



Instructions for Use

380316-A

English

OC-FCa Reagent

REF V-PH11

INTENDED USE

For quantitative measurement of calprotectin in faeces using automated immunochemical analyser [OC-SENSOR PLEDIA].

INTRODUCTION

Calprotectin is an inflammatory protein abundantly present in neutrophils¹. The amount of calprotectin in faeces increases accompanied with intestinal mucosal inflammation. Therefore measuring the amount of calprotectin in faeces can be used for disease monitoring of IBD patients and distinguishing inflammatory bowel disease (IBD; e.g. ulcerative colitis, Crohn's disease) from functional intestinal disorders (e.g. Irritable bowel syndrome)²⁻⁵. Currently, the methods used for detection of calprotectin include immunoassay latex agglutination, ELISA, FEIA, Chemiluminescent immunoassay and Immunochromatography. OC-FCa Reagent is an immunoassay test reagent used together with an automatic analyser for measurement of calprotectin in faeces. OC-FCa Reagent contains the latex particles coated with anti-human calprotectin antibodies for optical measurement of the latex agglutination reaction.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The test method is based on a latex agglutination reaction. A latex reagent is prepared by coating anti-human calprotectin antibodies to polystyrene latex particles. When this reagent is mixed with the sample, the anti-human calprotectin antibodies, which were attached to latex, react with the calprotectin in the sample, and the latex aggregate is formed in the latex agglutination reaction. The change in absorbance per unit time resulting from the latex agglutination reaction is proportional to the concentration of calprotectin in the sample. A dose response curve of the absorbance unit (OD) vs. concentration is generated using the results obtained from the calibrators. The concentration of calprotectin in the patient sample is determined from this curve.

REAGENTS

Reagents are stable until the date printed on the label assuming the container remains unopened at a storage temperature of 2-10°C.

OC-FCa Latex Reagent8mL, 2 vials, maximum 50 tests/vial
(Latex particles suspension coated with anti-human calprotectin antibodies)

OC-FCa Buffer15mL, 2 vial, maximum 50 tests/vial
(N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES) buffered saline)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Before performing measurement, be sure to read the instruction manual of the analyser.
- Fully prepare and adjust the analyser before measurement.
- Create a calibration curve for each measurement. Also be sure to create a new calibration curve when OC-FCa Reagent from a different lot is used.
- Use the Calibrator (REF V-PH12) for the creation of calibration curve.
- If the measurement results exceed the measurement range, use dedicated sample diluent to dilute the sample and perform measurement again.
- Store all reagents at 2-10°C and avoid freezing.
- Do not use reagents that have passed their expiration date.
- The test sample may contain microorganisms. Therefore, use caution when handling. After use, all samples and other materials must be considered as medical waste and disposed of accordingly.
Example of treatment: Soak for 1 hour or longer in a sodium hypochlorite solution (available chlorine concentration 1000 ppm or greater). (Neutralize any substances that contain acids before soaking.) Alternatively, treat in an autoclave at 121°C for 20 minutes. (Do not treat any items which sodium hypochlorite have adhered to in this way.)
- Disposal of used reagents and containers as medical waste in accordance with local regulations.
- If the product is used in any way other than that specified here, the reliability of measurement results cannot be guaranteed. Be sure to follow the procedure.
- A clinical diagnosis based on the measurement results must be a comprehensive judgment made by the attending physician, including factors such as clinical symptoms and other test results.

SAMPLE COLLECTION DEVICE

- Use the following designated sampling container for collecting specimens.
OC-Auto Sampling Bottle 3 (REF V-PZ25, V-PZ26)
- Collect faecal samples by scraping the surface of the stools in different areas. Collect the amount necessary to cover the groove of the probe.
- Check that the test sample has become fully suspended in the buffer solution inside the sampling bottle.
- Received specimens should be stored at 2-8°C and collected within 3 days to designated sampling container⁶.
- Calprotectin in the OC-Auto Sampling Bottle 3 is stable at room temperature for 3 days, at 2-10°C for 14 days⁷.

PREPARATION OF REAGENTS

- OC-FCa Latex Reagent
Ready to use.
Before measurement, bring reagent to room temperature and invert the OC-FCa Latex Reagent gently several times to assure uniform suspension.
After opening, reagent stability (Decreasing DA values $\leq 5\%$):
 - In refrigerator (2-10°C): 14 days
 - Stored onboard : 14 days (Reagent cap needs to be closed when not testing)
 Do not mix reagent with another bottle.
- OC-FCa Buffer
Ready to use.
Before measurement, bring reagent to room temperature and invert the OC-FCa Buffer gently several times.
After opening, buffer stability:
 - In refrigerator (2-10°C): 14 days.
 - Stored onboard : 14 days (Reagent cap needs to be closed when not testing).
 Do not mix buffer with another lot.
Do not mix buffer from different bottles.
Do not use precipitated buffer, precipitate of buffer may cause problems.

REQUIRED MATERIALS, NOT PROVIDED BY THE MANUFACTURER (Prepare these materials before analysis)

- Wash solution: Sodium hypochlorite 0.15% (0.10%-0.30 % is acceptable)
- Purified water (for washing): Distilled or de-ionized water (1.0-10.0M Ω -cm is acceptable)
- Sample cup: To use sample cups, input the specification of the sample cup into the analyser.
- Printer Paper: Use thermal printer paper which fits the analyser.

TEST PROCEDURE

Perform measurements according to the instruction manual of the analyser.

- Set the OC-FCa Latex Reagent and OC-FCa Buffer on board the analyser.
- Input lot number parameters into the analyser.
- Check water, wash solution and drain tank volumes.
- Load control materials and/or sample collection devices.
- Start analysis.
- After measurement is completed, ensure the results of controls are within the acceptable range.

RESULTS

The reaction of each sample is compared to the calibration curve that was created previously. The concentration of calprotectin ($\mu\text{g/g}$ (faeces)) is found and a positive or negative judgment is made.

INTERPRETATION OF RESULTS

Results for the OC-FCa Reagent greater than 50 $\mu\text{g/g}$ (faeces) should be considered positive results. Establish own cut-off values by each laboratory is recommended.

LIMITATIONS

- Calibrator and Controls should be analysed immediately after dispensing into sample cups, in order to avoid evaporation.
- Samples with exceeded 50000 $\mu\text{g/g}$ of calprotectin concentration may have results within measurement range because of prozone effect.
- Taking NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drug) regularly may raise faecal calprotectin levels⁸.

ANALYTICAL SPECIFICITY

Almost no effect on the measurement value was found from the following co-existing substances at the indicated concentrations.

Substance	Concentration	Substance	Concentration
bilirubin	18mg/dL	Protein(bovine serum albumin)	3.5g/dL
chyle (Formazin turbidity)	1500FTU	Glucose	4.0g/dL
haemoglobin	125mg/dL	barium sulfate	100mg/dL

INTERNAL QUALITY CONTROL

Each laboratory should establish a quality control program to monitor the performance of OC-FCa Latex Reagent. It is recommended to use the following materials for the quality control in your laboratory.

