumata konjugaat eemaldatakse ja lisatakse peroksidaasi substraat. Tekkiv värvus on proportsionaalne testiproovis kalprotektiini kontsentratsiooniga.

Korduvkasutatavad seadmed sisaldavad kõiki reaktiive, mis on vajalikud Chorus/Chorus TRIO seadmetele rakendades testi läbiviimiseks.

Tulemused on väljendatud mg/Kg.

4. ETTEVAATUST

AINULT DIAGNOSTILISEKS KASUTAMISEKS IN VITRO.

See komplekt sisaldab inimpäritoluga materjale, mida on testitud ja leitud negatiivseks nii HBsAg- kui ka HIV-1-, HIV-2- ja HCV antikehade testidega. Kuna ükski diagnostiline test ei saa anda täielikku garantiid nakkusetekitajate puudumise kohta, tuleb igasugust inimpäritolu materjali pidada potentsiaalselt nakatunuks. Kõiki reagente ja proove tuleb käsitseda vastavalt laboris tavaliselt vastuvõetud ohutusstandarditele.

Jääkide kõrvaldamine: Proove, kalibraatoreid ja kasutatud ribasid tuleb käsitleda kui nakatunud jääke, mis seejärel kõrvaldatakse vastavalt seadusele.

Isikliku ohutuse hoiatused

1. Ärge pipeteerige suu kaudu.
2. Proovide käitlemisel kasutage ühekordselt kasutatavaid kindaid ja silmakaitsevahendeid.
3. Peske oma käed põhjalikult pärast seadmete sisestamist CHORUS/CHORUS TRIO seadmesse.
4. Komplektis sisalduvate reaktiivide ohutusest vaadake ohutuskaarte (Diesse'i veebisaidil www.diesse.it)
5. Neutraliseeritud happed ja muud vedelad jäätmed tuleb desinfitseerida, lisades piisavas koguses naatriumhüpokloriiti, et saavutada lõplik kontsentratsioon vähemalt 1%. Tõhusaks desinfitseerimiseks peaks olema piisav kokkupuude 1% naatriumhüpokloriidiga 30 minuti jooksul.
6. Võimalikult nakatunud materjalide lekked tuleb viivitamatult eemaldada absorbeeriva paberiga ja saastunud ala tuleb enne töö jätkamist dekontamineerida, nt 1%-lise naatriumhüpokloriidiga. Happe olemasolu korral ei tohi naatriumhüpokloriidi kasutada enne, kui ala on kuivatatud. Kõik juhusliku lekke kõrvaldamiseks kasutatud materjalid, sealhulgas kindad, tuleb hävitada kui potentsiaalselt nakkusohtlikud jäätmed. Mitte autoklaavida materjale, mis sisaldavad naatriumhüpokloriiti.

Analüütilised hoiatused

Enne kasutamist hoidke kotte seadmetega vähemalt 30 minutit toatemperatuuril (+18...+30 °C). Kasutage seadet 60 minuti jooksul.

1. Visake ära seadmed, mille substraat (süvend 4) on värvitud siniseks.
2. Proovi lisamisel süvendisse kontrollige, et see oleks põhjas ideaalselt jaotunud.
3. Kontrollige reaktiivide tegelikku olemasolu seadmes ja seadme enda terviklikkust. Ärge kasutage seadmeid, mille visuaalsel kontrollimisel on näha reaktiivi ja/või võõrkehade puudumist reaktsioonikaevus.
4. Seadmeid tuleb kasutada koos Chorus/Chorus TRIO instrumendiga, järgides rangelt seadme kasutusjuhendit.

Komplekti saab kasutada ainult uuendatud tarkvaraversiooniga. Veenduge, et seadmesse installitud tarkvara vastab Diesse'i veebisaidil avaldatud tabelis osutatud versioonile (Rel.) või on sellest uuem

<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>

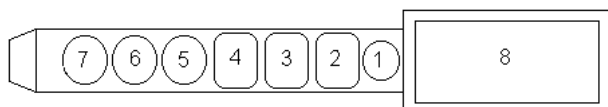
5. Veenduge, et seade on õigesti seadistatud (vt CHORUS kasutusjuhendit).
6. Ärge muutke seadme käepidemel olevat vöötkoodi, et seade saaks seda õigesti lugeda.
7. Vältige isesulatuivate sügavkülmikute kasutamist proovide säilitamiseks.
8. Kahjustatud vöötkoodi andmeid saab seadmesse käsitsi sisestada
9. Ärge pange seadmeid hoiustamise ja kasutamise ajal kokku tugeva valguse või hüpokloriidaurudega.
10. Ärge kasutage seadet pärast kõlblikkusaega
11. **Kontrollige, et seadmel on ühendus pesupuhvriga (Ref. 83606)**

5. KOMPLEKTI KOOSTIS JA REAGENTIDE VALMISTAMINE

Komplektist piisab 36 määramiseks

DD SEADMED 6 pakki igas 6 seadmega

Kirjeldus:



Positsioon 8: Vaba ruum vöötkoodi etiketi jaoks

Positsioon 7: Süvend koos STOP-lahusega

Positsioon 6: MIKROPLAADI SÜVEND

Sensibiliseeritud kalprotektiinivastaste monoklonaalsete antikehadega (suurim kontsentratsioon 20 µg/süvend)

Positsioon 5: MIKROPLAADI SÜVEND

Ei ole sensibiliseeritud.

Positsioon 4: TMB SUBSTRAAT

Sisu: Tetrametüülbensidiin tsitraatpuhvr

Positsioon 3: PROOVIDE LAHJENDAJA

Sisu: Valgu puhverlahus, mis sisaldab Proclinit (0,1%) ja Tweeni (0,1%).

Positsioon 2: KONJUGAAT

Koostis: kalprotektiinivastased monoklonaalsed antikehad (suurim kontsentratsioon 0,35 µg/ml), mis on märgistatud peroksüdaasiga, Proclini (0,1%) ja Tweeni (0,05%) sisaldavas valgu puhverlahuses.

Positsioon 1: TÜHI SÜVEND

Kui proov on edasi viidud.

Kasutamine: tasakaalustage kott toatemperatuurini, avage kott, võtke välja vajalikud seadmed; asetage teised silikageeli sisaldavasse kotti, laske õhk välja ja **sulgege**, vajutades sulgurile. Säilitada temperatuuril 2/8°C.

KALIBREERIJA KALIBREERIJA 1 × 0,425 ml

Sisu: Kalprotektiinilahus (suurim kontsentratsioon 20 µg/ml), mis sisaldab Proclini (0,1%) ja Tweeni (0,1%). Vedel, kasutusvalmis.

JUHTIMINE + POSITIIVNE JUHTIMINE 1 × 0,425 ml

Sisu: Kalprotektiinilahus (suurim kontsentratsioon 20 µg/ml), mis sisaldab Proclini (0,1%) ja Tweeni (0,1%). Vedel, kasutusvalmis.

PROOVI LAHJENDI/NEGATIIVNE KONTROLLMATERJAL 1 × 1,8 ml

Sisu: Sisu: Valgu puhverlahus, mis sisaldab Proclinit (0,1%) ja Tweeni (0,1%). Vedel, kasutusvalmis.

Kalibraatori ja positiivse kontrolli mõõtmiste usaldusväärsus on tagatud allpool kirjeldatud jälgitavusahelaga.

Kalibraatorit ja positiivset kontrollmaterjali valmistatakse kalprotektiini sisaldavast lahusest, mis on lahjendatud kindla kontsentratsioonini, mille vahemik on partiist sõltuv ja mis määratakse kvaliteedikontrolli vabastusetapis. Selleks kasutatakse seeriaid sekundaarseid kalibraatoreid ning neid valmistatakse ja iseloomustatakse vastavalt inimese väljaheite võrdlusproovide paneelile, mille on antigeenisisaldus on erinev.

