

CHORUS

Calprotectin



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

REF 86600/C03

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	5 – 10 – 12





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Calprotectin

Per la determinazione quantitativa della Calprotectina

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa della calprotectina nelle feci con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La calprotectina è una proteina presente nei neutrofili e una sua elevata concentrazione nelle feci è indice di infiammazione. Livelli elevati vengono tipicamente rilevati in pazienti affetti da RCU (rettocolite ulcerosa), Morbo di Crohn (MC), neoplasie coliche, gastriche ed esofagee. 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 può variare i livelli di Calprotectina.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Calprotectin è pronto all'uso per la determinazione della calprotectina nelle feci nello strumento Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Gli anticorpi policlonali 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 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 che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel campione in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test negli 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 approvati dall'FDA 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 su richiesta).
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 i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare 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 (**Software Release 2.09 e successive**), seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla 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 (vedi Manuale Utente).

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)**

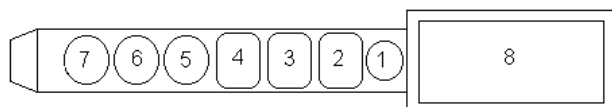
5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 16 determinazioni

DD DISPOSITIVI:

- 1 confezione da 4 dispositivi per calibrazione
- 2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna per campione

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpi policlonali anti-calprotectina

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: soluzione tampone a pH 7.9

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi IgG anti-calprotectina marcati con perossidasi, in soluzione tampone.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare 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 0.15 ml

Contenuto: calprotectina. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.25 ml

Contenuto: calprotectina. Liquido, pronto all'uso.

SAMPLE DILUENT DILUENTE CAMPIONI 1 x 1.8 ml

Contenuto: diluente pronto uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- 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
DILUENTE CAMPIONI	3 mesi 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) 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.

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 un dispositivo per calibrazione (etichetta gialla) 50 µl di calibratore indiluito e nel pozzetto n°1 di un altro dispositivo per calibrazione (etichetta gialla) 50 µl di controllo positivo indiluito; ripetere ad ogni cambio di lotto.
4. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo per campione (etichetta bianca) 50 µl di campione indiluito da analizzare.
5. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. 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 Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in mg/Kg, calcolato 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 > 60 mg/Kg

NEGATIVO: quando il risultato è < 40 mg/Kg

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 40 e 60 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

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 del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

Chorus/Chorus TRIO: necessaria Software Release 2.09 e successive

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 12.5 - 250 mg/Kg.

Per risultati > 250 mg/Kg ripetere il test sul campione diluito 1:5 con il diluente campioni pronto uso. Il risultato ottenuto dallo strumento deve essere moltiplicato per 5.

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Come riportato in letteratura i valori normali di calprotectina nelle feci sono di 25 mg/Kg.

14. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 42 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Totale	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100% CI_{95%}: 82.4-99.8

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.96.

15. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta	
	Media (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Campione	Tra sedute	
	Media (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (mg/Kg)	CV%	Media (mg/Kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAFIA

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. Am J Gastroenterol 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. Journal of Infectious Diseases 1991; 164: 137-142.

10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. Scand J Gastroenterol. 2014 Apr;49(4):418-23.
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scand J Gastroenterol. 1996 Apr;31(4):339-44.



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





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Calprotectin

For the quantitative determination of Calprotectin

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the quantitative determination of calprotectin in stools samples, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Calprotectin is a protein present in neutrophils and its high concentration in the stools is a sign of inflammation. High levels are observed typically in patients with UC (ulcerative colitis), Crohn's disease (CD), colic, gastric and oesophageal neoplasms. Further, an increase of values can be observed in all the pathologies that involve the activation of an acute or chronic inflammatory process of the gastrointestinal system. Anti-inflammatory medications may vary the Calprotectin levels.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Calprotectin device is ready to use for the detection of calprotectin in stools samples in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay). The polyclonal antibodies are bound to the solid phase. Calprotectin is bound to the solid phase through incubation with the extract of faeces. After washing to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-calprotectin antibodies conjugated to horseradish peroxidase. The unbound conjugate is eliminated and the peroxidase substrate is added. The colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the stools sample.

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

The 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 reagents and samples.

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. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning 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

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

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 (**Software Release 2.09 and subsequent ones**), the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see 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).**

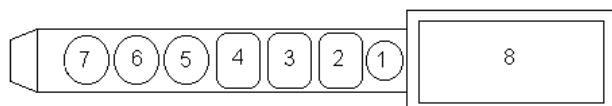
5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 16 tests.

DD DEVICES

- 1 package each containing 4 devices for calibration
- 2 packages each containing 6 devices for sample

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

coated with polyclonal anti-calprotectin antibodies

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: buffer solution at pH 7.9

Position 2: CONJUGATE

Contents: anti-calprotectin IgG antibodies labeled with horseradish peroxidase, in buffer solution.

Position 1: EMPTY WELL

in which sample must be added

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 0.15 ml

Contents: calprotectin. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.25 ml

Contents: calprotectin. Liquid, ready for use.

SAMPLE DILUENT SAMPLE DILUENT 1 x 1.8 ml

Contents: diluent ready to use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO 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	3 months at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of extract of faeces, prepared as reported in the Instructions for Use of the product Chorus Coprocollect (**REF** 86602) and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

The sample may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

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 50 µl of undiluted calibrator in well no. 1 of a device for calibration (yellow label) and 50 µl of undiluted positive control in well no. 1 of another device for calibration (yellow label); repeat at each change of batch.
4. Dispense 50 µl of undiluted test sample in well no. 1 of each device for sample (white label).
5. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO 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 obtained results. 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 Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in mg/Kg, calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

The test on the examined sample can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is > 60 mg/Kg

NEGATIVE: when the result is < 40 mg/Kg

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 40 and 60 mg/Kg

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test.

Levels detected in newborns might be significantly higher.

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

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

Chorus/Chorus TRIO: necessary Software Release 2.09 and subsequent ones.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 12.5 - 250 mg/Kg.

For results > 250 mg/Kg repeat the test on the sample diluted 1:5 with the ready to use sample diluent. Multiply by 5 the result obtained by the instrument.

13. REFERENCE RANGE

As reported by literature, normal values of calprotectin in the faeces correspond to 25 mg/Kg.