OC-FCa Control LV1 (REF V-PH13)
OC-FCa Control LV2 (REF V-PH14)

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Sensitivity
When absorbance change of control samples of 0 and 25 $\mu\text{g/g}$ calprotectin was measured, mean - 2.6 standard deviation (SD) of 25 $\mu\text{g/g}$ was greater than mean + 2.6 SD of 0 $\mu\text{g/g}$.
- Accuracy
When control samples of known concentration were measured, the value obtained was within $\pm 15\%$ of the indicated value.
- Inter/Intra-day reproducibility
When the same sample was measured 10 times within the same run, the coefficient of variation (CV) for the values obtained was 5% or less.
When the same control samples (178 $\mu\text{g/g}$ -1373 $\mu\text{g/g}$) were measured for 20days, the coefficient of variation (CV) for the values obtained for inter/intra-day was within 5%.
- Measurement range
20 - 2720 $\mu\text{g/g}$ (faeces)
- Acceptable range between-reagent batches
 - OC-FCa Latex Reagent
When control samples with known concentration were measured, the value obtained was within 100 $\pm 15\%$ of the indicated value.
 - OC-FCa Buffer
When OC-FCa Calibrator was measured, the OD value obtained was within 100 $\pm 5\%$ as compared with the OD value obtained by measuring OC-FCa Calibrator using in-house standard products.

PRODUCT CODE, PRODUCT NAME & STORAGE

Product code	Product name	Contents	Storage
V-PH11	OC-FCa Reagent	2x8mL 2x15mL	2-10°C
V-PH12	OC-FCa Calibrator	6x1mL	2-8°C
V-PH13	OC-FCa Control LV1	2x5mL	2-8°C
V-PH14	OC-FCa Control LV2	2x5mL	2-8°C
V-PZ25	OC-Auto Sampling Bottle 3	100 bottles	1-30°C
V-PZ26	OC-Auto Sampling Bottle 3 without barcode	100 bottles	1-30°C

REFERENCE

- I. Dale et al.: European Journal of Biochemistry, 134: 1-6, 1983.
- J. Tibble et al.: Gut, 47: 506-513, 2000.
- J. Tibble et al.: Gastroenterology, 123: 450-460, 2002.
- M. Montalto et al.: The American Journal of Gastroenterology, 102: 132-136, 2007.
- A. Schoepfer et al.: The American Journal of Gastroenterology, 105: 162-169, 2010.
- H. Tøn et al.: Clinica Chimica Acta, 292, 41-54, 2000.
- S. Hiraoka et al.: Intestinal Research, 17, 202-209, 2018.
- J. Tibble et al.: Gut, 45: 362-366, 1999.



Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



EIKEN CHEMICAL CO., LTD.

4-19-9, Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

(Date of issue: August 1, 2020)



Instrucciones de uso

380316-A

Español

OC-FCa Reagent

REF V-PH11

USO PREVISTO

Para la medición cuantitativa de calprotectina en heces utilizando un analizador inmunológico automatizado [OC-SENSOR PLEDIA].

INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína inflamatoria abundantemente presente en los neutrófilos¹. La cantidad de calprotectina en las heces aumenta acompañada de inflamación de la mucosa intestinal. Por lo tanto, la medición de la cantidad de calprotectina en las heces puede utilizarse para controlar la enfermedad de pacientes con EII y distinguir la enfermedad inflamatoria intestinal (EII; por ejemplo, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn) de los trastornos intestinales funcionales (por ejemplo, síndrome del intestino irritable)^{2,5}.

Actualmente, los métodos utilizados para la detección de calprotectina incluyen la aglutinación de látex por inmunoensayo, ELISA, FEIA, inmunoensayo quimioluminiscente e inmunocromatografía. OC-FCa Reagent es un reactivo de prueba de inmunoensayo utilizado junto con un analizador automático para la medición de calprotectina en heces. OC-FCa Reagent contiene partículas de látex recubiertas con anticuerpos calprotectinantes antihumanos para la medición óptica de la reacción de aglutinación de látex.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método de la prueba se basa en una reacción de aglutinación de látex. Se prepara un reactivo de látex recubriendo partículas de látex de poliestireno de anticuerpos anti-calprotectina humana. Cuando este reactivo se mezcla con la muestra, los anticuerpos anti-calprotectina humana, que se fijaron al látex, reaccionan con la calprotectina en la muestra, y el agregado de látex se forma en la reacción de aglutinación de látex. El cambio en la absorbancia por unidad de tiempo resultante de la reacción de aglutinación de látex es proporcional a la concentración de calprotectina en la muestra. Se genera una curva de respuesta a la dosis de la unidad de absorbancia (OD) frente a la concentración utilizando los resultados obtenidos de los calibradores. La concentración de calprotectina en la muestra del paciente se determina a partir de esta curva.

REACTIVOS

Los reactivos son estables antes y después de su apertura hasta la fecha impresa en la etiqueta cuando se almacenan a 2-10°C.

- OC-FCa Latex Reagent 8mL, 2 viales, máximo 50 pruebas/vial (Suspensión de partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-calprotectina humana)
- OC-FCa Buffer 15mL, 2 viales, máximo 50 pruebas/vial (Solución salina tamponada con ácido N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES))

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Antes de realizar la medición, asegúrese de leer el manual de instrucciones del analizador.
- Prepare y ajuste completamente el analizador antes de la medición.
- Cree una curva de calibración para cada medición. Asegúrese también de crear una nueva curva de calibración cuando se use OC-FCa Reagent de un lote diferente.
- Utilice el calibrador (REF V-PH12) para crear la curva de calibración.
- Si los resultados de la medición exceden el rango de medición, use diluyente de muestra dedicado para diluir la muestra y realizar de nuevo la medición.
- Almacene todos los reactivos a 2-10°C y evite la congelación.
- No utilice reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.
- La muestra de puede contener microorganismos. Por lo tanto, tenga cuidado al manipularla. Después de su uso, todas las muestras y otros materiales deben considerarse desechos médicos y eliminarse en consecuencia. Ejemplo de tratamiento: poner en remojo durante 1 hora o más en una solución de hipoclorito de sodio (concentración de cloro disponible 1000 ppm o superior). (Neutralice cualquier sustancia que contenga ácidos antes de poner en remojo). Alternativamente, trate en un autoclave a 121°C durante 20 minutos. (No trate ningún artículo al que se haya adherido el hipoclorito de sodio de esta manera).
- Eliminación de reactivos y envases usados como desecho médico de conformidad con las regulaciones locales.
- Si el producto se usa de una manera distinta a la especificada aquí, no puede garantizarse la fiabilidad de los resultados de medición. Asegúrese de seguir el procedimiento.
- Un diagnóstico clínico basado en los resultados de la medición debe ser un juicio exhaustivo realizado por el médico tratante, incluidos factores como los síntomas clínicos y otros resultados de las pruebas.

DISPOSITIVO DE RECOGIDA DE MUESTRAS

- Use el siguiente recipiente de muestreo designado para recoger muestras. OC-Auto Sampling Bottle 3 (REF V-PZ25, V-PZ26)
- Recoja las muestras fecales raspando la superficie de las heces en diferentes zonas. Recoja la cantidad necesaria para cubrir la ranura de la sonda.
- Compruebe que la muestra se haya suspendido por completo en la solución tampón dentro de la botella de muestreo.
- Las muestras recibidas deben almacenarse a 2-8°C y recogerse en un plazo de 3 días en el recipiente de muestreo designado⁶.
- La calprotectina es estable en el OC-Auto Sampling Bottle 3, 3 días a temperatura ambiente y 14 días a 2-10°C⁷.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- OC-FCa Latex Reagent
Listo para uso.
Antes de la medición, lleve el reactivo a temperatura ambiente e invierta el OC-FCa Latex Reagent suavemente varias veces para garantizar una suspensión uniforme.
Después de la apertura, estabilidad del reactivo (valores DA decrecientes $\leq 5\%$):
● En nevera (2-10°C): 14 días
● Almacenado a bordo: 14 días (la tapa del reactivo debe cerrarse cuando no se esté usando)
No mezcle el reactivo con otra botella.
- OC-FCa Buffer
Listo para uso.
Antes de la medición, lleve el reactivo a temperatura ambiente e invierta el OC-FCa Buffer suavemente varias veces para garantizar una suspensión uniforme.
Después de abrir, estabilidad del búfer:
● En nevera (2-10°C): 14 días.
● Almacenado a bordo: 14 días (la tapa del reactivo debe cerrarse cuando no se esté usando).
No mezcle el búfer con otro lote.
No mezcle el búfer de diferentes botellas.
No use el búfer precipitado, el precipitado del búfer puede ocasionar problemas.