VAJALIK ON MUU MATERJAL, MIDA POLE KAASAS:

- PESUPUHVER **REF** 83606
- PUHASTUSLAHUS 2000 **REF** 83609
- DESINFITSEERIMISLAHUS **REF** 83604 - 83608
- CHORUS/CHORUS TRIO instrument
- Destilleeritud või deioniseeritud vesi
- Tavalised laboratoorsed klaastarbed: ballooned, katseklaasid jne.
- Mikropipetid, mis suudavad täpselt võtta 50-200 µl mahte.
- Ühekordsed kindad
- 5%-line naatriumhüpokloriidi lahus
- Konteinerid potentsiaalselt nakatunud materjalide kogumiseks

6. REAGENTIDE SÄILITAMINE JA STABIILSUS

Reagentid tuleb säilitada temperatuuril 2/8 °C. Vale säilitustemperatuuri korral tuleb kalibreerimist korrata ja tulemuse õigsust kontrollida positiivse kontrolli abil (vt 9. peatükk): Testi valideerimine).

Aegumiskuupäev on trükitud igale komponendile ja välispakendi etiketile.

Reagentide stabiilsus pärast avamist ja/või valmistamist on piiratud:

SEADMED	8 nädalat temperatuuril 2/8°C
KALIBRAATOR	8 nädalat temperatuuril 2/8°C
POSITIIVNE KONTROLL	8 nädalat temperatuuril 2/8°C
PROOVI LAHJENDI/NEGATIIVNE KONTROLLMATERJAL	8 nädalat temperatuuril 2/8°C

7. PROOVIDE TÜÜP JA SÄILITAMINE

Proovi tüüpi esindab väljaheiteekstrakt, mis on valmistatud nagu on kirjeldatud Chorus'i toote kasutusjuhendis Coprocollect (REF 86602 – 86602/40) ja käideldud standardsete laborimenetluste kohaselt.

Proovi võib hoida temperatuuril 2...8 °C 4 päeva; pikemal säilitamisel hoia temperatuuril –20 °C kuni 3 kuud. Proov võib läbida maksimaalselt 3 sulatamist. Vältige isesulatuvate sügavkülmikute kasutamist proovide säilitamiseks. Pärast sulatamist raputage proovi enne doseerimist hoolikalt.

8. PROTSEDUUR

1. Avage kott (survetihendit sisaldav pool), võtke välja nii palju seadmeid, kui on vaja uuringute läbiviimiseks, ja hoidke ülejäänud, sulgedes koti pärast õhu väljapumpamist uuesti.
2. Kontrollige seadme seisundit visuaalselt vastavalt peatükis 4 "Analüütilised hoiatused" toodud juhistele.
3. Annustage iga seadme süvendisse nr 1:

PROOV	50 µl/seade
KALIBRAATOR	50 µl/seade
POSITIIVNE KONTROLL	50 µl/seade

Iga partii muutmisel kasuta kalibraatori jaoks seadet.

4. Sisestage seadmed istruumendile. Viige läbi kalibreerimine (kui see on vajalik) ja testimine vastavalt seadme kasutusjuhendile.

9. TESTI VALIDEERIMINE

Kasutage positiivset kontrolli, et kontrollida saadud tulemuse õigsust, töeldes seda vastavalt seadme kasutusjuhendile. Kui seade näitab, et positiivse kontrolli väärtus jääb väljapoole vastuvõetavat piiri, tuleb kalibreerimine uuesti läbi viia. Varasemad tulemused parandatakse automaatselt.

Kui positiivse kontrolli tulemus on jätkuvalt väljaspool lubatud vahemikku, võtke ühendust klienditeenindusega.

Tel: 0039 0577 319554

e-post: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. TESTI TÕLGENDAMINE

Seade annab tulemuse mg/kg, mis on arvutatud seadmesse salvestatud partii graafiku põhjal.

Katseprooviga tehtud testi võib tõlgendada järgmiselt:

POSITIIVNE: kui tulemus on > 119 mg/kg

NEGATIIVNE: kui tulemus on < 51 mg/kg

KAHTLUS/ARUSAAMATUS: kui tulemus on vahemikus 51–119 mg/kg

Kahtlase/kahemõttelise tulemuse korral korrake testi.

Imikute esimestel elukuudel leitud tasemed võivad olla oluliselt kõrgemad.

11. TESTI PIIRANGUD

Toodet tohib kasutada ainult professionaalne laboritöötaja.

Test ei ole kohaldatav muule kui väljaheiteproovile.

Kõik saadud väärtused vajavad hoolikat tõlgendamist, jättes tähelepanuta teised sama patsiendiga seotud näitajad.

Sellest testist ei piisa kliiniliseks diagnoosimiseks. Tulemust tuleb hinnata koos patsiendi haigusloo andmete ja/või muude diagnostiliste uuringutega.

Test on kohaldatav ainult Chorus JA CHORUS TRIO instrumentidele; see ei ole kohaldatav Chorus EVO instrumendile.

Patsiendil, kes kasutab mittesteroidseid põletikuvastaseid ravimeid (MSPVA-d) või prootonpumba inhibiitoreid (PPI-d), võib väljaheite kalprotektiini tase suurened.

Kõrge kalprotektiini tase võib olla järgmiste haigustega patsientidel: mikrokoopiline koliit, divertikuloos, tsöliaakia, seedetrakti infektsioonid ja kolorektaalvähk.

12. KALIBREERIMISVAHEMIK

Kalibreerimisvahemik 24.–1000 mg/kg.

Proovide puhul > 1000 mg/kg korrake katset prooviga, mis on lahjendatud 1:5 vahekorras lahjendatud/negatiivsest kontrolliproovist.

Seadme saadud tulemus tuleb korrutada 5ga.

13. VÕRDLUSVAHEMIKUD

Eeldatavad väärtused normaalpopulatsioonis, mis määrati tervete doonorite 120 proovi uurimisel, olid <24 mg/kg.

14. ANALÜÜTILINE SPETSIIFILISUS

Testiti 3 proovi (1 negatiivne ja 2 positiivset), millele lisati järgmised interferendid:

-	Vankomütsiin	(0,67 mg / 50 mg väljaheites)
-	Tsiprofloksatsiin	(0,50 mg / 50 mg väljaheites)
-	E-vitamiin	(0,10 mg / 50 mg väljaheites)
-	Lansoprasool	(0,02 mg / 50 mg väljaheites)
-	Pentasa	(1,33 mg / 50 mg väljaheites)
-	Asakool	(1,33 mg / 50 mg väljaheites)
-	Prednisoloon	(0,01 mg/50 mg väljaheites)
-	A-vitamiin	(8,0 RÜ / 50 mg väljaheites)
-	C-vitamiin	(0,05 mg / 50 mg väljaheites)
-	D-vitamiin	(1,1 RÜ / 50 mg väljaheites)
-	Hemoglobiin	(5,83 mg / 50 mg väljaheites)

Eeltoodud interferentide esinemine väljaheiteproovis ei muuda katsetulemust.

15. RISTREAKTIIVNE

Uurit 3 proovi (1 negatiivne ja 2 positiivset), milles testiti Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica, Klebsiella pneumoniae, Citrobacter freundii ja Campylobacter jejuni

Olulisi ristreaktsioone ei tuvastatud.

16. VÕRDLEVA UURINGUD

Ühes uuringus analüüsiti 185 proovi Diesse'i komplektide ja teise kaubandusliku komplektiga.