14. METHOD COMPARISON

In an experimentation 42 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table :

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Tot.	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100% CI_{95%}: 82.4-99.8

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

15. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run	
	Mean (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Sample	Between run	
	Mean (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (mg/Kg)	CV%	Mean (mg/Kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. REFERENCES

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. Am J Gastroenterol 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. Journal of Infectious Diseases 1991; 164: 137-142.
10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. Scand J Gastroenterol. 2014 Apr;49(4):418-23
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scand J Gastroenterol. 1996 Apr;31(4):339-44.



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





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS Calprotectin

Pro kvantitativní stanovení kalprotektinu

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro kvantitativní stanovení kalprotektinu ve stolici za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Kalprotektin je protein přítomný v neutrofilech a jeho zvýšená koncentrace ve stolici indikuje zánět. Zvýšené hladiny jsou obvykle zjištěny u pacientů postižených ulcerózní kolitidou, Crohnovou chorobou a neoplazií tlustého střeva, žaludku nebo jícnu. Kromě toho může být zvýšení hodnot pozorováno ve všech patologiích, které implikují aktivaci akutního nebo chronického zánětlivého procesu gastroenterického aparátu. Podávání protizánětlivých léčiv může změnit hladinu kalprotektinu.

3. PRINCIP METODY

Nástroj Chorus Calprotectin je připraven k použití pro stanovení kalprotektinu ve stolici za pomoci zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška). Polyklonální protilátky jsou vázány na pevnou fázi. Kalprotektin se váže na pevnou fázi po inkubaci s extraktem ze vzorku stolice. Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských imunoglobulinů konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát. Zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve zkoumaném vzorku.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v mg/Kg.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou

záruku, že infekční agens nejsou přítomna, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: Se vzorky, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
10. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevrháte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) a použijte je do 60 min.

12. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
13. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
14. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagentní jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
15. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus/Chorus TRIO (**Verze Softwaru 2.09 nebo vyšší**); je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
16. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus/ zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
17. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
18. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
19. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
20. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
21. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.

22. Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer (Ref. 83606).

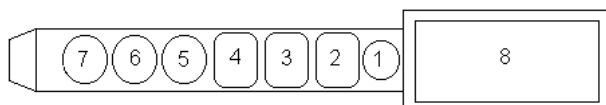
5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 16 stanovení.

DD NÁSTROJE:

- 1 balení po 4 nástrojích pro kalibraci
- 2 balení po 6 nástrojích pro vzorky

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená polyklonálními protilátkami proti kalprotektinu

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0.05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: Pufr s pH 7.9

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: IgG protilátky proti kalprotektinu značené peroxidázou, v pufru.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí vzorek.

Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu, otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a uzavřete stisknutím. Skladujte při teplotě 2/8°C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0.15 ml

Obsahuje: kalprotektin. Tekutina, připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0.25 ml

Obsahuje: kalprotektin. Tekutina, připravena k použití.

SAMPLE DILUENT ŘEDIDLO VZORKŮ 1 x 1.8 ml

Obsahuje: Ředidlo, připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Zařízení Chorus / Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku
- Jednorázové rukavice

- 5% roztok chlornanu sodného
- Kontejnery pro sběr potenciálně infekčního materiálu

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Skladujete-li reagencie při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí pozitivní kontroly (viz bod 9, Validace testu).

Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	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 VZORKŮ	3 měsíce při teplotě 2/8°C

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Typově se jedná o extrakt ze vzorku stolice připravený podle pokynů uvedených v návodu k použití výrobku Chorus Coprocollect (**REF** 86602) a zpracovaný v souladu se standardními laboratorními postupy.

Vzorek lze skladovat 4 dny při teplotě 2/8°C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20°C.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením.

Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 nástroje pro kalibraci (žlutý štítek) dejte 50 µl neředěného kalibrátoru a do jamky č. 1 druhého nástroje pro kalibraci (žlutý štítek) dejte 50 µl neředěné pozitivní kontroly; opakujte při každé změně šarže.
4. Do jamky č. 1 každého nástroje pro vzorky (bílý štítek) dejte 50 µl neředěného vzorku, který má být analyzován.
5. Umístěte nástroje do zařízení Chorus/zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu k obsluze. Pokud zařízení hlásí, že kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte prosím oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus / Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v mg/Kg, vypočítané na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Test na zkoumaném vzorku lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek > 60 mg/kg

NEGATIVNÍ: je-li výsledek < 40 mg/kg

SPORNÝ/NEJASNÝ: pro všechny hodnoty mezi 40 a 60 mg/kg

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test opakujte.

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

11. OMEZENÍ

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

Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

Chorus / Chorus TRIO: Je vyžadována verze softwaru 2.09 nebo vyšší.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 12.5 – 250 mg/kg.

Je-li výsledek > 250 mg/kg, test zopakujte na vzorku zředěném v poměru 1:5 s ředidlem vzorků připraveným k použití. Výsledek získaný ze zařízení je nutné vynásobit pěti.

13. REFERENČNÍ ROZMEZÍ

Jak uvádí literatura, normální hodnota kalprotektinu ve stolici je 25 mg/kg.

14. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 42 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Celkem	24	18	42

Procento pozitivní shody (~diagnostická citlivost):

95.8 % CI_{95%}: 79.7-99.1

Procento negativní shody (~diagnostická specifita):

100 % CI_{95%}: 82.4-99.8

Shoda mezi těmito dvěma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) dosahující 0.96.

15. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření	
	Průměr (mg/kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Vzorek	Přesnost mezi měřeními
--------	------------------------

	Průměr (mg/kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (mg/kg)	CV%	Průměr (mg/kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct; 47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. Am J Gastroenterol 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. Journal of Infectious Diseases 1991; 164: 137-142.
10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. Scand J Gastroenterol. 2014 Apr; 49(4):418-23
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scand J Gastroenterol. 1996 Apr; 31(4):339-44.



DIESE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Calprotectin

Zur quantitativen Bestimmung von Calprotectin bestimmt

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Calprotectin im Stuhl mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

Calprotectin ist ein Protein, das in neutrophilen Granulozyten vorkommt und in erhöhter Konzentration auf eine Entzündung hinweist. Erhöhte Werte werden normalerweise bei Patienten mit ulzeröser Rektokolitis, Morbus Crohn, kolischen, gastrischen und ösophagealen Neoplasien festgestellt. Ein erhöhter Wert kann auch bei Pathologien festgestellt werden, die eine akute oder chronische Entzündung des Magen-Darm-Trakts mit sich bringen.