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS POR EL FABRICANTE (prepare estos materiales antes del análisis)

- Solución de lavado: Hipoclorito de sodio 0,15% (0,10% - 0,30% es aceptable)
- Agua purificada (para lavar): Agua destilada o desionizada (1,0-10,0M Ω · cm es aceptable)
- Viales de muestra: Para usar vasos de muestra, introduzca la especificación del vaso de muestra en el analizador.
- Papel de impresora: Utilice papel de impresora térmica que se ajuste al analizador.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Realice las mediciones según el manual de instrucciones del analizador.

- Coloque el OC-FCa Latex Reagent y el OC-FCa Buffer en el analizador.
- Introduzca los parámetros del número de lote en el analizador.
- Compruebe el agua, la solución de lavado y drene los volúmenes del tanque.
- Carga los materiales de control y/o dispositivos de recogida de muestras.
- Inicie el análisis.
- Después de completar la medición, asegúrese de que los resultados de los controles se encuentren dentro del rango aceptable.

RESULTADOS

La reacción de cada muestra se compara con la curva de calibración creada anteriormente. Se determina la concentración de calprotectina ($\mu\text{g/g}$ (heces)) y se realiza un juicio positivo o negativo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados para el OC-FCa Reagent superiores a 50 $\mu\text{g/g}$ (heces) deben considerarse resultados positivos. Se recomienda establecer valores de corte propios para cada laboratorio.

LIMITACIONES

- El calibrador y los controles deben analizarse inmediatamente después de distribuirlos en vasos de muestra, para evitar la evaporación.
- Las muestras con una concentración de calprotectina superior a 50,000 $\mu\text{g/g}$ pueden tener resultados dentro del rango de medición debido al efecto prozona.
- Tomar AINES (medicamento antiinflamatorio no esteroideo) regularmente puede elevar los niveles de calprotectina fecal⁸.

ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Casi no se detectó ningún efecto sobre el valor de medición de las siguientes sustancias coexistentes en las concentraciones indicadas.

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
bilirrubina	18mg/dL	Proteína (albúmina sérica bovina)	3,5g/dL
quilo (turbidez de formacina)	1500FTU	Glucosa	4,0g/dL
hemoglobina	125mg/dL	sulfato de bario	100mg/dL

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Cada laboratorio debe establecer un programa de control de calidad para controlar el rendimiento del OC-FCa Latex Reagent. Se recomienda utilizar los siguientes materiales para el control de calidad en su laboratorio.

- OC-FCa Control LV1 (REF V-PH13)
- OC-FCa Control LV2 (REF V-PH14)

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

- Sensibilidad
Cuando se midió el cambio de absorbancia de las muestras de control de 0 y 25 $\mu\text{g/gde}$ calprotectina, media - 2,6 desviación estándar (DE) de 25 $\mu\text{g/g}$ fue superior a media + 2,6 DE de 0 $\mu\text{g/g}$.
- Precisión
Cuando se midieron muestras de control de concentración conocida, el valor obtenido estaba dentro de $\pm 15\%$ del valor indicado.
- Reproducibilidad inter/intradiaria
Cuando se midió la misma muestra 10 veces dentro de la misma ejecución, el coeficiente de variación (CV) para los valores obtenidos fue del 5% o menos.
Cuando se midieron las mismas muestras de control (178 $\mu\text{g/g}$ -1373 $\mu\text{g/g}$) durante 20 días, el coeficiente de variación (CV) para los valores obtenidos para inter/intradiaria estuvo dentro del 5%.
- Intervalo de medición
20 - 2720 $\mu\text{g/g}$ (heces)
- Intervalo aceptable entre lotes de reactivos
 - OC-FCa Latex Reagent
Cuando se midieron muestras de control de concentración conocida, el valor obtenido estaba dentro de 100 \pm 15% del valor indicado.
 - OC-FCa Buffer
Cuando se midió OC-FCa Calibrator, el valor de OD obtenido estaba dentro del 100 \pm 5% en comparación con el valor de OD obtenido midiendo el OC-FCa Calibrator utilizando productos estándar internos.

CÓDIGO DE PRODUCTO, NOMBRE DEL PRODUCTO Y ALMACENAMIENTO

Código de producto	Nombre del producto	Contenido	Almacenamiento
V-PH11	OC-FCa Reagent	2x8mL 2x15mL	2-10°C
V-PH12	OC-FCa Calibrator	6x1mL	2-8°C
V-PH13	OC-FCa Control LV1	2x5mL	2-8°C
V-PH14	OC-FCa Control LV2	2x5mL	2-8°C
V-PZ25	OC-Auto Sampling Bottle 3	100 botellas	1-30°C
V-PZ26	OC-Auto Sampling Bottle 3 without barcode	100 botellas	1-30°C

REFERENCIA

- I. Dale et al.: European Journal of Biochemistry, 134: 1-6, 1983.
- J. Tibble et al.: Gut, 47: 506-513, 2000.
- J. Tibble et al.: Gastroenterology, 123: 450-460, 2002.
- M. Montalto et al.: The American Journal of Gastroenterology, 102: 132-136, 2007.
- A. Schoepfer et al.: The American Journal of Gastroenterology, 105: 162-169, 2010.
- H. Tøn et al.: Clinica Chimica Acta, 292, 41-54, 2000.
- S. Hiraoka et al.: Intestinal Research, 17, 202-209, 2018.
- J. Tibble et al.: Gut, 45: 362-366, 1999.



Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



EIKEN CHEMICAL CO., LTD.

4-19-9, Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

(Fecha de publicación: Agosto 1, 2020)



Instructions d'utilisation

380316-A

Français

OC-FCa Reagent

REF V-PH11

UTILISATION PRÉVUE

Dosage quantitatif de la calprotectine dans les selles à l'aide de l'analyseur d'immunochimie automatisé [OC-SENSOR PLEDIA].

INTRODUCTION

La calprotectine est une protéine inflammatoire présente en abondance chez les neutrophiles¹. La quantité de calprotectine dans les selles augmente avec l'inflammation de la muqueuse intestinale. Ainsi, la mesure de la quantité de calprotectine dans les selles peut servir à surveiller l'évolution des patients ayant une IBD et à différencier l'inflammation du colon (IBD ; ex. rectocolite hémorragique, maladie de Crohn) des troubles fonctionnels gastro-intestinaux (IBS ; ex. Syndrome du colon irritable)^{2,5}.

Actuellement, les méthodes servant à détecter la calprotectine incluent les tests d'agglutination latex, l'ELISA, l'FEIA, la chimioluminescence et l'immunochromatographie.