Järgnevalt on esitatud katseandmete ülevaade:

		Viide		
		+	-	Kokku
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Kokku	77	108	185

Üldine vastavusprotsent = 97,3% CI_{95%}: 93,8 - 98,8
 Positiivse vastavuse protsent (~ diagnostiline tundlikkus) = 96,1% CI_{95%}: 89,1 – 98,6
 Negatiivse vastavuse protsent (~ diagnostiline spetsiifilisus) = 98,1% CI_{95%}: 93,5 – 99,5
 Positiivne ennustuväärtus (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95,1 – 99,7
 Negatiivne ennustuväärtus (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94,8 – 99,6

Kahe meetodi kokkulangevus on suurepärase, K-väärtusega (Coheni koefitsiendiga) 0,94.

185 proovist testiti Diesse'i komplekti ja kaubandusliku komplekti korrelatsiooni 100 mõõdetava prooviga.

Saadud andmed on järgnevas tabelis:

Korrelatsioon	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97 - 0,99
Spearman	0,97	0,96 - 0,98

Kahe meetodi vaheline korrelatsioon on väga suur. Seda korrelatsiooni kinnitavad Passing-Babloki ja Bland-Altmani testide tulemused.

17. TÄPSUS JA KORRATAVUS

Näide	Seansi jooksul		Seansside vahel	
	Keskmine mg/Kg	CV%	Keskmine mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Näide	Partiide vahel		Instrumentide vahel	
	Keskmine mg/Kg	CV%	Keskmine mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Saadud eksperimentaalseid väärtusi <24,0 mg/kg käsitleti kui 24,0 mg/kg, et võimaldada tulemuste arvutamist.

18. BIBLIOGRAAFIA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME/L/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. VAHEJUHTUMIST TEATAMINE

Kui selle seadmega seoses on Euroopa Liidu territooriumil toimunud tõsine õnnetus, teatage sellest viivitamatult tootjale ja oma liikmesriigi pädevale asutusele.



LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Tikai lietošanai in vitro diagnostikā

1. PAREDZĒTAIS LIETOJUMS

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION ir imunoloģisks komplekts automātiskai kvantitatīvai kalprotektīna noteikšanai fēcēs.

Testu veic fēcēm, izmantojot vienreizlietojamu ierīci, kas pievienota CHORUS un CHORUS TRIO instrumentiem. Hronisku iekaisuma slimību (IBD) slimnieku fēcēs novēro augstu kalprotektīna koncentrāciju. Komplekts, kas paredzēts kalprotektīna koncentrācijas noteikšanai, tiek izmantots kā palīgīdzeklis diagnozes noteikšanai un saistīto terapeitisko pasākumu vadībai. To drīkst izmantot tikai profesionāli laboratorijas darbinieki.

2. IEVADS

Kalprotektīns ir 36 kDa heterodimēru olbaltumviela, kas galvenokārt sastopama neitrofilos. Tā atbrīvošanās var notikt, ja ir daudz citotoksisku iedarbību, kas padara šūnu membrānu caurlaidīgu. Tā koncentrācijai ir tendence palielināties plazmā, virspusējā šķidrumā, sinoviālajā šķidrumā, urīnā un fēcēs. Tā paaugstināta koncentrācija fēcēs var liecināt par zarnu iekaisumu, un tā pareiza noteikšana var palīdzēt diagnosticēt hronisku iekaisuma slimību, vadīt un kontrolēt zāļu izvēli, atbalstot klīniskos pierādījumus un citus attiecīgos diagnostiskos izmeklējumus. Turklāt vērtību palielināšanos var novērot visās patoloģijās, kas saistītas ar akūta vai hroniska iekaisuma procesa aktivizēšanos kuņģa vai zarnu traktā. Pretiekaisuma zāļu lietošana, celiakija un bakteriālas infekcijas var mainīt kalprotektīna līmeni.

3. METODES PRINCIPS

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION ierīce ir gatava lietošanai kalprotektīna noteikšanai fēcēs ar CHORUS instrumentiem.

Testa pamatā ir ELISA (enzīmu saistītā imūnsorbenta analīze) princips. Kalprotektīnam specifiskās antivielas ir piesaistītas cietai fāzei. Kalprotektīns saistās ar cieto fāzi pēc inkubācijas ar fēcju ekstraktu. Pēc mazgāšanas, lai atdalītu nereaģējušos proteīnus, veic inkubāciju ar konjugātu, kas sastāv no monoklonālām antivielām pret kalprotektīnu, kas konjugētas ar mārurtku peroksīdāzi. Nesaistīto konjugātu noņem un pievieno peroksīdāzes substrātu. Zilā krāsa, kas veidojas, ir proporcionāla Kalprotektīns koncentrācijai testa paraugā.

Vienreizlietojamās ierīces satur visus reaģentus testa veikšanai, kad tās tiek pievienotas Chorus/Chorus TRIO instrumentiem. Rezultāti izteikti mg/Kg.

4. PASĀKUMI

TIKAI IN VITRO DIAGNOSTIKAI.

Šajā komplektā ir cilvēka izcelsmes materiāli, kas ir pārbaudīti un atzīti par negatīviem gan attiecībā uz HBsAg, gan anti-HIV-1, anti-HIV-2 un anti-HCV antivielām. Tā kā neviena diagnostikas tests nevar pilnībā garantēt infekcijas ierosinātāju neesamību, jebkurš cilvēka izcelsmes materiāls jāuzskata par potenciāli inficētu. Ar visiem reaģentiem un paraugiem jārikojas saskaņā ar laboratorijā pieņemtajiem drošības noteikumiem.

Atlikumu iznīcināšana: paraugi, kalibratori un izmantotās sloksnes jāapstrādā kā inficēti atlikumi, pēc tam tie jālikvidē saskaņā ar tiesību aktu noteikumiem.

Personas drošības brīdinājumi

1. Nelietot pipeti iekšķīgi.
2. Strādājot ar paraugiem, izmantojiet vienreizlietojamus cimdus un acu aizsardzību.
3. Pēc ierīču ievietošanas ierīcē CHORUS/CHORUS TRIO rūpīgi nomazgājiet rokas.
4. Attiecībā uz komplektā iekļauto reaģentu drošības parametriem, lūdzu, skatiet drošības datu lapu (pieejama DIESSE tīmekļa vietnē: www.diesse.it)
5. Neitralizētas skābes un citi šķidrie atkritumi jādezinficē, pievienojot nātrija hipohlorītu pietiekamā daudzumā, lai panāktu vismaz 1 % galīgo koncentrāciju. Lai nodrošinātu efektīvu dezinfekciju, pietiek ar 1 % nātrija hipohlorīta iedarbību 30 minūtes.
6. Jebkurš potenciāli inficētu materiālu noplūdums nekavējoties jānovāc ar absorbējošu papīru un pirms darba turpināšanas piesārņotā vieta jādezinficē, piemēram, ar 1 % nātrija hipohlorītu. Ja ir skābe, nātrija hipohlorītu nedrīkst lietot, kamēr vieta nav izžāvēta.
Visi materiāli, kas izmantoti nejaušu noplūžu attīrīšanai, tostarp cimdi, jāizmet kā potenciāli infekciozi atkritumi. Nelikt autoklāvā materiālus, kas satur nātrija hipohlorītu.

Analītiskie brīdinājumi

Pirms lietošanas maisījumus ar izmantojamām ierīcēm vismaz 30 minūtes noturiet istabas temperatūrā (18-30 °C). Ierīci izmantojiet 60 minūšu laikā.