Die Verabreichung von entzündungshemmenden Arzneimitteln kann die Calprotectin-Konzentration beeinflussen.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Calprotectin ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Calprotectin im Stuhl in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Die polyklonalen Antikörper werden an die Festphase gebunden. Calprotectin bindet sich in Folge der Inkubation mit der Stuhlprobe an die Festphase. Nach dem Ausspülen der Proteine, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten Anti-Calprotectin Antikörpern. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt. Die Intensität der Farbe entwickelt sich proportional zur Konzentration der spezifischen Antikörper in der untersuchten Probe.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als mg/Kg.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit FDA zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Proben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
9. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
10. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
11. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 % igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.
12. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 % igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30°C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

12. **Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.**
13. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
14. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
15. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator (**Software-Version**

2.09 und höher) verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

16. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
17. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
18. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
19. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
20. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
21. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
22. **Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Waschpuffer (Ref. 83606) verbunden ist**

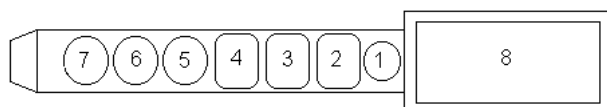
5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 16 Bestimmungen.

DD TESTMODULE:

- 1 Packung mit je 4 Testmodulen zur Kalibrierung
- 2 Packungen mit je 6 Testmodulen, jede als Probe

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: Leer

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit polyklonalen Anti-Calprotectin Antikörpern sensibilisiert

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: 0.26 mg/ml Tetramethylbenzidin und 0.01 % H₂O₂, stabilisiert in Citratpuffer (0.05 mol/l, pH 3.8)

Position 3: VERDÜNNUNGSMITTEL FÜR DIE PROBEN

Inhalt: Pufferlösung mit pH 7.9

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte Anti-Calprotectin IgG-Antikörper, in Pufferlösung.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener die Probe geben.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2/8°C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR 1 x 0.15 ml
Inhalt: Calprotectin. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 0.25 ml
Inhalt: Calprotectin. Flüssig, gebrauchsfertig.

SAMPLE DILUENT PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL
1 x 1.8 ml

Inhalt: Verdünnungsmittel, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe der positiven Kontrolle überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2/8°C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2/8°C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2/8°C
PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL	3 Monate bei 2/8°C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus einer Stuhlprobe, die entsprechend der Gebrauchsanleitung für das Produkt Chorus Coprocollect (**REF** 86602) entnommen wurde und die entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Die Probe kann bei 2/8°C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20°C eingefroren.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.

3. In die Vertiefung 1 des Kalibriermoduls (gelbes Etikett) 50 µl des unverdünnten Kalibrators geben und in die Vertiefung 1 eines anderen Kalibriermoduls (gelbes Etikett) 50 µl der unverdünnten positiven Kontrolle geben; bei jedem Charginwechsel wiederholen.
4. In die Vertiefung 1 jeder Probenstestmoduls (weißes Etikett) 50 µl der zu analysierenden, unverdünnten Probe geben.
5. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert. Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in mg/Kg, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Der Test der untersuchten Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis > 60 mg/kg
NEGATIV: bei Ergebnis < 40 mg/kg
GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 40 und 60 mg/kg.

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt bzw. mehrdeutig ist.

Die während der ersten Lebensmonate bei Neugeborenen festgestellten Spiegel können deutlich höher ausfallen.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

Chorus/Chorus TRIO: Software-Version 2.09 und höher erforderlich

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 12.5 - 250 mg/kg.

Bei Ergebnis > 250 mg/kg den Test mit der mit gebrauchsfertigem Probenverdünnungsmittel 1:5 verdünnten Probe wiederholen. Das erhaltene Ergebnis muss mit 5 multipliziert werden.

13. REFERENZINTERVALLE

Den Angaben in der Literatur zufolge liegen die normalen Werte von Calprotectin im Stuhl bei 25 mg/kg.

14. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 42 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

In den folgenden Tabellen sind die Versuchsdaten aufgeführt:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
	+	23	0	23
	-	1	18	19
Insgesamt		24	18	42

Positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

95.8 % CI_{95%}: 79.7-99.1

Negative Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität):

100 % CI_{95%}: 82.4-99.8

15. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs	
	Mittelwert (mg/kg)	CV %
1	< 12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Probe	Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (mg/kg)	CV %
1	< 12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (mg/kg)	CV %	Mittelwert (mg/kg)	CV %
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. LITERATUR

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.

4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Røseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut*. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. *Journal of Infectious Diseases* 1991; 164: 137-142.
10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2014 Apr;49(4):418-23
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol*. 1996 Apr;31(4):339-44.



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





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS Calprotectin

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της
καλπροτεκτίνης

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό της καλπροτεκτίνης κοπράνων, χρησιμοποιώντας συσκευή μίας χρήσης σε συνδυασμό με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καλπροτεκτίνη είναι μια πρωτεΐνη που υπάρχει στα ουδετερόφιλα λευκά αιμοσφαίρια και η αυξημένη συγκέντρωσή της στα κόπρανα υποδεικνύει φλεγμονή. Αυξημένες τιμές τυπικά διαπιστώνονται σε ασθενείς που πάσχουν από ελκώδη ορθοκολίτιδα, νόσο του Crohn, και νεοπλασίες του παχέος εντέρου, του στομάχου και του οισοφάγου. Αύξηση των τιμών μπορεί επίσης να διαπιστωθεί σε όλες τις παθολογίες που συνοδεύονται από οξεία ή χρόνια φλεγμονώδη διεργασία στο γαστρεντερικό σύστημα.

Η χορήγηση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων μπορεί να μεταβάλει τα επίπεδα καλπροτεκτίνης.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Chorus Calprotectin είναι μια συσκευή έτοιμη για χρήση, για τον προσδιορισμό της καλπροτεκτίνης κοπράνων σε αναλυτές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Τα πολυκλωνικά 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 ανθρώπινα αντισώματα αντί-ανοσοσφαιρίνης συζευγμένης με υπεροξειδάση ραφανιδίων. Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο προς τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων στο δείγμα που εξετάζεται.