OC-FCa Reagent est un réactif utilisé en combinaison avec un automate d'analyse pour le dosage de la calprotectine dans les selles. OC-FCa Reagent contient des particules de latex sensibilisées avec des anticorps anti-calprotectine humaine pour la mesure optique de la réaction d'agglutination latex.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode est basée sur une réaction d'agglutination latex. Le réactif au latex est préparé en coquant des particules de latex de polystyrène avec des anticorps anti-calprotectine humaine. Quand le réactif est mélangé à l'échantillon, les anticorps anti-calprotectine humaine du latex se lient spécifiquement avec la calprotectine présente dans l'échantillon en donnant une réaction d'agglutination au latex. La variation d'absorbance par unité de temps résultant de la réaction d'agglutination des particules de latex est proportionnelle à la concentration de calprotectine dans l'échantillon. Une d'absorbance (DO) en fonction des concentrations des calibrants est générée. La concentration de calprotectine dans l'échantillon du patient est déterminée à partir de cette courbe.

RÉACTIFS

Les réactifs sont stables jusqu'à la date imprimée sur l'étiquette, dès lors que la boîte reste fermée et stockée à une température comprise entre 2°C et 10°C.

OC-FCa Latex Reagent 8ml, 2 flacons, qsp 50 tests/façon

(suspension de particules de latex sensibilisées avec un anticorps anti-calprotectine humaine)

OC-FCa Buffer 15ml, 2 flacons, qsp 50 tests/façon

(solution saline tamponnée d'acide N-2-hydroxyéthyl pipérazine-N'-2 éthane sulfonique (HEPES))

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. Pour diagnostic *in vitro* seulement.
2. Avant d'effectuer le test lire le mode d'emploi de l'analyseur.
3. Préparer et régler intégralement l'analyseur avant de lancer le test.
4. Effectuer une courbe d'étalonnage avant chaque mesure. Veiller également à effectuer une nouvelle courbe d'étalonnage lors de l'utilisation d'OC-FCa Reagent provenant d'un lot différent.
5. Utiliser le Calibrator (REF V-PH12) pour créer la courbe d'étalonnage.
6. Si les résultats du test dépassent la plage de mesures, utiliser un diluant d'échantillon dédié pour diluer l'échantillon et effectuer un nouveau test.
7. Conserver tous les réactifs entre 2°C et 10°C et éviter la congélation.
8. Ne pas utiliser de réactifs périmés.
9. L'échantillon à tester peut contenir des micro-organismes. Par conséquent, le manipuler avec précaution. Après utilisation, tous les échantillons et autres matériels doivent être considérés comme des déchets biologiques et éliminés comme tels. Exemple de traitement : immerger pendant au moins 1 heure dans une solution d'hypochlorite de sodium (concentration de chlore disponible 1000 ppm ou plus). (Neutraliser toute substance contenant des acides avant l'immersion.) Alternativement, autoclaver à 121°C pendant 20 minutes. (Ne traiter de cette manière aucun article contenant de l'hypochlorite de sodium.)
10. Éliminer les réactifs et conteneurs usagés comme des déchets biologiques, en suivant la réglementation locale.
11. Si le produit n'est pas utilisé conformément aux présentes instructions, la fiabilité des résultats ne peut être garantie. S'assurer que la procédure est bien suivie.
12. Un diagnostic clinique basé sur les résultats de mesures doit être une évaluation complète réalisée par le médecin, en incluant des facteurs comme les symptômes cliniques et d'autres résultats de tests.

DISPOSITIF DE PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS

- Utiliser le tube de collecte d'échantillon suivant pour recueillir les prélèvements. OC-Auto Sampling Bottle 3 (REF V-PZ25, V-PZ26)
- Recueillir des échantillons de selles en grattant la surface de différentes zones de selles. Recueillir une quantité suffisante pour recouvrir la rainure de la sonde.
- Vérifier que l'échantillon à tester est intégralement en suspension dans la solution tamponnée à l'intérieur du tube de collecte.
- Les prélèvements reçus doivent être stockés entre 2°C et 8°C et transférés dans les 3 jours dans les tubes de collecte désignés⁶.
- La calprotectine dans le tube OC-Auto Sampling Bottle 3 est stable pendant 3 jours à température ambiante et pendant 14 jours entre 2°C et 10°C⁷.

PRÉPARATION DE RÉACTIFS

- OC-FCa Latex Reagent
 - Prêt à l'emploi.
 - Avant la mesure, amener le réactif à température ambiante et retourner doucement plusieurs fois le tube OC-FCa Latex Reagent pour assurer une suspension uniforme.
 - Stabilité du réactif après ouverture (valeurs DA décroissantes ≤5%) :
 - Au réfrigérateur (entre 2°C et 10°C) : 14 jours
 - Stocké dans le dispositif : 14 jours (le bouchon du réactif doit être fermé en dehors des période de tests)
 - Ne pas mélanger le réactif avec une autre flacon.
- OC-FCa Buffer
 - Prêt à l'emploi.
 - Avant la mesure, amener le réactif à température ambiante et retourner doucement plusieurs fois l'OC-FCa Buffer.
 - Stabilité de la solution tamponnée après ouverture :
 - Au réfrigérateur (entre 2°C et 10°C) : 14 jours.
 - Stocké dans le dispositif : 14 jours (le bouchon du réactif doit être fermé en dehors des période de tests).
 - Ne pas mélanger la solution tamponnée avec un autre lot.
 - Ne pas mélanger la solution tamponnée de différents flacons.
 - Ne pas utiliser de solution tamponnée précipitée, la précipitation de la solution tamponnée peut engendrer des problèmes.

MATÉRIELS REQUIS, NON FOURNI PAR LE FABRICANT (préparer ce matériel avant d'effectuer les analyses)

- Solution de lavage : hypochlorite de sodium 0,15% (0,10% à 0,30% acceptable)
- Eau purifiée (pour le lavage) : eau distillée ou désionisée (1,0 à 10,0 MΩ · cm acceptable)
- Réceptif à échantillon : pour utiliser des réceptifs à échantillons, entre les spécifications du réceptif à échantillon dans l'analyseur.
- Papier d'imprimante : utiliser le papier d'imprimante correspondant à l'analyseur.

PROCÉDURE DE TEST

- Effectuez les mesures en suivant le mode d'emploi de l'analyseur.
- 1) Placer les flacons des réactifs OC-FCa Latex Reagent et OC-FCa Buffer dans l'analyseur.
 - 2) Entrer les paramètres de numéro de lot dans l'analyseur.
 - 3) Vérifier les volumes d'eau, de solution de lavage et du réservoir de vidange.
 - 4) Charger les contrôles et/ou les tubes d'échantillons.
 - 5) Démarrer l'analyse.
 - 6) Après la mesure, vérifier que les résultats des contrôles se situent dans la plage admissible.

RÉSULTATS

La réaction de chaque échantillon est comparée à la courbe d'étalonnage préalablement générée. La concentration de calprotectine en µg/g de selles est obtenue et un résultat positif ou négatif est calculé.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats pour l'OC-FCa Reagent supérieurs à 50 µg/g de selles doivent être considérés comme positifs. Il est recommandé que les valeurs seuils soient à établir par chaque laboratoire est recommandé.

LIMITATIONS

- L'étalon et les contrôles doivent être analysés immédiatement après dépôt dans les cuvettes à échantillons, afin d'éviter toute évaporation.
- Les échantillons avec des concentrations de plus de 50 000 µg/g de calprotectine peuvent présenter des résultats dans la plage de mesure en raison de l'effet de prozone.
- La prise régulière d'AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens) peut augmenter les titres de calprotectine fécale⁸.

SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

Aucun effet notoire n'a été constaté sur la valeur de mesure en présence des substances suivantes aux concentrations indiquées.