1. Izmetiet ierīces ar substrātu (4. iedobe), kas iekrāsots zilā krāsā.
2. Pievienojot paraugu iedobē, pārbaudiet, vai paraugs ir pilnīgi sadalījies uz dibena.
3. Pārbaudiet reaģentu faktisko klātbūtni ierīcē un pašas ierīces integritāti. Neizmantojiet ierīces, kuru reakcijas iedobē pēc vizuālas pārbaudes nav reaģenta un/vai svešķermeņu.
4. Ierīces jālieto kopā ar instrumentu Chorus/Chorus TRIO, stingri ievērojot instrumenta lietošanas instrukciju un lietotāja rokasgrāmatu.
Komplekta lietošana ir iespējama tikai ar atjauninātu programmatūras versiju. Pārlicinieties, ka instrumentā instalētā programmatūra atbilst vai ir ar Release (Rel.) augstāka par Diesse tīmekļa vietnē publicēto tabulu
<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>
5. Pārbaudiet, vai instruments ir pareizi iestatīts (skatīt CHORUS lietotāja rokasgrāmatu).

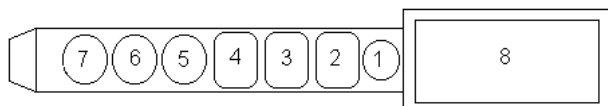
6. Neizmainiet svītrkodu uz ierīces roktura, lai instruments to varētu pareizi nolasīt.
7. Izvairieties no pašatkausējošu saldētavu izmantošanas paraugu uzglabāšanai.
8. Defektīvus svītrkodus instrumentā var ievadīt manuāli
9. Uzglabāšanas un lietošanas laikā nepakļaujiet ierīces spēcīgai gaismai vai hipohlorīta tvaikiem.
10. Neizmantojiet ierīci pēc derīguma termiņa beigām
11. **Pārbaudiet, vai instrumentam ir savienojums ar mazgāšanas buferšķīdumu (sk. 83606)**

5. KOMPLEKTA SASTĀVS UN REAĢENTU SAGATAVOŠANA

Komplekts ir pietiekams 36 noteikšanas reizēm

DD IERĪCES 6 iepakojumi pa 6 ierīcēm katrā

Apraksts:



8. pozīcija: Pieejamā vieta svītrkoda uzlīmei

7. pozīcija: Iedobe ar STOP SOLUTION

6. pozīcija: MIKROPLATES IEDOBE

Sensibilizētas ar antikalprotektīna monoklonālajām antivielām (maksimālā koncentrācija 20 µg/nodalījumā)

5. pozīcija: MIKROPLATES IEDOBE

Nav sensibilizēts.

4. pozīcija: TMB SUBSTRĀTS

Saturs: Tetrametilbenzidīns citrāta buferšķīdumā

3. pozīcija: ATŠĶAIDĪTĀJS PARAUGIEM

Saturs: Proteīnu buferšķīdums, kas satur proklīnu (0,1 %) un Tween (0,1 %).

2. pozīcija: KONJUGĒTS

Sastāvs: ar peroksidāzi marķētas monoklonālas antivielas pret kalprotektīnu (maksimālā koncentrācija 0,35 µg/ml) proteīnu buferšķīdumā, kas satur proklīnu (0,1 %) un Tween (0,05 %).

1. pozīcija: TUKŠA TVERTNE

Kur paraugs tiek nodots.

Lietošana: izlīdziniet maisiņu līdz istabas temperatūrai, atveriet maisiņu, izņemt vajadzīgās ierīces; pārējās ievietot maisiņā, kurā ir silikagels, izlaidiet gaisu un **aizzīmogojiet**, nospiežot aizvākojumu. Uzglabāt 2/8 °C temperatūrā.

CALIBRATOR KALIBRATORS 1 x 0,425 ml

Saturs: Kalprotektīna šķīdums (maksimālā koncentrācija 20 µg/ml), kas satur proklīnu (0,1 %) un Tween (0,1 %). Šķidr, gatavs lietošanai.

KONTROLE + POZITĪVĀ KONTROLE 1 x 0,425 ml

Saturs: Kalprotektīna šķīdums (maksimālā koncentrācija 20 µg/ml), kas satur proklīnu (0,1 %) un Tween (0,1 %). Šķidr, gatavs lietošanai.

PARAUGA ŠĶĪDINĀTĀJS/NEGATĪVĀ KONTROLE 1 x 1,8 ml

Saturs: Saturs: Proteīnu buferšķīdums, kas satur proklīnu (0,1%) un Tween (0,1%). Šķidr, gatavs lietošanai.

Kalibratora un pozitīvās kontroles mērījumu ticamību garantē turpmāk aprakstītā izsekojamības ķēde.

Kalibratoru un pozitīvo kontroli iegūst no šķīduma, kas satur kalprotektīnu, atšķaidītu līdz noteiktai koncentrācijai, kuras diapazons ir atkarīgs no partijas, un tiek piešķirts kvalitātes kontroles izlaides posmā, izmantojot virkni sekundāro kalibratoru, un tiek sagatavots un raksturots atbilstoši cilvēka fēču references paraugu panelim ar dažādiem antigēnu līmeņiem.

CITI NEPIECIEŠAMIE, BET NEPIEGĀDĀTIE MATERIĀLI:

- MAZGĀŠANAS BUFERIS REF 83606
- TĪRĪŠANAS ŠĶĪDUMS 2000 REF 83609
- DEZINFEKCIJAS ŠĶĪDUMS REF 83604 - 83608
- Instruments CHORUS/CHORUS TRIO
- Destilēts vai dejonizēts ūdens
- Parastie laboratorijas stikla trauki: cilindri, mēģenes utt.
- Mikropipetes, ar kurām var precīzi uzņemt 50-200 µl tilpumu.
- Vienreizlietojamie cimdi
- 5 % nātrija hipohlorīta šķīdums
- Konteineri potenciāli inficētu materiālu savākšanai

6. REAĢENTU UZGLABĀŠANA UN STABILITĀTE

Reaģenti jāuzglabā 2/8 °C temperatūrā. Nepareizas uzglabāšanas temperatūras gadījumā kalibrēšana ir jāatkārto un rezultātu pareizība jāpārbauda, izmantojot pozitīvo kontroli (sk. 9. sadaļu): Testa validācija).

Derīguma termiņš ir uzdrukāts uz katras sastāvdaļas un ārējā iepakojuma uzlīmes.

Reaģentu stabilitāte pēc atvēršanas un/vai sagatavošanas ir ierobežota:

IERĪCES	8 nedēļas 2/8 °C temperatūrā
KALIBRATORS	8 nedēļas 2/8 °C temperatūrā
POZITĪVĀ KONTROLE	8 nedēļas 2/8 °C temperatūrā
PARAUGA ATŠĶAIDĪJUMS/NEGATĪVĀ KONTROLE	8 nedēļas 2/8 °C temperatūrā

7. PARAUGU VEIDS UN UZGLABĀŠANA

Parauga veids ir fēču ekstrakts, ko sagatavo kā norādīts izstrādājuma Chorus lietošanas instrukcijā Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) un apstrādā kā standarta laboratorijas procedūrās. Paraugu var uzglabāt 4 dienas 2/8 °C temperatūrā; ja ilgāk uzglabāt, sasaldēt -20 °C temperatūrā līdz 3 mēnešiem. Paraugu var atkausēt ne vairāk kā 3 reizes. Izvairieties no pašatkausējošu saldētavu izmantošanas paraugu uzglabāšanai. Pēc atkausēšanas pirms dozēšanas paraugu rūpīgi sakratiet.

8. PROCEDŪRA

1. Atveriet maisiņu (pusē, kurā ir spiediena zīmogs), izņemiet nepieciešamo ierīču skaitu, lai veiktu pārbaudes, un saglabāiet pārējās, pēc gaisa izlaišanas atkal aizverot maisiņu.
2. Vizuāli pārbaudiet ierīces stāvokli saskaņā ar norādījumiem 4. sadaļā Analītiskie brīdinājumi.
3. Iedaliet katras ierīces iedobē Nr. 1:

CAMPIONE	50 µl/ierīce
KALIBRATORS	50 µl/ierīce
POZITĪVĀ KONTROLE	50 µl/ierīce

Katras partijas maiņas laikā izmantojiet kalibrēšanas ierīci.

