

Rapid immunochromatographic assay for quantitative detection of calprotectin from human fecal specimens to aid in the diagnosis of IBD and to differentiate IBD from IBS

REF 9191NT

INTENDED PURPOSE

CalFast[®] NeXT is an immunochromatographic rapid non-automated assay for the quantitative detection of human calprotectin in feces. Calprotectin is extracted with the dedicated pre-analytical processing device **EasyCal[®]** and the test cassette is read with the proprietary **CalFast[®] Reader**. **CalFast NeXT** can be used as an in vitro diagnostic to aid in the diagnosis in generic population of Inflammatory Bowel Diseases (IBD), specifically Crohn's disease and ulcerative colitis, and to differentiate IBD from Irritable Bowel Syndrome (IBS) in conjunction with other clinical and laboratory findings. For professional use only.

SUMMARY AND EXPLANATION

Calprotectin is a 36 kDa heterodimeric complex belonging to the S100 family of proteins that derives from polymorphonuclear cells, monocytes and epithelial cells. It has direct antimicrobial effects and it plays a role within the innate immune response^{1,2}. Calprotectin is found in several biological samples including plasma, serum, synovial fluid and stool in proportion to the existing level of inflammation^{1,2}. The use of calprotectin as a biological marker has been studied in inflammatory gastrointestinal disorders (IBD), as well as in other pathologies like rheumatoid arthritis and colorectal cancer^{1,3,10}.

TEST PRINCIPLE

CalFast NeXT is an immunochromatographic assay which combines a mixture of anti-calprotectin polyclonal and monoclonal antibodies. Calprotectin present in the diluted sample is bound by the gold particle-conjugated antibody. The so formed complex moves along the reaction strip and binds to the anti-calprotectin antibodies present in the reaction area (T) while unbound antibodies will bind in the control area (C). The concentration of calprotectin in the sample is calculated by means of the **CalFast Reader**.

MATERIALS PROVIDED (QUANTITY SUFFICIENT FOR 20 TESTS)

- Cassettes: 20 cassettes single-packed in a sealed aluminum foil containing a desiccant. Cassettes are disposable.
- Diluent: 1 vial containing 50 ml (yellow cap). Ready to use.
- **EasyCal** (ref. 79333): 20 devices containing a ready-to-use extraction solution. Devices are disposable.
- Positive Control: 1 vial containing 250 µl of Positive Control, ready to use (red cap). Do not dilute. The range of values is printed on the vial label.
- Negative Control: 1 vial containing 250 µl of Negative Control, ready to use (transparent cap). Do not dilute. The range of values is printed on the vial label.
- Caps: 20 white caps for **EasyCal**.
- Calibration strip: 1 paper strip with a printed out QR code containing reference calibration curve. Lot-dependent.

COMPOSITION OF THE REAGENTS

- Cassette: adsorbed mixture of monoclonal and polyclonal antibodies and conjugated gold particles (< 10 µg), detergents (< 100 µl), BSA (< 500 µg), sugars and salts (< 500 µg), sodium azide (< 0.02% v/v, final concentration after resuspension).
- Diluent: salts (< 200 mM), detergents (< 1% v/v) and preservatives (< 0.05% v/v) in dd water.
- Extraction solution in **EasyCal**: salts (< 500 mM), BSA (< 5% w/w), urea (< 3 M) and preservatives (< 0.05% v/v) in dd water.
- Positive Control: solution of a polyclonal antibody (< 1 mg/ml) in sample diluent.
- Negative Control: solution of non-reactive salts (< 200 mM), detergents (< 1% v/v) and preservatives (< 0.05% v/v) in dd water.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Plastic tubes for fecal extract dilution
- Vortex (or similar)
- Rolling shaker
- Precision pipettes with disposable tips (10-200 µl, 1 ml)
- Centrifuge for microtubes
- Eppendorf tubes (or similar) for extract dilution
- Timer
- **CalFast Reader** (ref. 9190)
- **CalFast NeXT** quality control set (optional, ref. 9191NQ, lot dependent, 3 x Positive Control and 3 x Negative Control)

STORAGE AND EXPIRY DATE OF REAGENTS

All reagents must be stored at 2-8 °C and used before expiration date printed on the label.

STABILITY AFTER FIRST OPENING

The Sample Diluent and quality controls are stable for 60 days after first opening, if stored at 2-8 °C in their original container.

TRANSPORTATION STABILITY

An accelerate stability test proved that all components of the kit are stable after storage for 72 hours at 37 °C.

WARNING AND PRECAUTIONS

- All patient samples must be treated as potential biohazard, and shall be handled and disposed according to local laboratory legislation. It is advised to handle stool as potentially infectious material.
 - **EasyCal** and Cassette are for single use. Unused reagents shall be stored at 2-8 °C and used before expiration date printed on the label.
 - Wait until stool samples reach room temperature (18-25 °C) before starting the sampling with **EasyCal**.
 - Wait until all reagents and extracted stool samples reach room temperature before starting the test.
 - Do not expose the kit to heat source.
 - In order to obtain reliable quantitative results, it is mandatory to centrifuge extracts before proceeding to their dilution.
 - When using supplemental quality controls (ref. 9191NQ), ensure the lot is the same as the **CalFast NeXT** kit in use.
 - **EasyCal**: EUH208 Contain Mixture of: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). May produce an allergic reaction. EUH210 Material safety data sheet available on request.
 - Positive and Negative controls: EUH208 Contain Mixture of: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). May produce an allergic reaction. EUH210 Material safety data sheet available on request.
 - Diluent: EUH208 Contain Mixture of: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). May produce an allergic reaction. EUH210 Material safety data sheet available on request.
 - In case of external damage to packaging, make sure that all components listed in the “Materials Provided” with the kit are present and undamaged. In the presence of liquid leakage from the vials, the kit should not be used.
 - Do not interchange components from different product lots.
 - The waste materials generated by the use of the kit must be disposed as dangerous special waste and treated in accordance with local laws.
 - Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
 - The product does not use human origin materials.
 - Any serious incident shall be reported to manufacturer and competent authority of the State in which user and/or patient is established.
-

PROCEDURE FOR STOOL COLLECTION

The stool specimen to be analyzed with **CalFast NeXT** must be collected by using **EasyCal** included in the kit package.

A. Sampling procedure for feces of normal consistency

1. Collect a stool sample in a sterile container.
2. Pull out the shaped stick of the pre-analytical processing by turning the screw-cap counter-clockwise.
3. Dip the shaped stick in the previously collected stool sample.
4. Repeatedly rotate the stick in the stool sample until all grooves are filled with fecal material.
5. Before placing the stick into the device, remove the stool excess by rotating the stick on the internal wall of the stool container.
6. Fully insert the stick, with fecal material into the tube containing the extraction solution through the filter (blue). While turning the screw cap clockwise until completely closed, keep the filter (blue) by the fingers in order to avoid its opening.

B. Sampling procedure for liquid feces or anyhow having a consistence which does not allow the use of the EasyCal device

1. It is necessary to have a laboratory pipette.
2. By using the pipette, aspirate 56 µl of liquid stool.
3. Pull out the shaped stick and the filter (blue) by turning them clockwise.
4. Pipette the liquid stool sample into the tube containing the extraction solution.
5. Place the shaped stick and the filter back into the tube containing the extraction solution only. Turn the filter (blue) counter-clockwise until completely closed.

C. Sampling procedure in case of absence of the EasyCal device

1. Should the laboratory temporarily not have the **EasyCal**, collect a stool sample in a sterile container and keep it at 2-8 °C for no more than 2 days. Should the storage period exceed 2 days at 2-8 °C, the sample must be frozen at -20 °C for maximum 1 year.
 2. Once the device is available again, proceed to the sampling procedure described above. If the sample was frozen, allow it to reach room temperature (18-25 °C) before to collect the stool sample by means of the device.
 3. Proceed from point 2 of the “Sampling procedure for feces of normal consistency”.
-

STORAGE OF SPECIMENS

- Stool specimens should be received by the laboratory and extracted within 3 days of collection. Temperature during shipment should not exceed 30 °C, use of ice pack is highly recommended.
- Stool specimens at the laboratory can be stored into their original container at 2-8 °C up to 2 days, if not immediately tested. For longer storage, it is necessary to store them frozen at -20 °C. Frozen stool specimens are stable up to 1 year at -20 °C and can be subjected to no more than 3 freeze/thaw cycles.
- The **EasyCal** containing the collected stool specimen should be processed immediately. If there is a delay in continuing with the laboratory procedure, the **EasyCal** containing the stool specimen can be stored at room temperature (18-25 °C) up to 72 hours, otherwise it must be stored at 2-8 °C (up to 14 days). If the **EasyCal** device containing the specimen has to be delivered to the laboratory it is advisable to store it in a thermal container with cooling packs for a proper preservation.

EXTRACTION PROCEDURE


1. Bring the specimens to room temperature (18-25 °C).
2. Shake each **EasyCal** device by vortex mixer for 30-60 seconds in order to properly homogenate the content. If the grooves of the devices are visually empty of any stool material, proceed to step 3, otherwise repeat the vortexing for other 30-60 seconds. After a maximum vortexing time of 120 seconds, proceed to step 3 regardless if there is some residual stool sample in the grooves.
 - 2.1 Alternatively, after a brief vortexing, capped devices can be left on a rolling shaker for 20 minutes.
3. After the completion of the previous steps, remove the capped stick (white) together with the funnel (blue) from devices by rotating the funnel clockwise. Close the tube with the provided additional screw cap.
4. Centrifuge the sample for 10 minutes at 1,000 - 3,000 x g in order to remove the possible residuals of fecal material. After centrifugation, remove the device from the centrifuge.
5. The fecal extract is now ready to be tested.

STORAGE OF THE EXTRACTED SAMPLES

After the completion of the aforementioned extraction procedure, the fecal extract is stable under the following conditions:

- Up to 72 hours at room temperature (18-25 °C).
- Up to 14 days at 2-8 °C.
- Up to 90 days at -20 °C. Frozen extracted samples can be subjected to up to 4 freeze/thaw cycles.

SETTING UP CALFAST READER BEFORE RUNNING THE TEST

1. Check for the **CalFast Reader** being properly connected to a PC via the USB cable. Turn on the computer, double-click on the icon Client Reader and enter User Name and Password.
2. Verify that the **CalFast NeXT** lot information present in the software correspond to the ones present on the product label (lot number and expiry date). If not, please do as follows:
 - 2.1 Place the two-dimensional barcode included in the package into the slot of the instrument.
 - 2.2 Check that the barcode is properly placed inside the **CalFast Reader** correctly.
 - 2.3 Click on this icon  in the **CalFast Reader** Client software for reading the barcode. All information regarding the **CalFast NeXT** lot will be automatically uploaded into the **CalFast Reader**.
 - 2.4 Save the info by clicking on .
 - 2.5 Exit by clicking on this icon .
3. This procedure must be repeated every time a new lot of **CalFast NeXT** is used. The uploaded information will be stored into the software until a new lot information will be read.



For more detailed information, please refer to **CalFast Reader** User Manual. Additional information:

- Batch code: indicates the lot currently in use.
- Kit name: indicates the product in use (**CalFast**, **CalFast XT** or **CalFast NeXT**).
- Check Strip: to be used before starting a test (optional). When activated, the image of the cassette appears and a check is made on the presence of the Control line. If the Control line is present and correctly positioned, the Assay Result window in the Client Reader software will display "READABLE". On the contrary, if control line is missing or positioning of the cassette is incorrect, it will show "UNREADABLE".




SAMPLES DATA INPUT

1. To start the **CalFast NeXT** test reading procedure, at least one of the following data must be entered: Family Name, Name, Date of Birth or Patient code.
2. Once completed, the green LED in the Client Reader software lights up, indicating that the cassette can be placed inside the slot of the **CalFast Reader**.
3. Place the cassette into the slot of the **CalFast Reader**: Check if the position is correct by clicking on "Check the strip" (optional).

TEST PROCEDURE

1. Ensure that all reagents reach room temperature (18-25 °C).
2. If there are frozen samples to be analyzed, thaw them at room temperature.
3. Dilute stool extracts 1:300 (e.g., add 5 µl of extracted sample into 1,495 µl of diluent solution). Mix by vortex (10 seconds).
4. Open the sealed aluminum foil containing the cassette. Take it and place onto a horizontal surface.
5. Pipette either 100 µl of diluted fecal extract, 100 µl of Positive Control (ready-to-use) or 100 µl of Negative Control (ready-to-use), directly into the round well of the test cassette.
6. The use of Positive and/or Negative Control is not mandatory. Additional positive and negative lot dependent controls can be purchased separately (ref. 9191NQ).
7. Incubate at room temperature for 20 minutes.

TEST READING

1. If the cassette is readable, start the test by pressing the icon  in the Client Reader software. While reading the cassette, the yellow LED turns on and the icon  is replaced by .
2. The Check Strip box shows two different images: one is the “real” image of the cassette, while the captured image is used to perform the calculations for the determination of calprotectin concentration.
3. Captured image: it is the image used for calculations. The red and blue lines define the reading range for the calculation.
4. **CalFast Reader** performs the reading and reports the result in mg/kg or µg/g.
5. The concentration value is automatically saved and associated to the specific sample information.

RESULT VALIDATION

- To consider a test result valid, the Control line (C) must be always present. This line is just a functional control of the test and cannot be used for the interpretation of the Test line (T).
- The amount of calprotectin in the stool sample (T) is calculated by the **CalFast Reader**.
- If only the line T appears, the test is not valid and must be repeated by using a new cassette.
- If neither the line (C) and the line (T) show up, the result is not valid and the test must be repeated by using a new cassette. Note: The usability of the test cassette can be assessed via the “Check the Strip” function of the **CalFast Reader** Client software.
- The results obtained with the Positive and Negative Controls must fall into the range of concentration described on the Controls labels. Additional controls lot dependent can be purchased separately (ref. 9191NQ).

METROLOGICAL TRACEABILITY

In order to guarantee the metrological traceability of **CalFast NeXT**, concentration values recorded for the calibration points and the controls are compared to the reference range values internally defined.

RESULTS OBTAINED BY CALFAST READER

The **CalFast Reader** uses a lot specific calibration curve to calculate the calprotectin concentration. Calprotectin values obtained by **CalFast Reader** will be displayed as reported in table below:

Calprotectin concentration detected	Calprotectin concentration displayed by the CalFast Reader
0 - 50 µg/g	< 50 µg/g
51 - 2,100 µg/g	51 - 2,100 µg/g
> 2,101 µg/g	> 2,100 µg/g

REFERENCE RANGE AND INTERPRETATION OF RESULTS

Eurospital performed an internal cutoff study and the values are reported in the table below:

Calprotectin concentration	Interpretation	Follow-Up
< 70 µg/g	Normal	None
70 - 140 µg/g	Borderline	Re-evaluate after 4-6 weeks
> 140 µg/g	Abnormal	Repeat as clinically indicated

Samples having a calprotectin concentration higher than 140 µg/g must be considered positive to the **CalFast NeXT** test hence being submitted to further clinical investigation to assess the pathological cause for the high calprotectin concentration. In healthy adult patients, the average value of calprotectin is around 25 µg/g. This value, if obtained by means of **CalFast Reader**, will be reported as < 50 µg/g. While in adult and pediatric samples calprotectin values are similar, they may be significantly higher in newborns^{2, 4, 7, 11, 12, 13}.

LIMITATIONS

- Patients who are taking Non-Steroid-Anti-Inflammatory-Drugs (NSAIDs) medicaments can result having higher than normal fecal calprotectin levels^{9,18,24}.
- Patients with IBD fluctuate between active (inflammatory) and inactive stages of the disease²⁵. These stages must be considered when using the **CalFast NeXT**.
- The use of Proton Pump Inhibitors (PPIs)²⁴, as well as presence of microscopic colitis^{21,22} and diverticular disease²³, may also lead to elevated calprotectin level. Patients affected by untreated celiac disease may occasionally show elevated calprotectin values^{19,20}.
- Other intestinal impairments, including many gastrointestinal infections^{15,16,17} and colorectal cancer^{13,14,22}, can result in elevated levels of calprotectin. These specimens will test positive with the **CalFast NeXT** assay. Therefore, a diagnosis of active IBD cannot be established solely on the basis of a positive result with the **CalFast NeXT** assay.
- Fecal calprotectin is an indicator of neutrophilic presence in the stool and is not specific for IBD²⁶.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Linearity

Linearity study was performed according to CLSI EP06 2nd Edition. Linearity ranges assessment of **CalFast NeXT** showed acceptable results for both linearity and accuracy for calprotectin concentrations in the range from 40 to 2,100 µg/g.