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Bilirubine	18 mg/dL	protéine (Sérum albumine bovine)	3,5 g/dL
Chyle (turbidité à la formazine)	1500 FTU	glucose	4,0 g/dL
Hémoglobine	125 mg/dL	sulfate de baryum	100 mg/dL

CONTRÔLE INTERNE DE LA QUALITÉ

Il est conseillé à chaque laboratoire établisse son programme de contrôle de la qualité pour surveiller les performances du test OC-FCa Latex Reagent. L'utilisation des réactifs suivants est recommandée pour le contrôle de la qualité interne.

OC-FCa Control LV1 (REF V-PH13)
 OC-FCa Control LV2 (REF V-PH14)

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

1. Sensibilité
 - Lors de la mesure de la variation d'absorbance entre les contrôles titrant 0 µg/g et 25 µg/g de calprotectine, la Moyenne - 2,6 DS (Déviation standard) du contrôle titrant 25µg/g est supérieure à la Moyenne + 2,6 DS du contrôle titrant 0µg/g
2. Précision
 - Les tests de contrôle ont donné des titres dans la fourchette de ±15 % de la valeur nominale.
3. Reproductibilité inter/intra-jour
 - Pour un même échantillon testés 10 fois dans une série, le coefficient de variation (CV) des titres est inférieur à 5 %.
 - Pour les mêmes contrôles (178 µg/g-1373 µg/g) testés pendant 20 jours, le coefficient de variation (CV) des titres en intra-day et inter-day est inférieur à 5 %.
4. Plage de mesure
 - 20 à 2720 µg/g de selles
5. Plage admissible entre les lots de réactifs
 - OC-FCa Latex Reagent
 - Pour les contrôles aux concentrations nominales connues, les valeurs obtenues dans la fourchette de ±15 % des valeurs nominales indiquées.
 - OC-FCa Buffer
 - Pour l'étalon OC-FCa Calibrator, la valeur DO obtenue est comparable à ±5 % la valeur DO d'un étalon interne au laboratoire.

CODE DU PRODUIT, NOM DU PRODUIT & CONSERVATION

Code du produit	Nom du produit	Contenus	Conservation
V-PH11	OC-FCa Reagent	2×8mL 2×15mL	2-10°C
V-PH12	OC-FCa Calibrator	6×1mL	2-8°C
V-PH13	OC-FCa Control LV1	2×5mL	2-8°C
V-PH14	OC-FCa Control LV2	2×5mL	2-8°C
V-PZ25	OC-Auto Sampling Bottle 3	100 flacons	1-30°C
V-PZ26	OC-Auto Sampling Bottle 3 without barcode	100 flacons	1-30°C

RÉFÉRENCE

1. I.Dale et al.: European Journal of Biochemistry, 134: 1-6, 1983.
2. J.Tibble et al.: Gut, 47: 506-513, 2000.
3. J.Tibble et al.: Gastroenterology, 123: 450-460, 2002.
4. M.Montalto et al.: The American Journal of Gastroenterology, 102: 132-136, 2007.
5. A.Schoepfer et al.: The American Journal of Gastroenterology, 105: 162-169, 2010.
6. H. Tøn et al.: Clinica Chimica Acta, 292, 41-54, 2000.
7. S.Hiraoka et al.: Intestinal Research, 17, 202-209, 2018.
8. J.Tibble et al.: Gut, 45: 362-366, 1999.



Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



EIKEN CHEMICAL CO., LTD.

4-19-9, Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

(Date de publication: août 1, 2020)



Gebrauchsanweisung

380316-A

Deutsch

OC-FCa Reagent

REF V-PH11

VERWENDUNGSZWECK

Zur quantitativen Messung von Calprotectin im Stuhl mit einem automatisierten immunchemischen Analysegerät [OC-SENSOR PLEDIA].

EINFÜHRUNG

Calprotectin ist ein Entzündungsprotein, das in Neutrophilen in großer Menge vorhanden ist¹. Die Menge an Calprotectin im Stuhl steigt bei einer Entzündung der Darmschleimhaut an. Daher kann die Messung der Calprotectinmenge im Stuhl zur Überwachung von CED-Patienten und zur Unterscheidung zwischen entzündlichen Darmerkrankungen (IBD; z. B. Colitis ulcerosa, Morbus Crohn) und funktionellen Darmstörungen (z. B. Reizdarmsyndrom)^{2,5} verwendet werden. Derzeit werden zum Nachweis von Calprotectin u. a. Immunoassay-Latex-Agglutination, ELISA, FEIA, Chemilumineszenz-Immunoassay und Immunchromatographie eingesetzt.

OC-FCa Reagent ist ein Immunoassay-Testreagenz, das zusammen mit einem automatisierten Analysegerät zur Messung von Calprotectin im Stuhl verwendet wird. OC-FCa Reagent enthält die mit anti-humanen Calprotectin-Antikörpern beschichteten Latexpartikel zur optischen Messung der Latex-Agglutinationsreaktion.

TESTPRINZIP

Die Testmethode basiert auf einer Latex-Agglutinationsreaktion. Ein Latexreagenz wird hergestellt, indem Polystyrol-Latexpartikel mit anti-humanen Calprotectin-Antikörpern beschichtet werden. Wenn dieses Reagenz mit der Probe gemischt wird, reagieren die anti-humanen Calprotectin-Antikörper, die an die Latexpartikel gebunden haben, mit dem Calprotectin in der Probe, und das Latex-Aggregat wird in der Latex-Agglutinationsreaktion gebildet. Die Änderung der Extinktion pro Zeiteinheit, die sich aus der Latex-Agglutinationsreaktion ergibt, ist proportional zur Calprotectin-Konzentration in der Probe. Eine Dosis-Wirkungs-Kurve der Extinktionseinheit (OD) im Vergleich zur Konzentration wird unter Verwendung der von den Kalibratoren erhaltenen Ergebnisse erstellt. Anhand dieser Kurve wird die Calprotectin-Konzentration in der Patientenprobe bestimmt.

REAGENZEN

Die Reagenzien sind bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Datum stabil, vorausgesetzt, der Behälter bleibt bei einer Lagerungstemperatur von 2 bis 10 °C ungeöffnet.

OC-FCa Latex Reagent ••••• 8 mL, 2 Tropfflaschen, max. 50 Tests/Tropfflasche (Suspension mit Latexpartikeln, die mit anti-humanen Calprotectin-Antikörpern beschichtet sind)