Τα σέτ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ στις συσκευές 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 που έχουν εγκριθεί από την FDA, για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να τα χειρίζεστε όλα σύμφωνα με τους κανονισμούς ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

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

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

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 τα σέτ ανάλυσης μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχει το κιτ συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).
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 εγγραφεί 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. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σέτ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

1. Απορρίψτε το σέτ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σέτ και για την αρτιότητα του ιδίου του σέτ. Μην χρησιμοποιείτε σέτ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά

- παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστήριου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
- Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO (**έκδοση λογισμικού 2.09 και μεταγενέστερες**), ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
 - Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
 - Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
 - Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
 - Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
 - Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
 - Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
 - Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer ΚΩΔ. 83606.**

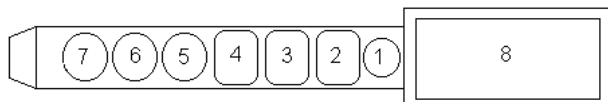
5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 16 προσδιορισμούς.

DD ΣΕΤ:

- 1 συσκευασία με 4 συσκευές για βαθμονόμηση
- 2 πακέτα των 6 συσκευές για δείγμα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με πολυκλωνικά αντισώματα έναντι καλπροτεκτίνης

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H₂O₂ 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος 0.05 mol/L (pH 3.8)

Θέση 3: ΔΙΑΛΥΤΙΚΟ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Περιεχόμενο: ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7.9

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: αντισώματα IgG έναντι καλπροτεκτίνης σημασμένα με υπεροξειδάση, σε ρυθμιστικό διάλυμα.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Εδώ ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει το δείγμα.

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε την σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στην σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και σφραγίστε πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.15 ml

Περιεχόμενο: καλπροτεκτίνη. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΑΡΤΥΡΑΣ 1 x 0.25 ml

Περιεχόμενο: καλπροτεκτίνη. Υγρό, έτοιμο για χρήση.

SAMPLE DILUENT ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ 1 x 1.8 ml

Περιεχόμενο: αραιωτικό έτοιμο για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- Chorus COPROCOLLECT (REF) 86602
- WASHING BUFFER (REF) 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 - 83608
- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 μl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του θετικού μάρτυρα (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συστατικό μέρος και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή 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	3 μήνες στους 2/8°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Ο ενδεδειγμένος τύπος δείγματος είναι εκχύλισμα κοπράνων, που έχει παρασκευαστεί όπως αναφέρεται στις Οδηγίες Χρήσης του προϊόντος Chorus Coprocollect (REF) 86602) και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με τις τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες.

Το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C. Για μεγαλύτερα διαστήματα φύλαξης, να καταψύχεται στους -20°C. Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για τη διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται

για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.

- Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
- Στην κυψελίδα αρ. 1 μιας συσκευής βαθμονόμησης (κίτρινη ετικέτα) τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου βαθμονομητή, και στην κυψελίδα αρ. 1 μιας άλλης συσκευής βαθμονόμησης (κίτρινη ετικέτα), τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου θετικού μάρτυρα. Επαναλάβετε με κάθε αλλαγή παρτίδας.
- Στην κυψελίδα αρ. 1 κάθε συσκευής δείγματος (λευκή ετικέτα) τοποθετήστε 50 μl μη αραιωμένου δείγματος προς ανάλυση.
- Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήστη της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε το θετικό μάρτυρα για να επαληθεύσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τη διαδικασία που περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Λειτουργίας του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του θετικού μάρτυρα βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, θα πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του θετικού μάρτυρα εξακολουθεί να βρίσκεται έξω από το αποδεκτό εύρος, επικοινωνήστε με το τμήμα επιστημονικής υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε mg/Kg, που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας για το εξεταζόμενο δείγμα μπορεί να ερμηνευθεί ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι > 60 mg/Kg
ΑΡΝΗΤΙΚΟ: όταν το αποτέλεσμα είναι < 40 mg/Kg
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ: όταν το αποτέλεσμα κυμαίνεται μεταξύ 40 και 60 mg/Kg

Σε περίπτωση αμφίβολου/ασαφούς αποτελέσματος, επαναλάβετε το τεστ.

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

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις 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.

Chorus/Chorus TRIO: απαιτείται έκδοση λογισμικού 2.09 και μεταγενέστερες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος βαθμονόμησης 12.5 - 250 mg/Kg.

Για αποτελέσματα > 250 mg/Kg, επαναλάβετε τη δοκιμασία, αραιώνοντας το δείγμα κατά 1:5 με το έτοιμο για χρήση αραιωτικό δειγμάτων. Το αποτέλεσμα που θα ληφθεί από τον αναλυτή θα πρέπει να πολλαπλασιαστεί με το 5.

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, οι φυσιολογικές τιμές καλπροτεκτίνης κοπράνων είναι 25 mg/Kg.

14. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 42 δείγματα με το kit Diesse και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Παρακάτω έχουν σκιαγραφηθεί τα δεδομένα του πειράματος:

		Αναφορά		
Diesse		+	-	Σύνολο
	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Σύνολο	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Διαγνωστική ευαισθησία):
95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Διαγνωστική ειδικότητα):
100% CI_{95%}: 82.4-99.8

Ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων προκύπτει να είναι εξαιρετικός, με τιμή K (συντελεστής Cohen) 0.96.

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων	
	Μέση τιμή (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Δείγμα	Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	Μέση τιμή (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	Μέση τιμή (mg/Kg)	CV%	Μέση τιμή (mg/Kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1

4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAFIA

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. 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.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Røseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. Am J Gastroenterol 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. Journal of Infectious Diseases 1991; 164: 137-142.
10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. Scand J Gastroenterol. 2014 Apr;49(4):418-23
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scand J Gastroenterol. 1996 Apr;31(4):339-44.



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





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Calprotectin

Para la determinación cuantitativa de calprotectina

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de calprotectina en heces con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína presente en los neutrófilos cuyo aumento de concentración en materia fecal a niveles elevados es síntoma de inflamación. Es habitual detectar niveles altos en pacientes con rectocolitis ulcerosa (RCU), enfermedad de Crohn (MC) y tumores cólicos, gástricos y esofágicos. Asimismo, el aumento de los valores se observa en todas las patologías que conllevan la activación de un proceso inflamatorio agudo o crónico del aparato digestivo.