Limits of Blank, Detection and Quantitation

LoB, LoD and LoQ studies were performed according to CLSI EP17-A. The results are reported in the following table:

LoB	17.7 µg/g
LoD	29.4 µg/g
LoQ	35.0 µg/g

Single-Site Precision Evaluation study

The study has been carried out by extracting 6 different stool samples (4 positive, 1 in the cutoff area and 1 negative) and assaying each extract in 3 replicates during 2 separate runs per day for 20 days. The obtained CV% values were equal or lower than 20%. Results are presented in the following table:

ID #	N	Mean (µg/g)	Within Run		Between Run		Between Day		Total	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
1	120	56.0	6.9	12.4%	3.1	5.5%	2.9	5.1%	7.6	13.6%
2	120	75.9	10.5	13.8%	2.9	3.8%	3.0	3.9%	10.8	14.3%
3	120	238.0	29.5	12.4%	7.2	3.0%	9.4	4.0%	30.4	12.8%
4	120	446.6	58.9	13.2%	12.8	2.9%	19.3	4.3%	60.4	13.5%
5	120	783.5	87.8	11.2%	14.8	1.9%	20.4	2.6%	89.2	11.4%
6	120	1559.2	300.0	19.2%	0.0	0.0%	28.9	1.9%	290.9	18.7%

Lot-to-Lot Precision Evaluation study

The study has been carried out by extracting 6 different stool samples (4 positive, 1 in the cutoff area and 1 negative) and assaying each extract in 5 replicates during 1 run per day for 5 days using 3 different lots of **CalFast NeXT**. The obtained CV% values were equal or lower than 20%. Results are presented in the following table:

ID #	N	Mean (µg/g)	Repeatability		Within Lot		Between Lot		Reproducibility	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
A	75	54.4	6.2	11.4%	7.1	13.1%	5.9	10.9%	9.2	17.0%
B	75	66.4	8.3	12.6%	9.0	13.6%	7.6	11.4%	11.7	17.7%
C	75	277.6	34.3	12.4%	39.0	14.1%	0.0	0.0%	39.0	14.1%
D	75	409.8	44.8	10.9%	52.4	12.8%	16.1	3.9%	54.8	13.4%
E	75	764.7	109.6	14.3%	127.5	16.7%	0.0	0.0%	127.5	16.7%
F	75	1326.3	182.6	13.8%	184.7	13.9%	41.1	3.1%	189.2	14.3%

Interference and Cross-Reactive study

An interference and cross-reactive study was conducted to determine whether potentially interfering or cross-reacting substances might affect the performance of **CalFast NeXT**. Tested molecules are listed in the table below and, at the tested concentrations, do not affect calprotectin concentrations in human stool samples when measured with **CalFast NeXT**.

Interfering/cross-reacting substance	Tested quantity / 50 mg stool
Hemoglobin	5.83 mg
Vancomycin	0.67 mg
Ciprofloxacin	0.50 mg
Prevacid	0.02 mg
Azathioprine	0.07 mg
Prednisone	0.01 mg
5-aminosalicylic acid	1.33 mg
Vitamin A	8 IU
Vitamin D	1.1 IU

Vitamin C	0.05 mg
Vitamin E	0.10 mg
Barium sulfate	0.25 mg
Loperamide HCl	0.34 µg
Bismuth subsalicylate	0.04 mg
Metronidazole	0.63 mg
Mucin	0.17 mg
Aluminum hydroxide + Magnesium hydroxide	0.21 mg
Palmitic acid	0.07 mg
Stearic acid	0.13 mg
Polyethylene glycol 3350	3.95 mg
Omeprazole	0.03 mg
S100A12 protein	1.05 µg
Simethicone	0.03 mg
Cimetidine	0.03 mg
Calcium carbonate	0.03 mg

CLINICAL PERFORMANCES

For the **CalFast NeXT** assay, the clinical study included 81 samples, of which 42 patients affected by Crohn's disease, Ulcerative, Intermediate and Microscopic Colitis and 39 negative samples from Irritable Bowel Syndrome (IBS), Recurrent Abdominal Pain (RAP) and other disease patients. The positive patient samples were diagnosed by means of clinical findings and/or confirmed with colonoscopy. In order to support the clinical information, the samples used for this study have been previously tested by **Calprest NG** IVD. Tables below demonstrate the clinical performance of the **CalFast NeXT** assay.

Borderline sample values considered as Positive				
		CalFast NeXT (cutoff = 70 µg/g)		
		Positive	Negative	Tot
Clinical diagnosis	IBD	42	0	42
	NON IBD	12	27	39
	Total	54	27	81
Sensitivity		100.0%	95% CI* (91.6% - 100.0%)	
Specificity		69.2%	95% CI* (53.6% - 81.4%)	
PPV**		76.5%	95% CI* (67.0% - 83.9%)	
NPV***		100.0%	95% CI* (100.0% - 100.0%)	

*CI = Confidence Interval (Mercaldo-Wald)

**PPV = Positive Predictive Value

***NPV = Negative Predictive Value

Borderline sample values considered as Negative				
		CalFast NeXT (cutoff = 140 µg/g)		
		Positive	Negative	Tot
Clinical diagnosis	IBD	40	2	42
	NON IBD	4	35	39
	Total	44	37	81
Sensitivity		95.2%	95% CI* (84.2% - 98.7%)	
Specificity		89.7%	95% CI* (76.4% - 95.9%)	
PPV**		90.9%	95% CI* (79.8% - 96.2%)	
NPV***		94.6%	95% CI* (81.8% - 98.5%)	

*CI = Confidence Interval (Mercaldo-Wald)

**PPV = Positive Predictive Value

***NPV = Negative Predictive Value

Test immunocromatografico rapido per la determinazione quantitativa di calprotectina da campioni fecali umani per aiuto alla diagnosi di IBD e per discriminare IBD da IBS

REF 9191NT

DESTINAZIONE D'USO

CalFast[®] NeXT è un test immunocromatografico rapido non automatizzato per la determinazione quantitativa della calprotectina umana nelle feci. L'estrazione dei campioni avviene tramite il dispositivo dedicato **EasyCal[®]** ed il risultato del test viene calcolato mediante il lettore **CalFast[®] Reader**. **CalFast NeXT** è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato esclusivamente ad uso professionale come supporto alla diagnosi delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (MICI o IBD), in particolare malattia di Crohn e colite ulcerosa, e per distinguerle dalla Sindrome dell'Intestino Irritabile (SII o IBS) affiancando l'interpretazione del risultato del test alle informazioni cliniche del paziente e ad altre analisi di laboratorio. Solo per uso professionale.

INTRODUZIONE E SPIEGAZIONE

La calprotectina è un eterodimero di 36 kDa appartenente alla famiglia di proteine S100. Essa è prodotta dalle cellule polimorfonucleate, dai monociti e dalle cellule epiteliali, ha proprietà antimicrobiche e gioca un ruolo nella risposta immunitaria innata^{1,2}. La calprotectina può essere rilevata in diversi campioni biologici quali plasma, siero, fluido sinoviale e feci, in proporzione al livello esistente di infiammazione^{1,2}. L'utilizzo della calprotectina come marcatore biologico è stato studiato nelle malattie infiammatorie intestinali (IBD), nonché in altre patologie come l'artrite reumatoide e il cancro del colon-retto^{1,3,10}.

PRINCIPIO DEL TEST

CalFast NeXT è un test immunocromatografico che sfrutta l'uso di una miscela di anticorpi monoclonali e policlonali diretti contro la calprotectina. La calprotectina presente nel campione diluito si lega all'anticorpo anti-calprotectina coniugato con oro colloidale. Il complesso così formato migra e si lega all'anticorpo anti-calprotectina presente nella zona di reazione (zona T), mentre gli anticorpi coniugati non legati si fermeranno sulla zona di controllo (zona C). La concentrazione di calprotectina presente nel campione viene calcolata per mezzo di una lettura effettuata con il lettore **CalFast Reader**.

MATERIALI FORNITI (QUANTITÀ SUFFICIENTE PER 20 TEST)

- Cassette di rilevazione: 20 cassette confezionate singolarmente in un sacchetto di alluminio contenente un desiccante. Le cassette sono monouso.
- Diluente: un flacone contenente 50 ml di soluzione pronta all'uso.
- **EasyCal** (ref. 79333): 20 dispositivi contenenti la soluzione di estrazione pronta all'uso. Il dispositivo è monouso.
- Controllo Positivo: una fiala con tappo rosso contenente 250 µl di controllo positivo, pronto all'uso. Non diluire. Il range dei valori è riportato in etichetta.
- Controllo Negativo: una fiala con tappo trasparente contenente 250 µl di controllo negativo, pronto all'uso. Non diluire. Il range dei valori è riportato in etichetta.
- Tappi: 20 tappi bianchi per **EasyCal**.
- Strip di calibrazione: 1 strip di carta con stampato il codice QR contenente la curva di calibrazione di riferimento. Lotto dipendente.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

- Cassetta: miscela di anticorpi monoclonali e policlonali e particelle d'oro colloidale coniugate (< 10 µg), detergenti (< 100 µl), BSA (< 500 µg), zuccheri e sali (< 500 µg), sodio azide (< 0,02% v/v, concentrazione finale successiva alla risospensione) adsorbiti su un supporto solido.
- Diluente: sali (< 200 mM), detergenti (< 1% v/v) e conservanti (< 0,05% v/v) in acqua dd.
- Soluzione all'interno di **EasyCal**: sali (< 500 mM), BSA (< 5% w/w), urea (< 3 M) e conservanti (< 0,05% v/v) in acqua dd.
- Controllo Positivo: soluzione di un anticorpo policlonale (< 1 mg/ml) nel diluente del campione.
- Controllo Negativo: soluzione di sali (< 200 mM), detergenti (< 1% v/v) e conservanti (< 0,05% v/v) non reattivi in acqua dd.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Provette in plastica per la diluizione dell'estratto fecale
- Miscelatore Vortex (o similare)
- Agitatore basculante
- Pipette di precisione con puntali monouso (10-200 µl e 1 ml)
- Centrifuga per microprovette
- Provette Eppendorf (o similari) per la diluizione degli estratti
- Timer
- Lettore **CalFast Reader** (ref. 9190)
- Set per il controllo qualità **CalFast NeXT** (set di controlli opzionale, ref. 9191NQ, lotto dipendente, 3 x Controllo Positivo e 3 x Controllo Negativo)

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ DEI REAGENTI

Tutti i componenti del kit sono stabili a 2-8 °C fino alla data di scadenza riportata sulle etichette.

STABILITÀ DOPO LA PRIMA APERTURA

Il Diluente del campione è stabile per 60 giorni dalla prima apertura nel proprio contenitore primario se conservato a 2-8 °C.

STABILITÀ AL TRASPORTO

Uno studio di stabilità accelerata certifica che tutti i componenti del dispositivo sono stabili dopo conservazione a 37 °C per 72 ore.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Trattare tutti i campioni dei pazienti come potenzialmente infettivi ed eliminare i rifiuti secondo la legislazione vigente. Si consiglia di trattare il materiale fecale come potenzialmente infetto.
- I dispositivi **EasyCal** e le Cassettes non possono essere riutilizzati. I reagenti non utilizzati devono essere conservati a 2-8 °C e utilizzati entro la data di scadenza riportata in etichetta.
- Attendere che i campioni di feci raggiungano la temperatura ambiente (18-25 °C) prima di effettuare il prelievo con **EasyCal**.
- Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente prima di iniziare l'analisi.
- Non esporre il kit a fonti di calore.
- Per ottenere risultati affidabili e quantitativi, è importante centrifugare gli estratti prima di procedere alla diluizione degli stessi.
- Qualora si usassero controlli di qualità supplementari (ref. 9191NQ), accertarsi che il lotto sia lo stesso del kit **CalFast NeXT** in uso.
- **EasyCal**: EUH208 contiene una miscela di: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). Può provocare una reazione allergica. EUH210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.
- Controlli Positivo e Negativo: EUH208 contiene una miscela di: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). Può provocare una reazione allergica. EUH210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.
- Diluente: EUH208 contiene una miscela di: 5-Chloro-2-methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). Può provocare una reazione allergica. EUH210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.
- In caso di danneggiamento della confezione esterna, assicurarsi che tutti i componenti elencati nella sezione "Materiali forniti" siano presenti e non danneggiati. Se ci dovessero essere perdite di liquido dai contenitori, il kit non deve essere utilizzato.
- Non scambiare componenti da lotti differenti di prodotto.
- I materiali di scarto generati dall'utilizzo del kit devono essere smaltiti come rifiuti speciali pericolosi e trattati nel rispetto delle normative locali.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio, indossare abbigliamento protettivo, utilizzare guanti monouso, occhiali e mascherina protettiva. Non mangiare, bere o fumare nell'area di lavoro.
- Il prodotto non contiene materiale di origine umana.
- In caso di incidenti contattare il produttore e l'autorità competente dello Stato in cui si trovano l'utilizzatore e/o il paziente.

PROCEDURA PER LA RACCOLTA DELLE FECI

La raccolta delle feci destinate all'uso con **CalFast NeXT** deve essere eseguita mediante il dispositivo **EasyCal** contenuto all'interno del kit.

A. Modalità di prelievo standard per feci di consistenza normale

1. Raccogliere un campione di feci in un contenitore sterile.
2. Estrarre l'astina sagomata del dispositivo ruotando il tappo a vite in senso antiorario.
3. Immergere la parte sagomata dell'astina nel campione di feci precedentemente raccolto.
4. Ruotare ripetutamente l'astina nel campione di feci fino a riempire tutte le scanalature di materiale fecale.
5. Prima di inserire l'asticella nel dispositivo, rimuovere l'eccesso grossolano di materiale fecale ruotando l'asticella sulla parete interna del contenitore primario delle feci.
6. Inserire completamente l'astina sagomata, attraverso l'imbuto (blu), all'interno della provetta contenente il liquido di estrazione e ruotare il tappo in senso orario fino alla completa chiusura tenendo fermo tra le dita l'imbuto (blu) onde evitarne l'apertura.

B. Modalità di prelievo per feci liquide o comunque di consistenza tale da non poter essere raccolte con il dispositivo EasyCal

1. È necessario avere a disposizione una pipetta da laboratorio.
2. Questa modalità richiede che venga prelevato un campione di 56 µl (microlitri) di feci liquide.
3. Estrarre l'astina sagomata e l'imbuto (blu) ruotando quest'ultimo in senso orario.
4. Dispensare direttamente le feci liquide all'interno del dispositivo di raccolta contenente la soluzione di estrazione.
5. Reinserire completamente l'astina sagomata (che non conterrà le feci) all'interno della provetta e ruotare l'imbuto (blu) in senso orario fino alla completa chiusura.

C. Modalità di prelievo per feci in assenza del dispositivo EasyCal

1. Se il laboratorio non dispone temporaneamente del dispositivo **EasyCal**, raccogliere il campione in un contenitore sterile e mantenerlo per non oltre 2 giorni a 2-8 °C. Se il periodo di conservazione a 2-8 °C supera i 2 giorni, il campione deve essere congelato a -20 °C per massimo 1 anno.
2. Quando il dispositivo **EasyCal** tornerà nuovamente disponibile, si potrà procedere al prelievo del campione secondo le modalità descritte precedentemente. Se il campione è stato congelato, lasciare che il campione raggiunga la temperatura ambiente (18-25 °C) prima di procedere al prelievo con il dispositivo.
3. Procedere dal punto 2 secondo la "Modalità di prelievo standard per feci di consistenza normale".

CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- È consigliabile che le feci vengano ricevute dal laboratorio ed estratte entro 3 giorni dalla raccolta del campione. La temperatura durante la spedizione dovrebbe rimanere inferiore ai 30 °C, si consiglia di conservare i campioni in un contenitore termico contenente elementi refrigeranti (piastre eutetiche refrigerate).
- Le feci possono essere conservate in laboratorio, nel loro contenitore originale, per un massimo di 2 giorni a 2-8 °C. Per conservazioni più lunghe è necessario congelare le feci a -20 °C. I campioni di feci congelati a -20 °C sono stabili fino a 1 anno e possono essere sottoposti fino a un massimo di 3 cicli di congelamento-scongelo.
- Si consiglia di processare immediatamente il dispositivo **EasyCal** contenente le feci. Nel caso non fosse possibile procedere immediatamente con la procedura di estrazione, il dispositivo **EasyCal** contenente il campione fecale può essere conservato a temperatura ambiente (18-25 °C) fino ad un massimo di 72 ore, altrimenti deve essere conservato a 2-8 °C (fino a 14 giorni). Qualora fosse necessario inviare al laboratorio il dispositivo **EasyCal** contenente il campione, si consiglia di conservarlo in un contenitore termico contenente elementi refrigeranti (piastre eutetiche refrigerate) per una corretta conservazione.

PROCEDURA DI ESTRAZIONE




1. Portare i campioni a temperatura ambiente (18-25 °C).
2. Agitare ciascun dispositivo **EasyCal** con un vortex per 30-60 secondi per omogeneizzare bene il contenuto prelevato. Se le scanalature dell'asta del dispositivo sono visibilmente prive di qualsiasi residuo di materiale fecale, procedere direttamente al punto 3, altrimenti ripetere l'agitazione al vortex per altri 30-60 secondi. Dopo un tempo massimale di agitazione al vortex di 120 secondi, procedere comunque al punto 3, indipendentemente dalla presenza o meno di residui di campione fecale nelle scanalature dell'asta del dispositivo.
 - 2.1 In alternativa, a seguito di una rapida miscelazione su vortex, i dispositivi tappati possono essere lasciati su agitatore basculante per 20 minuti.
3. Alla fine dell'agitazione, rimuovere l'asta col tappo (bianco) assieme all'imbuto (blu) ruotando quest'ultimo in senso orario. Chiudere la provetta con un nuovo tappo bianco in dotazione.
4. Centrifugare il campione per 10 minuti a 1000 - 3000 x g per eliminare eventuali particelle di materiale fecale residue. Dopo la centrifugazione, togliere il dispositivo dalla centrifuga.
5. L'estratto fecale è adesso pronto per essere analizzato.

CONSERVAZIONE DEGLI ESTRATTI

Alla fine della procedura di estrazione descritta precedentemente, l'estratto fecale risulterà stabile alle seguenti condizioni:

- Fino a 72 ore a temperature ambiente (18-25 °C).
- Fino a 14 giorni a 2-8 °C.
- Fino a 90 giorni a -20 °C. I campioni congelati possono essere utilizzati per un massimo di 4 cicli di congelamento/scongelo.