OC-FCa Buffer ••••• 15 mL, 2 Tropfflaschen, max. 50 Tests/Tropfflasche (Mit 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES) gepufferte Kochsalzlösung)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik verwenden.
- Vor der Durchführung von Messungen die Bedienungsanleitung des Analysegeräts lesen.
- Vor der Messung das Analysegerät vollständig vorbereiten und einstellen.
- Für jede Messung eine Kalibrationskurve erstellen. Eine neue Kalibrationskurve muss zudem erstellt werden, wenn OC-FCa Reagent einer anderen Charge verwendet wird.
- Den Kalibrator (REF V-PH12) zur Erstellung der Kalibrationskurve verwenden.
- Wenn die Messergebnisse den Messbereich überschreiten, gewöhnliche dedizierte Proben verdünnungsmittel der Probe verwenden und die Messung erneut durchführen.
- Alle Reagenzien bei 2 bis 10 °C lagern und nicht einfrieren.
- Keine Reagenzien verwenden, deren Verfallsdatum überschritten ist.
- Die Testprobe kann Mikroorganismen enthalten. Daher ist bei ihrer Handhabung Vorsicht geboten. Nach dem Gebrauch sind alle Proben und anderen Materialien als medizinische Abfälle anzusehen und entsprechend zu entsorgen.
- Keine Reagenzien verwenden, deren Verfallsdatum überschritten ist.
- Behandlungsbeispiel: Eine Stunde oder länger in einer Natriumhypochloritlösung einweichen (verfügbare Chlorkonzentration 1000 ppm oder höher). (Stoffe, die Säuren enthalten, vor dem Einweichen neutralisieren.) Alternativ in einem Autoklaven 20 Minuten bei 121 °C behandeln. (Keine Artikel, an denen Natriumhypochlorit haftet, auf diese Weise behandeln.)
- Verbrauchte Reagenzien und Behälter als medizinischer Abfall gemäß den einschlägigen Bestimmungen entsorgen.
- Wenn das Produkt auf eine andere als die hier angegebene Weise verwendet wird, kann für die Zuverlässigkeit der Messergebnisse nicht garantiert werden. Das angegebene Verfahren unbedingt befolgen.
- Bei einer auf den Messergebnissen basierenden klinischen Diagnose muss der behandelnde Arzt darüber hinaus weitere Faktoren wie klinische Symptome und andere Testergebnisse berücksichtigen.

PROBENAHRERÖHRCHEN

- Verwenden Sie die folgenden für die Probenahme vorgesehenen Probebehälter.
OC-Auto Sampling Bottle 3 (REF V-PZ25, V-PZ26)
- Nehmen Sie Stuhlproben, indem Sie in verschiedenen Bereichen über die Oberfläche des Stuhls streichen. Entnehmen Sie eine ausreichende Menge, um die Rillen des Teststabs zu bedecken.
- Vergewissern Sie sich, dass die Testprobe vollständig in der Pufferlösung der Probenflasche suspendiert ist.
- In Empfang genommene Proben müssen bei 2 bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von drei Tagen in die dafür vorgesehenen Probebehälter gegeben werden⁶.
- Calprotectin in der OC-Auto Sampling Bottle 3 ist bei Raumtemperatur drei Tage, bei 2 bis 10 °C 14 Tage stabil⁷.

ANSETZEN DER REAGENZEN

- OC-FCa Latex Reagent
Gebrauchsfertig
Lassen Sie das OC-FCa Latex Reagent vor der Messung Raumtemperatur annehmen und drehen Sie den Behälter mehrmals vorsichtig über Kopf, um eine gleichmäßige Suspension sicherzustellen.
Reagenzstabilität nach dem Öffnen (abnehmende DA-Werte ≤ 5 %):
● Im Kühlschrank (2 – 10 °C): 14 Tage
● Im Gerät: 14 Tage (Die Reagenzkappen müssen geschlossen sein, wenn kein Test läuft.)
Das Reagenz nicht mit einer anderen Flasche mischen.
- OC-FCa Buffer
Gebrauchsfertig
Lassen Sie den OC-FCa Buffer vor der Messung Raumtemperatur annehmen und drehen Sie den Behälter mehrmals vorsichtig über Kopf.
Pufferstabilität nach dem Öffnen:
● Im Kühlschrank (2 – 10 °C): 14 Tage
● Im Gerät: 14 Tage (Die Reagenzkappen müssen geschlossen sein, wenn kein Test läuft.)
Den Puffer nicht mit einer anderen Charge mischen.
Keinen Puffer aus verschiedenen Flaschen mischen.
Keinen Puffer mit Präzipitat verwenden. Das Präzipitat kann Probleme verursachen.

BENÖTIGTE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG DES HERSTELLERS ENHALTEN SIND (Diese Materialien sind vor einer Analyse bereitzustellen)

- Waschlösung: Natriumhypochlorit 0,15 % (0,10 % bis 0,30 % ist akzeptabel)
- Gereinigtes Wasser (zum Waschen): Destilliertes oder entionisiertes Wasser (1,0 bis 10,0 MΩ · cm ist akzeptabel)
- Probenbecher: Wenn Probenbecher verwendet werden sollen, geben Sie die Daten des Probenbeckers im Analysegerät ein.
- Druckerpapier: Verwenden Sie für das Analysegerät passendes Thermodruckerpapier.

TESTDURCHFÜHRUNG

Führen Sie die Messungen gemäß den Anweisungen in der Bedienungsanleitung des Analysegeräts durch.

- Setzen Sie das OC-FCa Latex Reagent und den OC-FCa Buffer in das Analysegerät ein.
- Geben Sie die Parameter der Chargennummer in das Analysegerät ein.
- Prüfen Sie den Füllstand des Wassers, der Waschlösung und des Ablauftanks.
- Laden Sie Kontrollmaterialien und/oder Probenahmebehälter.
- Starten Sie die Analyse.
- Vergewissern Sie sich nach Abschluss der Messung, dass die Ergebnisse der Kontrollen innerhalb des zulässigen Bereichs liegen.

ERGEBNISSE

Die Reaktion jeder Probe wird mit der zuvor erstellten Kalibrierkurve verglichen. Die Konzentration von Calprotectin (µg/g (Stuhl)) wird ermittelt und eine positive oder negative Beurteilung vorgenommen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Ergebnisse für das OC-FCa Reagent, die größer als 50 µg/g (Stuhl) sind, sollten als positive Ergebnisse betrachtet werden. Es wird empfohlen, dass jedes Labor eigene Cut-off-Werte festlegt.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Kalibrator und die Kontrollen müssen unmittelbar nach der Abgabe in die Probenbecher analysiert werden, um eine Verdunstung zu vermeiden.
- Proben mit einer Calprotectin-Konzentration von mehr als 50.000 µg/g können aufgrund des Prozeneneffekts Ergebnisse innerhalb des Messbereichs aufweisen.
- Die regelmäßige Einnahme nichtsteroidaler Antirheumatika (NSAR) kann den Calprotectinspiegel im Stuhl erhöhen⁸.

ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Für die folgenden koexistierenden Substanzen wurde bei den angegebenen Konzentrationen fast kein Einfluss auf den Messwert nachgewiesen.

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Bilirubin	18mg/dL	Protein (Rinderserumalbumin)	3,5g/dL
Chylus (Formazin-Trübung)	1500 FTU	Glucose	4,0g/dL
Hämoglobin	125mg/dL	Bariumsulfat	100mg/dL

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor sollte ein Qualitätskontrollprogramm zur Überwachung der Leistung von OC-FCa Latex Reagent einrichten. Für die Qualitätskontrolle im Labor werden die folgenden Materialien empfohlen.

- OC-FCa Control LV1 (REF V-PH13)
- OC-FCa Control LV2 (REF V-PH14)

LEISTUNGSPARAMETER

- Empfindlichkeit
Wenn eine Extinktionsänderung der Kontrollproben von 0 und 25 µg/g Calprotectin gemessen wurde, war der Mittelwert der Standardabweichung (SA) bei -2,6 von 25 µg/g größer als der Mittelwert der SA bei +2,6 von 0 µg/g.
- Genaugigkeit
Wenn Kontrollproben mit bekannter Konzentration gemessen wurden, lag der erhaltene Wert innerhalb von ±15 % des angegebenen Werts.
- Inter/Intra-Reproduzierbarkeit (Tag)
Als dieselbe Probe innerhalb desselben Laufs 10-mal gemessen wurde, betrug der Variationskoeffizient (VK) für die erhaltenen Werte maximal 5 %.
Als dieselben Kontrollproben (178 µg/g -1373 µg/g) 20 Tage lang gemessen wurden, lag der Variationskoeffizient (VK) für die Werte zwischen Tagen/innerhalb eines Tages bei maximal 5 %.
- Messbereich
20 – 2720 µg/g (Stuhl)
- Zulässige Abweichung von einem Reagenzien-Batch zum anderen
• OC-FCa Latex Reagent
Als Kontrollproben mit bekannter Konzentration gemessen wurden, lag der erhaltene Wert innerhalb von 100 ± 15 % des angegebenen Werts.
• OC-FCa Buffer
Als der OC-FCa Calibrator gemessen wurde, lag der erhaltene OD-Wert innerhalb von 100 ± 5 % im Vergleich zu dem OD-Wert, der durch Messung des OC-FCa Calibrator mit internen Standardprodukten ermittelt wurde.