La administración de fármacos antiinflamatorios puede contribuir a la variación de los niveles de calprotectina.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Calprotectin está listo para su uso para la detección de calprotectina en heces, en los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Los anticuerpos policlonales están unidos a la fase sólida. La calprotectina está unida a la fase sólida tras la incubación con el extracto de heces.

Después de varios lavados para eliminar las proteínas que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de anticuerpos anti-calprotectina conjugados con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa. El color que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en la muestra analizada.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos 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 testados y han dado resultados negativos en métodos

aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1.0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO (**Versión de Software 2.09 y posteriores**), siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.

7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
11. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer (Ref. 83606).**

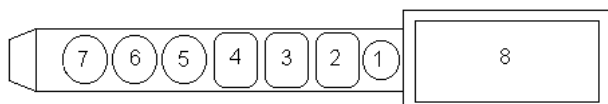
5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 16 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS:

- 1 envase con 4 dispositivos cada uno para calibración
- 2 envases con 6 dispositivos cada uno para muestra

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos policlonales anti-calprotectina

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución tampón con pH 7.9

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales IgG anti-calprotectina marcados con peroxidasa, en una solución tampón.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa la muestra.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y cerrar presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.15 ml

Contenido: calprotectina. Líquido listo para el uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.25 ml

Contenido: calprotectina. Líquido listo para el uso.

SAMPLE DILUENT DILUYENTE DE MUESTRAS 1 x 1.8 ml

Contenido: diluyente listo para el uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- WASHING BUFFER **REF** 83606

- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio al 5%
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del control positivo (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la 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	3 meses a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

El tipo de muestra es un extracto de heces preparado como se indica en las Instrucciones de Uso del producto Chorus Coprocollect (**REF** 86602) y que se manipula siguiendo los procedimientos estándar de laboratorio.

La muestra se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20°C.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 50 µl de calibrador diluido en el pocillo n°1 de un dispositivo de calibración (etiqueta amarilla) y 50 µl de control positivo sin diluir en el pocillo n°1 de otro dispositivo de calibración (etiqueta amarilla). Repetir cada vez que se cambie el lote.
4. Dispensar 50 µl de la muestra sin diluir que se va a analizar en el pocillo n°1 de cada dispositivo de muestras (etiqueta amarilla).
5. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en mg/Kg, calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

La prueba realizada en la muestra puede ser interpretada de la manera siguiente:

POSITIVO: cuando el resultado es > 60 mg/kg

NEGATIVO: cuando el resultado es < 40 mg/kg

DUDOSO/EQUÍVOCO: cuando el resultado está entre 40 y 60 mg/kg

En caso de un resultado dudoso/equívoco se aconseja repetir la prueba.

Los niveles en recién nacidos son significativamente más altos.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

Chorus/Chorus TRIO: se requiere la Versión de Software 2.09 y posteriores.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 12.5 - 250 mg/kg.

Para muestras > 250 mg/kg diluir la muestra en una proporción 1:5 con el diluyente de muestras listo para el uso y repetir la prueba. El resultado que se obtiene con el equipo se debe multiplicar por 5.

13. VALORES DE REFERENCIA

Como se indica en la literatura, el valor normal de calprotectina en heces es 25 mg/kg.

14. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 42 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
	Diesse	23	0	23
	-	1	18	19
	Total	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Especificidad de Diagnóstico):

100% CI_{95%}: 82.4-99.8

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.96.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo	
	Media (mg/kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Muestra	Inter-ensayo	
	Media (mg/kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (mg/kg)	CV%	Media (mg/kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. 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.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a

- granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:50-54.
7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
 8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2831-2837.
 9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. *Journal of Infectious Diseases* 1991; 164: 137-142.
 10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. *Scand J Gastroenterol.* 2014 Apr;49(4):418-23
 11. Meiling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol.* 1996 Apr;31(4):339-44.



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





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS Calprotectin

Pour la détermination quantitative de la Calprotectine

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination quantitative de la calprotectine dans les selles en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

La calprotectine est une protéine présente dans les neutrophiles dont une concentration élevée dans les selles est indicateur d'inflammation. En général, des niveaux élevés sont relevés chez des patients affectés de RCU (rectolite ulcéreuse), Maladie de Crohn (MC), néoplasies coliques, gastriques et œsophagiennes. En outre, une augmentation des valeurs est visible dans toutes les pathologies qui impliquent l'activation d'un processus inflammatoire aigu ou chronique de l'appareil gastro-intestinal.

L'administration de médicaments anti-inflammatoires peut modifier les niveaux de Calprotectine.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus Calprotectin est prêt à l'usage pour la détermination de calprotectine présente dans les selles, dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Les anticorps polyclonaux se lient à la phase solide. La calprotectine se lie à la phase solide après incubation avec l'extrait de selles. Après lavage pour éliminer les protéines qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjuguées avec du peroxyde de raifort. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La couleur qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans l'échantillon examiné.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus/Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en mg/Kg.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de

l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HBsAg que pour la recherche des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus: les échantillons, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

13. Ne pas pipeter avec la bouche.
14. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
15. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
16. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
17. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à une concentration de 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.
18. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (18-30°C) et utiliser dans les 60 minutes.

23. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
24. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
25. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
26. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO (**Version du logiciel 2.09 et ultérieure**), en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
27. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).

28. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
29. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
30. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
31. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
32. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
33. **Contrôler si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer (Réf. 83606).**

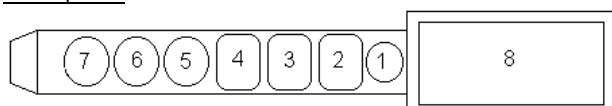
5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 16 déterminations.

DD DISPOSITIFS :

- 1 emballage contenant 4 dispositifs de calibrage chacun
- 2 emballages contenant 6 dispositifs pour échantillon chacun

Description :



Position 8: Espace disponible pour l'étiquette avec le code à barres

Position 7: Vide

Position 6: Puits de la microplaque

Sensibilisé avec des anticorps polyclonaux anti-calprotectine.

Position 5: Puits de la microplaque

Non sensibilisé.