4. Uzlieciet ierīces uz instrumenta. Veiciet kalibrēšanu (ja nepieciešams) un testēšanu saskaņā ar instrumenta lietotāja rokasgrāmatu.

9. TESTU VALIDĀCIJA

Izmantojiet pozitīvo kontroli, lai pārbaudītu iegūto rezultātu pareizību, apstrādājot to, kā norādīts instrumenta lietotāja rokasgrāmatā. Ja instruments norāda, ka pozitīvās kontroles vērtība ir ārpus pieļaujamās robežas, kalibrēšana jāveic vēlreiz. Iepriekšējie rezultāti tiks automātiski koriģēti. Ja pozitīvās kontroles rezultāts joprojām ir ārpus pieļaujamā diapazona, sazinieties ar klientu apkalpošanas dienestu.

Tālrunis: 0039 0577 319554

e-pasts: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. TESTA INTERPRETĀCIJA

Ierīce uzrāda rezultātu mg/Kg, kas aprēķināts no partijas atkarīgā grafika, kurš saglabāts ierīcē.

Testa parauga testu var interpretēt šādi:

POZITĪVS: ja rezultāts ir > 119 mg/Kg

NEGATĪVS: ja rezultāts ir < 51 mg/Kg

APŠAUBĀMS/NEVIENNOZĪMĪGS: ja rezultāts ir no 51 līdz 119 mg/Kg

Ja rezultāts ir apšaubāms/neviennozīmīgs, atkārtojiet testu.

Zīdaiņu pirmajos dzīves mēnešos konstatētais līmenis var būt ievērojami augstāks.

11. TESTA IEROBEŽOJUMI

Produktu drīkst lietot tikai profesionāli laboratorijas darbinieki. Tests nav piemērojams citiem paraugiem, izņemot ekstrahēto fēču paraugu.

Visas iegūtās vērtības ir rūpīgi jāinterpretē, neņemot vērā citus rādītājus, kas attiecas uz to pašu pacientu.

Patiesībā testu nevar izmantot tikai klīniskās diagnozes noteikšanai, un iegūtais rezultāts vienmēr ir jāvērtē kopā ar datiem no pacienta anamnēzes un/vai citiem diagnostiskajiem izmeklējumiem.

Šis tests ir piemērojams tikai CHORUS un CHORUS TRIO instrumentiem; tas nav piemērojams CHORUS EVO instrumentam.

Pacientiem, kuri lieto nesteroidos pretiekaisuma līdzekļus (NPL) vai protonu sūkņa inhibitorus (PPI), var palielināties fekālā kalprotektīna līmenis.

Pacientiem, kas slimo ar šādām slimībām, var būt paaugstināts kalprotektīna līmenis: mikroskopiskais kolīts, divertikulārā slimība, celiakija, kuņģa un zarnu trakta infekcijas un kolorektālais vēzis.

12. KALIBRĒŠANAS DIAPAZONS

Kalibrēšanas diapazons 24.-1000 mg/Kg.

Paraugiem > 1000 mg/Kg atkārtoti testu ar paraugu, kas atšķaidīts 1:5 ar parauga atšķaidījumu/negatīvu kontroli.

Ar instrumentu iegūtais rezultāts jāreizina ar 5.

13. ATSKAITES INTERVĀLI

Paredzamās vērtības normālā populācijā, kas noteiktas, pārbaudot 120 veselu donoru paraugus, bija < 24 mg/kg.

14. ANALĪTISKĀ SPECIFIKA

Tika pārbaudīti 3 paraugi (1 negatīvs un 2 pozitīvi), kuriem tika pievienoti šādi traucējoši faktori:

- Vankomicīns	(0,67 mg/50 mg fekālijās)
- Ciprofloksacīns	(0,50 mg/50 mg fekālijās)
- E vitamīns	(0,10 mg/50 mg fekālijās)
- Lansoprazols	(0,02 mg/50 mg fekālijās)
- Pentasa	(1,33 mg/50 mg fekālijās)
- Asacol	(1,33 mg/50 mg fekālijās)
- Prednizons	(0,01 mg/50 mg fekālijās)
- A vitamīns	(8,0 SV/50 mg fekālijās)
- C vitamīns	(0,05 mg/50 mg fekālijās)
- D vitamīns	(1,1 SV/50 mg fekālijās)
- Hemoglobīns	(5,83 mg/50 mg fekālijās)

Iepriekš minēto traucējošo vielu klātbūtne fēču paraugā nemaina testa rezultātu.

15. SAVSTARPĒJI REAGĒJOŠI

Tika testēti trīs paraugi (1 negatīvs un 2 pozitīvi), kuriem pievienoja *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*. Būtiskas krusteniskās reakcijas netika konstatētas.

16. SALĪDZINOŠIE PĒTĪJUMI

Vienā izmēģinājumā ar Diesse komplektiem un vēl vienu komerciālu komplektu tika analizēti 185 paraugi.

Tālāk ir sniegta eksperimentālo datu izklāsts:

		Atsauce		Kopā
		+	-	
	Diesse	74	2	76
	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Kopā	77	108	185

Kopējais procentuālais saskaņojums = 97,3% % CI95%: 93,8-98,8

Procentuāli pozitīva vienošanās (~Diagnostiskā jutība) = 96,1% CI95%: 89,1 -98,6

Procentuālā negatīvā vienošanās (~Diagnostiskā specifiskums) = 98,1% CI95%: 93,5 -99,5

Pozitīvā prognozējošā vērtība (PPV) = 97,4% CI95%: 95,1 -99,7

Negatīvā prognozējošā vērtība (NPV) = 97,2% CI95%: 94,8 -99,6

Abu metožu saskaņotības pakāpe ir izcila - K (Koena koeficienta) vērtība ir 0,94.

No 185 paraugiem no 100 kvantitatīvi nosakāmajiem paraugiem tika pārbaudīta korelācija starp Diesse komplektu un tirdzniecības komplektu.

Dati ir apkopoti šajā tabulā:

Korelācija	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,97-0,99
Spearman	0,97	0,96-0,98

Korelācija starp abām metodēm ir ļoti augsta. Šo korelāciju apstiprina rezultāti, kas iegūti, izmantojot Passing-Bablok un Bland-Altman testus.

17. PRECIZITĀTE UN ATKĀRTOJAMĪBA

Paaugus	Sesijas laikā		Starp sesijām	
	Vidēji mg/Kg	CV%	Vidēji mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	44,1	3,3	41,6	13,6
3	189,9	7,3	199,1	4,4
4	919,7	9,6	878,2	4,1

Paaugus	Starp partijām		Starp instrumentiem	
	Vidēji mg/Kg	CV%	Vidēji mg/Kg	CV%
1	24,0*	-	24,0*	-
2	43,4	4,8	67,8	13,0
3	187,9	12,5	142,2	13,4
4	890,4	9,4	521,9	14,4

*Eksperimentālās vērtības, kas iegūtas < 24,0 mg/Kg, tika uzskatītas par 24,0 mg/Kg, lai varētu aprēķināt rezultātus.

18. BIBLIOGRĀFIJA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin a proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME/LIJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its

structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. ZIŅOŠANA PAR INCIDENTIEM

Ja saistībā ar šo ierīci Eiropas Savienības tirgus teritorijā ir noticis nopietns negadījums, nekavējoties ziņojiet par to ražotājam un savas dalībvalsts kompetentajai iestādei.



INSTRUKCJA OBSŁUGI

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION

Wyłącznie do użytku w diagnostyce in vitro

1. ZAMIERZONE ZASTOSOWANIE

CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION to zestaw immunologiczny do automatycznego ilościowego oznaczania kalprotektyny w kale.

