



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Calprotectin K

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 conlleven 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 K 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%. 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), siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo. **El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)**

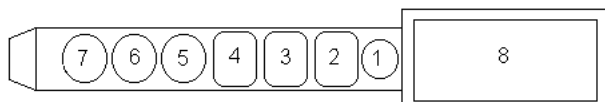
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
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 12 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 2 envases con 6 dispositivos cada uno

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: SISTRATO 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 0.3 ml

Contenido: calprotectina. Líquido listo para el uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0.6 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 – 86602/40

- 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 – 86602/40) 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 en el pocillo n°1 de cada dispositivo:

MUESTRA	50 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	130 µl/dispositivo

4. 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

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

En caso de un resultado 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.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 12.5 - 1000 mg/kg.

Para muestras > 1000 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 36 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se muestran los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	22	0	22
	-	0	14	14
	Total	22	14	36

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):
100% CI_{95%}: 85.1-99.8

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):
100% CI_{95%}: 78.4-99.7

El grado de concordancia entre los dos métodos resulta excelente y con un valor de K (Coeficiente de Cohen) de 1.0.

15. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo	
	Media (mg/kg)	CV%
1	627.3	8.6
2	236.3	7.7
3	104.3	13.4
4	30.2	14.9

Muestra	Inter-ensayo	
	Media (mg/kg)	CV%
1	402.0	14.2
2	222.8	3.1
3	122.7	14.5
4	52.6	15.0

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (mg/kg)	CV%	Media (mg/kg)	CV%
1	311.3	10.4	442.9	10.1
2	188.9	14.4	205.5	10.1
3	70.7	11.8	120.6	12.2
4	51.0	8.8	52.8	13.3

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, 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 POUR L'UTILISATION

CHORUS Calprotectin K

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 K 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, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.

L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif corresponde ou qu'il ait une version

(Rel.) supérieur de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

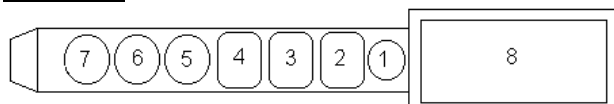
27. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
28. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
29. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver 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 12 déterminations.

DD DISPOSITIFS 2 emballages contenant 6 dispositifs 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 0.3 ml

Contenu : calprotectine. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0.6 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 – 86602/40
- 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 Coprocollect (REF) 86602 – 86602/40) 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), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour réaliser les examens 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 de chaque dispositif à analyser:

ÉCHANTILLON 50 µl/dispositif
 CALIBRATEUR 130 µl/dispositif
 CONTRÔLE POSITIF 130 µl/dispositif

4. 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

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

En cas de résultat 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.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage de calibrage 12.5 - 1000 mg/Kg.

Pour les résultats > 1000 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, 36 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	+	22	0	22
	-	0	14	14
	Total	22	14	36

Percent Positive Agreement (~Sensibilité diagnostique) :

100% CI_{95%}: 85.1-99.8

Percent Negative Agreement: (~Spécificité diagnostique) :

100% CI_{95%}:78.4-99.7

Le taux de concordance entre les deux méthodes est très bon, avec une valeur de K (Coefficient Kappa de Cohen) de 1.0.

15. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance	
	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	627.3	8.6
2	236.3	7.7
3	104.3	13.4
4	30.2	14.9

Échantillon	Inter-séances	
	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	402.0	14.2
2	222.8	3.1
3	122.7	14.5
4	52.6	15.0

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne (mg/kg)	CV %	Moyenne (mg/kg)	CV %
1	311.3	10.4	442.9	10.1
2	188.9	14.4	205.5	10.1
3	70.7	11.8	120.6	12.2
4	51.0	8.8	52.8	13.3

16. BIBLIOGRAPHIE

- Jan Däbritz, Jason Musci, Dirk Foell. World J Gastroenterol 2014 January 14; 20(2): 363-375.
- 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.
- 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.
- 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.
- Røseth A.G. et al.: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. Scand J Gastroenterol 1992; 27: 793-798.
- 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.

9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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
13. 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