IMPOSTAZIONE DEL LETTORE CALFAST READER PRIMA DI ESEGUIRE IL TEST

1. Verificare che il **CalFast Reader** sia collegato al PC tramite l'apposito cavo USB in dotazione. Accendere il PC e fare doppio clic sull'icona del programma Client Reader, quindi inserire Nome Utente e Password.
2. Controllare che il numero di lotto indicato sia identico a quello riportato sull'etichetta del kit **CalFast NeXT** in uso, in caso contrario eseguire l'aggiornamento dei parametri secondo la seguente procedura:
 - 2.1 Inserire nell'alloggiamento cassetta dello strumento il codice a barre bi-dimensionale contenuto nella confezione di **CalFast NeXT**.
 - 2.2 Controllare la corretta inquadratura del codice a barre servendosi dell'apposito riquadro.
 - 2.3 Cliccare su  per la lettura del codice a barre. Tutte le informazioni relative al nuovo lotto vengono automaticamente inserite in tutti i campi presenti nel riquadro Informazioni Lotto.
 - 2.4 Memorizzare cliccando su .
 - 2.5 Uscire cliccando su .
3. Le operazioni descritte precedentemente dovranno essere eseguite ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di **CalFast NeXT**. Le informazioni memorizzate per un lotto di prodotto saranno mantenute fino alla utilizzazione di un nuovo lotto.



Per una descrizione più dettagliata si rimanda al Manuale d'Uso del **CalFast Reader**. Informazioni aggiuntive:

- Codice Lotto: evidenzia il codice del lotto in uso.
- Nome Kit: identifica il prodotto in uso (**CalFast**, **CalFast XT** o **CalFast NeXT**).
- Controllo Strip: può essere usato facoltativamente prima di avviare un'analisi. Quando attivato, compare l'immagine della cassetta da analizzare e viene eseguito un controllo sulla presenza della Linea di Controllo. Se è presente ed è posizionata correttamente, il display della concentrazione nel Client Reader riporterà "LEGGIBILE". In caso contrario (linea di controllo assente o posizionamento errato della cassetta), comparirà la scritta "ILLEGGIBILE".




COMPILAZIONE ANAGRAFICA CAMPIONE

1. Per avviare la procedura di lettura del test **CalFast NeXT**, è necessario inserire almeno una delle seguenti informazioni: Cognome, Nome, Data di nascita o Codice paziente.
2. Una volta compilati i dati relativi all'anagrafica del nuovo paziente, si accenderà il LED verde indicando che è possibile inserire la Cassetta nell'apposito alloggiamento del **CalFast Reader** e procedere alla lettura.
3. Inserire la Cassetta nel **CalFast Reader**, controllare il corretto posizionamento utilizzando il pulsante Controllo Strip (facoltativo).

PROCEDURA DEL TEST

1. Assicurarsi che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (18-25 °C).
2. Se i campioni da testare sono congelati, scongelarli e portarli a temperatura ambiente.
3. Diluire gli estratti fecali precedentemente preparati 1:300 (es. 5 µl campione + 1495 µl di Diluente). Mescolare bene (vortex per 10 sec).
4. Aprire il sacchetto contenente la cassetta e posizionare quest'ultima su un piano orizzontale.
5. Pipettare 100 µl di estratto diluito, oppure 100 µl di Controllo Positivo (pronto all'uso) o 100 µl di Controllo Negativo (pronto all'uso), e dispensarli direttamente nel pozzetto circolare della cassetta del test.
6. L'esecuzione del Controllo Positivo/Negativo è una procedura opzionale. Controlli positivi e negativi aggiuntivi, lotto dipendenti, possono essere acquistati separatamente (ref. 9191NQ).
7. Incubare a temperatura ambiente per 20 minuti.

LETTURA DEL TEST

- Se la cassetta risulta leggibile, avviare la lettura della cassetta premendo l'icona . Durante la lettura della cassetta si accende il LED giallo e l'icona  verrà sostituita dall'icona .
- Nel riquadro Controllo Strip è presente sia l'immagine "reale" della cassetta che l'Immagine Analizzata che viene utilizzata per eseguire i calcoli per determinare la concentrazione di calprotectina.
- Immagine Analizzata: è l'immagine sulla quale sono stati eseguiti i calcoli. Le linee rosse e blu delimitano il campo di lettura per il calcolo.
- Il lettore **CalFast Reader** esegue la lettura e riporta il risultato espresso in mg/kg o µg/g.
- Il Valore di Concentrazione letto viene salvato automaticamente ed associato ai dati anagrafici del campione.

VALIDAZIONE DEI RISULTATI

- Affinché un risultato sia valido, la banda di controllo (C) deve essere sempre visibile. Questa banda rappresenta soltanto un controllo funzionale del test e non può essere utilizzata per interpretare la banda di rilevazione (T).
- La quantità di calprotectina presente nel campione (Banda T) viene calcolata dai lettori **CalFast Reader**.
- Se compare solo la banda di rilevazione (T), il risultato non è valido e il dosaggio deve essere ripetuto con una cassetta nuova.
- Se non compaiono né la banda di controllo (C) né la banda di rilevazione (T), il risultato non è valido e il dosaggio deve essere ripetuto con una nuova cassetta. Nota: I lettori **CalFast Reader** hanno la possibilità di effettuare un controllo Strip (facoltativo) per verificare che la cassetta sia leggibile.
- I risultati ottenuti con il Controllo Positivo ed il Controllo Negativo devono rientrare all'interno degli intervalli di concentrazione indicati sulla relativa etichetta. Controlli supplementari lotto dipendenti possono essere acquistati separatamente (ref. 9191NQ).

TRACCIABILITÀ METROLOGICA

Per garantire la tracciabilità metrologica di **CalFast NeXT**, i valori di concentrazione di calibratori e controlli sono stati confrontati con gli intervalli di riferimento definiti internamente.

RISULTATI OTTENUTI CON IL LETTORE CALFAST READER

I lettori **CalFast Reader** utilizzano una curva standard lotto specifica per calcolare la concentrazione di calprotectina. I valori di concentrazione di calprotectina ottenuti con i lettori **CalFast Reader** verranno riportati come indicato nella seguente tabella:

Concentrazione di calprotectina	Concentrazione di calprotectina riportata sul display dei lettori CalFast
0 - 50 µg/g	< 50 µg/g
51 - 2.100 µg/g	51 - 2.100 µg/g
> 2.101 µg/g	> 2.100 µg/g

INTERVALLO DI RIFERIMENTO ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Eurospital ha effettuato uno studio interno per determinare il cutoff del kit **CalFast NeXT** ed i risultati sono riportati nella tabella seguente:

Concentrazione di calprotectina	Interpretazione	Follow-Up
< 70 µg/g	Normale	Nessuno
70 - 140 µg/g	Borderline	Rivalutare dopo 4-6 settimane
> 140 µg/g	Non Normale	Ripetere come da indicazione clinica

I campioni con una concentrazione di calprotectina superiore a 140 µg/g devono essere considerati positivi al test **CalFast NeXT** ed essere sottoposti ad ulteriori indagini cliniche per determinare la causa dell'aumentata concentrazione della calprotectina. Negli adulti sani, il valore medio rilevabile è di circa 25 µg/g. Questo valore, se ottenuto con il lettore **CalFast Reader** verrebbe indicato come < 50 mg/kg. Nelle popolazioni adulta e pediatrica i livelli di calprotectina fecale sono paragonabili, mentre i livelli riscontrati nei primi mesi di vita dei neonati possono essere significativamente superiori^{2, 4,7,11,12,13}.

LIMITI

- Pazienti che assumono Farmaci Anti-Infiammatori Non Steroidei (FANS o NSAIDs) possono avere un livello di calprotectina superiore alla norma^{9,18,24}.
- Pazienti con MICI (IBD) fluttuano tra stadi attivi (infiammazione) e inattivi della patologia²⁵. Queste fasi devono essere tenute in considerazione quando si esegue il test **CalFast NeXT**.
- L'uso di Inibitori di Pompe Protoniche (IPP)²⁴ e la presenza di coliti microscopiche^{21,22} o malattie diverticolari²³ possono portare ad un aumento dei livelli di calprotectina^{19,20}. Pazienti affetti da celiachia non in cura, possono occasionalmente avere livelli di calprotectina alti^{19,20}.
- Altre disfunzioni intestinali, incluse infezioni gastrointestinali^{15,16,17} e tumori del colon-retto^{13,14,22}, possono aumentare i livelli di calprotectina. Campioni da questi pazienti possono risultare positivi al test **CalFast NeXT** pertanto, la diagnosi di MICI (IBD) attiva, non può essere basata unicamente sulla positività al saggio **CalFast NeXT**.
- La calprotectina fecale è un indicatore della presenza di neutrofili nelle feci e non è specifica per le MICI (IBD)²⁶.

PRESTAZIONI ANALITICHE

Linearità

Lo studio di Linearità è stato eseguito in accordo alla Linea Guida CLSI EP06 2nd Edition. Questo studio ha mostrato risultati accettabili sia per la linearità che per l'accuratezza del kit **CalFast NeXT** per concentrazioni di calprotectina comprese nell'intervallo 40 µg/g - 2100 µg/g.

Limite del Bianco (LoB), Limite di Rilevabilità (LoD) e Limite di Quantificazione (LoQ)

Gli studi di LoB, LoD e LoQ sono stati eseguiti in accordo alla Linea Guida CLSI EP17-A. I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente:

LoB	17,7 µg/g
LoD	29,4 µg/g
LoQ	35,0 µg/g

Studio di valutazione della Precisione Single-Site

Lo studio è stato condotto testando 6 differenti campioni di feci (4 positivi, 1 nella zona del cutoff e 1 negativo); ciascun estratto è stato testato in 3 replicati per due corse al giorno, per 20 giorni. I CV % ottenuti sono uguali o inferiori al 20%. I risultati sono presentati nella tabella seguente:

ID #	N	Media (µg/g)	Within Run		Between Run		Between Day		Totale	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
1	120	56,0	6,9	12,4%	3,1	5,5%	2,9	5,1%	7,6	13,6%
2	120	75,9	10,5	13,8%	2,9	3,8%	3,0	3,9%	10,8	14,3%
3	120	238,0	29,5	12,4%	7,2	3,0%	9,4	4,0%	30,4	12,8%
4	120	446,6	58,9	13,2%	12,8	2,9%	19,3	4,3%	60,4	13,5%
5	120	783,5	87,8	11,2%	14,8	1,9%	20,4	2,6%	89,2	11,4%
6	120	1559,2	300,0	19,2%	0,0	0,0%	28,9	1,9%	290,9	18,7%

Studio di valutazione della Precisione Inter-Lotto

Lo studio è stato condotto estraendo 6 differenti campioni di feci (4 positivi, 1 nella zona del cutoff e 1 negativo) e testando 5 replicati di ciascun campione per una corsa al giorno, per 5 giorni, usando 3 lotti differenti di **CalFast NeXT**. I valori di CV % devono essere uguali o inferiori al 20%. I risultati sono presentati nella tabella seguente:

ID #	N	Media (µg/g)	Ripetibilità		Within Lot		Between Lot		Riproducibilità	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
A	75	54,4	6,2	11,4%	7,1	13,1%	5,9	10,9%	9,2	17,0%
B	75	66,4	8,3	12,6%	9,0	13,6%	7,6	11,4%	11,7	17,7%
C	75	277,6	34,3	12,4%	39,0	14,1%	0,0	0,0%	39,0	14,1%
D	75	409,8	44,8	10,9%	52,4	12,8%	16,1	3,9%	54,8	13,4%
E	75	764,7	109,6	14,3%	127,5	16,7%	0,0	0,0%	127,5	16,7%
F	75	1326,3	182,6	13,8%	184,7	13,9%	41,1	3,1%	189,2	14,3%

Studio degli Interferenti e Cross-reattivi

Lo studio sugli Interferenti e Cross-reattivi è stato condotto per determinare se sostanze potenzialmente interferenti o cross reattive possano danneggiare le prestazioni del **CalFast NeXT**. Le molecole testate sono elencate nella tabella seguente e, alle concentrazioni testate, non risultano avere effetti sulla quantificazione di calprotectina in campioni fecali mediante **CalFast NeXT**.

Interferente/cross-reattivo	Quantità testata / 50 mg feci
Emoglobina	5,83 mg
Vancomicina	0,67 mg
Ciprofloxacina	0,50 mg
Prevacid	0,02 mg
Azatioprina	0,07 mg
Prednisone	0,01 mg
5- acido aminosalicilico	1,33 mg
Vitamina A	8 IU
Vitamina D	1,1 IU

Vitamina C	0,05 mg
Vitamina E	0,10 mg
Solfato di Bario	0,25 mg
Loperamide HCl	0,34 µg
Subsalicilato di bismuto	0,04 mg
Metronidazolo	0,63 mg
Mucina	0,17 mg
Idrossido di alluminio + Idrossido di magnesio	0,21 mg
Acido palmitico	0,07 mg
Acido stearico	0,13 mg
Glicole polietilenico 3350	3,95 mg
Omeprazolo	0,03 mg
S100A12 protein	1,05 µg
Simeticone	0,03 mg
Cimetidina	0,03 mg
Carbonato di calcio	0,03 mg

PRESTAZIONI CLINICHE

Lo studio clinico per il test **CalFast NeXT** ha incluso 81 campioni di cui, 42 provenienti da pazienti affetti dalla malattia di Crohn, colite ulcerosa, intermedia e microscopica e 39 campioni di controllo negativo provenienti da pazienti con sindrome da intestino irritabile (SII o IBS), dolori addominali ricorrenti (DAR) e altre patologie. I pazienti sono stati diagnosticati sulla base di evidenze cliniche e/o analisi di laboratorio (es. colonscopia). Per supportare l'informazione clinica, i campioni utilizzati per lo studio sono stati precedentemente testati con **Calprest NG** IVD. Le tabelle sottostanti dimostrano la performance clinica del test **CalFast NeXT**.

Valori Borderline considerati Positivi				
		CalFast NeXT (cutoff = 70 µg/g)		
		Positivi	Negativi	Tot
Diagnosi clinica	IBD	42	0	42
	NON IBD	12	27	39
	Totale	54	27	81
Sensibilità		100,0%	95% CI* (91,6% - 100,0%)	
Specificità		69,2%	95% CI* (53,6% - 81,4%)	
VPP**		76,5%	95% CI* (67,0% - 83,9%)	
VPN***		100,0%	95% CI* (100,0% - 100,0%)	

*CI = Intervallo di confidenza (Mercardo-Wald)

**VPP = Valore Predittivo Positivo

***VPN = Valore Predittivo Negativo

Valori Borderline considerati Negativi				
		CalFast NeXT (cutoff = 140 µg/g)		
		Positivi	Negativi	Tot
Diagnosi clinica	IBD	40	2	42
	NON IBD	4	35	39
	Totale	44	37	81
Sensibilità		95,2%	95% CI* (84,2% - 98,7%)	
Specificità		89,7%	95% CI* (76,4% - 95,9%)	
VPP**		90,9%	95% CI* (79,8% - 96,2%)	
VPN***		94,6%	95% CI* (81,8% - 98,5%)	

*CI = Intervallo di confidenza (Mercardo-Wald)

**VPP = Valore Predittivo Positivo

***VPN = Valore Predittivo Negativo

Dosage immunochromatographique rapide pour la détection quantitative de la calprotectine de échantillons fécaux humains pour aider au diagnostic de l'IBD et pour différencier l'IBD de l'IBS

REF 9191NT

UTILISATION PRÉVUE

CalFast® NeXT est un test immunochromatographique pour la détermination quantitative de la calprotectine dans les selles. L'extraction des échantillons s'effectue via un appareil dédié (**EasyCal®**) et le résultat du test est calculé à l'aide du lecteur **CalFast® Reader** (ref. 9190). **CalFast NeXT** est destiné exclusivement à un usage professionnel comme support pour le diagnostic des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI ou IBD), la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique, et pour les distinguer du syndrome du côlon irritable (SII ou IBS) ainsi que l'interprétation du résultat du test aux informations cliniques du patient et à d'autres tests de laboratoire.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La calprotectine est un hétérodimère de 36 kDa appartenant à la famille des protéines S100. Elle est produite par des cellules polymorphonucléaires, des monocytes et des cellules épithéliales, ayant un effet antimicrobien et jouant un rôle dans la réponse immunitaire innée^{1,2}. La calprotectine peut être détectée dans divers échantillons biologiques tels que le plasma, le sérum, le liquide synovial et les fèces, proportionnellement au niveau d'inflammation existant³. L'utilisation de la calprotectine comme marqueur biologique a été étudiée dans les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI), ainsi que dans d'autres maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde et le cancer colorectal^{4,12}.

PRINCIPE DU TEST

CalFast NeXT est un test immunochromatographique qui utilise un mélange d'anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre la calprotectine. La calprotectine présente dans l'échantillon se lie à l'anticorps anti-calprotectine conjugué à l'or colloïdal. Le complexe ainsi formé migre et se fixe sur l'anticorps anti-calprotectine présent dans la zone réactionnelle (zone T), tandis que les anticorps conjugués non liés vont se fixer dans la zone témoin (zone C). La concentration de calprotectine présente dans l'échantillon est calculée au moyen d'une lecture effectuée avec les lecteurs **CalFast Reader**.