Test jest wykonywany na kale przy użyciu jednorazowego wyrobu dołączonego do aparatów CHORUS i CHORUS TRIO. Wysokie stężenia kalprotektyny obserwuje się w kale pacjentów cierpiących na przewlekłe choroby zapalne (IBD). Zestaw przeznaczony do oznaczania stężenia kalprotektyny jest wykorzystywany jako pomoc w diagnostyce i zarządzaniu powiązanymi środkami terapeutycznymi. Powinien być używany wyłącznie przez profesjonalny personel laboratoryjny.

2. WPROWADZENIE

Kalprotektyna jest heterodimerskim białkiem o masie 36 kDa, występującym głównie w neutrofilach. Jego uwolnienie może nastąpić w obecności licznych efektów cytotoksycznych, które sprawiają, że błona komórkowa jest przepuszczalna. Jego stężenie ma zatem tendencję do zwiększania się w osoczu, płynie mózgowo-rdzeniowym, płynie maziowym, moczu i kale. Jego podwyższone stężenie w kale może wskazywać na stan zapalny jelit, a jego prawidłowe oznaczenie może pomóc w rozpoznaniu przewlekłej choroby zapalnej oraz kierować i kontrolować wybory farmakologiczne w celu wsparcia dowodów klinicznych i innych odpowiednich badań diagnostycznych. Ponadto wzrost wartości można zaobserwować we wszystkich chorobach obejmujących aktywację ostrego lub przewlekłego procesu zapalnego przewodu pokarmowego. Podawanie leków przeciwzapalnych może zmieniać poziom kalprotektyny.

3. ZASADA METODY

Wyrób CHORUS CALPROTECTIN 3RD GENERATION jest gotowy do użycia do oznaczania kalprotektyny w kale w aparatach CHORUS.

Test oparty jest na technice ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Przeciwciała specyficzne dla kalprotektyny są związane z fazą stałą. Kalprotektyna wiąże się z fazą stałą po inkubacji z ekstraktem stolca. Po przemyciu w celu usunięcia nieprzereagowanych białek przeprowadza się inkubację z koniugatem składającym się z przeciwciał monoklonalnych przeciwko kalprotektynie sprzężonych z peroksydazą chrzanową. Niezwiązany koniugat jest usuwany i dodawany jest substrat do peroksydazy. Powstający niebieski kolor jest proporcjonalny do stężenia kalprotektyny obecnych w badanej próbce.

Jednorazowe wyroby zawierają wszystkie odczynniki do wykonania testu po nałożeniu na aparaty Chorus/Chorus TRIO.

Wyniki wyrażone są w mg/kg.

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU W DIAGNOSTYCE IN VITRO.

Ten zestaw zawiera materiały pochodzenia ludzkiego, które zostały przetestowane i uznane za ujemne zarówno dla HBsAg, jak i przeciwciał anty-HIV-1, anty-HIV-2 i anty-HCV. Ponieważ żaden test diagnostyczny nie może dać całkowitej gwarancji braku czynników zakaźnych, każdy materiał pochodzenia ludzkiego należy uznać za potencjalnie zakażony. Ze wszystkimi odczynnikami i próbkami należy obchodzić się zgodnie z zasadami bezpieczeństwa przyjętymi zwykle w laboratorium.

Usuwanie pozostałości: zużyte próbki, kalibratory i paski należy traktować jak zakażone pozostałości, a następnie usunąć zgodnie z przepisami.

Ostrzeżenia dotyczące bezpieczeństwa osobistego

1. Nie należy pipetować ustami.
2. Podczas pracy z próbkami należy używać jednorazowych rękawic i ochrony oczu.
3. Po włożeniu wyrobu do aparatu CHORUS/CHORUS TRIO należy dokładnie umyć ręce.
4. W celu zapoznania się z charakterystyką bezpieczeństwa odczynników zawartych w zestawie należy zapoznać się z Kartą Charakterystyki (dostępną na stronie DIESSE: www.diesse.it)
5. Zneutralizowane kwasy i inne odpady płynne należy zdezynfekować przez dodanie podchlorynu sodu w ilości wystarczającej do uzyskania końcowego stężenia co najmniej 1%. Ekspozycja na 1% podchloryn sodu przez 30 minut powinna być wystarczająca do zapewnienia skutecznej dezynfekcji.
6. Wszelkie rozlane potencjalnie zakażone materiały należy natychmiast usunąć za pomocą chłonnego papieru, a zanieczyszczony obszar przed kontynuacją pracy odkazić, np. 1% podchlorynem sodu. W przypadku obecności kwasu, podchloryn sodu nie może być stosowany do czasu osuszenia obszaru. Wszystkie materiały użyte do odkażania przypadkowych wycieków, w tym rękawice, muszą być wyrzucone jako odpady potencjalnie zakażone. Nie należy poddawać autoklawowaniu materiałów zawierających podchloryn sodu.

Ostrzeżenia analityczne

Przed użyciem, torby zawierające wyroby należy doprowadzić do temperatury pokojowej (18-30°C) przez co najmniej 30 minut. Wyrób należy użyć w ciągu 60 minut.

1. **Wyrzucić wyroby z substratem (studzienka 4) zabarwionym na niebiesko.**
2. Podczas dodawania próbki do studzienki należy sprawdzić, czy jest ona idealnie przeprowadzona na dnie.
3. Sprawdzić rzeczywistą obecność odczynników w wyrobie oraz stan samego urządzenia. Nie należy używać urządzeń, które przy kontroli wzrokowej wykazują brak jakiegokolwiek odczynnika i/lub ciał obcych w studzience reakcyjnej.

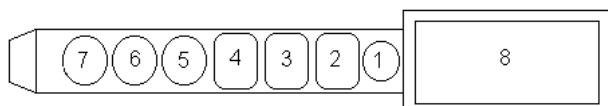
4. Urządzenia te muszą być używane w połączeniu z aparatem Chorus/Chorus TRIO, ściśle przestrzegając Instrukcji obsługi aparatu oraz Instrukcji dla użytkownika.
Korzystanie z zestawu jest możliwe tylko z zaktualizowaną wersją oprogramowania. Upewnić się, że oprogramowanie zainstalowane w wyrobie jest zgodne lub ma wersję Release (Rel.) wyższą niż w tabeli opublikowanej na stronie internetowej Diesse.
<https://www.diesse.it/it/downloads/downloads/strumento:39/>
5. Sprawdzić, czy aparat jest prawidłowo ustawiony (patrz Instrukcja obsługi CHORUS).
6. Nie należy zmieniać kodu kreskowego na uchwycie urządzenia, aby umożliwić jego prawidłowy odczyt przez aparat.
7. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek.
8. Uszkodzone kody kreskowe można wprowadzić do aparatu ręcznie.
9. Podczas przechowywania i użytkowania nie należy narażać wyrobów na działanie silnego światła lub oparów podchlorynu.
10. Nie należy używać wyrobu po upływie terminu ważności.
11. **Sprawdzić, czy aparat ma połączenie z Washing Buffer (Odn. 83606)**

5. SKŁAD ZESTAWU I PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Zestaw wystarcza na 36 oznaczeń

DD WYROBY 6 opakowania po 6 wyrobów w każdym

Opis:



Pozycja 8: Dostępne miejsce na etykietę z kodem kreskowym

Pozycja 7: Studzienka ze STOP SOLUTION

Pozycja 6: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Uczulona przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko kalprotektynie (maksymalne stężenie 20 µg/Well)

Pozycja 5: STUDZIENKA NA MIKROPŁYTKĘ

Nieuczulona.

Pozycja 4: SUBSTRAT TMB

Zawartość: Tetrametylobenzzydina w buforze cytrynianowym

Pozycja 3: ROZCIĘNCZALNIK DO PRÓBEK

Zawartość: Roztwór buforowy białka zawierający Proclin (0,1%) i Tween (0,1%).