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine à 0.26 mg/ml et H₂O₂ à 0.01% stabilisés dans un tampon citrate (à 0.05 mol/l) (pH 3.8)

Position 3: DILUANT POUR LES ÉCHANTILLONS

Contenu : solution tampon à pH 7.9

Position 2 : CONJUGUE

Contenu : anticorps IgG anti-calprotectine marqués de peroxydase, en solution tampon.

Position 1 : Puits vide

dans lequel l'utilisateur doit distribuer l'échantillon.

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante,

découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0.15 ml
Contenu : calprotectine. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.25 ml
Contenu : calprotectine. Liquide, prêt à l'emploi.

SAMPLE DILUENT DILUANT ÉCHANTILLONS 1 x 1.8 ml
Contenu: diluant prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- **Chorus COPROCOLLECT** (REF) 86602
- WASHING BUFFER (REF) 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF) 83609
- SANITIZING SOLUTION (REF) 83604 - 83608
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5% d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8°C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au moyen du contrôle positif (voir paragraphe 9: Validation du test).

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

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

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8°C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8°C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8°C
DILUANT D'ÉCHANTILLONS	3 mois à 2/8°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

Le type d'échantillon est constitué d'extraits de selles, préparés comme indiqué dans les Instructions d'Utilisation du Chorus Procollect (REF) 86602) et préparés conformément aux procédures standards de laboratoire.

L'échantillon peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8°C; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20°C.

Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser dans le puits n°1 d'un dispositif de calibrage (étiquette jaune) 50 µl de calibrateur en dilution et dans le puits n°1 d'un autre dispositif de calibrage (étiquette

jaune) 50 µl de contrôle positif en dilution; répéter à chaque changement de lot.

4. Dispenser dans le puits n°1 de chaque appareil à échantillon (étiquette blanche) 50 µl d'échantillon en dilution à analyser.
5. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le contrôle positif présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du contrôle positif n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en mg/Kg, calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Le test sur l'échantillon examiné peut être interprété de la manière suivante :

POSITIF: quand le résultat est > 60 mg/Kg

NÉGATIF: quand le résultat est < 40 mg/Kg

DOUTEUX/EQUIVOQUE: quand le résultat est compris entre 40 et 60 mg/Kg

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

Les niveaux détectés dans les échantillons de nouveau-nés pourraient être sensiblement plus élevés.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

Chorus/Chorus TRIO : Version logicielle requise 2.09 et ultérieures

12. PLAGES D'ÉTALONNAGE

Plage de calibrage 12.5 - 250 mg/Kg.

Pour les résultats > 250 mg/Kg, répéter le dosage sur l'échantillon dilué à 1:5 au moyen d'un diluant d'échantillons prêt à l'emploi. Le résultat obtenu avec l'instrument doit être multiplié par 5.

13. INTERVALLES DE CONTRÔLE

Comme indiqué dans la littérature spécialisée, la valeur normale de calprotectine dans les selles est de 25 mg/kg.

14. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 42 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Les données de l'essai sont schématisées ci-après :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Total	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 82.4-99.8

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 0.96.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance	
	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Échantillon	Inter-séances	
	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne (mg/kg)	CV %	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAPHIE

12. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
13. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
14. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
15. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal

- inflammation in Crohn's disease. *Gut*. 2000 Oct;47(4):506-13.
16. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-798.
 17. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:50-54.
 18. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
 19. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2831-2837.
 20. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. *Journal of Infectious Diseases* 1991; 164: 137-142.
 21. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2014 Apr;49(4):418-23
 22. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol*. 1996 Apr;31(4):339-44.



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italie





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Calprotectin

Per determinação quantitativa de Calprotectina

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa de calprotectina nas fezes com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A calprotectina é uma proteína existente nos neutrófilos que, quando presente em concentrações elevadas nas fezes, indica inflamação. Níveis elevados são tipicamente obtidos em doentes com RCU (retocolite ulcerativa), Doença de Crohn (DC), neoplasias cólicas, gástricas e esofágicas. No entanto, também é possível observar um aumento de valores em todas as patologias que impliquem ativação de processo inflamatório agudo ou crónico do aparelho gastrointestinal.

A administração de anti-inflamatórios pode alterar os níveis de Calprotectina.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Calprotectin está pronto a usar e serve para determinar a calprotectina nas fezes, nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Os anticorpos policlonais são ligados à fase sólida. A calprotectina liga-se à fase sólida após incubação com extrato de fezes. Após as lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por anticorpos anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase. A cor que se forma é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes na amostra examinada.

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

Os resultados são expressos em mg/Kg.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana com os quais foram testados, de acordo com os testes aprovados pela FDA e os resultados foram negativos para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. Visto que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma

garantia completa em relação à ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infectados. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação de resíduos: amostras, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afetada deverá 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 pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado. Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem em temperatura ambiente (18-30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO (**Versão de Software 2.09 e seguintes**), seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.

7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
11. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer (REF 83606).**

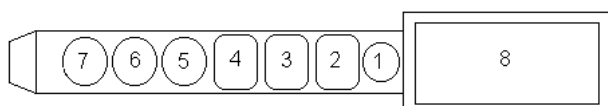
5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 16 determinações

DISPOSITIVOS

- 1 embalagem de 4 dispositivos cada para calibração
- 2 embalagens de 6 dispositivos cada para amostra

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos policlonais anticalprotectina

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL e H₂O₂ 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posição 3: DILUENTE PARA AMOSTRAS

Conteúdo: solução tampão com pH 7.9

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos IgG anticalprotectina marcados com peroxidase, em solução tampão.

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar a amostra..

Uso: estabilizar um pacote em temperatura ambiente, abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e fechar o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0.15 ml
Conteúdo: calprotectina. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0.25 ml
Conteúdo: calprotectina. Líquido, pronto a usar.

SAMPLE DILUENT DILUENTE PARA AMOSTRAS 1 x 1.8 ml
Conteúdo: diluente pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602
- WASHING BUFFER **REF** 83606

- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl.
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do controlo positivo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8°C
DILUENTE PARA AMOSTRAS	3 meses a 2/8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra consiste em extrato de fezes, preparado como indicado nas Instruções de Uso do produto Chorus Coprocollect (**REF** 86602) e manipulado segundo estabelecido nos procedimentos normalizados de laboratório.