PRODUKTCODE, PRODUKTBEZEICHNUNG UND LAGERUNG

Produktcode	Produktbezeichnung	Inhalt	Lagerung
V-PH11	OC-FCa Reagent	2×8mL 2×15mL	2-10°C
V-PH12	OC-FCa Calibrator	6×1mL	2-8°C
V-PH13	OC-FCa Control LV1	2×5mL	2-8°C
V-PH14	OC-FCa Control LV2	2×5mL	2-8°C
V-PZ25	OC-Auto Sampling Bottle 3	100 Röhrchen	1-30°C
V-PZ26	OC-Auto Sampling Bottle 3 without barcode	100 Röhrchen	1-30°C

QUELENNACHWEIS

- I.Dale et al.: European Journal of Biochemistry, 134: 1-6, 1983.
- J.Tibble et al.: Gut, 47: 506-513, 2000.
- J.Tibble et al.: Gastroenterology, 123: 450-460, 2002.
- M.Montalto et al.: The American Journal of Gastroenterology, 102: 132-136, 2007.
- A.Schoepfer et al.: The American Journal of Gastroenterology, 105: 162-169, 2010.
- H. Tøn et al.: Clinica Chimica Acta, 292, 41-54, 2000.
- S.Hiraoka et al.: Intestinal Research, 17, 202-209, 2018.
- J.Tibble et al.: Gut, 45: 362-366, 1999.



Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



EIKEN CHEMICAL CO., LTD.

4-19-9, Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

(Fassungsdatum: August 1, 2020)



Istruzioni per l'uso

380316-A

Italiano

OC-FCa Reagent

REF V-PH11

USO PREVISTO

Per la misurazione quantitativa della calprotectina nelle feci mediante analizzatore immunochimico automatizzato [OC-SENSOR PLEDIA].

INTRODUZIONE

La calprotectina è una proteina infiammatoria abbondantemente presente nei neutrofili¹. La quantità di calprotectina nelle feci aumenta nei casi di infiammazione della mucosa intestinale. Pertanto, la misurazione della quantità di calprotectina nelle feci può essere utilizzata per il monitoraggio della malattia dei pazienti con IBD Inflammatory Bowel Disease, Malattia Infiammatoria Intestinale e per distinguere la stessa IBD (ad es. colite ulcerosa, morbo di Crohn) dai disturbi intestinali funzionali (ad es. Sindrome delo colon irritabile)^{2,5}.

Attualmente, i metodi utilizzati per la rilevazione della calprotectina comprendono: test immunologico di agglutinazione al lattice, ELISA, FEIA, test immunologico in chemiluminescenza e immunocromatografia.

Il reattivo: OC-FCa Reagent è usato come per test di saggio immunologico, insieme a un analizzatore automatico, per la misurazione della calprotectina nelle feci. OC-FCa Reagent contiene particelle di lattice rivestite con anticorpi anti-calprotectina umana per la misurazione ottica della reazione di agglutinazione al lattice.

PRINCIPIO DEL METODO

Il principio del test si basa su una reazione di agglutinazione al lattice. Per la preparazione di un reagente al lattice, si rivestono le particelle di lattice di polistirene con anticorpi anti-calprotectina umana. Quando questo reagente viene miscelato con il campione, gli anticorpi anti-calprotectina umana, che erano attaccati al lattice, reagiscono con la calprotectina nel campione e l'aggregato di lattice si forma nella reazione di agglutinazione al lattice. La variazione di assorbanza per unità di tempo risultante dalla reazione di agglutinazione al lattice è proporzionale alla concentrazione di calprotectina nel campione. Viene generata una curva di risposta alla dose dell'unità di assorbanza (OD) rispetto alla concentrazione usando i risultati ottenuti dai calibratori. La concentrazione di calprotectina nel campione del paziente è determinata da questa curva.

REAGENTI

I reagenti sono stabili fino a una data stampata sull'etichetta, fino a quando il contenitore non venga aperto e rimanga a una temperatura di conservazione di 2-10 °C

OC-FCa Latex Reagent 8 mL, 2 fiale, massimo 50 test/fiala

(Sospensione di particelle di lattice rivestite con anticorpi anti-calprotectina umana)

OC-FCa Buffer 15 mL, 2 fiale, massimo 50 test/fiala

(Soluzione salina tamponata con acido 4-2-idrossietil-1-piperazinil-etansolfonico (HEPES))

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
2. Prima di eseguire la misurazione, leggere il manuale di istruzioni dell'analizzatore.
3. Preparare e regolare completamente l'analizzatore prima della misurazione.
4. Creare una curva di calibrazione per ogni misurazione. Assicurarsi inoltre di creare una nuova curva di calibrazione quando si utilizza OC-FCa Reagent di un lotto diverso.
5. Utilizzare il calibratore (REF V-PH12) per creare la curva di calibrazione.
6. Se i risultati della misurazione superano l'intervallo di misurazione, utilizzare diluente per campioni dedicato per diluire il campione e ripetere la misurazione.
7. Conservare tutti i reagenti a 2-10 °C ed evitare il congelamento.
8. Non utilizzare reagenti che hanno superato la data di scadenza.
9. Il campione del test può contenere microrganismi, pertanto prestare attenzione quando lo si manipola. Dopo l'uso, tutti i campioni e gli altri materiali devono essere considerati rifiuti sanitari e smaltiti di conseguenza. Esempio di trattamento: immergere per 1 ora o più in una soluzione di ipoclorito di sodio (concentrazione di cloro disponibile di 1000 ppm o superiore). (Prima dell'immersione, neutralizzare tutte le sostanze che contengono acidi.) In alternativa, trattare in autoclave a 121 °C per 20 minuti. (Non trattare in questo modo gli articoli ai quali l'ipoclorito di sodio ha aderito.)
10. Smaltire come rifiuti sanitari i reagenti e i contenitori usati, in conformità con le normative locali.
11. Se il prodotto viene utilizzato in modo diverso da quello specificato qui, l'affidabilità dei risultati della misurazione non può essere garantita. Assicurarsi di seguire la procedura.
12. È il medico curante a dover emettere la diagnosi clinica complessiva, tenendo conto dei risultati della misurazione e di fattori quali sintomi clinici e dei risultati di altri test.