MATÉRIEL FOURNI (QUANTITÉ SUFFISANTE POUR 20 TESTS)

- Cassettes de détection: 20 cassettes emballées individuellement dans un sachet en aluminium contenant un dessiccateur. Les cassettes sont à usage unique.
- Diluant: un flacon contenant 50 ml de solution prête à l'emploi.
- **EasyCal** (ref. 79333), dispositifs de collecte et d'extraction de selles: 20 dispositifs contenant la solution d'extraction prête à l'emploi. L'appareil est à usage unique.
- Contrôle Positif: un flacon contenant 250 µl de contrôle positif, prêt à l'emploi. Ne pas diluer. La plage de valeurs est indiquée sur l'étiquette.
- Contrôle Négatif: un flacon contenant 250 µl de contrôle négatif, prêt à l'emploi. Ne pas diluer. La plage de valeurs est indiquée sur l'étiquette.
- Bouchons: 20 bouchons pour le dispositif de collecte de selles **EasyCal**.
- Bande d'étalonnage: 1 bande de papier avec QR code imprimé contenant la courbe d'étalonnage de référence (celle-ci est dépendante du lot).

COMPOSITION DES RÉACTIFS

- Cassette: mélange d'anticorps monoclonaux et polyclonaux et de particules d'or colloïdal conjugué (<10 g), détergents (<100 l), BSA (<500 g), sucres et sels (<500 g), azoture de sodium (<0,02% v/v, concentration finale après remise en suspension) adsorbés sur un support solide.
- Diluant: sels (<200 mM), détergents (<1% v/v) et conservateurs (<0.05% v/v) dans l'eau dd.
- Solution au sein d'**EasyCal**: sels (<500 mM), BSA (<5% w/w), urée (<3 M) et conservateurs (<0.05% v/v) dans l'eau dd.
- Contrôle Positif: solution d'un anticorps polyclonal (<1 mg/ml) dans le diluant de l'échantillon.
- Contrôle Négatif: solution de sels (<200 mM), détergents (<1% v/v) et conservateurs (<0.05% v/v) non réactifs dans l'eau dd.

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Tubes à essai en plastique pour la dilution d'extrait fécal
- Mélangeur Vortex (ou similaire)
- Agitateur inclinable
- Pipettes de précision avec embouts jetables (10-200 µl et 1 ml)
- Centrifugeuse pour microtubes
- Tubes Eppendorf (ou similaires) pour la dilution des extraits
- Minuterie
- Lecteur **CalFast Reader** (ref. 9190)
- Set de contrôle qualité **CalFast NeXT** quality control (set de contrôle en option, ref. 9191NQ, lot dépendant, 3 x Contrôle Positif et 3 x Contrôle Négatif)

STOCKAGE ET DATE DE PÉREMPTION DES RÉACTIFS

Tous les composants du kit sont stables à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes.

STABILITÉ APRÈS PREMIÈRE OUVERTURE

Le diluant d'échantillon est stable pendant 60 jours après la première ouverture dans son récipient primaire lorsqu'il est conservé à 2-8 °C.

STABILITÉ DES TRANSPORTS

Dans une étude de stabilité accélérée, tous les composants du dispositif se sont avérés stables après stockage à 37 °C pendant 72 heures.

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Tous les échantillons de patients doivent être traités comme des risques biologiques potentiels et doivent être manipulés et éliminés conformément à la législation locale des laboratoires. Il est conseillé manipuler les selles en tant que matières potentiellement infectieuses.
- **EasyCal** et Casette sont à usage unique. Les réactifs non utilisés doivent être conservés entre 2 et 8 °C et utilisés avant la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
- Attendez que les échantillons de selles atteignent la température ambiante (18-25 °C) avant de commencer le prélèvement avec **EasyCal**.
- Attendez que tous les réactifs et les échantillons de selles extraits atteignent la température ambiante avant de commencer le test.
- N'exposez pas le kit à une source de chaleur.
- Afin d'obtenir des résultats quantitatifs fiables, il est obligatoire de centrifuger les extraits avant de procéder à leur dilution.
- Lors de l'utilisation de contrôles de qualité supplémentaires (ref. 9191NQ), s'assurer que le lot est le même que le kit **CalFast NeXT** utilisé.
- **EasyCal**: EUH208 Contient un mélange de: 5-Chloro-2-méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). Peut déclencher une réaction allergique. EUH210 Fiche de données de sécurité disponible sur demande.
- Contrôles positifs et négatifs: EUH208 Contient un mélange de: 5-Chloro-2-méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC n° 220-239-6] (3:1). Peut déclencher une réaction allergique. EUH210 Fiche de données de sécurité disponible sur demande.
- Diluant: EUH208 Contient un mélange de: 5-Chloro-2-méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-Méthyl-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1). Peut déclencher une réaction allergique. EUH210 Fiche de données de sécurité disponible sur demande.
- En cas de dommages externes à l'emballage, assurez-vous que tous les composants répertoriés dans les « Matériaux fournis » avec le kit sont présents et en bon état. En cas de fuite de liquide des flacons, le kit ne doit pas être utilisé.
- N'interchangez pas les composants de différents lots de produits.
- Les déchets générés par l'utilisation du kit doivent être éliminés comme des déchets spéciaux dangereux et traités conformément aux lois locales.
- Suivez les bonnes pratiques de laboratoire, portez des vêtements de protection, utilisez des gants jetables, des lunettes et un masque. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.
- Le produit n'utilise pas de matériaux d'origine humaine.
- Tout incident grave doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PROCÉDURE POUR LA COLLECTE DES SELLES

La collecte des matières fécales destinées à être utilisées avec **CalFast NeXT** doit être effectuée à l'aide d'**EasyCal**, un dispositif de collecte contenu dans le kit.

A. Procédure d'échantillonnage standard pour les selles de consistance normale

1. Recueillir un échantillon de selles dans un récipient stérile.
2. Extraire la tige profilée de l'appareil en tournant le bouchon à vis dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.
3. Immerger la partie profilée de la tige dans l'échantillon de selles préalablement collecté.
4. Faire tourner la jauge à plusieurs reprises dans l'échantillon de selles jusqu'à ce que toutes les rainures soient remplies de matières fécales.
5. Avant d'insérer la tige dans l'appareil, retirer l'excès grossier de matière en faisant tourner la tige sur la paroi interne du conteneur principal de matières fécales.
6. Insérer complètement la tige profilée, à travers l'entonnoir (bleu), dans le tube contenant le liquide d'extraction et tournez le bouchon dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il soit complètement fermé, en tenant l'entonnoir (bleu) entre les doigts afin d'éviter qu'il ne se ouvre.

B. Méthode de collecte des selles liquides ou d'une consistance telle qu'elles ne peuvent pas être collectées avec le dispositif EasyCal

1. Une pipette de laboratoire est nécessaire pour préparer l'échantillon.
2. Ce mode nécessite le prélèvement d'un échantillon de 56 µl (microlitres) de selles liquides.
3. Extraire la tige profilée et l'entonnoir (bleu) en tournant ce dernier dans le sens horaire.
4. Pipeter les matières fécales liquides directement dans le dispositif de collecte contenant la solution d'extraction.
5. Réinsérer complètement la tige profilée (qui ne contiendra pas les matières fécales) à l'intérieur du tube et faites tourner l'entonnoir (bleu) dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il soit complètement fermé.

C. Mode de collecte des selles en l'absence du dispositif

1. Si le laboratoire ne dispose pas temporairement du dispositif **EasyCal**, prélever l'échantillon dans un récipient stérile et conserver pendant 2 jours maximum à 2-8 °C. Si la durée de conservation à 2-8 °C dépasse 2 jours, l'échantillon doit être congelé à -20 °C.
2. Lorsque l'appareil **EasyCal** est à nouveau disponible, l'échantillon peut être prélevé comme décrit ci-dessus. Si l'échantillon a été congelé, laissez-le atteindre la température ambiante avant de prélever avec l'appareil.
3. Procéder à partir de l'étape 2 selon la "Procédure d'échantillonnage standard pour les selles de consistance normale".

STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

- Il est recommandé que les selles soient reçues par le laboratoire et extraites dans les 3 jours suivant le prélèvement de l'échantillon. La température pendant l'expédition doit rester en dessous de 30 °C, il est recommandé de stocker les échantillons dans un conteneur thermique contenant des éléments réfrigérants (plaques eutectiques réfrigérées).
- Les selles peuvent être conservées au laboratoire, dans leur contenant d'origine, jusqu'à 2 jours à 2-8 °C. Pour un stockage plus long, il est nécessaire de congeler. Je l'ai faite à -20 °C. Les échantillons de selles congelés à -20 °C sont stables jusqu'à 1 an et peuvent être soumis à jusqu'à 3 cycles de gel-dégel.
- Il est recommandé de traiter immédiatement le dispositif **EasyCal** contenant des matières fécales. S'il n'est pas possible de procéder immédiatement à la procédure d'extraction, le dispositif **EasyCal** contenant l'échantillon fécal peut être conservé à température ambiante (18-25 °C) jusqu'à un maximum 72 heures, sinon il doit être conservé à 2-8 °C (jusqu'à 14 jours). S'il est nécessaire d'envoyer l'appareil **EasyCal** contenant le échantillon, il est conseillé de le conserver dans un récipient thermique contenant des éléments réfrigérants (plaques eutectiques réfrigérées) pour une bonne conservation.

PROCÉDURE D'EXTRACTION




1. Amener les échantillons à température ambiante.
2. Secouer chaque dispositif **EasyCal** avec un vortex pendant 30 à 60 secondes pour bien homogénéiser le contenu. Si les rainures de l'arbre de l'appareil sont visiblement exemptes de matières fécales résiduelles, passer directement à l'étape 3, sinon répéter le vortex pendant 30 à 60 secondes supplémentaires. Après un temps de vortex maximum de 120 secondes, passer à l'étape 3, indépendamment de la présence ou de l'absence de résidu d'échantillon fécal.
 - 2.1 Alternativement, après un mélange rapide sur vortex, les dispositifs bouchés peuvent être laissés sur un agitateur à bascule pendant 20 minutes.
3. À la fin de l'agitation, retirer la tige avec le capuchon (blanc) ainsi que l'entonnoir (bleu) en tournant ce dernier dans le sens des aiguilles d'une montre. Fermer le tube avec le bouchon blanc fourni.
4. Centrifuger l'échantillon pendant 10 minutes à 1000 - 3000 x g pour éliminer toutes les particules fécales restantes. Après centrifugation, retirer l'appareil de la centrifugeuse.
5. L'extrait fécal est maintenant prêt à être analysé.

STOCKAGE DES EXTRAITS

À l'issue de la procédure d'extraction décrite ci-dessus, l'extrait fécal sera stable dans les conditions suivantes:

- Jusqu'à 72 heures à température ambiante.
- Jusqu'à 14 jours à 2-8 °C.
- Jusqu'à 90 jours à -20 °C. Les échantillons congelés peuvent être utilisés pour un maximum de 4 cycles de congélation/décongélation.

CONFIGURATION DU LECTEUR CALFAST READER AVANT TEST

1. Vérifier que le **CalFast Reader** est connecté au PC à l'aide du câble USB fourni. Allumer le PC et double-cliquer sur l'icône du programme Client Reader, puis entrez le nom d'utilisateur et le mot de passe.
2. Vérifier que le numéro de lot indiqué est identique à celui figurant sur l'étiquette du kit **CalFast NeXT** utilisé, sinon, mettre à jour les paramètres selon la procédure suivante:
 - 2.1 Insérer le code-barres bidimensionnel contenu dans le boîtier de la cassette de l'instrument dans la boîte **CalFast NeXT**.
 - 2.2 Vérifier le bon encadrement du code-barres en utilisant la case appropriée.
 - 2.3 Cliquer sur  pour lire le code-barres. Toutes les informations sur le nouveau lot viennent saisies automatiquement dans tous les champs de la case Informations sur le lot.
 - 2.4 Enregistrer en cliquant sur .
 - 2.5 Quitter en cliquant sur .
3. Les opérations décrites ci-dessus doivent être effectuées à chaque utilisation d'un nouveau lot de **CalFast NeXT**. Les informations stockées pour un lot de produits seront conservées jusqu'à ce qu'un nouveau lot soit utilisé.

Pour une description plus détaillée, veuillez vous référer au manuel d'utilisation de **CalFast Reader**.
Information additionnelle:

- Code de lot: met en évidence le code de lot utilisé.
- Nom du kit: identifie le produit utilisé (**CalFast**, **CalFast XT** ou **CalFast NeXT**).
- Vérifier la bande: peut être utilisée en option avant de démarrer une analyse. Lorsqu'elle est activée, l'image de la cassette à analyser apparaît et un contrôle est effectué sur la présence de la Ligne de contrôle. S'elle est présente et correctement positionnée, l'affichage de la concentration dans le Client Reader indiquera "LISIBLE". Sinon (ligne de contrôle absente ou mauvais positionnement de la cassette), le message "ILLISIBLE" apparaîtra.

ENTRER LES DONNÉES DU ÉCHANTILLON




1. Pour démarrer la procédure de lecture du test **CalFast NeXT**, au moins l'une des informations suivantes doit être saisie: nom, prénom, date de naissance ou code patient.
2. Une fois les données relatives au registre du nouveau patient renseignées, la LED verte s'allumera indiquant qu'il est possible d'insérer la cassette dans l'emplacement approprié et de procéder à la lecture.
3. Insérer la cassette, vérifier le bon positionnement à l'aide du bouton Vérifier la bande (optionnel).



PROCÉDURE DE TEST

1. S'assurez que tous les réactifs atteignent la température ambiante (18-25 °C).
2. Si les échantillons à tester sont congelés, décongelez-les et amenez-les à température ambiante.
3. Diluer les extraits fécaux préalablement préparés au 1:300 (par exemple 5 µl d'échantillon + 1,495 µl de Diluant). Bien mélanger (vortexer pendant 10 sec).
4. Ouvrir le sachet contenant la cassette et placer cette dernière sur un plan horizontal.
5. Pipeter 100 µl d'extrait dilué, ou 100 µl de Contrôle Positif (prêt à l'emploi) ou 100 µl de Contrôle Négatif (prêt à l'emploi), et les distribuer directement dans le puits circulaire de la cassette de test.
6. L'exécution du Contrôle Positif / Négatif est une procédure facultative. Des contrôles positifs et négatifs supplémentaires, dépendant du lot, peuvent être achetés séparément (ref. 9191NQ).
7. Incuber à température ambiante pendant 20 minutes.

PROCÉDURE DU TEST

1. Si la cassette est lisible, lancer la lecture de la cassette en appuyant sur l'icône . Pendant la lecture de la cassette, la LED jaune et l'icône s'allument et l'icône  sera remplacée par l'icône .
2. Dans la boîte de contrôle de bande, il y a à la fois l'image "réelle" de la cassette et l'image analysée qui est utilisée pour effectuer les calculs pour déterminer la concentration de calprotectine.
3. Image analysée: c'est l'image sur laquelle les calculs ont été effectués. Les lignes rouges et bleues délimitent le champ de lecture pour le calcul.
4. Le lecteur **CalFast Reader** effectue la lecture et rapporte le résultat en mg/kg ou µg/g.
5. La valeur de concentration lue est automatiquement enregistrée et associée aux données personnelles de l'échantillon.

VALIDATION DES RÉSULTATS

- Pour qu'un résultat soit valide, la bande de contrôle (C) doit toujours être visible. Cette bande n'est qu'un contrôle fonctionnel du test et ne peut pas être utilisée pour interpréter la bande de détection (T).
- La quantité de calprotectine présente dans l'échantillon (T-Band) est calculée par les **CalFast Reader**.
- Si seule la bande de détection (T) apparaît, le résultat est invalide et le dosage doit être répété avec une nouvelle cassette.
- Si ni la bande de contrôle (C) ni la bande de détection (T) n'apparaissent, le résultat est invalide et le dosage doit être répété avec une nouvelle cassette. Remarque: les lecteurs **CalFast Reader** peuvent vérifier si la bande est bien lue au moyen de la fonction "vérifier la bande" (facultatif).
- Les résultats obtenus avec le contrôle positif et le contrôle négatif doivent se situer dans les plages de concentration indiquées sur l'étiquette correspondante. Des contrôles supplémentaires dépendant du lot peuvent être achetés séparément (ref. 9191NQ).

TRAÇABILITÉ MÉTROLOGIQUE

Afin de garantir la traçabilité métrologique de **CalFast NeXT**, les valeurs de concentration enregistrées pour les points d'étalonnage et les contrôles sont comparées aux valeurs de la plage de référence définies en interne.

RÉSULTATS OBTENUS PAR LE LECTEUR CALFAST

Les lecteurs **CalFast Reader** utilisent une courbe standard spécifique à un lot pour calculer la concentration de calprotectine. Les valeurs de concentration de calprotectine obtenues avec les lecteurs **CalFast Reader** seront rapportées comme indiqué dans le tableau suivant:

Concentration de calprotectine	Concentration de calprotectine signalée sur l'écran des lecteurs CalFast Reader
0 - 50 µg/g	< 50 µg/g
51 - 2100 µg/g	51 - 2100 µg/g
> 2101 µg/g	> 2100 µg/g

L'INTERVALLE DE RÉFÉRENCE ET D'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Eurospital a réalisé une étude interne pour déterminer le seuil du kit **CalFast NeXT** et les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

Concentration de calprotectine	Interprétation	Suivre
< 70 µg/g	Normal	Aucun
70 - 140 µg/g	Borderline	Ré-analyser dans un délai de 4-6 semaines
> 140 µg/g	Anormal	Répéter selon les indications cliniques

Eurospital évaluera l'introduction d'une zone limite lorsque l'étude de validation clinique sera terminée. Les échantillons avec une concentration supérieure à 70 µg/g doivent être considérés comme positifs par le test **CalFast NeXT** et faire l'objet d'une enquête clinique plus approfondie pour déterminer la cause de l'augmentation de la concentration de calprotectine. Chez l'adulte sain, la valeur moyenne détectable est d'environ 25 µg/g. Cette valeur, si elle était obtenue avec le lecteur **CalFast Reader**, serait signalée comme <50 µg/g. Dans les populations adultes et pédiatriques, les niveaux de calprotectine fécale sont comparables, tandis que les niveaux trouvés dans les premiers mois de vie des nouveau-nés peuvent être significativement plus élevés^{2, 5, 8, 13, 14, 15}.

LIMITES

- Les patients qui prennent des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS ou NSAIDs) peuvent avoir des taux de calprotectine fécale supérieurs à la normale^{9,18,24}.
- Les patients atteints de MICI oscillent entre les stades actif (inflammatoire) et inactif de la maladie²⁵. Ces étapes doivent être prises en compte lors de l'utilisation du **CalFast NeXT**.
- L'utilisation d'inhibiteurs de la pompe à protons (IPP)²⁴, ainsi que la présence de colite microscopique^{21,22} et de maladie diverticulaire²³, peuvent également conduire à une élévation de la calprotectine niveau. Les patients atteints de maladie cœliaque non traitée peuvent parfois présenter des valeurs élevées de calprotectine^{19,20}.
- D'autres troubles intestinaux, y compris de nombreuses infections gastro-intestinales^{15,16,17} et le cancer colorectal^{13,14,22}, peuvent entraîner des niveaux élevés de calprotectine. Ces échantillons seront testés positifs avec le test **CalFast NeXT**. Par conséquent, un diagnostic de MII active ne peut être établi sur la seule base d'un résultat positif avec le test **CalFast NeXT**.
- La calprotectine fécale est un indicateur de la présence de neutrophiles dans les selles et n'est pas spécifique des SII (IBD)²⁶.

PERFORMANCE ANALYTIQUE

Linéarité

L'étude de linéarité a été réalisée conformément à la directive CLSI EP06 2^{ème} édition. L'évaluation des plages de linéarité de **CalFast NeXT** a montré des résultats acceptables pour la linéarité et précision des concentrations de calprotectine dans la plage de 40 à 2 100 µg/g.

Limite de blanc (LoB), limite de détection (LoD) et limite de quantification (LoQ)

Les études LoB, LoD et LoQ ont été réalisées conformément à la directive CLSI EP17-A. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

LoB	17,7 µg/g
LoD	29,4 µg/g
LoQ	35,0 µg/g

Étude d'évaluation de la précision sur un seul site

L'étude a été menée en extrayant 6 échantillons de selles différents (4 positifs, 1 dans la zone seuil et 1 négatif) et en testant 3 réplicats de chaque échantillon pour deux analyses par jour, pendant 20 jours. Les valeurs de CV% doivent être égales ou inférieures à 20%. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

ID #	N	Moyenne (µg/g)	Dans l'exécution		Entre courir		Entre Jour		Total	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
1	120	56,0	6,9	12,4%	3,1	5,5%	2,9	5,1%	7,6	13,6%
2	120	75,9	10,5	13,8%	2,9	3,8%	3,0	3,9%	10,8	14,3%
3	120	238,0	29,5	12,4%	7,2	3,0%	9,4	4,0%	30,4	12,8%
4	120	446,6	58,9	13,2%	12,8	2,9%	19,3	4,3%	60,4	13,5%
5	120	783,5	87,8	11,2%	14,8	1,9%	20,4	2,6%	89,2	11,4%
6	120	1559,2	300,0	19,2%	0,0	0,0%	28,9	1,9%	290,9	18,7%

Étude d'évaluation de la précision inter-lotto

L'étude a été menée en extrayant 6 échantillons de selles différents (4 positifs, 1 dans la zone seuil et 1 négatif) et en testant 5 réplicats de chaque échantillon pour une analyse par jour, pendant 5 jours, en utilisant 3 lots différents de **CalFast NeXT**. Les valeurs de CV% doivent être égales ou inférieures à 20%. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant:

ID #	N	Moyenne (µg/g)	Répétabilité		Dans Lot		Entre Lot		Reproductibilité	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
A	75	54,4	6,2	11,4%	7,1	13,1%	5,9	10,9%	9,2	17,0%
B	75	66,4	8,3	12,6%	9,0	13,6%	7,6	11,4%	11,7	17,7%
C	75	277,6	34,3	12,4%	39,0	14,1%	0,0	0,0%	39,0	14,1%
D	75	409,8	44,8	10,9%	52,4	12,8%	16,1	3,9%	54,8	13,4%
E	75	764,7	109,6	14,3%	127,5	16,7%	0,0	0,0%	127,5	16,7%
F	75	1326,3	182,6	13,8%	184,7	13,9%	41,1	3,1%	189,2	14,3%

Étude des interférences

L'étude Interferent a été menée pour déterminer si des substances potentiellement interférentes pouvaient nuire aux performances du **CalFast NeXT**. Les molécules testées sont répertoriées dans le tableau ci-dessous et, aux concentrations testées, n'ont pas interféré avec la quantification de la calprotectine dans les échantillons fécaux par **CalFast NeXT**.

Interférer	Quantité testée / 50 mg selles
Hémoglobine	5,83 mg
Vancomycine	0,67 mg
Ciprofloxacine	0,50 mg
Prevacid	0,02 mg
Azathioprine	0,07 mg
Prednisone	0,01 mg
acide 5-aminosalicylique	1,33 mg
Vitamine A	8 IU
Vitamine D	1,1 IU
Vitamine C	0,05 mg
Vitamine E	0,10 mg
Sulfate de baryum	0,25 mg
Lopéramide HCl	0,34 µg
Sous-salicylate de bismuth	0,04 mg
Métronidazole	0,63 mg
Mucine	0,17 mg
Hydroxyde d'aluminium + Hydroxyde de magnésium	0,21 mg
L'acide palmitique	0,07 mg
Acide stéarique	0,13 mg
Polyéthylène glycol	3,95 mg
Oméprazole	0,03 mg
Protéine S100A12	1,05 µg
Siméthicone	0,03 mg
Cimétidine	0,03 mg
Carbonate de calcium	0,03 mg

PERFORMANCES CLINIQUES

Pour le test **CalFast NeXT**, l'étude clinique a inclus 81 échantillons, dont 42 patients atteints de la maladie de Crohn, ulcéreuse, intermédiaire et Colite microscopique et 39 échantillons négatifs du syndrome du côlon irritable (SCI), de la douleur abdominale récurrente (RAP) et d'autres patients atteints de maladie. Le positif les échantillons de patients ont été diagnostiqués au moyen de résultats cliniques et/ou confirmés par coloscopie. Afin de soutenir les informations cliniques, les échantillons utilisés pour cette étude ont déjà été testés par **Calprest NG** IVD. Les tableaux ci-dessous montrent les performances cliniques du test **CalFast NeXT**.

Valeurs d'échantillon limites considérées comme positives				
		CalFast NeXT (cutoff = 70 µg/g)		
		Positif	Négatif	Tot
Diagnostic clinique	IBD	42	0	42
	NON IBD	12	27	39
	Total	54	27	81
Sensibilité		100,0%	95% CI* (91,6% - 100,0%)	
Spécificité		69,2%	95% CI* (53,6% - 81,4%)	
PPV**		76,5%	95% CI* (67,0% - 83,9%)	
NPV***		100,0%	95% CI* (100,0% - 100,0%)	

*CI = Intervalle de confiance (Mercaldo-Wald)

**PPV = Valeur Prédictive Positive

***NPV = Valeur Prédictive Négative

Valores muestrales límite considerados negativos				
		CalFast NeXT (cutoff = 140 µg/g)		
		Positif	Négatif	Tot
Diagnostic clinique	IBD	40	2	42
	NON IBD	4	35	39
	Total	44	37	81
Sensibilité		95,2%	95% CI* (84,2% - 98,7%)	
Spécificité		89,7%	95% CI* (76,4% - 95,9%)	
PPV**		90,9%	95% CI* (79,8% - 96,2%)	
NPV***		94,6%	95% CI* (81,8% - 98,5%)	

*CI = Intervalle de confiance (Mercaldo-Wald)

**PPV = Valeur Prédictive Positive

***NPV = Valeur Prédictive Négative

INTENCIÓN DE USO

CalFast[®] NeXT es una prueba inmunocromatográfica para la determinación cuantitativa de calprotectina en heces. La extracción de las muestras se realiza a través de un dispositivo dedicado (**EasyCal[®]**) y el resultado de la prueba se calcula con el **CalFast[®] Reader** (ref. 9190). **CalFast NeXT** está destinado exclusivamente para uso profesional para respaldar el diagnóstico de enfermedades intestinales inflamatorias crónicas (EII o IBD), enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, y para distinguirlas del síndrome del intestino irritable (SII o IBS) junto con la interpretación del resultado de la prueba y la información clínica del paciente y otras pruebas de laboratorio.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La calprotectina es un heterodímero de 36 kDa que pertenece a la familia de proteínas S100. Es producido por células polimorfonucleares, monocitos y células epiteliales, que tiene un efecto antimicrobiano y juega un papel en la respuesta inmune innata^{1,2}. La calprotectina puede detectarse en diversas muestras biológicas como plasma, suero, líquido sinovial y heces, en proporción al nivel de inflamación existente³. El uso de calprotectina como marcador biológico se ha estudiado en enfermedades inflamatorias intestinales (EII), así como en otras enfermedades como la artritis reumatoide y el cáncer colorrectal^{4,12}.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

CalFast NeXT es una prueba inmunocromatográfica que aprovecha el uso de una mezcla de anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos contra la calprotectina. La calprotectina presente en la muestra se une al anticuerpo anti-calprotectina conjugado con oro coloidal. El complejo así formado migra y se une al anticuerpo anti-calprotectina presente en la zona de reacción (zona T), mientras que los anticuerpos conjugados no unidos se unirán en la zona de control (zona C). La concentración de calprotectina presente en la muestra se calcula mediante una lectura realizada con los **CalFast Reader**.

MATERIALES SUMINISTRADOS (CANTIDAD SUFICIENTE PARA 20 PRUEBAS)

- Casetes de detección: 20 casetes empaquetados individualmente en una bolsa de aluminio que contiene un desecante. Los casetes son para un solo uso.
- Diluyente: un frasco que contiene 50 ml de solución lista para usar.
- **EasyCal** (ref. 79333), dispositivos de recogida y extracción de heces: 20 dispositivos que contienen la solución de extracción lista para usar. El dispositivo es para un solo uso.
- Control positivo: un vial que contiene 250 µl de control positivo, listo para usar. No diluir. El rango de valores se muestra en la etiqueta.
- Control negativo: vial que contiene 250 µl de control negativo, listo para usar. No diluir. El rango de valores se muestra en la etiqueta.
- Tapones: 20 tapones para el dispositivo de recogida de heces **EasyCal**.
- Tira de calibración: 1 tira de papel con código QR impreso que contiene la curva de calibración de referencia y el lote usado.

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS

- Casete: mezcla adsorbida de anticuerpos monoclonales y policlonales y partículas de oro conjugadas (<10 µg), detergentes (<100 µl), BSA (<500 µg), azúcares y sales (<500 µg), azida sódica (<0,02% v / v, concentración final después de la resuspensión).
- Diluyente: sales (<200 mM), detergentes (<1% v / v) y conservantes (<0,05% v / v) en agua destilada.
- Solución de extracción en **EasyCal**: sales (<500 mM), BSA (<5% p / p), urea (<3 M) y conservantes (<0,05% v / v) en agua destilada.
- Control positivo: solución de un anticuerpo policlonal (<1 mg / ml) en diluyente de muestra.
- Control Negativo: solución de sales no reactivas (<200 mM), detergentes (<1% v / v) y conservantes (<0,05% v / v) en agua destilada.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Tubos de ensayo de plástico para dilución de extractos fecales
- Mezclador de vórtice (o similar)
- Agitador basculante
- Pipetas de precisión con puntas desechables (10-200 µl y 1 ml)
- Centrífuga para microtubos
- Tubos Eppendorf (o similares) para la dilución de los extractos
- Temporizador
- **CalFast Reader** (ref. 9190)
- Conjunto de control de calidad **CalFast NeXT** quality control set (conjunto de control opcional, ref. 9191NQ, lote dependiente, 3 x Control Positivo y 3 x Control Negativo)

ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos han de almacenarse a 2-8 °C y usarse antes de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

ESTABILIDAD TRAS LA OBERTURA

El diluyente de muestra es estable durante 60 días tras su obertura almacenado a 2-8 °C en el recipiente original.

ESTABILIDAD DE TRANSPORTE

Una prueba de estabilidad acelerada probó que todos los componentes del kit fueron estables tras 72 horas a 37 °C.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas y eliminar los residuos de acuerdo con la legislación vigente. Se recomienda que la materia fecal se trate como potencialmente infecciosa.
- **EasyCal** y cassette son para un solo uso. Los reactivos no utilizados deben almacenarse a 2-8 °C y usarse antes de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.
- Espere hasta que las muestras de heces alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de comenzar el muestreo con **EasyCal**.
- Espere hasta que todos los reactivos y las muestras de heces extraídas alcancen la temperatura ambiente antes de comenzar la prueba.
- No exponga el kit a fuentes de calor.
- Para obtener resultados cuantitativos fiables, es obligatorio centrifugar los extractos antes de proceder a su dilución.
- Cuando utilice controles de calidad suplementarios (ref. 9191NQ), asegúrese de que el lote sea el mismo que el del kit **CalFast NeXT** en uso.
- **EasyCal**: EUH208 Contiene una mezcla de: 5-Cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona [EC no. 247-500-7]; 2-Metil-2H-isotiazol-3-ona [EC no. 220-239-6] (3: 1). Puede provocar una reacción alérgica. EUH210 Ficha de datos de seguridad del material disponible a pedido.
- Controles positivos y negativos: EUH208 Contiene mezcla de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona [CE no. 247-500-7]; 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [CE no. 220-239-6] (3: 1). Puede provocar una reacción alérgica. EUH210 Ficha de datos de seguridad del material disponible a pedido.
- Diluyente: EUH208 Contiene mezcla de: 5-Cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona [EC no. 247-500-7]; 2-Metil-2H-isotiazol-3-ona [EC no. 220-239-6] (3: 1). Puede provocar una reacción alérgica. EUH210 Ficha de datos de seguridad del material disponible a pedido.
- En caso de daños externos en el embalaje, asegúrese de que todos los componentes enumerados en los "Materiales suministrados" con el kit estén presentes y sin daños. En presencia de fugas de líquido de los viales, no se debe utilizar el kit.
- No intercambie componentes de diferentes lotes de productos.
- Los materiales de desecho generados por el uso del kit deben eliminarse como desechos especiales peligrosos y tratarse de acuerdo con las leyes locales.
- Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio, use ropa protectora, use guantes de desecho, gafas y mascarilla. No coma, beba ni fume en el área de trabajo.
- El producto no utiliza materiales de origen humano.
- Cualquier incidente grave deberá informarse al fabricante ya la autoridad competente del Estado en el que esté establecido el usuario y/o paciente.

PROCEDIMIENTO PARA LA RECOGIDA DE HECES

La recolección de heces destinada a usarse con **CalFast NeXT** debe realizarse utilizando **EasyCal**, un dispositivo de recolección incluido en el kit.

A. Procedimiento de recolección estándar para heces de consistencia normal

1. Recoja una muestra de heces en un recipiente estéril.
2. Extraiga la varilla con forma del dispositivo girando el tapón de rosca en sentido antihorario.
3. Sumerja la parte moldeada de la varilla en la muestra de heces previamente recolectada.
4. Gire repetidamente la varilla en la muestra de heces hasta que todas las ranuras estén llenas de materia fecal.
5. Antes de insertar la varilla en el dispositivo, elimine el exceso de material girando la varilla en la pared interior del contenedor primario de heces.
6. Insertar completamente la varilla perfilada, a través del embudo (azul), en el tubo que contiene el líquido de extracción y girar el tapón en sentido horario hasta que esté completamente cerrado, sujetando el embudo (azul) entre los dedos, evitando abrirlo.

B. Método de recolección de heces líquidas o en cualquier caso de tal consistencia que no puedan recolectarse con el dispositivo EasyCal

1. Debe tener una pipeta de laboratorio disponible.
2. Este modo requiere la toma de una muestra de heces líquidas de 56 µl (microlitros).
3. Extraiga la varilla perfilada y el embudo (azul) girando este último en el sentido de las agujas del reloj.
4. Dispense las heces líquidas directamente en el dispositivo de recolección que contiene la solución de extracción.
5. Vuelva a insertar completamente la varilla con forma (que no contendrá las heces) dentro del tubo y gire el embudo (azul) en el sentido de las agujas del reloj hasta que esté completamente cerrado.

C. Método de recogida de heces en ausencia del dispositivo

1. Si el laboratorio no tiene el dispositivo de recolección de heces temporalmente, recolecte la muestra en un recipiente estéril y consérvela por no más de 2 días a 2-8 °C. Si el período de almacenamiento a 2-8 °C supera los 2 días, la muestra debe congelarse a -20 °C.
2. Cuando el dispositivo **EasyCal** esté disponible nuevamente, la muestra se puede tomar como se describe arriba. Si la muestra se ha congelado, deje que alcance la temperatura ambiente antes de tomar la muestra con el dispositivo.
3. Continúe desde el paso 2 de acuerdo con el "Procedimiento estándar de muestreo para heces de consistencia normal".

ALMACENAJE DE LAS MUESTRAS

- Las muestras de heces deben ser recibidas por el laboratorio y extraídas dentro de los 3 días posteriores a la recolección. La temperatura durante el envío no debe exceder los 30 °C, use de bolsa de hielo es muy recomendable.
- Las muestras de heces en el laboratorio se pueden almacenar en su recipiente original a 2-8 °C hasta 2 días, si no se analizan inmediatamente. Para un almacenamiento más prolongado, es necesario conservarlas congeladas a -20 °C. Las muestras de heces congeladas son estables hasta 1 año a -20 °C y no pueden someterse a más de 3 ciclos de congelación / descongelación.
- El **EasyCal** que contiene la muestra de heces recolectada debe procesarse inmediatamente. Si hay un retraso en continuar con el procedimiento de laboratorio, el **EasyCal** que contiene la muestra de heces puede almacenarse a temperatura ambiente (18-25 °C) hasta 72 horas, de lo contrario debe almacenarse a 2-8 °C (hasta 14 días). Si el dispositivo **EasyCal** que contiene la muestra tiene que ser entregado al laboratorio, es aconsejable almacenarlo en un recipiente térmico con paquetes refrigerantes para una correcta conservación.

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN




- Lleve las muestras a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Agite cada dispositivo **EasyCal** con un vórtex durante 30-60 segundos para homogeneizar bien el contenido. Si las ranuras del eje del dispositivo están visiblemente libres de cualquier material fecal residual, proceda directamente al paso 3; de lo contrario, repita el vórtex durante otros 30-60 segundos. Después de un tiempo máximo de agitación en vórtex de 120 segundos, proceda en cualquier caso al paso 3, independientemente de la presencia o ausencia de residuos de muestra fecal.
 - Alternativamente, después de una mezcla rápida en vórtice, los dispositivos tapados se pueden dejar en un agitador oscilante durante 20 minutos.
- Al final de la agitación, retire la varilla con el tapón (blanco) junto con el embudo (azul) girando este último en el sentido de las agujas del reloj. Cierre el tubo con la tapa blanca proporcionada.
- Centrifugue la muestra durante 10 minutos a 1000 - 3000 x g para eliminar cualquier partícula fecal restante. Después de la centrifugación, retire el dispositivo de la centrífuga.
- El extracto fecal ya está listo para ser analizado.

ALMACENAJE DEL EXTRACTO

Al final del procedimiento de extracción descrito anteriormente, el extracto fecal será estable en las siguientes condiciones:

- Hasta 72 horas a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Hasta 14 días a 2-8 °C.
- Hasta 90 días a -20 °C. Las muestras congeladas se pueden utilizar hasta para 4 ciclos de congelación/descongelación.

CONFIGURACIÓN DEL LECTOR CALFAST READER ANTES DE LA PRUEBA

- Compruebe que **CalFast Reader** esté conectado a la PC mediante el cable USB suministrado. Encienda el PC y haga doble clic en el icono del programa Client Reader, luego ingrese el nombre de usuario y la contraseña.
- Verifique que el número de lote indicado sea idéntico al que se muestra en la etiqueta del kit **CalFast NeXT** en uso; de lo contrario, actualice los parámetros de acuerdo con el siguiente procedimiento:
 - Inserte el código de barras bidimensional contenido en la carcasa del casete del instrumento en el paquete de **CalFast NeXT**.
 - Verifique el encuadre correcto del código de barras usando el cuadro apropiado.
 - Haga clic en  en el software **CalFast Reader Client** para leer el código de barras. Toda la información con respecto al lote de **CalFast NeXT** se cargará automáticamente en **CalFast Reader**.
 - Guarde la información haciendo clic en .
 - Salga haciendo clic en este icono .
- Este procedimiento debe repetirse cada vez que se usa un nuevo lote de **CalFast NeXT**. La información cargada se almacenará en el software hasta que se lea una nueva información de lote.



Para obtener información más detallada, consulte el Manual del usuario de **CalFast Reader**.

Información adicional:

- Código de lote: indica el lote actualmente en uso.
- Nombre del kit: indica el producto en uso (**CalFast**, **CalFast XT** o **CalFast NeXT**).
- Check Strip: para usar antes de comenzar una prueba (opcional). Cuando se activa, aparece la imagen del casete y se comprueba la presencia del control línea. Si la línea de control está presente y colocada correctamente, la ventana del resultado del ensayo en el software Client Reader mostrará "READABLE". De lo contrario, si falta la línea de control o la posición del casete es incorrecta, se mostrará "INREADABLE".




ENTRADA DE DATOS DE MUESTRAS

- Para iniciar el procedimiento de lectura de la prueba **CalFast NeXT**, se debe ingresar al menos uno de los siguientes datos: apellido, nombre, fecha de nacimiento o código del paciente.
- Una vez completado, el LED verde en el software Client Reader se enciende, lo que indica que el casete se puede colocar dentro de la ranura del **CalFast Reader**.
- Coloque el casete en la ranura del **CalFast Reader**. Verifique si la posición es correcta haciendo clic en "Control Strip" (opcional).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Asegúrese de que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C).
2. Si las muestras a analizar están congeladas, descongélelas y llévelas a temperatura ambiente.
3. Diluir extractos fecales previamente preparados 1: 300 (p. Ej. 5 µl de muestra + 1495 µl de diluyente). Mezclar bien (agitar durante 10 segundos).
4. Abra la bolsa que contiene el casete y coloque este último en un plano horizontal.
5. Pipetee 100 µl de extracto diluido o 100 µl de Control Positivo (listo para usar) o 100 µl de Control Negativo (listo para usar) y dispense directamente en el pocillo circular del casete de prueba.
6. La ejecución del Control Positivo / Negativo es un procedimiento opcional. Los controles positivos y negativos adicionales, según el lote, se pueden adquirir por separado (ref. 9191NQ).
7. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.

LECTURA DE PRUEBA

1. Si el cartucho se puede leer, inicie el test pulsando el icono . Mientras se realiza la lectura, la luz amarilla del ClientReader software se enciende y el icono  es reemplazado por .
2. En la ventana Comprobar tira se muestran dos imágenes distintas: una imagen real del cartucho, mientras la otra es utilizada para realizar los cálculos para determinar la concentración de calprotectina.
3. Imagen analizada: imagen usada para los cálculos. Las líneas rojas y azules definen el rango para el cálculo.
4. El lector **CalFast Reader** realiza la lectura e informa el resultado en mg/kg o en µg/g.
5. El valor de concentración se graba automáticamente y se asocia a la información de la prueba.

VALIDACIÓN DE RESULTADOS

- Para considerar válido el resultado de una prueba, la línea de control (C) debe estar siempre presente. Esta línea es solo un control funcional de la prueba y no se puede utilizar para la interpretación de la línea de prueba (T).
- **CalFast Reader** calcula la cantidad de calprotectina en la muestra de heces (T).
- Si solo aparece la línea T, la prueba no es válida y debe repetirse usando un nuevo casete.
- Si no aparecen ni la línea (C) ni la línea (T), el resultado no es válido y la prueba debe repetirse utilizando un nuevo casete. Nota: la usabilidad de la prueba el casete se puede evaluar mediante la función "Check the Strip" del software **CalFast Reader** Client.
- Los resultados obtenidos con los controles positivos y negativos deben estar dentro del rango de concentración descrito en las etiquetas de los controles. Lote de controles adicionales dependiente se puede adquirir por separado (ref. 9191NQ).

TRAZABILIDAD METROLÓGICA

Para garantizar la trazabilidad metrológica de **CalFast NeXT**, se comparan los valores de concentración registrados para los puntos de calibración y los controles. a los valores del rango de referencia definidos internamente.

RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE EL LECTOR CALFAST READER

Los lectores **CalFast Reader** utilizan una curva estándar muy específica para calcular la concentración de calprotectina. Los valores de concentración de calprotectina obtenidos con **CalFast Reader** se informarán como se indica en la siguiente tabla:

Concentración de calprotectina	Concentración de calprotectina informada en la pantalla de los lectores CalFast Reader
0 - 50 µg/g	< 50 µg/g
51 - 2100 µg/g	51 - 2100 µg/g
> 2101 µg/g	> 2100 µg/g

INTERVALO DE REFERENCIA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Eurospital realizó un estudio de cutoff y los valores se informan en la siguiente tabla:

Concentración de calprotectina	Interpretación	Follow-Up
< 70 µg/g	Normal	Ninguno
70 - 140 µg/g	Valor límite	Volver a analizar después de 4-6 semanas
> 140 µg/g	Anormal	Repetición según las indicaciones clínicas

Las muestras que tengan una concentración de calprotectina superior a 140 µg/g deben considerarse positivas para la prueba **CalFast NeXT**, por lo que deben someterse a más investigación clínica para evaluar la causa patológica de la alta concentración de calprotectina. En pacientes adultos sanos, el valor medio de calprotectina es alrededor de 25 µg/g. Este valor, si se obtiene mediante **CalFast Reader**, se informará como <50 µg/g. Mientras que en muestras de adultos y niños los valores de calprotectina son similares, pueden ser significativamente mayores en los recién nacidos^{2, 4, 7, 11, 12, 13}.

LIMITACIONES

- Los pacientes que están tomando medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE o NSAIDs) pueden tener niveles de calprotectina fecal más altos de lo normal^{19,18,24}.
- Los pacientes con IBD fluctúan entre las etapas activa (inflamatoria) e inactiva de la enfermedad²⁵. Estas etapas deben tenerse en cuenta al utilizar **CalFast NeXT**.
- El uso de inhibidores de la bomba de protones (IBP)²⁴, así como la presencia de colitis microscópica^{21,22} y enfermedad diverticular²³, también pueden conducir a niveles elevados de calprotectina nivel. Los pacientes afectados por la enfermedad celíaca no tratada pueden presentar ocasionalmente valores elevados de calprotectina^{19,20}.
- Otras alteraciones intestinales, incluidas muchas infecciones gastrointestinales^{15,16,17} y cáncer colorrectal^{13,14,22}, pueden provocar niveles elevados de calprotectina. Estas muestras darán un resultado positivo con el ensayo **CalFast NeXT**. Por lo tanto, un diagnóstico de IBD activa no puede establecerse únicamente sobre la base de un resultado positivo con el ensayo **CalFast NeXT**.
- La calprotectina fecal es un indicador de la presencia de neutrófilos en las heces y no es específica de la IBD²⁶.

PRESTACIONES ANALÍTICAS

Linealidad

El estudio de linealidad se realizó de acuerdo con CLSI EP06 2^{do} Edición. La evaluación de rangos de linealidad de **CalFast NeXT** mostró resultados aceptables tanto para linealidad y precisión para concentraciones de calprotectina en el rango de 40 a 2100 µg/g.

Límites de Blanco (LoB), Detección (LoD) y Cuantificación (LoQ)

Los estudios LoB, LoD y LoQ se realizaron de acuerdo con CLSI EP17-A. Los resultados se informan en la siguiente tabla:

LoB	17,7 µg/g
LoD	29,4 µg/g
LoQ	35,0 µg/g

Estudio de evaluación de precisión en un solo sitio

El estudio se llevó a cabo extrayendo 6 muestras de heces diferentes (4 positivas, 1 cutoff y 1 negativa) y analizando cada extracto en 3 repeticiones durante 2 ejecución separadas por día durante 20 días. Los valores de CV% obtenidos fueron iguales o inferiores al 20%. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

ID #	N	Media (µg/g)	Within Run		Between Run		Between Day		Total	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
1	120	56,0	6,9	12,4%	3,1	5,5%	2,9	5,1%	7,6	13,6%
2	120	75,9	10,5	13,8%	2,9	3,8%	3,0	3,9%	10,8	14,3%
3	120	238,0	29,5	12,4%	7,2	3,0%	9,4	4,0%	30,4	12,8%
4	120	446,6	58,9	13,2%	12,8	2,9%	19,3	4,3%	60,4	13,5%
5	120	783,5	87,8	11,2%	14,8	1,9%	20,4	2,6%	89,2	11,4%
6	120	1559,2	300,0	19,2%	0,0	0,0%	28,9	1,9%	290,9	18,7%

Estudio de evaluación de precisión lote a lote

El estudio se ha llevado a cabo extrayendo 6 muestras de heces diferentes (4 positivas, 1 cutoff y 1 negativa) y analizando cada extracto en 5 repeticiones durante 1 ejecución por día durante 5 días utilizando 3 lotes diferentes de **CalFast NeXT**. Los valores de CV% obtenidos fueron iguales o inferiores al 20%. Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

ID #	N	Media (µg/g)	Repetibilidad		Within Lot		Between Lot		Reproducibilidad	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
A	75	54,4	6,2	11,4%	7,1	13,1%	5,9	10,9%	9,2	17,0%
B	75	66,4	8,3	12,6%	9,0	13,6%	7,6	11,4%	11,7	17,7%
C	75	277,6	34,3	12,4%	39,0	14,1%	0,0	0,0%	39,0	14,1%
D	75	409,8	44,8	10,9%	52,4	12,8%	16,1	3,9%	54,8	13,4%
E	75	764,7	109,6	14,3%	127,5	16,7%	0,0	0,0%	127,5	16,7%
F	75	1326,3	182,6	13,8%	184,7	13,9%	41,1	3,1%	189,2	14,3%

Estudio de interferencia y reacción cruzada

Se realizó un estudio de interferencia y reacción cruzada para determinar si las sustancias potencialmente interferentes o de reacción cruzada podrían afectar el rendimiento de **CalFast NeXT**. Las moléculas probadas se enumeran en la tabla a continuación y, a las concentraciones probadas, no afectan las concentraciones de calprotectina en muestras de heces humanas cuando se miden con **CalFast NeXT**.

Sustancia que interfiere / reacciona de forma cruzada	Cantidad analizada / 50 mg de heces
Hemoglobina	5,83 mg
Vancomicina	0,67 mg
Ciprofloxacina	0,50 mg
Prevacid	0,02 mg
Azatioprina	0,07 mg
Prednisona	0,01 mg
Ácido 5-aminosalicílico	1,33 mg
Vitamina A	8 IU
Vitamina D	1,1 IU
Vitamina C	0,05 mg
Vitamina E	0,10 mg
Sulfato de bario	0,25 mg
Loperamida HCl	0,34 µg
Subsalicilato de bismuto	0,04 mg
Metronidazol	0,63 mg
Mucina	0,17 mg
Hidróxido de aluminio + hidróxido de magnesio	0,21 mg
Ácido palmítico	0,07 mg
Ácido esteárico	0,13 mg
Polietilenglicol 3350	3,95 mg
Omeprazol	0,03 mg
S100A12 proteína	1,05 µg
Simeticona	0,03 mg
Cimetidina	0,03 mg
Carbonato de calcio	0,03 mg

DESEMPEÑO CLÍNICO

Para el ensayo **CalFast NeXT**, el estudio clínico incluyó 81 muestras, de las cuales 42 pacientes afectados por enfermedad de Crohn, Ulcerativa, Intermedia y Colitis microscópica y 39 muestras negativas de pacientes con síndrome del intestino irritable (IBS), dolor abdominal recurrente (DAR o RAP) y otras enfermedades. Los resultados positivos de las muestras de pacientes fueron diagnosticadas mediante hallazgos clínicos y / o confirmadas con colonoscopia. Para respaldar la información clínica, las muestras utilizados para este estudio han sido previamente probados por **Calprest NG** IVD. Las tablas siguientes demuestran el rendimiento clínico del ensayo **CalFast NeXT**.

Valores muestrales límite considerados positivos				
		CalFast NeXT (cutoff = 70 µg/g)		
		Positivo	Negativo	Tot
Diagnóstico clínico	IBD	42	0	42
	NO IBD	12	27	39
	Total	54	27	81
Sensibilidad		100,0%	95% CI* (91,6% - 100,0%)	
Especificidad		69,2%	95% CI* (53,6% - 81,4%)	
PPV**		76,5%	95% CI* (67,0% - 83,9%)	
NPV***		100,0%	95% CI* (100,0% - 100,0%)	

*CI = Intervalo de confianza (Merkaldo-Wald)

**PPV = Valor predictivo positivo

***NPV = Valor predictivo negativo

Valores muestrales límite considerados negativos				
		CalFast NeXT (cutoff = 140 µg/g)		
		Positivo	Negativo	Tot
Diagnóstico clínico	IBD	40	2	42
	NO IBD	4	35	39
	Total	44	37	81
Sensibilidad		95,2%	95% CI* (84,2% - 98,7%)	
Especificidad		89,7%	95% CI* (76,4% - 95,9%)	
PPV**		90,9%	95% CI* (79,8% - 96,2%)	
NPV***		94,6%	95% CI* (81,8% - 98,5%)	

*CI = Intervalo de confianza (Merkaldo-Wald)

**PPV = Valor predictivo positivo

***NPV = Valor predictivo negativo

Immunchromatographischer Schnelltest zum quantitativen Nachweis von Calprotectin aus Stuhlproben um bei der Diagnose von IBD zu helfen und IBD von IBS zu unterscheiden

REF 9191NT

VERWENDUNGSZWECK

CalFast® NeXT ist ein immunchromatographischer Test zur quantitativen Bestimmung von Calprotectin im Stuhl. Die Entnahme der Proben erfolgt über ein spezielles Stuhlentnahmeröhrchen (**EasyCal®**) und das Testergebnis wird mit dem **CalFast® Reader** (Ref. 9190) berechnet. **CalFast NeXT** ist ausschließlich für den professionellen Gebrauch bestimmt, um die Diagnose von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (IBD), Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zu unterstützen und diese vom Reizdarmsyndrom (IBS) zu unterscheiden. Das Ergebnis verhilft zu einer besseren Interpretation in Verbindung mit der Anamnese und anderen diagnostischen Methoden. Nur für professionelle Anwendung.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Calprotectin ist ein 36-kDa-Heterodimer, das zur S100-Proteinfamilie gehört. Es wird von polymorphkernigen Zellen, Monozyten und Epithelzellen produziert, hat eine antimikrobielle Wirkung und spielt eine Rolle bei der angeborenen Immunantwort^{1,2}. Calprotectin kann in verschiedenen biologischen Proben wie Plasma, Serum, Synovialflüssigkeit und Fäzes im Verhältnis zum bestehenden Entzündungsgrad nachgewiesen werden^{1,2}. Calprotectin als biologischer Marker wurde bei entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) sowie bei anderen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis und Darmkrebs untersucht^{1,3,10}.

TESTPRINZIP

CalFast NeXT ist ein immunchromatographischer Test, bei dem eine Mischung aus gegen Calprotectin gerichteten monoklonalen und polyklonalen Antikörpern verwendet wird. Das in der Probe vorhandene Calprotectin bindet an den mit kolloidalem Gold konjugierten Anti-Calprotectin-Antikörper. Der so gebildete Komplex wandert und bindet an den in der Reaktionszone (Zone T) vorhandenen Anti-Calprotectin-Antikörper, während die ungebundenen konjugierten Antikörper in der Kontrollzone (Zone C) binden. Die in der Probe enthaltene Calprotectinkonzentration wird mittels Auswertung mit dem **CalFast Reader** berechnet.

KIT-INHALT (MENGE AUSREICHEND FÜR 20 TESTS)

- Testkassetten: 20 Kassetten einzeln verpackt in einem Aluminiumbeutel mit Trockenmittel. Die Kassetten sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Verdünnungspuffer: eine Flasche mit 50 ml gebrauchsfertiger Lösung.
- **EasyCal** (ref. 79333), Stuhlentnahme- und Extraktionsröhrchen: 20 Röhrchen mit gebrauchsfertiger Extraktionslösung. Das Röhrchen ist nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Positivkontrolle: ein gebrauchsfertiges Fläschchen mit 250 µl Positivkontrolle. Nicht verdünnen. Der Wertebereich ist auf dem Etikett angegeben.
- Negativkontrolle: ein gebrauchsfertiges Fläschchen mit 250 µl Negativkontrolle. Nicht verdünnen. Der Wertebereich ist auf dem Etikett angegeben.
- 20 Verschlusskappen für **EasyCal** Stuhlentnahmeröhrchen.
- Kalibrierstreifen: 1 Papierstreifen mit aufgedrucktem QR-Code, der die Referenzkalibrierkurve enthält (lotspezifisch).

ZUSAMMENSETZUNG DER REAGENZIEN

- Testkassetten: adsorbierte Mischung aus monoklonalen und polyklonalen Antikörpern und konjugierten Goldpartikeln (<10 µg), Detergenzien (<100 µl), BSA (<500 µg), Zucker und Salze (<500 µg), Natriumazid (<0,02 % v/v, Endkonzentration nach Resuspendierung).
- Verdünnungsmittel: Salze (<200 mM), Detergenzien (<1% v/v) und Konservierungsmittel (< 0,05% v/v) in dd Wasser.
- Extraktionslösung in **EasyCal**: Salze (<500 mM), BSA (<5% w/w), Harnstoff (<3 M) und Konservierungsstoffe (<0,05% v/v) in td-Wasser.
- Positivkontrolle: Lösung eines polyklonalen Antikörpers (<1 mg/ml) in Probenverdünner.
- Negativkontrolle: Lösung von nicht-reaktiven Salzen (<200 mM), Detergenzien (<1% v/v) und Konservierungsmitteln (<0,05% v/v) in td-Wasser.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- Kunststoffröhrchen zur Verdünnung von Stuhlextrakten
- Vortex-Mischer (oder ähnlich)
- Rollschüttler
- Pipetten mit Einwegspitzen (10-200 µl und 1 ml)
- Zentrifuge für Mikroreaktionsgefäße
- Eppendorf-Röhrchen (o.ä.) zum Verdünnen der Extrakte
- Zeitmesser
- **CalFast-Reader** (Ref. 9190)
- **CalFast NeXT** Qualitätskontrollset (optionales Kontrollset, Ref. 9191NQ, chargenabhängig, 3 x Positivkontrolle und 3 x Negativkontrolle)

LAGERUNG UND VERFALLSDATUM DER REAGENZIEN

Alle Reagenzien müssen bei 2-8 °C gelagert und vor Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwendet werden.

HALTBARKEIT NACH DEM ERSTEN ÖFFNEN

Das Diluent ist für 60 Tage nach dem ersten Öffnen haltbar, wenn es bei 2-8 °C in seinem Originalbehälter gelagert wird.

TRANSPORTBESTÄNDIGKEIT

Eine forcierte Beständigkeitsprüfung ergab, dass alle Komponenten des Kits nach einer Lagerung von 72 Stunden bei 37 °C stabil sind.

WARNUNG UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle Patientenproben müssen als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandelt und gemäß den örtlichen Laborgesetzen behandelt und entsorgt werden. Es wird empfohlen Stuhl als potenziell infektiöses Material zu behandeln.
 - **EasyCal** und Kassette sind zum einmaligen Gebrauch bestimmt. Nicht verwendete Reagenzien sind bei 2-8 °C zu lagern und vor dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum zu verwenden.
 - Warten Sie, bis die Stuhlproben Raumtemperatur (18-25 °C) erreicht haben, bevor Sie mit der Probenahme mit **EasyCal** beginnen.
 - Warten Sie, bis alle Reagenzien und extrahierten Stuhlproben Raumtemperatur erreicht haben, bevor Sie den Test starten.
 - Setzen Sie das Kit keiner Wärmequelle aus.
 - Um zuverlässige und quantitative Ergebnisse zu erhalten, ist es wichtig, die Extrakte vor der Verdünnung zu zentrifugieren.
 - Wenn zusätzliche Qualitätskontrollen verwendet werden (Ref. 9191NQ), stellen Sie sicher, dass die Charge mit dem verwendeten **CalFast NeXT**-Kit übereinstimmt.
 - **EasyCal**: EUH208 Enthält Gemisch aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. EUH210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
 - Positiv- und Negativkontrollen, Verdünnungsmittel: EUH208 Enthält eine Mischung: 5-Chlor-2-methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1). Es kann eine allergische Reaktion hervorrufen. EUH210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
 - Verdünnungsmittel: EUH208 Enthält Gemisch aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 247-500-7]; 2-Methyl-2H-isotiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1). Kann eine allergische Reaktion hervorrufen. EUH210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.
 - Stellen Sie bei äußeren Beschädigungen der Verpackung sicher, dass alle im Lieferumfang des Kits aufgeführten Komponenten vorhanden und unbeschädigt sind. Wenn Flüssigkeit aus den Durchstechflaschen austritt, sollte das Kit nicht verwendet werden.
 - Tauschen Sie keine Komponenten aus verschiedenen Produktchargen aus.
 - Die bei der Verwendung des Kits anfallenden Abfallmaterialien müssen als gefährlicher Sondermüll entsorgt und gemäß den örtlichen Gesetzen behandelt werden.
 - Befolgen Sie die Gute Laborpraxis, tragen Sie Schutzkleidung, verwenden Sie Entsorgungshandschuhe, Schutzbrille und Maske. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken oder rauchen.
 - Das Produkt verwendet keine Materialien menschlichen Ursprungs.
 - Jeder schwerwiegende Vorfall muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Staates gemeldet werden, in dem der Benutzer und/oder der Patient ansässig ist.
-

VERFAHREN ZUR STUHLPROBENTNAHME

Die mit **CalFast NeXT** zu analysierende Stuhlprobe muss mit **EasyCal** entnommen werden, das im Kit enthalten ist.

A. Standardverfahren zur Entnahme von Stuhl mit normaler Konsistenz

1. Sammeln Sie eine Stuhlprobe in einem sterilen Behälter.
2. Ziehen Sie den Formstab des Röhrchens heraus, indem Sie die Schraubkappe gegen den Uhrzeigersinn drehen.
3. Tauchen Sie den Stab in die zuvor entnommene Stuhlprobe.
4. Den Messstab wiederholt in der Stuhlprobe drehen, bis alle Rillen mit Fäkalien gefüllt sind.
5. Entfernen Sie vor dem Einführen des Stabes in das Stuhlröhrchen den groben Materialüberschuss, indem Sie den Stab an der Innenwand des Röhrchens drehen.
6. Führen Sie den geformten Stab vollständig durch den Trichter (blau) in das Röhrchen mit der Extraktionsflüssigkeit ein und drehen Sie die Kappe im Uhrzeigersinn, bis sie vollständig geschlossen ist, wobei Sie den Trichter (blau) zwischen den Fingern halten.

B. Entnahmemethode für flüssigen Stuhl oder mit einer solchen Konsistenz, dass er nicht mit dem EasyCal-Stuhlröhrchen entnommen werden kann

1. Sie müssen eine Laborpipette zur Verfügung haben.
2. Dieser Modus erfordert die Entnahme einer 56 µl (Mikroliter) Probe flüssigen Stuhls.
3. Ziehen Sie den Stab und den Trichter (blau) heraus, indem Sie diesen im Uhrzeigersinn drehen.
4. Geben Sie den flüssigen Kot direkt in das Stuhlröhrchen mit der Extraktionslösung.
5. Führen Sie den geformten Stab (der keinen Stuhl enthält) wieder vollständig in das Röhrchen ein und drehen Sie den Trichter (blau) im Uhrzeigersinn, bis er vollständig geschlossen ist.

C. Alternative Methoden zur Stuhlentnahme

1. Falls keine Stuhlentnahmeröhrchen zur Verfügung stehen, sammeln Sie die Probe in einem sterilen Behälter und bewahren Sie sie nicht länger als 7 Tage bei 2-8 °C auf. Wenn die Lagerzeit bei 2-8 °C 7 Tage überschreitet, sollte die Probe bei -20 °C eingefroren werden.
2. Sobald wieder **EasyCal** Röhrchen zur Verfügung stehen, kann die Probe wie oben beschrieben entnommen werden. Wenn die Probe eingefroren wurde, lassen Sie die Probe Raumtemperatur erreichen, bevor Sie die Probenahme mit dem Stuhlröhrchen durchführen.
3. Mit Schritt 2 gemäß „Standard-Probenahmeverfahren für Stuhl normaler Konsistenz“ fortfahren.

AUFBEWAHRUNG VON PROBEN

- Stuhlproben sollten innerhalb von 3 Tagen nach der Entnahme im Labor eingehen und entnommen werden. Die Temperatur während des Versands sollte 30 °C nicht überschreiten, verwenden Sie Eisbeutel ist sehr zu empfehlen.
- Stuhlproben im Labor können bis zu 2 Tage im Originalbehälter bei 2-8 °C gelagert werden, wenn sie nicht sofort getestet werden. Für längere Lagerung ist es notwendig gefroren bei -20 °C zu lagern. Gefrorene Stuhlproben sind bei -20 °C bis zu 1 Jahr haltbar und können maximal 3 Gefrier-/Auftauzyklen unterzogen werden.
- Es wird empfohlen, das **EasyCal** Stuhlröhrchen mit dem Stuhl sofort zu verarbeiten. Wenn es nicht möglich ist, sofort mit dem Verfahren fortzufahren, kann das **EasyCal** Stuhlsammelröhrchen, das die Stuhlprobe enthält, ansonsten bis zu 72 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden. Es sollte bei 2-8 °C (bis zu 14 Tagen) gelagert werden. Wenn das Stuhlsammelröhrchen versendet werden muss, sollte es gekühlt (mit Kühlpacks) in einem Styroporbehälter verpackt werden.

EXTRAKTIONSVERFAHREN




1. Bringen Sie die Proben auf Raumtemperatur (18-25 °C).
2. Schütteln Sie jedes **EasyCal**-Röhrchen 30-60 Sekunden lang mit einem Vortex, um den Inhalt gut zu homogenisieren. Wenn die Einkerbungen des Stiftes sichtbar frei von Stuhlresten sind, fahren Sie direkt mit Schritt 3 fort, andernfalls wiederholen Sie das Vortexen für weitere 30-60 Sekunden. Fahren Sie nach einer maximalen Vortexzeit von 120 Sekunden auf jeden Fall mit Schritt 3 fort, unabhängig davon, ob Reste der Stuhlprobe noch vorhanden sind.
 - 2.1 Alternativ können die verschlossenen Röhrchen nach dem schnellen Vortex-Mischen für 20 Minuten auf einem Rollschüttler belassen werden.
3. Entfernen Sie am Ende des Röhrens den Stab mit der Kappe (weiß) zusammen mit dem Trichter (blau), indem Sie diesen im Uhrzeigersinn drehen. Verschließen Sie das Röhrchen mit der mitgelieferten weißen Kappe.
4. Zentrifugieren Sie die Probe 10 Minuten lang bei 1000 - 3000 x g, um alle verbleibenden Stuhlpartikel zu entfernen. Nehmen Sie das Stuhlröhrchen nach dem Zentrifugieren aus der Zentrifuge.
5. Der Stuhlextrakt kann nun analysiert werden.

LAGERUNG DES FÄKALIENEXTRAKTS

Nach Probenentnahme ist die Stuhlprobe unter folgenden Bedingungen stabil:

- Bis zu 72 Stunden bei Raumtemperatur (18-25 °C).
- Bis zu 14 Tagen bei 2-8 °C.
- Bis zu 90 Tagen bei -20 °C. Gefrorene Proben können bis zu 4 Einfrier- / Auftauzyklen unterzogen werden.

CALFAST READER SETUP VOR DEM TEST

1. Prüfen Sie, ob der **CalFast Reader** über das mitgelieferte USB-Kabel mit dem PC verbunden ist. Schalten Sie den PC ein und doppelklicken Sie auf das Symbol des Client Reader-Programms, und geben Sie dann den Benutzernamen und das Passwort ein.
2. Stellen Sie sicher, dass die angegebene Chargennummer mit der auf dem Etikett des verwendeten **CalFast NeXT**-Kits übereinstimmt, andernfalls aktualisieren Sie die Parameter gemäß dem folgenden Verfahren:
 - 2.1 Legen Sie den zweidimensionalen Barcode aus dem Kit in das Lesegerät ein.
 - 2.2 Überprüfen Sie die korrekte Position des Barcodes im Lesegerät.
 - 2.3 Klicken Sie auf  zum Lesen des Strichcodes. Alle Infos zur neuen Charge werden nun automatisch übernommen.
 - 2.4 Speichern Sie, indem Sie auf klicken .
 - 2.5 Beenden Sie, indem Sie auf klicken .
3. Bei Verwendung einer neuen Charge müssen jeweils die chargenspezifischen Informationen per Barcode neu eingelesen werden. Die für eine jeweilige Produktcharge gespeicherten Informationen stehen solange zur Verfügung, bis eine neue Charge verwendet wird.

Eine ausführlichere Beschreibung finden Sie im **CalFast Reader**-Benutzerhandbuch. Weitere Informationen:

- Batch-Code: Zeigt die verwendete Lotnr. an.
- Kitname: identifiziert das verwendete Produkt (**CalFast**, **CalFast XT** oder **CalFast NeXT**).
- Strip Control: kann optional vor dem Start einer Analyse verwendet werden. Bei Aktivierung erscheint das Bild der zu analysierenden Kassette und es wird überprüft, ob die Kontrolllinie vorhanden ist. Wenn diese vorhanden und richtig positioniert ist, zeigt die Konzentrationsanzeige im Client Reader „READABLE“ an. Andernfalls (Kontrolllinie fehlt oder falsche Positionierung der Kassette) erscheint die Meldung „UNREADABLE“.

INGABE DER PROBENDATEN




1. Um den **CalFast NeXT**-Testauslesevorgang zu starten, muss mindestens eine der folgenden Informationen eingegeben werden: Nachname, Name, Geburtsdatum oder Patientencode.
2. Nachdem die Daten des Registers des neuen Patienten ausgefüllt wurden, leuchtet die grüne LED auf und zeigt an, dass die Kassette in den entsprechenden Schacht eingelegt und mit dem Lesen fortgeföhren werden kann.
3. Legen Sie die Kassette ein, überprüfen Sie die korrekte Positionierung mit der Kontrollstreifentaste (optional).



TESTPROZEDUR

1. Stellen Sie sicher, dass alle Reagenzien Raumtemperatur (20-25 °C) erreichen.
2. Wenn die zu testenden Proben eingefroren sind, tauen Sie diese auf und bringen Sie sie auf Raumtemperatur.
3. Vorher zubereitete Stuhlextrakte 1:300 verdünnen (z.B. 5 µl Probe + 1495 µl Verdünnungsmittel). Gut mischen (10 Sek. vortexten).
4. Öffnen Sie den Beutel mit der Kassette und legen Sie diese auf eine horizontale Ebene.
5. Pipettieren Sie 100 µl verdünnten Extrakt oder 100 µl Positivkontrolle (gebrauchsfertig) oder 100 µl Negativkontrolle (gebrauchsfertig) und geben Sie sie direkt in die runde Vertiefung der Testkassette.
6. Die Durchführung der Positiv-/Negativkontrolle ist ein optionales Verfahren. Zusätzliche Positiv- und Negativkontrollen, chargenabhängig, können separat erworben werden (Ref. 9191NQ).
7. 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

TEST LESEN

1. Wenn die Kassette lesbar ist, starten Sie mit dem Lesen der Kassette, indem Sie auf das Symbol drücken  Während die Kassette gelesen wird, leuchten die gelbe LED und das Symbol auf  Diese wird dann durch das Symbol ersetzt .
2. Im Feld Streifenkontrolle befindet sich sowohl das "echte" Bild der Kassette als auch das analysierte Bild, das verwendet wird, um die Berechnung der Calprotectin-Konzentration durchzuführen.
3. Analysiertes Bild: Dies ist das Bild, an dem die Berechnungen durchgeführt wurden. Die roten und blauen Linien markieren das Lesefeld für die Berechnung.
4. Der **CalFast Reader** führt die Messung durch und ermittelt das Ergebnis in mg/kg oder µg/g.
5. Der abgelesene Konzentrationswert wird automatisch gespeichert und mit den jeweiligen Daten der Probe verknüpft.

VALIDIERUNG DER ERGEBNISSE

- Damit ein Ergebnis gültig ist, muss die Kontrollbande (C) immer sichtbar sein. Diese Bande ist nur eine Funktionskontrolle des Tests und kann nicht zur Interpretation der Testbande (T) verwendet werden.
- Die Menge an Calprotectin in der Probe (T-Bande) wird mittels des **CalFast Reader** berechnet.
- Wenn nur die Nachweisbande (T) erscheint, ist das Ergebnis ungültig und der Assay muss mit einer neuen Kassette wiederholt werden.
- Erscheint weder die Kontrollbande (C) noch die Nachweisbande (T), ist das Ergebnis ungültig und der Assay muss mit einer neuen Kassette wiederholt werden. Hinweis: **CalFast Reader** haben die Möglichkeit, einen Strip Check (optional) durchzuführen, um zu überprüfen, ob die Kassette lesbar ist.
- Die mit der Positivkontrolle und Negativkontrolle erhaltenen Ergebnisse müssen innerhalb der Konzentrationsbereiche liegen, die auf dem entsprechenden Etikett angegeben sind. Zusätzliche chargenabhängige Kontrollen können separat bestellt werden (ref. 9191NQ).

METROLOGISCHE RÜCKVERFOLGBARKEIT

Um die metrologische Rückführbarkeit von **CalFast NeXT** zu gewährleisten, werden die Konzentrationswerte der Kalibrierpunkte und der Kontrollen verglichen auf die intern definierten Referenzbereichswerte.

MIT DEM LESER ERHALTENE ERGEBNISSE CALFAST READER

Der **CalFast Reader** verwendet eine chargenspezifische Standardkurve, um die Konzentration von Calprotectin zu berechnen. Die mit **CalFast Reader** erhaltenen Calprotectin-Konzentrationswerte werden wie in der folgenden Tabelle angegeben:

Konzentration von Calprotectin	Calprotectin-Konzentration, die auf dem Display des CalFast Lesegerätes angezeigt wird
0 - 50 µg/g	< 50 µg/g
51 - 2100 µg/g	51 - 2100 µg/g
> 2101 µg/g	> 2100 µg/g

BEZUGSINTERVALL UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Eurospital hat eine interne Studie durchgeführt, um den Cutoff des **CalFast NeXT**-Kits zu bestimmen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Konzentration von Calprotectin	Interpretation	Follow-Up
< 70 µg/g	Normal	Keine
70 - 140 µg/g	Borderline	Nach 4-6 Wochen neu bewerten
> 140 µg/g	Abnormal	Wiederholung gemäß klinischer Indikation

Eurospital wird die Einführung eines Grenzbereichs nach Abschluss der klinischen Validierungsstudie evaluieren. Proben mit einer Konzentration von mehr als 140 µg/g müssen für den **CalFast NeXT**-Test als positiv angesehen und weiteren klinischen Untersuchungen unterzogen werden, um die Ursache der erhöhten Calprotectin-Konzentration zu ermitteln. Bei gesunden Erwachsenen liegt der nachweisbare Mittelwert bei ca. 25 µg/g. Dieser Wert würde, wenn er mit dem **v** ermittelt wird, als <50 µg/g angegeben werden. Bei Erwachsenen und Kindern sind die Calprotectinspiegel im Stuhl vergleichbar, während die in den ersten Lebensmonaten von Neugeborenen gefundenen Spiegel deutlich höher sein können^{2, 4, 7, 11, 12, 13}.

GRENZEN

- Patienten, die nichtsteroidale Antirheumatika (NSAIDs oder NSAIDs) einnehmen, können einen höheren Calprotectinspiegel als normal aufweisen^{9,18,24}.
- IBD-Patienten schwanken zwischen aktiven (Entzündung) und inaktiven Stadien der Krankheit. Diese²⁵ Schritte müssen bei der Durchführung des **CalFast NeXT**-Tests berücksichtigt werden.
- Die Anwendung von Protonenpumpenhemmern (PPI)²⁴ und das Vorliegen von mikroskopischer Kolitis^{21,22} oder Divertikelerkrankungen²³ können zu einem Anstieg des Calprotectin-Spiegels führen. Unbehandelte Zöliakiepatienten können gelegentlich hohe Calprotectinspiegel aufweisen^{19,20}.
- Andere Darmfunktionsstörungen, einschließlich Magen-Darm-Infektionen^{15,16,17} und Darmkrebs^{13,14,22}, können den Calprotectinspiegel erhöhen. Proben von diesen Patienten können im **CalFast NeXT**-Test positiv ausfallen, daher kann die Diagnose einer aktiven CED (IBD) nicht allein auf der Positivität des **CalFast NeXT**-Tests basieren.
- Calprotectin im Stuhl ist ein Indikator für das Vorhandensein von Neutrophilen im Stuhl und ist nicht spezifisch für IBD²⁶.

ANALYTISCHE LEISTUNG

Linearität

Die Linearitätsstudie wurde gemäß der CLSI EP06 2nd Edition Guideline durchgeführt. Diese Studie zeigte akzeptable Ergebnisse sowohl für die Linearität als auch für die Genauigkeit des **CalFast NeXT**-Kits für Calprotectin-Konzentrationen im Bereich von 40 µg/g - 2100 µg/g.

Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) und Limit of Quantification (LoQ)

LoB-, LoD- und LoQ-Studien wurden gemäß der CLSI-Richtlinie EP17-A durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

LoB	17,7 µg/g
LoD	29,4 µg/g
LoQ	35,0 µg/g

Studie zur Genauigkeitsbewertung an einem einzigen Standort

Die Studie wurde durchgeführt, indem 6 verschiedene Stuhlproben (4 positiv, 1 in der Cutoff-Zone und 1 negativ) extrahiert und 3 Wiederholungen jeder Probe für zwei Durchläufe pro Tag für 20 Tage getestet wurden. CV%-Werte müssen gleich oder kleiner als 20% sein. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

ID #	N	Mittelwerte (µg/g)	Within Run		Between Run		Between Day		Gesamt	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
1	120	56,0	6,9	12,4%	3,1	5,5%	2,9	5,1%	7,6	13,6%
2	120	75,9	10,5	13,8%	2,9	3,8%	3,0	3,9%	10,8	14,3%
3	120	238,0	29,5	12,4%	7,2	3,0%	9,4	4,0%	30,4	12,8%
4	120	446,6	58,9	13,2%	12,8	2,9%	19,3	4,3%	60,4	13,5%
5	120	783,5	87,8	11,2%	14,8	1,9%	20,4	2,6%	89,2	11,4%
6	120	1559,2	300,0	19,2%	0,0	0,0%	28,9	1,9%	290,9	18,7%

Inter-Lotto-Studie zur Genauigkeitsbewertung

Die Studie wurde durchgeführt, indem 6 verschiedene Stuhlproben (4 positiv, 1 in der Cutoff-Zone und 1 negativ) extrahiert und 5 Replikate jeder Probe für einen Lauf pro Tag über 5 Tage mit 3 verschiedenen Chargen von **CalFast NeXT** getestet wurden. CV%-Werte müssen gleich oder kleiner als 20% sein. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

ID #	N	Mittelwerte (µg/g)	Wiederholbarkeit		Within Lot		Between Lot		Reproduzierbarkeit	
			SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV	SD (µg/g)	CV
A	75	54,4	6,2	11,4%	7,1	13,1%	5,9	10,9%	9,2	17,0%
B	75	66,4	8,3	12,6%	9,0	13,6%	7,6	11,4%	11,7	17,7%
C	75	277,6	34,3	12,4%	39,0	14,1%	0,0	0,0%	39,0	14,1%
D	75	409,8	44,8	10,9%	52,4	12,8%	16,1	3,9%	54,8	13,4%
E	75	764,7	109,6	14,3%	127,5	16,7%	0,0	0,0%	127,5	16,7%
F	75	1326,3	182,6	13,8%	184,7	13,9%	41,1	3,1%	189,2	14,3%

Interferierende Substanzen

Es wurde getestet, ob potenziell störende Substanzen die Leistung des **CalFast NeXT** beeinträchtigen könnten. Die getesteten Substanzen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Die getesteten Konzentrationen haben zu keiner Veränderung der Testergebnisse geführt.

Störend	Gepriüfte Menge / 50 mg Stuhl
Hämoglobin	5,83 mg
Vancomycin	0,67 mg
Ciprofloxacin	0,50 mg
Prävalenz	0,02 mg
Azathioprin	0,07 mg
Prednison	0,01 mg
5-Aminosalicylsäure	1,33 mg
Vitamin A	8 IU
Vitamin D	1,1 IU
Vitamin C	0,05 mg
Vitamin E	0,10 mg
Bariumsulfat	0,25 mg
Loperamid HCl	0,34 µg
Wismutsubsalicylat	0,04 mg
Metronidazol	0,63 mg
Mucin	0,17 mg
Aluminiumhydroxid + Magnesiumhydroxid	0,21 mg
Palmitinsäure	0,07 mg
Stearinsäure	0,13 mg
Polyethylenglykol 3350	3,95 mg
Omeprazol	0,03 mg
S100A12 Protein	1,05 µg
Simethicone	0,03 mg
Cimetidin	0,03 mg
Kalziumkarbonat	0,03 mg

KLINISCHE LEISTUNGEN

Für den **CalFast NeXT** Assay umfasste die klinische Studie 81 Proben, von denen 42 Patienten mit Morbus Crohn, Ulcerative, Intermediate und Mikroskopische Kolitis und 39 negative Proben von Patienten mit Reizdarmsyndrom (IBS), wiederkehrenden Bauchschmerzen (RAP) und anderen Erkrankungen. Das Positive Patientenproben wurden anhand des klinischen Befundes diagnostiziert und/oder mittels Koloskopie bestätigt. Um die klinischen Informationen zu unterstützen, werden die Proben die für diese Studie verwendet wurden, wurden zuvor von **Calprest NG** IVD getestet. Die folgenden Tabellen zeigen die klinische Leistung des **CalFast NeXT** Assays.

Als positiv betrachtete Grenzstichprobenwerte				
		CalFast NeXT (cutoff = 70 µg/g)		
		Positiv	Negativ	Gesamt
Klinische Diagnose	IBD	42	0	42
	NICHT IBD	12	27	39
	Gesamt	54	27	81
Empfindlichkeit		100,0%	95% CI* (91,6% - 100,0%)	
Besonderheit		69,2%	95% CI* (53,6% - 81,4%)	
PPV**		76,5%	95% CI* (67,0% - 83,9%)	
NPV***		100,0%	95% CI* (100,0% - 100,0%)	

*CI = Vertrauensintervall (Meraldo-Wald)

**PPV = Positiv vorhergesagter Wert

***NPV = Negativer Vorhersagewert

Grenzstichprobenwerte, die als negativ angesehen werden				
		CalFast NeXT (cutoff = 140 µg/g)		
		Positiv	Negativ	Gesamt
Klinische Diagnose	IBD	40	2	42
	NICHT IBD	4	35	39
	Gesamt	44	37	81
Empfindlichkeit		95,2%	95% CI* (84,2% - 98,7%)	
Besonderheit		89,7%	95% CI* (76,4% - 95,9%)	
PPV**		90,9%	95% CI* (79,8% - 96,2%)	
NPV***		94,6%	95% CI* (81,8% - 98,5%)	

*CI = Vertrauensintervall (Meraldo-Wald)


















**PPV = Positiv vorhergesagter Wert

***NPV = Negativer Vorhersagewert

REFERENCES / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFÍA / LITERATUR

1. Fagerhol M. K. et al: Calprotectin (The L1 leukocyte protein) in: Smith V. L. and Dedman J. R. (eds.): Stimulus response coupling: The role of intracellular calcium-binding proteins. CRC Press, Boca Raton 1990, p. 187-210.
2. Johne, B. et al: Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol*, 1997. 50(3): p. 113-23.
3. Roseth, A. G. et al: Assessment of disease activity in ulcerative colitis by fecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion*, 1997. 58(2): p. 176-80.
4. Roseth A. G. et al: Correlation between fecal 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.
5. Ton H. et al: B. Improved assay for fecal calprotectin. *Clinica Chimica Acta* 2000; 292:41-54.
6. 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.
7. Tibble J. et al: A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47:506-513.
8. Burri E, Beglinger C. Faecal calprotectin -- a useful tool in the management of inflammatory bowel disease. *Swiss Med Wkly*. 2012;142:w13557. Published 2012 Apr 5.
9. Tibble J. A. et al: High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999; 45:362-366.
10. Calcaterra V. et al: *Ann Nutr Metab* 2018; 73:177–183 “Serum Calprotectin Level in Children: Marker of Obesity and its Metabolic Complications”.
11. Campeotto F. et al.: Fecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009 Apr; 48(4):507-10.
12. Campeotto et al.: High faecal calprotectin concentrations in newborn infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89:F353–F355.
13. Johne B. et al.: A new fecal calprotectin test for colorectal neoplasia. Clinical results and comparison with previous method. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36:291-296.
14. Luley K, Noack F, Lehnert H, Homann N. Local calprotectin production in colorectal cancer and polyps—active neutrophil recruitment in carcinogenesis. *Int J Colorectal Dis* 2011;26:603-7.
15. Shastri YM, Bergis D, Povse N, Schäfer V, Shastri S, Weindel M, et al. Prospective multicenter study evaluating fecal calprotectin in adult acute bacterial diarrhea. *Am J Med* 2008;121:1099-106.
16. Nielsen HL, Engberg J, Ejlersten T, Nielsen H. Evaluation of fecal calprotectin in *Campylobacter concisus* and *Campylobacter jejuni/coli* gastroenteritis. *Scand J Gastroenterol* 2013;48:633-5.
17. Chen CC, Huang JL, Chang CJ, Kong MS. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:541-7.
18. Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, Gonzalez J, Bjarnason I. A quantitative analysis of NSAID-induced small bowel pathology by capsule enteroscopy. *Gastroenterology* 2005;128:1172-8.
19. Ertekin V, Selimoğlu MA, Turgut A, Bakan N. Fecal calprotectin concentration in celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:544-6.
20. Balamtekin N, Baysoy G, Uslu N, Orhan D, Akçören Z, Özen H, et al. Fecal calprotectin concentration is increased in children with celiac disease: relation with histopathological findings. *Turk J Gastroenterol* 2012;23:503-8.
21. Lissette Batista et al.: Usefulness of fecal calprotectin as a biomarker of microscopic colitis in a cohort of patients with chronic watery diarrhoea of functional characteristics. *Dig Liver Dis*. 2019 Dec;51(12):1646-1651.
22. Gian P Caviglia, et al. Fecal calprotectin: beyond intestinal organic diseases. *Panminerva Med* 2018 Mar;60(1):29-34.
23. Davor Štimac, et al. What's New in Diagnosing Diverticular Disease . *J Gastrointestin Liver Dis*, 2019 Vol. 28 Suppl 4: 17-21.
24. David Lundgren, et al. Proton pump inhibitor use is associated with elevated faecal calprotectin levels. A cross-sectional study on subjects referred for colonoscopy. *Scand J Gastroenterol*. 2019 Feb;54(2):152-157.
25. Jost Langhorst, et al. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices. *Am J Gastroenterol*. 2008 Jan;103(1):162-9.
26. Ganga W Pathirana, et al. Faecal Calprotectin. *Clin Biochem Rev* 39 (3) 2018.

Legend / Legenda / Légende / Leyenda / Legende

	Consult electronic instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso elettroniche / Consulter la notice d'utilisation électronique / Consultarse las instrucciones electrónicas de uso / Elektronischen Gebrauchsanweisung beachten		Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller
	Use by / Data di scadenza / Date de péremption / Fecha de caducidad / Verwendbar bis		<i>In vitro</i> diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> / Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> / <i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	European Conformity / Conformità agli standard europei / Conformité aux normes européennes / Conformidad europea / Europäische Konformität		Sufficient for / Sufficiente per / Suffisant pour / Válido para / Ausreichend für
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limitación de temperatura / Temperaturbegrenzung		Disposable / Monouso / Usage unique / Desechable / Einmalige Verwendung
	Catalogue number / Numero di Catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestell Nummer		Stool collection and extraction device / Dispositivo raccolta ed estrazione feci / Dispositifs de collecte et extraction des selles / Dispositivo de recogida y extracción de heces / Stuhlröhrchen zur Probenextraktion
	Cassette / Cassetta / Cassette / Cartucho / Kassetten		Diluent / Diluente / Diluant / Diluyente / Probenverdünnungspuffer
	Batch number / Numero di lotto / Numéro de lot / Número de lote / Chargennummer		Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negativkontrolle
	Caps / Tappi / Casquettes / Tapas / Kappen		Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
	Two-dimensional barcode / Codice a barre bidimensionale / Code à barres bidimensionnel / Código de barras bidimensional / Zweidimensionaler Barcode		

English
Italiano
Français
Español
Deutsch

Calfast NeXT

Ref. 9191NT, 20 tests.

Ref. 9191NT, 20 test.

Ref. 9191NT, 20 tests.

Ref. 9191NT, 20 ensayos.

Ref. 9191NT, 20 tests.



Eurospital SpA

Via Flavia 122, 34147 Trieste, Italia
Tel. +39 040 8997.1 - Fax +39 040 280944
www.eurospital.com - info@eurospital.it