A amostra pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20°C.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Deitar 50 µl de calibrador não diluído no poço n°1 de um dispositivo para calibração (rótulo amarelo) e 50 µl de controlo positivo não diluído no poço n°1 de outro dispositivo de calibração (rótulo amarelo); repetir a cada mudança de lote.
4. Deitar 50 µl da amostra não diluída, a analisar, no poço n°1 de cada dispositivo para amostras (rótulo branco).
5. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controle positivo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações do Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o controle positivo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controle positivo continuar fora do intervalo de aceitação, contatar o Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em mg/Kg, calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

O teste na amostra examinada pode ser interpretado como segue:

POSITIVO: quando o resultado for > 60 mg/Kg

NEGATIVO: quando o resultado for < 40 mg/Kg

INCERTO/EQUIVOCADO: quando o resultado estiver entre 40 e 60 mg/Kg

Repetir o teste em caso de resultado incerto/equivocado.

Os níveis obtidos nos primeiros meses de vida de recém-nascidos podem ser significativamente superiores.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao mesmo paciente. O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

Chorus/Chorus TRIO: necessária Versão de Software 2.09 e seguintes.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 12.5 - 250 mg/Kg.

Para resultados > 250 mg/Kg, repetir o teste com a amostra diluída a 1:5 em diluente para amostras pronto a usar. O resultado obtido pelo instrumento deve ser multiplicado por 5.

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Como indicado na literatura, os valores normais de calprotectina nas fezes são de 25 mg/Kg.

14. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 42 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

Esquematizam-se, de seguida, os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	23	0	23
	-	1	18	19
	Total	24	18	42

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica): 95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica): 100% CI_{95%}: 82.4-99.8

O grau de concordância entre os dois métodos demonstra ser ótimo com um valor de K (Coeficiente de Cohen) de 0.96.

15. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio	
	Média (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Amostra	Entre Ensaios	
	Média (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (mg/Kg)	CV%	Média (mg/Kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAFIA

23. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
24. Tamara Pang, Steven T. Leach, Tamara Katz, Andrew S. Day and Chee Y. Ooi. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children January 2014.
25. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
26. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
27. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
28. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.
29. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33: 14-22.
30. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic

- diarrhea referred for colonoscopy. Am J Gastroenterol 2000; 95: 2831-2837.
31. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. Journal of Infectious Diseases 1991; 164: 137-142.
 32. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. Scand J Gastroenterol. 2014 Apr;49(4):418-23
 33. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Scand J Gastroenterol. 1996 Apr;31(4):339-44.



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





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS
Calprotectin
Pentru determinarea cantitativa a Calprotectinei**Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*****1. UTILIZARE RECOMANDATA**

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea cantitativa a calprotectinei in probe din scaun, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Calprotectina este o proteina prezenta in neutrofile, iar concentratiile mari ale acesteia in probele din scaun indica semne de inflamatie. Nivelurile crescute sunt observate in general in cazul pacientilor avand UC (colita ulcerosa), boala Crohn (CD), neoplasme colice, gastrice si esofagiene. In plus, valori crescute pot fi observate in cazul tuturor cazurilor clinice care implica activarea unui proces inflamator acut sau cronic al sistemului gastrointestinal.

Tratamentele cu anti-inflamatoare pot influenta nivelurile de Calprotectina.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus Calprotectin este gata de utilizare pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO pentru detectia calprotectinei in probele din scaun.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Anticorpii policlonali sunt fixati pe faza solida. Calprotectina este fixata pe faza solida prin incubare cu extractul din scaun. Dupa spalările efectuate pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din anticorpi imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul care nu a participat la reactie este eliminat si este adaugat substratul de peroxidaza. Culoarea care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba din scaun.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in mg/Kg.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE
NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Acest kit contine materiale de origine umana, care au fost testate si au indicat un rezultat negativ pentru prezenta HBsAg si pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-

HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate de catre FDA. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi garantii complete cu privire la absenta agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manevrate ca fiind potential infectioase. In cazul manevrării materialelor de origine umana, trebuie urmate toate masurile de precautie adoptate in mod normal in practica de laborator.

Indeprtarea deseurilor: odata utilizate, probele, calibratorii si stripurile trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase si eliminate in conformitate cu legislatia.

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrării specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/Chorus TRIO.
4. Consultati materialul corespunzator - Fisa Tehnica de Securitate (disponibila la cerere) pentru toate informatiile legate de securitatea reactivilor continuti de kit.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
6. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

1. **Indeprtati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
2. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
3. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat. Nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
4. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO (**Versiunea de Software 2.09 si versiunile ulterioare**); instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
5. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
6. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.

7. Pentru depozitarea probelor, evitați utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
8. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de Operare).
9. În timpul depozitării și utilizării, nu expuneți dispozitivele la lumina puternică sau la vapori de hipoclorit.
10. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
11. **Asigurați-vă că instrumentul este conectat la Washing Buffer (Tamponul de Spalare) (Ref. 83606).**

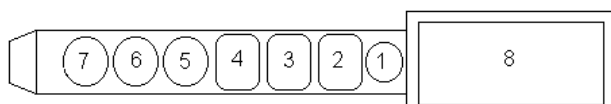
5. COMPONENTA KITULUI ȘI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul conține suficiente dispozitive și substanțe pentru efectuarea a 16 de determinări.

DISPOZITIVE:

- 1 pachet, fiecare conținând 4 dispozitive pentru calibrare
- 2 pachete, fiecare conținând 6 dispozitive pentru probe

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spațiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Captusit cu anticorpi policlonali anti-calprotectina

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL și H₂O₂ 0.01% stabilizat în 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: soluție tampon cu pH 7.9

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi anti-calprotectina IgG marcați cu peroxidaza de hrean, în soluție tampon.

Pozitia 1: GODEU GOL

în care trebuie adăugată proba

Utilizare: lăsați un pachet să ajungă la temperatura camerei, deschideți pachetul și scoateți dispozitivele necesare; repuneți-le pe celelalte în pungă împreună cu pliculețul cu silica gel, scoateți aerul din pungă și **sigilați** prin presarea sistemului de închidere. Pastrați la 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.15 ml
Continut: calprotectina. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0.25 ml
Continut: calprotectina. Lichid, gata de utilizare.