Pozycja 2: SKONIUGOWANY

Zawartość: znakowane peroksydazą przeciwciała monoklonalne przeciwko kalprotektynie (maksymalne stężenie 0,35 µg/ml) w buforze białkowym zawierającym Proclin (0,1%) i Tween (0,05%).

Pozycja 1: PUSTA STUDZIENKA

Gdzie jest przenoszona próbka.

Sposób użycia: doprowadzić kopertę do temperatury pokojowej, otworzyć kopertę, wyjąć wymagane wyroby; pozostałe umieścić w kopercie zawierającej żel krzemionkowy,

wypuścić powietrze i **zakleić**, naciskając na zamknięcie. Przechowywać w temperaturze 2/8°C.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0,425 ml

Zawartość: Roztwór kalprotektyny (maksymalne stężenie 20 µg/ml) zawierający Proclin (0,1%) i Tween (0,1%). Płynna, gotowa do użycia.

CONTROL + KONTROLA DODATNIA 1 x 0,425 ml

Zawartość: Roztwór kalprotektyny (maksymalne stężenie 20 µg/ml) zawierający Proclin (0,1%) i Tween (0,1%). Płynna, gotowa do użycia.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL 1 x 1,8 ml

Zawartość: Zawartość: Roztwór buforowy białka zawierający Proclin (0,1%) i Tween (0,1%). Płynna, gotowa do użycia.

Wiarygodność pomiarów Kalibratora i Kontroli dodatniej jest gwarantowana przez łańcuch identyfikowalności opisany poniżej.

Kalibrator i Kontrola dodatnia są wytwarzane z roztworu zawierającego kalprotektynę rozcieńczoną do określonego stężenia, którego zakres jest zależny od partii, jest przypisywany podczas fazy zwolnienia kontroli jakości przy użyciu serii wtórnych kalibratorów i są przygotowywane i charakteryzowane zgodnie z panelem próbek referencyjnych ludzkiego stolca o różnych poziomach antygenu.

INNE WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE MATERIAŁY:

- WASHING BUFFER **ODN.** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **ODN.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Aparat CHORUS/CHORUS TRIO
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Zwykłe szkło laboratoryjne: cylindry, probówki itp.
- Mikropipety umożliwiające dokładne pobieranie objętości 50-200 µl.
- Rękawice jednorazowe
- 5% roztwór podchlorynu sodu
- Pojemniki do zbierania potencjalnie zakażonych materiałów

6. PRZECZOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2/8°C. W przypadku nieprawidłowej temperatury przechowywania należy powtórzyć kalibrację i sprawdzić poprawność wyniku za pomocą kontroli pozytywnej (patrz rozdział 9: Walidacja badania).

Data ważności jest wydrukowana na każdym elemencie oraz na zewnętrznej etykiecie opakowania.

Odczynniki mają ograniczoną stabilność po otwarciu i/lub przygotowaniu:

WYROBY	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KALIBRATOR	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
KONTROLA DODATNIA	8 tygodni w temperaturze 2/8°C
SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL	8 tygodni w temperaturze 2/8°C

7. RODZAJ PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE

Typ próbki to ekstrakt z kału, przygotowany zgodnie z instrukcją użycia produktu Chorus Coprocollect (REF 86602 - 86602/40) i traktowany zgodnie z wymaganiami standardowych procedur laboratoryjnych. Próbkę można przechowywać przez 4 dni w temperaturze 2/8°C; w przypadku dłuższych okresów przechowywania, zamrozić w temperaturze -20°C na okres do 3 miesięcy. Próbkę może być poddana maksymalnie 3 rozmrożeniom. Do przechowywania próbek unikać stosowania samoodmrażających się zamrażarek. Po rozmrożeniu, przed dozowaniem należy dokładnie wstrząsnąć próbką.

8. PROCEDURA

1. Otworzyć kopertę (strona zawierająca zamknięcie zaciskowe), wyjąć wyroby potrzebne do wykonania badań, a pozostałe zachować, zamykając ponownie kopertę po wypuszczeniu powietrza.
2. Wzrokowo sprawdzić stan urządzenia zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale 4 Ostrzeżenia analityczne.
3. Dozować do studzienki nr 1 każdego wyrobu:

PRÓBKA	50 µl/urządzenie
KALIBRATOR	50 µl/urządzenie
KONTROLA DODATNIA	50 µl/urządzenie

Przy każdej zmianie partii należy użyć kalibratora.

4. Umieścić wyroby na aparacie. Przeprowadzić kalibrację (jeśli jest wymagana) i test zgodnie z Instrukcją obsługi aparatu.

9. WALIDACJA BADANIA

Użyć kontroli dodatniej do sprawdzenia poprawności uzyskanego wyniku poprzez przetworzenie go zgodnie z instrukcją obsługi aparatu. Jeśli aparat wskaże, że wartość kontroli dodatniej znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, należy ponownie przeprowadzić kalibrację. Poprzednie wyniki zostaną skorygowane automatycznie. Jeśli wynik kontroli dodatniej nadal wykracza poza dopuszczalny zakres, należy skontaktować się z działem obsługi klienta.

Tel.: 0039 0577 319554
email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACJA BADANIA

Aparat podaje wynik w mg/kg, obliczony na podstawie zapisanego w aparacie wykresu zależnego od partii. Badanie na badanej próbce można zinterpretować w następujący sposób:

DODATNI: gdy wynik jest > 119 mg/kg
UJEMNY: gdy wynik jest < 51 mg/kg
WĄTPLIWI/DWUZNAČNY: gdy wynik jest pomiędzy 51 a 119 mg/kg

W przypadku wątpliwego/niejednoznacznego wyniku badanie należy powtórzyć.

Poziomy stwierdzone w pierwszych miesiącach życia niemowląt mogą być znacznie wyższe.

11. OGRANICZENIA BADANIA

Wyrób powinien być używany wyłącznie przez profesjonalny personel laboratoryjny.

Test nie ma zastosowania do próbek innych niż ekstrahowana próbka stolca.

Wszystkie uzyskane wartości wymagają ostrożnej interpretacji bez pomijania innych wskaźników dotyczących tego samego pacjenta.

Badanie nie może być stosowane samodzielnie do diagnozy klinicznej, a wynik badania musi być oceniany łącznie z danymi z wywiadu z pacjentem i/lub innymi badaniami diagnostycznymi. Test ma zastosowanie wyłącznie do aparatów CHORUS i CHORUS TRIO; nie ma zastosowania do aparatu CHORUS EVO.

Pacjenci przyjmujący niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) lub inhibitory pompy protonowej (IPP) mogą mieć podwyższony poziom kalprotektyny w stolcu.

Pacjenci cierpiący na następujące choroby mogą mieć podwyższony poziom kalprotektyny: mikroskopowe zapalenie jelita grubego, choroba uchyłkowa, celiakia, infekcje żołądkowo-jelitowe i rak jelita grubego.

12. ZAKRES KALIBRACJI

Zakres kalibracji 24 - 1000 mg/kg.

Dla próbek > 1000 mg/kg powtórzyć test na próbce rozcieńczonej w stosunku 1:5 w rozcieńczeniu próbki/kontroli ujemnej.

Wynik uzyskany przez aparat należy pomnożyć przez 5.

13. PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE

Oczekiwane wartości w normalnej populacji, określone na podstawie badania 120 zdrowych próbek dawców, wyniosły <24 mg/kg.

14. SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA

Przebadano 3 próbki (1 ujemna i 2 dodatnie), do których dodano następujące interferenty:

-	Wankomycyna	(0,67 mg/50 mg stolca)
-	Cyprofloksacyna	(0,50 mg/50 mg stolca)
-	Witamina E	(0,10 mg/50 mg stolca)
-	Lansoprazol	(0,02 mg/50 mg stolca)
-	Pentasa	(1,33 mg/50 mg stolca)
-	Asacol	(1,33 mg/50 mg stolca)
-	Prednizon	(0,01 IU/50 mg stolca)
-	Witamina A	(8,0 IU/50 mg stolca)
-	Witamina C	(0,05 mg/50 mg stolca)
-	Witamina D	(1,1 IU/50 mg stolca)
-	Hemoglobina	(5,83 mg/50 mg stolca)

Obecność powyższych substancji zakłócających w próbce stolca nie zmienia wyniku testu.

15. REAKCJA KRZYŻOWA

Przetestowano 3 próbki (1 ujemna i 2 dodatnie), do których dodano *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Campylobacter jejuni*.

Nie wykryto żadnych istotnych reakcji krzyżowych.

16. BADANIA PORÓWNAWCZE

W jednym badaniu 185 próbek zostało przeanalizowanych za pomocą zestawu Diesse i innego komercyjnego zestawu.

Poniżej przedstawiono zarys danych eksperymentalnych:

		Odnosnik		
		+	-	Razem
Diesse	+	74	2	76
	-	3	106	109
	Razem	77	108	185

Overall Percent Agreement = 97,3% % CI_{95%}: 93.8-98.8

Percent Positive Agreement (~Czułość diagnostyczna) = 96,1% CI_{95%}: 89.1 -98.6

Percent Negative Agreement: (~Swoistość diagnostyczna) = 98,1% CI_{95%}: 93.5 -99.5

Dodatnia wartość predykcyjna (PPV) = 97,4% CI_{95%}: 95.1 -99.7

Ujemna wartość predykcyjna (NPV) = 97,2% CI_{95%}: 94.8 -99.6

Stopień zgodności pomiędzy obiema metodami jest doskonały z wartością K (Cohen's Coefficient) wynoszącą 0,94.

Spośród 185 próbek korelacja między zestawem Diesse a zestawem handlowym została przetestowana na 100 wymiernych próbkach.

Dane podsumowano w poniższej tabeli:

Korelacja	r	IC 95%
Pearson	0.98	0.97-0.99
Spearman	0.97	0.96-0.98

Korelacja między tymi dwiema metodami jest bardzo wysoka. Korelację potwierdzają wyniki uzyskane w testach Passinga-Babloka i Blanda-Altmana.

17. PRECYZJA I POWTARZALNOŚĆ

Próbka	W ramach sesji		Między zabiegami	
	Średnia mg/kg	CV%	Średnia mg/kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	44.1	3.3	41.6	13.6
3	189.9	7.3	199.1	4.4
4	919.7	9.6	878.2	4.1

Próbka	Między partiami		Między przyrządami	
	Średnia mg/kg	CV%	Średnia mg/kg	CV%
1	24.0*	-	24.0*	-
2	43.4	4.8	67.8	13.0
3	187.9	12.5	142.2	13.4
4	890.4	9.4	521.9	14.4

*Uzyskane wartości eksperymentalne <24,0 mg/kg były traktowane jako 24,0 mg/kg, aby umożliwić obliczenie wyników.

18. BIBLIOGRAFIA

- Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamarah Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
- Fagerhol MK. Nomenclature for proteins: is calprotectin proper name for the elusive myelomonocytic protein? Clin Mol Pathol 1996;49:M74-9.
- Barassi A, Melzi d'Eril GV. La calprotectina nella malattia infiammatoria e nel cancro del colon. RIME L/IJLaM 2008;4:104-8
- Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J, et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its

structure and susceptibility to proteolysis. Redox Biol. 2019;24:101202.

- Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, Tilg H, Adolph TE. Calprotectin: from biomarker to biological function. Gut. 2021;70(10):1978-1988.
- Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 May;4(5):898]. Nat Microbiol. 2019;4(2):293-305.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. Clin Chem. 2003;49(6 Pt 1):861-867.
- Alibrahim B, Aljasser MI, Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: A mini-review. Can J Gastroenterol Hepatol. 2015;29(3):157-163.
- Lundgren D, Eklöf V, Palmqvist R, Hultdin J, Karling P. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. Scand J Gastroenterol. 2019;54(2):152-157.

19. ZGŁASZANIE INCYDENTÓW

Jeśli w związku z tym wyrobem doszło do poważnego wypadku na terytorium rynkowym Unii Europejskiej, prosimy o niezwłoczne zgłoszenie tego faktu producentowi i właściwemu organowi państwa kraju członkowskiego.

	EN IT DE ES CS ET	Date of manufacture Data di fabbricazione Herstellungsdatum Fecha de fabricación Datum výroby Tootmiskupaev	FR EL PT PL RO LV	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data produkcji Data fabricatiei Izgatavošanas datums
	EN IT DE ES CS ET	Use By Utilizzare entro Verwendbar bis Fecha de caducidad Použijte do Kõlblikkusaeg	FR EL PT PL RO LV	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Zużyć do dnia A se folosi pana la Izmantot līdz
	EN IT DE ES CS ET	Do not reuse Non riutilizzare Nicht wieder verwenden No reutilizar Nepoužívejte znovu Ūhekordseks kasutamiseks	FR EL PT PL RO LV	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nie używać ponownie A nu se refolosi Nedrīkst izmantot atkārtoti
	EN IT DE ES CS ET	Caution, consult accompanying documents Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen Atención, ver instrucciones de uso Pozor, řiďte se návodem k použití Hoiatus! Tutvuge lisatud dokumentidega	FR EL PT PL RO LV	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Uwaga, patrz instrukcja obsługi Atentie, consultați documentele însoțitoare Uzmanību, skatiet pavaddokumentus
	EN IT DE ES CS ET	Manufacturer Fabbricante Hersteller Fabricante Výrobce Tootja	FR EL PT PL RO LV	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producător Productator Ražotājs
	EN IT DE ES CS ET	Contains sufficient for <n> tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n“ Tests Contenido suficiente para <n> ensayos Dostatečný obsah pro „n“ testů Sisaldab piisavalt <n> testiks	FR EL PT PL RO LV	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Wystarczająca ilość materiału do „(liczby)” badań Continut suficient pt <n> teste Satur pietiekami daudz <n> testu
	EN IT DE ES CS ET	Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte Límite de temperatur Limity teploty Temperatuuri piirmäär	FR EL PT PL RO LV	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Granice temperatury Limita da temperatura Temperatūras ierobežojums
	EN IT DE ES CS ET	Consult Instructions for Use Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen Consulte las instrucciones de uso Řiďte se návodem k použití Lugege kasutusjuhendit	FR EL PT PL RO LV	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizare consultați instrucțiunile Skatiet lietošanas norādījumus
	EN IT DE ES CS ET	Catalogue number Numero di catalogo Katalognummer Número de catálogo Číslo katalogu Katalooginumber	FR EL PT PL RO LV	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numer katalogowy Numar de catalog Kataloga numurs
	EN IT DE ES CS ET	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Medizinisches In-vitro-Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Zdravotnický nástroj k diagnostice in vitro In vitro diagnostika meditsiiniseade	FR EL PT PL RO LV	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro In vitro diagnostikas medicīnas ierīce
	EN IT DE ES CS ET	Batch code Codice del lotto Chargennummer Código de lote Kód šarže Partii nr	FR EL PT PL RO LV	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kod partii Lot Partijas kods
	EN IT DE ES CS ET	CE marking of conformity Marcatura CE di conformità CE-Konformität Skennzeichnung Marcado CE de conformidad Označení shody CE CE-vastavusmärgis	FR EL PT PL RO LV	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωσης CE Marcação CE de conformidade Oznakowanie zgodności CE Marcajul de conformitate CE CE atbilstības markējums