DISPOSITIVO DI PRELIEVO DEI CAMPIONI

- Per la raccolta dei campioni, utilizzare il seguente contenitore di campionamento. OC-Auto Sampling Bottle 3 (REF V-PZ25, V-PZ26)
- Raccogliere campioni fecali raschiando la superficie delle feci in diverse aree. Raccogliere la quantità necessaria per coprire la scanalatura della sonda.
- Verificare che il campione sia totalmente in sospensione nella soluzione tampone all'interno del flacone di campionamento.
- I campioni ricevuti devono essere conservati a 2-8 °C e raccolti entro 3 giorni nel contenitore di campionamento designato⁶.
- La calprotectina in OC-Auto Sampling Bottle 3 è stabile a temperatura ambiente per 3 giorni, e a 2-10 °C per 14 giorni⁷.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- OC-FCa Latex Reagent
 - Pronto per l'uso.
 - Prima della misurazione, portare il reagente a temperatura ambiente e capovolgere delicatamente OC-FCa Latex Reagent più volte per garantire una sospensione uniforme. Stabilità del reagente dopo l'apertura (valori DA decrescenti ≤5%):
 - In frigorifero (2-10 °C): 14 giorni
 - Conservato a bordo dello strumento: 14 giorni (il tappo del reagente deve essere chiuso quando non si esegue il test)
 - Non mescolare il reagente con un altro flacone.
- OC-FCa Buffer
 - Pronto per l'uso.
 - Prima della misurazione, portare il reagente a temperatura ambiente e capovolgere delicatamente OC-FCa Buffer più volte. Stabilità del tampone dopo l'apertura:
 - In frigorifero (2-10 °C): 14 giorni.
 - Conservato a bordo dello strumento: 14 giorni (il tappo del reagente deve essere chiuso quando non si esegue il test).
 - Non mescolare il tampone con un altro lotto.
 - Non mescolare il tampone di flaconi diversi.
 - Non utilizzare il tampone precipitato, il precipitato del tampone può causare problemi.

MATERIALI RICHIESTI, NON FORNITI DAL PRODUTTORE (da predisporre prima dell'analisi)

- Soluzione di lavaggio: ipoclorito di sodio 0,15% (0,10% - 0,30% è accettabile)
- Acqua purificata (per lavaggio): acqua distillata o deionizzata (1,0-10,0 MQ · cm è accettabile)
- Coppetta portacampione: per utilizzare le coppette portacampione, immettere le specifiche della coppetta nell'analizzatore.
- Carta per stampante: utilizzare carta per stampante termica idonea per l'analizzatore.

PROCEDURA DEL TEST

- Eseguire le misurazioni come indicato nel manuale di istruzioni dell'analizzatore.
- 1) Caricare OC-FCa Latex Reagent e OC-FCa Buffer a bordo dell'analizzatore.
 - 2) Immettere i parametri del numero di lotto nell'analizzatore.
 - 3) Controllare l'acqua, la soluzione di lavaggio e i volumi del serbatoio di scarico.
 - 4) Caricare i materiali di controllo e/o i dispositivi di raccolta dei campioni.
 - 5) Iniziare l'analisi.
 - 6) Al termine della misurazione, assicurarsi che i risultati dei controlli rientrino nell'intervallo accettabile.

RISULTATI

La reazione di ciascun campione viene confrontata con la curva di calibrazione creata in precedenza. Viene trovata la concentrazione di calprotectina (µg/g (feci)) e viene emesso un giudizio positivo o negativo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati per OC-FCa Reagent superiori a 50 µg/g (feci) devono essere considerati positivi. Si consiglia che ogni laboratorio stabilisca i propri valori di soglia.

LIMITAZIONI

- Per evitare l'evaporazione, calibratore e materiali di controllo devono essere analizzati subito dopo che sono stati versati nelle coppette portacampioni.
- I campioni con una concentrazione di calprotectina superiore a 50.000 µg/g possono avere risultati entro l'intervallo di misurazione a causa dell'effetto prozona.
- L'assunzione regolare di FANS (farmaco antinfiammatorio non steroideo) può aumentare i livelli di calprotectina fecale⁸.

SPECIFICITÀ ANALITICA

La compresenza delle seguenti sostanze alle concentrazioni indicate non ha avuto praticamente nessun effetto sul valore misurato.

Sostanza	Concentrazione	Sostanza	Concentrazione
bilirubina	18mg/dL	Proteine (albumina sierica bovina)	3,5g/dL
chyle (torbidità della formazina)	1500FTU	Glucosio	4,0g/dL
emoglobina	125mg/dL	solfato di bario	100mg/dL

CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

Ciascun laboratorio dovrebbe stabilire un programma di controllo di qualità per monitorare le prestazioni di OC-FCa Latex Reagent. Per il controllo di qualità in laboratorio, si consiglia di utilizzare i seguenti materiali.

- OC-FCa Control LV1 (REF V-PH13)
- OC-FCa Control LV2 (REF V-PH14)

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

1. Sensibilità
 - Quando è stata misurata una variazione di assorbanza dei campioni di controllo di 0 e 25µg/g, la deviazione standard (DS) media - 2,6 di 25 µg/g era maggiore della DS media + 2,6 di 0 µg/g.
2. Accuratezza
 - Quando sono stati misurati campioni di controllo di concentrazione nota, il valore ottenuto è risultato entro il ±15% del valore indicato.
3. Riproducibilità inter/intra-giornaliera
 - Quando lo stesso campione è stato misurato 10 volte nella stessa seduta, il coefficiente di variazione (CV) per i valori ottenuti è risultato pari o inferiore al 5%.
 - Quando gli stessi campioni di controllo (178 µg/g-1373 µg/g) sono stati misurati per 20 giorni, il coefficiente di variazione (CV) per i valori ottenuti per inter/intra-day è risultato entro il 5%.
4. Intervallo di misurazione
 - 20 - 2720 µg/g (feci)
5. Intervallo di accettabilità fra lotti di reagente
 - OC-FCa Latex Reagent
 - Quando sono stati misurati campioni di controllo di concentrazione nota, il valore ottenuto era entro il 100 ±15% del valore indicato.
 - OC-FCa Buffer
 - Quando è stato misurato OC-FCa Calibrator, il valore OD ottenuto è risultato entro il 100 ±5% rispetto al valore OD ottenuto misurando OC-FCa Calibrator con prodotti standard interni.

CODICE PRODOTTO, NOME PRODOTTO E CONSERVAZIONE

Codice prodotto	Nome prodotto	Contenuto	Conservazione
V-PH11	OC-FCa Reagent	2×8mL 2×15mL	2-10°C
V-PH12	OC-FCa Calibrator	6×1mL	2-8°C
V-PH13	OC-FCa Control LV1	2×5mL	2-8°C
V-PH14	OC-FCa Control LV2	2×5mL	2-8°C
V-PZ25	OC-Auto Sampling Bottle 3	100 flaconi	1-30°C
V-PZ26	OC-Auto Sampling Bottle 3 without barcode	100 flaconi	1-30°C

BIBLIOGRAFIA

1. I.Dale et al.: European Journal of Biochemistry, 134: 1-6, 1983.
2. J.Tibble et al.: Gut, 47: 506-513, 2000.
3. J.Tibble et al.: Gastroenterology, 123: 450-460, 2002.
4. M.Montalto et al.: The American Journal of Gastroenterology, 102: 132-136, 2007.
5. A.Schoepfer et al.: The American Journal of Gastroenterology, 105: 162-169, 2010.
6. H. Tøn et al.: Clinica Chimica Acta, 292, 41-54, 2000.
7. S.Hiraoka et al.: Intestinal Research, 17, 202-209, 2018.
8. J.Tibble et al.: Gut, 45: 362-366, 1999.



Advena Ltd.

Tower Business Centre, 2nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta



EIKEN CHEMICAL CO., LTD.

4-19-9, Taito, Taito-ku, Tokyo 110-8408, Japan

(Data di pubblicazione: agosto 1, 2020)