SAMPLE DILUENT DILUANTUL PROBEI 1 x 1.8 ml
Continut: diluant, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- Chorus COPROCOLLECT **REF** 86602

- WASHING BUFFER **REF** 83606
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilată sau deionizată
- Sticlărie obișnuită de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exactă a 50-200 µl de soluție
- Manusi de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu (5%)
- Recipiente pentru depozitarea materialelor potențial infectioase

6. PASTRAREA ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrați la 2/8°C. În cazul păstrării la o temperatură necorespunzătoare, calibrarea trebuie repetată, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizând controlul pozitiv (a se vedea secțiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimată pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

După deschidere, stabilitatea reactivilor este limitată:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8°C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8°C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8°C
DILUANTUL PROBEI	3 luni la 2/8°C

7. RECOLTAREA PROBEI ȘI DEPOZITAREA

Proba este compusă din extractul din scaun, pregătită conform celor menționate în Instrucțiunile de Utilizare ale produsului Chorus Coprocollect (**REF** 86602) și trebuie manevrată conform tuturor măsurilor de precauție dictate de bunele practici de laborator.

Proba poate fi păstrată timp de 4 zile la 2/8°C, sau poate fi congelată pentru perioade mai îndelungate la -20°C.

Nu țineți probele în frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atenție înainte de utilizare.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideți pachetul (pe latura care conține dispozitivul de închidere prin presare), extrageți numărul necesar de dispozitive și, după ce ați eliminat aerul din interiorul pungii conținând restul dispozitivelor, sigilați-o.
2. Verificați starea dispozitivului în conformitate cu indicațiile menționate în capitolul 4, Măsurile de Precauție Analitice.
3. Pipetați 50 µl de calibrator nediluat în proba nr. 1 a unui dispozitiv pentru calibrare (etichetă galbenă) și 50 µl de control pozitiv nediluat în proba nr. 1 a altui dispozitiv pentru calibrare (etichetă galbenă); repetați la fiecare schimbare de lot.
4. Pipetați 50 µl din probele de test nediluate în proba nr. 1 din fiecare a unui dispozitiv pentru probe (etichetă albă).
5. Poziționați dispozitivele în instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (în cazul în care este necesar) și testul conform specificațiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati controlul pozitiv pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie utilizat in conformitate cu instructiunile din Manualul de Operare al Instrumentului. Daca instrumentul indica faptul ca acest control pozitiv are o valoare in afara ariei acceptabile, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul controlului pozitiv continua sa se situeze in afara ariei acceptate, contactati Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in mg/Kg, calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Testul probei examinate poate fi interpretat dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 60 mg/Kg

NEGATIV: cand rezultatul este < 40 mg/Kg

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 40 si 60 mg/Kg

Daca rezultatul este incert/echivoc, repetati testul.

Nivelurile constatate in primele luni ale vietii bebelusilor poate fi semnificativ mai mare.

11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.

Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

Chorus/Chorus TRIO: Versiunea necesara de Software 2.09 si versiunile ulterioare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare: 12.5 - 250 mg/Kg.

Pentru rezultate > 250 mg/Kg repetati testul pe proba diluata 1:5 cu diluantul probei gata de utilizare. Inmultiti cu 5 rezultatul obtinut de instrument.

13. ARIA DE REFERINTA

Conform mentiunilor din lucrarile de referinta, valorile normale de calprotectina din scaun corespund la 25 mg/Kg.

14. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 42 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Datele sunt rezumate in tabelul urmator:

Diesse		Referinta		
		+	-	Total
	+	23	0	23
	-	1	18	19

Total	24	18	42
-------	----	----	----

Percent Positive Agreement (~Sensibilitatea Diagnosticului):

95.8% CI_{95%}: 79.7-99.1

Percent Negative Agreement: (~Specificitatea Diagnosticului):

100% CI_{95%}: 82.4-99.8

Acordul dintre cele doua metode este excelent cu Cohen's Kappa de 0.96.

15. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	In cadrul ciclului de rulare	
	Medie (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	52.2	4.3
3	105.0	5.4
4	47.1	4.2
5	63.8	8.0
6	55.9	5.6
7	95.1	12.2
8	67.0	4.2

Proba	Intre ciclurile de rulare	
	Medie (mg/Kg)	CV%
1	<12.5	-
2	49.7	5.8
3	101.2	9.5
4	43.9	13.7
5	74.5	14.0

Proba	Intre loturi		Intre instrumente	
	Medie (mg/Kg)	CV%	Medie (mg/Kg)	CV%
1	12.6	0.8	13.6	14.9
2	54.9	9.8	51.5	8.0
3	119.5	10.6	109.4	12.1
4	55.4	14.7	50.5	14.5
5	87.9	7.3	84.6	14.4

16. BIBLIOGRAFIE

1. Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
2. 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.
3. Frank S. Lehmann, Emanuel Burri and Christoph Beglinger. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease Ther Adv Gastroenterol 2015, Vol. 8(1) 23-36.
4. J Tibble, K Teahon, B Thjodleifsson, A Roseth, G Sigthorsson, S Bridger, R Foster, R Sherwood, M Fagerhol, and I Bjarnason. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. Gut. 2000 Oct;47(4):506-13.
5. Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
6. Røseth A.G. et al.: Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 1999; 34:50-54.

7. Bunn S.K. et al.: Fecal calprotectin: Validation as a non invasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
8. Limburg P.J. et al.: Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2831-2837.
9. Sohnle P.G. et al.: The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. *Journal of Infectious Diseases* 1991; 164: 137-142.
10. Theede K1, Kiszka-Kanowitz M, Nielsen AM, Nordgaard-Lassen I.: The correlation between fecal calprotectin, simple clinical colitis activity index and biochemical markers in ulcerative colitis during high-dose steroid treatment. *Scand J Gastroenterol*. 2014 Apr;49(4):418-23
11. Meling TR1, Aabakken L, Røseth A, Osnes M.: Faecal calprotectin shedding after short-term treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Scand J Gastroenterol*. 1996 Apr;31(4):339-44.



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



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser jusque GR Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare	FR Ne pas réutiliser GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR Attention voir notice d'instructions GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbicante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura	FR Limites de température GR Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico	FR Risques biologiques GR Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo	FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto	FR Code du lot GR Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote