

Зміни: § 1, 2, 4, 5, 9.2, 16, 17, 18.3, 18.4, 18.5, 18.7, 18.10, 19
Видалення: § 1, 4, 17, 18.3, 18.4, 18.5

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин (REF 318960) LIAISON® Calprotectin

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин — це хемілюмінесцентний імуноаналіз для діагностики in vitro (CLIA), призначений для кількісного визначення в зразках калу людини фекального кальпротектину — нейтрофільного протеїну, який є маркером запалення слизових оболонок. Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин може використовуватись як допоміжний для діагностики запального захворювання кишківника (IBD), специфічної хвороби Крона та виразкового коліту, і як допоміжний для диференціації запального захворювання кишківника (IBD) від синдрому запалення кишківника (IBS) та для моніторингу IBD. Результати аналізу слід використовувати в поєднанні з інформацією, отриманою з клінічної оцінки та з інших діагностичних процедур. **Виріб призначений для використання в діагностиці in vitro в професійних лабораторних умовах на автоматизованих аналізаторах сімейства ЛІЕЙСОН.**

2. РЕЗЮМЕ ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Запальне захворювання кишечника (ЗЗК, IBD) — це хронічний стан, який включає виразковий коліт і хворобу Крона. У пацієнтів проявляється такими симптомами, як хронічні або періодичні епізоди болю в животі та діареї. Клінічні прояви ЗЗК не є специфічними, а симптоми подібні до інших неорганічних захворювань, таких як синдром подразненого кишечника (СПК, IBS), і для підтвердження діагнозу потрібне проведення ендоскопії. Неінвазивне вимірювання фекального кальпротектину вважається корисним інструментом скринінгу для диференціації ЗЗК від СПК (1-3).

Кальпротектин — гетерокмплес, що складається з білків, що зв'язують кальцій і цинк, S100A8 і S100A9. Він становить понад 60% загального білка в цитозолі нейтрофілів, які інфільтрують слизову оболонку кишечника в рамках запальної реакції. Отже, органічні захворювання кишечника призводять до підвищення рівня фекального кальпротектину (1,3). Концентрація кальпротектину в калі відображає кількість присутніх нейтрофілів і є індикатором тяжкості запалення кишечника (4-6). Вимірювання фекального кальпротектину все частіше застосовується в рамках діагностики (і лікування) органічних кишкових захворювань, таких як IBD (3,7).

Пацієнти з IBD коливаються між активною (запальною) та неактивною стадіями захворювання. Ці етапи необхідно враховувати при інтерпретації результатів аналізу фекального кальпротектину. **Останні дослідження демонструють ефективність вимірювання кальпротектину в прогнозуванні рецидиву у пацієнтів з неактивним виразковим колітом (15) та важливість визначення рівнів кальпротектину в калі (FC), оскільки ці рівні відображають реакцію на терапію у пацієнтів з тяжким гострим виразковим колітом (ASUC), тим самим покращуючи терапевтичний підхід (16).** Крім того, в проспективному дослідженні було оцінено, що підвищений рівень кальпротектину в калі має прогностичне значення для рецидиву навіть у пацієнтів з клінічно безсимптомною хворобою Крона (17). Немає єдиної думки щодо термінів оцінки прогресування захворювання після зміни терапії, але зазвичай загострення слизової оболонки оцінюють через 2–3 місяці після початку лікування. Моніторинг терапії може бути підкріплений повторними вимірюваннями кальпротектину через 3–6 місяців після початку лікування. Протягом цього періоду повторні вимірювання кальпротектину дозволяють виявити рецидив до появи клінічних симптомів (18). Дійсно, два послідовних підвищених результати вимірювання FC протягом тривалого часу є хорошим прогностичним фактором клінічного рецидиву, як було продемонстровано в останніх дослідженнях (19). Рівень FC починає підвищуватися приблизно за 3 місяці до клінічного рецидиву.

Інші кишкові захворювання, включаючи багато шлунково-кишкових інфекцій і колоректальний рак, можуть призвести до підвищення рівня кальпротектину. Тому діагноз активного ЗЗК слід встановлювати лише в контексті інших діагностичних досліджень і загального клінічного стану пацієнта. Фекальний кальпротектин є показником присутності нейтрофілів у калі і не є специфічним для IBD.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин — це сендвіч-аналіз, який використовує 2 моноклональні антитіла для захоплення та виявлення кальпротектину. Кальпротектин спочатку екстрагують із зразків калу за допомогою буфера ЛІЕЙСОН Буфер для екстракції зразків калу (LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (Quantitative Stool Extraction and Test)) (REF 319135) і процедури зважування, або за допомогою пристроїв ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу (LIAISON® Q.S.E.T. Device (Quantitative Stool Extraction and Test)) (REF 319050) або ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу Плюс (LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus (Quantitative Stool Extraction and Test)) (REF 319060). Для проведення цього аналізу виконується інкубація розведеного зразка, калібратора або контролю з аналітичним буфером та парамагнітними частинками, покритими моноклональним антитілом, яке специфічно розпізнає гетерокмплес кальпротектину. Після інкубації виконується цикл промивання для видалення будь-якого незв'язаного матеріалу. Потім до реакційної суміші додається моноклональне антитіло, кон'юговане ізолюмінолом, яке розпізнає кальпротектин, та проводиться інкубація. Незв'язаний кон'югат видалюється за допомогою другого етапу промивання. Потім додаються стартерні реагенти, і таким чином ініціюється реакція спалаху хемілюмінесценції. Світловий сигнал вимірюється фотопомножувачем у відносних світлових одиницях (RLU), він пропорційний концентрації кальпротектину, присутнього в калібраторах, контролях або зразках.

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,4 мл)	[SORB]	Магнітні частинки, покриті мишачими моноклональними антитілами до кальпротектину, у буферному розчині, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin® 300 і 0,05% гентаміцину сульфату.
Кон'югат (25,0 мл)	[CON]	Мишачі моноклональні антитіла до кальпротектину, кон'юговані з похідним ізолюмінолу в забуференому розчині, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin® 300 і 0,05% гентаміцину сульфату.

Аналітичний буфер (27,0 мл)	BUF AS	Буферний розчин, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin® 300 і 0,05% гентаміцину сульфату.
Розчин для розведення зразків (13 мл)	DIL SPE	Буферний розчин, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin® 300 і 0,05% гентаміцину сульфату.
Кількість тестів		100

ProClin є торговою маркою **LANXESS Corp.**

Всі реагенти постачаються готовими до використання. Порядок реагентів відображає розташування контейнерів в інтегралі реагентів.

*ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS

Додаткові компоненти, що не входять до інтегралу реагентів

Калібратор 1 2 x 1,0 мл Ліофілізований	CAL 1	Рекомбінантний антиген кальпротектину в буферному розчині, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфату. Розчинити в 1 мл дистильованої або деіонізованої води.
Калібратор 2 2 x 1,0 мл Ліофілізований	CAL 2	Рекомбінантний антиген кальпротектину в буферному розчині, що містить BSA, сурфактант, 0,1% ProClin™ 300 і 0,05% гентаміцину сульфату. Розчинити в 1 мл дистильованої або деіонізованої води.

Стандартизація: Концентрації калібратора відносяться до препарату антитіл власного виробництва.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором (пов'язані з системою)

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL	Аналізатор ЛІЕЙСОН	Аналізатор ЛІЕЙСОН XS
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® EASY Wash Buffer (REF 319301)
-	-	LIAISON® EASY System Liquid (REF 319302)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)	LIAISON® EASY Waste (REF X0054)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)	LIAISON® Cuvettes on Tray (REF X0053)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) або	LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300)
або	LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Disposable Tips (REF X0055)
LIAISON® XL Easy Starter Kit (REF 319300)	або	LIAISON® EASY Cleaning Tool (REF 310996)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® EASY Starter Kit (REF 319300)	
або	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)	
LIAISON® Disposable Tips (REF X0055)	LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)	

Додаткові потрібні матеріали, що не постачаються з набором

LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (REF 319135)
LIAISON® Calprotectin Control Set (REF 318961)

Додаткові лабораторні матеріали, які можна придбати у DiaSorin

LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus (REF 319060)
LIAISON® Q.S.E.T. Device (REF 319050)

5. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO – Не для внутрішнього чи зовнішнього застосування у людей чи тварин.

Загальна безпека:

- Усі зразки, біологічні реагенти та матеріали, які використовуються для аналізу, слід вважати потенційно здатними переносити інфекційні агенти. Уникайте контакту зі шкірою, очима або слизовими оболонками. Під час тестування дотримуйтесь правил промислової гігієни.
- Не їжте, не пийте, не куріть і не використовуйте косметику в лабораторії.
- Не піпетуйте розчини ротом.
- Уникайте прямого контакту з усіма потенційно інфекційними матеріалами, надягаючи лабораторний халат, захист для очей/обличчя та одноразові рукавички.
- Після закінчення кожного аналізу ретельно мийте руки.
- Уникайте розбризкування або утворення аерозолів під час обробки, розведення або перенесення зразків або реагентів. Будь-який розлив реагенту слід знезаразити 10% розчином відбілювача (що містить 0,5% гіпохлориту натрію) і утилізувати як потенційно інфекційний.
- Відходи слід утилізувати відповідно до чинних правил і вказівок установ, під юрисдикцією яких знаходиться лабораторія, а також правил кожної країни.
- Не використовуйте набір або його компоненти після завершення терміну придатності, вказаного на етикетці.

Інформація про хімічну небезпеку та техніку безпеки: Реагенти в цьому наборі класифікуються відповідно до US OSHA Hazard Communication Standard; individual US State Right-to-Know laws; Canadian Centre for Occupational Health and Safety Controlled Products Regulations; і відповідних директив Європейського Союзу (додаткову інформацію див. у Паспорті безпеки матеріалу).

GHS/CLP:

	ProClin™
CAS No.:	55965-84-9
Реагенти:	SORB CONJ BUF AS DIL SPE CAL 1 CAL 2
Класифікація:	Skin sensitization, Category 1 Aquatic Chronic, Category 3
Сигнальне слово:	Увага
Піктограма:	 GHS07 Exclamation mark
Повідомлення про небезпеку:	H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри. H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками.
Інформація про заходи безпеки:	P261 Уникайте вдихання пилу, диму, газу, туману, випарів, аерозолів. P272 – Забруднений робочий одяг не можна виносити з робочого місця. P273 Уникати потрапляння в навколишнє середовище. P280 – Одягайте захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя.

Словник символів та паспорт безпеки надаються в електронному вигляді на веб-сайті www.diasorin.com.

6. ПІДГОТОВКА ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Зверніть увагу на наступні важливі запобіжні заходи при поводженні з реагентами:

6.1 Ресуспендування магнітних частинок

Магнітні частинки необхідно повністю ресуспендувати перед тим, як інтеграл буде розміщено в аналізаторі. Щоб забезпечити належний стан суспензії, виконайте наведені нижче дії:

- Перед тим, як видалити пломбу, обертайте невелике коліщатко на відділенні для магнітних частинок, доки колір суспензії не стане коричневим. Для кращого суспендування магнітних частинок обережно та акуратно похитайте з боку в бік (уникайте утворення піни). Візуально перевірте дно флакона з магнітними частинками, щоб переконатися, що всі магнітні частинки, що осіли, ресуспендовані.
- За необхідності повторюйте до повного ресуспендування магнітних частинок.
- Після зняття пломби ретельно протріть поверхню кожної перегородки, щоб видалити залишки рідини, якщо вони є.

6.2 Спінювання реагентів

Для забезпечення оптимальної роботи інтегралу слід уникати спінювання реагентів. Щоб запобігти спінюванню, дотримуйтеся наведених нижче рекомендацій:

- Перед використанням інтегралу візуально перевірте реагенти і переконайтеся у відсутності піни. Якщо після ресуспендування магнітних частинок утворилася піна, помістіть інтеграл у прилад і дайте піні розсіятися. Інтеграл готовий до використання, коли піна розсіюється, а інтеграл залишається в аналізаторі та магнітні частинки у ньому перемішуються.

6.3 Завантаження інтегралу у відсік для реагентів

Аналізатор ЛІЕЙСОН

- Помістіть інтеграл у відсік реагентів аналізатора етикеткою зі штрих-кодом вліво та дайте йому постояти 30 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS

- Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та аналізатор ЛІЕЙСОН XS оснащені вбудованим твердотільним магнітним пристроєм, який допомагає розсіювати мікрочастинки перед розміщенням інтегралу реагентів у відсік для реагентів аналізатора. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.
 - Вставте інтеграл реагентів у спеціальний слот.
 - Залиште інтеграл реагентів у твердотільному магнітному пристрої принаймні на 30 секунд (до кількох хвилин). За потреби повторіть.
- Помістіть інтеграл в відсік реагентів аналізатора етикеткою вліво та дайте йому постояти 15 хвилин перед використанням.
- Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

7. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Після отримання інтеграл реагентів необхідно зберігати у вертикальному положенні, щоб полегшити повторне суспендування магнітних частинок. Якщо інтеграл реагентів зберігається запечатаним, він залишається стабільним при 2-8°C до закінчення терміну придатності. Не заморожувати. Інтеграл реагентів не можна використовувати після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору та інтегралу реагентів. Після зняття пломб інтеграл реагентів можна повернути в коробку з набором і зберігати у вертикальному положенні при 2-8°C або зберігати на борту аналізатора протягом 56 днів.

8. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Зберіть зразки калу в чистий герметичний контейнер без консервантів. Зразки слід зберігати при температурі 2-8°C і досліджувати якомога швидше після отримання, проте також допускається зберігання при кімнатній температурі до шести (6) годин або при 2-8°C протягом 72 годин. Якщо аналіз не буде проводитися раніше ніж через 72 години, зразки слід зберігати в замороженому стані при температурі -20°C або нижчій відразу після отримання. Зразки можна зберігати замороженими при

-20°C протягом 16 тижнів. Перед використанням дайте зразкам калу нагрітися до кімнатної температури та якомога ретельніше перемішайте. Зразки калу стабільні після трьох (3) циклів заморожування/розморожування.

9. ЗБЕРІГАННЯ ЕКСТРАГОВАНИХ ЗРАЗКІВ

9.1 Процедура зважування

Екстракти зразків калу, оброблені методом зважування, стабільні протягом 8 годин при кімнатній температурі (18-25°C) або сім (7) днів при 2-8°C до тестування. Екстракти зразків калу не слід зберігати в замороженому вигляді.

9.2 Процедура з використанням ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу Плюс (LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus)

Екстракти зразків калу, оброблені за допомогою пристрою ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу Плюс, стабільні до чотирьох (4) годин при кімнатній температурі (18-25 °C), до шести (6) годин при 2-8 °C або семи (7) днів у замороженому стані при -20 °C перед тестуванням. У разі заморожування екстракти стабільні протягом 1 циклу заморожування/відтавання. Для більш тривалого зберігання при 2-8°C екстракти необхідно обробляти наступним чином:

1. Перенесіть 1,0 мл екстракту калу в мікроцентрифужну пробірку та центрифугуйте в мікроцентрифузі протягом 5 хвилин при 3000 x g*.
2. Перенесіть 0,5 мл прозорого супернатанту в нову пробірку для зразків, для зберігання та тестування.
3. Екстракт тепер можна зберігати при 2-8°C до семи (7) днів.

9.3 Процедура з використанням ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу (LIAISON® Q.S.E.T. Device)

Екстракти зразків калу, оброблені за допомогою пристрою ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу, стабільні до чотирьох (4) годин при кімнатній температурі (18-25 °C) або до шести (6) годин при 2-8 °C перед тестуванням. Для більш тривалого зберігання при 2-8°C екстракти необхідно обробляти наступним чином:

1. Перенесіть 1,0 мл екстракту калу в мікроцентрифужну пробірку та центрифугуйте в мікроцентрифузі протягом 5 хвилин при 3000 x g*.
2. Перенесіть 0,5 мл прозорого супернатанту в нову пробірку для зразків, для зберігання та тестування.
3. Екстракт тепер можна зберігати при 2-8°C до семи (7) днів. Екстракти не можна зберігати замороженими.

10. КАЛІБРАТОРИ 1 і 2

Калібратори ЛІЕЙСОН Кальпротектин постачаються ліофілізованими. Відновіть кожен флакон з 1,0 мл дистильованої або деіонізованої води. Дайте флаконам постояти 5 хвилин при кімнатній температурі, і обережно перемішайте, перевертаючи, перед використанням. Перенесіть мінімум 350 мкл (потрійне калібрування) у скляну або пластикову пробірку для зразків. Прикріпіть відповідну етикетку зі штрих-кодом до пробірки, помістіть її в штатив відповідного розміру та завантажте на аналізатор. Якщо штрих-коди зовнішнього калібратора не зчитуються, дані, присутні на етикетках зовнішнього калібратора (під штрих-кодом), можна ввести в аналізатор вручну. Відкалібруйте аналіз, як описано в посібнику користувача аналізатора.

Після відновлення калібратори LIAISON® Calprotectin слід розділити на аліквоти, якщо аналіз не проводиться негайно. Показано, що калібратори ЛІЕЙСОН Кальпротектин стабільні протягом шести (6) годин при зберіганні при кімнатній температурі та протягом 28 днів при зберіганні при 2-8°C.

Аналізатор ЛІЕЙСОН

Поставте пробірку в штатив "А" аналізатора ЛІЕЙСОН баркодом назовні та помістіть штатив у відсік для зразків аналізатора ЛІЕЙСОН.

Аналізатори ЛІЕЙСОН та ЛІЕЙСОН XS :

Поставте пробірку в штатив "А" аналізатора ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS баркодом назовні та помістіть штатив у відсік для зразків аналізатора ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS.

Номер партії калібратора та інтегралу реагентів є специфічним для партії. Не використовуйте в аналізі калібратори, що призначені для реагентів інших партій.

11. КАЛІБРУВАННЯ

Індивідуальні інтеграли реагентів ЛІЕЙСОН Кальпротектин містять специфічну інформацію для калібрування конкретної партії інтегралів реагентів. Визначення значень відносних світлових одиниць (RLU) для специфічних калібраторів дає можливість побудувати стандартну криву. Вміст кожного калібратора достатній, щоб виконати чотири (4) калібрування.

Повторне калібрування у трьох паралельних визначеннях є обов'язковим, якщо виконується хоча б одна (1) з наступних умов: Необхідно провести калібрування у трьох паралельних визначеннях, якщо виконується хоча б одна з наступних умов:

- Використовується нова партія реагентів (інтегралу реагентів або стартерних реагентів).
- Попереднє калібрування було виконане більше ніж 28 днів тому.
- Результати контролю якості лежать поза допустимим діапазоном.
- Аналізатор пройшов технічне обслуговування.

Для отримання інструкцій щодо калібрування зверніться до посібника оператора аналізатора.

Діапазон вимірювання: Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин вимірює від 5 мкг/г до 800 мкг/г.

Найнижче звітне значення становить 5 мкг/г. Значення нижче 5 мкг/г слід повідомляти як < 5 мкг/г. Найвище звітне значення без розведення становить 800 мкг/г.

Зразки з результатами, що перевищують діапазон аналізу, можна розвести в аналізаторі за допомогою розчину для розведення зразків (входить до набору) і повторно проаналізувати. Рекомендоване розведення будь-якого зразка, що перевищує діапазон аналізу, становить 1:10 (тобто 15 мкл зразка + 135 мкл розчину для розведення зразків).

*g = (1118 x 10⁻⁸)(градіус в см)(обертів/хв)²

12. ЕКСТРАКЦІЯ ЗРАЗКА

Наступні методи використовуються для екстракції зразків калу людини перед тестуванням за допомогою аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин. Кожна лабораторія повинна визначити свій метод вибору.

МЕТОД 1: Протокол зважування

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором:

Поліпропіленові пробірки з кришкою, що закручується, на 15 мл
Мікроцентрифужні пробірки на 1,0-2,0 мл
Інокуляційна петля на 10 мкл, яку можна відламувати
Ваги аналітичні (50-100 мг)
Вортекс на кілька пробірок
Мікроцентрифуга (3,000 x g)
Регульовані піпетки на 100 і 1000 мкл з одноразовими наконечниками

Процедура:

- Зважте (таруйте) марковану порожню пробірку з гвинтовою кришкою разом із інокуляційною петлею.
- За допомогою інокуляційної петлі відберіть 50-100 мг калу та помістіть у попередньо зважену пробірку.
- Зважте пробірку і петлю з калом.
- Обчисліть вагу нетто калу.
- Відламайте ручку інокуляційної петлі, залишивши петлю та ручку 4-6 см всередині пробірки.
- Додайте в пробірку 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (в 49 разів більше ніж об'єм маси калу). Приклади наведені в наступній таблиці. Щільно закрутіть кришку на пробірку.

Вага нетто калу (мг)	Об'єм 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (мл)
50	2,5
55	2,7
60	2,9
65	3,2
70	3,4
75	3,7
80	3,9
85	4,2
90	4,4
95	4,7
100	4,9

- Гомогенізуйте зразок на вортексі на найвищій швидкості протягом 30 хвилин.
- Перенесіть 1,0 мл гомогенізованого зразка в мікроцентрифужну пробірку та центрифугуйте в мікроцентрифузі протягом п'яти (5) хвилин при 3000 x g*.
- Змішайте 100 мкл прозорого супернатанту екстракту з 850 мкл 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer у новій пробірці для зразка.
- Вставте зразок у штатив для зразків «А» та помістіть його на аналізатор ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS для тестування.
- Очистіть робочу зону 10% розчином відбілювача (0,5% гіпохлориту натрію).

Для проведення аналізу кінцевий об'єм екстракту зразка має становити мінімум 250 мкл.

МЕТОД 2: LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus

ПРИМІТКА: Дуже тверді зразки калу не слід відбирати за допомогою ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу Плюс (LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus). Зразки рідкого калу можна вносити піпеткою безпосередньо в ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу Плюс. Дивіться альтернативну процедуру нижче. Якщо зразки калу не підходять для використання з LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus, їх слід обробляти за методом зважування калу.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором:

LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus (REF 319060)
Вортекс на кілька пробірок, розрахований виробником до 2500 об/хв (мультивортекс)

Процедура:

- Викрутіть паличку для відбору проб (синя кришечка). Витягніть паличку для відбору проб з пристрою, чорний гумовий обмежувач повинен залишитися в пристрої. Не користуйтеся пристроєм, якщо чорний гумовий обмежувач витягається, коли вийнято паличку.
- Занурте паличку для відбору проб у зразок калу кілька разів (3–5 місць), доки канавки не будуть повністю покриті.
- Вставте паличку через чорний гумовий обмежувач та щільно закрутіть паличку для відбору зразків назад у пристрій. Надлишок калу буде видалено з палички гумовим обмежувачем. **ПРИМІТКА:** На цьому кроці пристрій можна зберігати протягом восьми (8) годин при кімнатній температурі або протягом семи (7) днів при температурі 2-8°C, перш ніж перейти до кроку 4.
- Розмістіть пробірку кришкою вгору на мультивортексі і гомогенізуйте кал на найвищій швидкості протягом 30 хвилин.
- Переконайтеся, що в канавках палички для відбору зразків немає видимих залишків калу. Якщо є, продовжуйте

- перемішувати на вортексі, доки в канавках не залишиться зразка.
6. Відкрутіть прозору кришку та викиньте у відповідний контейнер для біологічно небезпечних відходів.
7. Будь-яку піну або бульбашки, які утворилися після перемішування, слід видалити за допомогою піпетки перед тим, як помістити на прилад.
8. Помістіть пристрій для екстракції у відповідний штатив для зразків і помістіть його на аналізатор ЛІЕЙСОН для тестування.
9. Очистіть робочу зону 10% розчином відбілювача (0,5% гіпохлориту натрію).
10. Для зберігання або утилізації екстракту після завершення тестування закрийте пробірку для екстракції калу відповідним вторинним ковпачком.

Процедура відбору рідкого калу:

Відкрутіть прозору кришечку і внесіть піпеткою 12 мкл рідкого зразка калу в LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus.

УВАГА: рідкий кал часто містить тверді частинки, які можуть закупорити піпетку під час цього процесу.

Необхідно забезпечити аспірацію належного об'єму.

Помістіть прозору кришку на пристрій і міцно закрутіть.

Виконайте описані вище кроки 4-10.

Діаграми, що ілюструють процедури екстракції калу за допомогою методу зважування та LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus, наведено в кінці Інструкції з використання.

МЕТОД 3: LIAISON® Q.S.E.T. Device

ПРИМІТКА: Дуже тверді зразки калу не слід відбирати за допомогою ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу (LIAISON® Q.S.E.T. Device). Зразки рідкого калу можна вводити піпеткою безпосередньо в LIAISON® Q.S.E.T. Device. Альтернативна процедура описана нижче. Якщо зразки калу не підходять для використання з LIAISON® Q.S.E.T. Device, їх слід обробляти за методом зважування калу.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором:

LIAISON® Q.S.E.T. Device (REF 319050)

LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (REF 319135)

Вортекс на кілька пробірок (мультивортекс)

Процедура:

1. Переконайтеся, що блакитна кришечка міцно закручена.
2. Зніміть прозору кришечку і внесіть у пристрій 6,0 мл буферу 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer.
3. Помістіть прозору кришечку на пристрій і міцно закрутіть.
4. Переверніть пристрій синьою кришечкою вгору.
5. Викрутіть паличку для відбору проб (синя кришечка).
6. Занурте паличку для відбору проб у зразок калу кілька разів (3–5 місць), доки канавки не будуть повністю покриті.
7. Вставте паличку через чорний гумовий обмежувач та щільно закрутіть паличку для відбору зразків назад у пристрій. Надлишок калу буде видалено з палички гумовим обмежувачем.
8. Розмістіть пробірку кришкою вгору на мультивортексі і гомогенізуйте кал на найвищій швидкості протягом 30 хвилин.
9. Переконайтеся, що в канавках палички для відбору зразків немає видимих залишків калу. Якщо є, продовжуйте перемішувати на вортексі, доки в канавках не залишиться зразка.
10. Переверніть пристрій прозорою кришкою вгору.
11. Відкрутіть прозору кришку та викиньте у відповідний контейнер для біологічно небезпечних відходів.
12. Будь-яку піну або бульбашки, які утворилися після перемішування, слід видалити за допомогою піпетки перед тим, як помістити на прилад.
13. Помістіть пристрій для екстракції у відповідний штатив для зразків і помістіть його на аналізатор ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS для тестування.
14. Очистіть робочу зону 10% розчином відбілювача (0,5% гіпохлориту натрію).

Процедура відбору рідкого калу:

Виконайте кроки 1-2, як зазначено у наведеній вище процедурі з використанням LIAISON® Q.S.E.T. Device.

Внесіть піпеткою 12 мкл рідкого зразка калу в пристрій для екстракції зразків, що містить буфер.

УВАГА: рідкий кал часто містить тверді частинки, які можуть закупорити піпетку під час цього процесу.

Необхідно переконатися, що забезпечена аспірація належного об'єму.

Помістіть прозору кришечку на пристрій і міцно закрутіть.

Виконайте описані вище кроки 8-14.

Діаграми, що ілюструють процедури екстракції калу за допомогою методу зважування та LIAISON® Q.S.E.T. Device, наведено в кінці Інструкції з використання.

13. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Для забезпечення належного проведення аналізу необхідно суворо дотримуватися інструкцій оператора аналізатора.

Аналізатор ЛІЕЙСОН:

Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою штрих-коду на етикетці інтегралу реагентів. Якщо штрих-код етикетки не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS: Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою інформації, закодованої в транспондері радіочастотної ідентифікації інтегралу реагентів (RFID Tag). Якщо RFID Tag не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

Під час проведення аналізу виконуються наступні операції:

Аналізатор ЛІЕЙСОН:

1. Дозування калібраторів, контролів або зразків.
2. Дозування покритих магнітних частинок.
3. Дозування аналітичного буфера.
4. Інкубація.
5. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
6. Дозування кон'югату.
7. Інкубація.
8. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
9. Дозування стартерних реагентів та вимірювання світла, що випромінюється.

Аналізатори ЛІЕЙСОН та ЛІЕЙСОН XS:

1. Дозування покритих магнітних частинок.
2. Дозування аналітичного буфера.
3. Дозування калібраторів, контролів або зразків.
4. Інкубація.
5. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
6. Дозування кон'югату.
7. Інкубація.
8. Цикл промивки рідиною Wash/System Liquid.
9. Дозування стартерних реагентів та вимірювання світла, що випромінюється.

14. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Контроль якості рекомендується проводити один раз на день використання, або згідно з інструкціями чи вимогами місцевих нормативних актів та акредитованих організацій. Користувачу рекомендується звернутися до CLSI C24-A3 (10) і 42 CFR 493.1256 (с) щоб знайти вказівки щодо належної практики контролю якості.

Набір контролів LIAISON® Calprotectin Control Set призначений для моніторингу істотних відмов реагенту. Контролі ЛІЕЙСОН слід аналізувати в одному екземплярі, для моніторингу ефективності аналізу. Якщо значення контролів знаходяться в межах очікуваних діапазонів, наведених у сертифікаті аналізу, тест є дійсним. Якщо значення контролів виходять за межі очікуваних діапазонів, тест недійсний, і результати пацієнта не можуть бути повідомлені. Якщо спостерігається відмова контролю, слід провести калібрування аналізу і повторити аналіз контролів та зразків пацієнтів.

Перед використанням інших контролів слід оцінити їх на сумісність із цим аналізом. Слід встановити відповідні діапазони значень для використовуваних матеріалів для контролю якості.

Діапазон концентрацій кожного контролю вказано в сертифікаті аналізу, він вказує межі, встановлені DiaSorin для значень контролів, які можна отримати в надійних постановках аналізів.

15. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL автоматично розраховує концентрації Кальпротектину у зразку. Концентрація виражена в мкг/г.

Точки медичного прийняття рішення для аналізу ЛІЕЙСОН кальпротектин були визначені на основі результатів популяцій клінічно здорових пацієнтів та пацієнтів, у яких лікарі діагностували ЗЗК, СПК або інші розлади ШКТ. Результати пацієнтів слід інтерпретувати наступним чином:

Концентрація кальпротектину	Результат
<50 мкг/г	Нормальний
50-120 мкг/г	Пограничний
> 120 мкг/г	Підвищений

У випадку одержання пограничних рівнів фекального кальпротектину рекомендується провести повторну оцінку через 4-6 тижнів для визначення запального статусу. Це рішення повинен прийняти клініцист, враховуючи клінічні симптоми пацієнта, історію хвороби та інші клінічні та лабораторні дані.

Попередження. Якщо результат аналізу відображає «invalid RLU» та знак оклику (!), отриманий результат лежить нижче діапазону вимірювання. Зразок необхідно протестувати повторно. Якщо після повторного тестування зразка все ще відображається «invalid RLU», зателефонуйте в службу технічної підтримки DiaSorin.

16. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Результати аналізу допомагають лікарю у прийнятті індивідуальних рішень про лікування пацієнта, але їх слід використовувати в поєднанні з іншими клінічними та лабораторними даними.
2. Для отримання надійних результатів необхідне вміле застосування методики і суворе дотримання інструкцій.
3. Дуже тверді зразки калу не слід обробляти за допомогою LIAISON® Q.S.E.T. Device або LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus.
4. У пацієнтів, які приймають НПЗП, може спостерігатися підвищення рівня кальпротектину в калі (8,9).
5. Оскільки кальпротектин присутній у цитоплазмі нейтрофілів, існує ймовірність підвищення рівня кальпротектину під час вимірювання зразків калу з кров'ю.
6. Хібно негативні результати можуть бути отримані у пацієнтів із гранулоцитопенією внаслідок пригнічення кісткового мозку.
7. У пацієнтів з ЗЗК відбуваються коливання між активною (запальною) та неактивною стадіями захворювання. Ці стадії необхідно враховувати при інтерпретації результатів.

8. Результати можуть бути клінічно незастосовними до дітей віком до 2 років, які мають незначне підвищення рівня кальпротектину в калі.
9. Інші кишкові захворювання, включаючи багато шлунково-кишкових інфекцій і колоректальний рак, теж можуть призвести до підвищення рівня кальпротектину. Тому діагноз активного ЗЗК слід встановлювати тільки в контексті інших діагностичних досліджень і загального клінічного стану пацієнта.
10. Фекальний кальпротектин є індикатором присутності нейтрофілів у калі і не є специфічним для ЗЗК.
11. Тест ЛІЕЙСОН Кальпротектин не оцінювався для моніторингу ЗЗК у дітей.

Інтеграли не можна обмінювати між аналізаторів різного типу (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS). Після встановлення інтеграла в аналізатор певного типу, його потрібно завжди використовувати на цьому аналізаторі до повного відпрацювання. Внаслідок вимог простежуваності, що впливають з попереднього твердження, заключний висновок для пацієнта не можна робити, базуючись на результатах з аналізаторів різного типу. Простеження зразків потрібно виконувати на одному конкретному типі аналізатора (ЛІЕЙСОН, ЛІЕЙСОН XL або ЛІЕЙСОН XS).

17. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Зразки калу від клінічно здорових донорів (15 осіб віком від 3 до 21 року та 112 дорослих) та осіб, [яким була проведена колоноскопія, з діагнозом](#) синдрому подразненого кишечника (СПК), запального захворювання кишечника (ЗЗК) та інших [захворювань шлунково-кишкового тракту](#) (19 осіб віком від 8 до 21 років та 221 дорослих) були досліджені за допомогою аналізу LIAISON® Calprotectin. Результати оцінювались з використанням точок медичного рішення 50 мкг/г і 120 мкг/г, які відповідають консенсусному порогу для розрізнення між ЗЗК і СПК.

Діагноз	Кількість суб'єктів та процент в діапазоні LIAISON® Calprotectin (мкг/г)			
	< 50,0 Нормальний	50,0-120 Пограничний	> 120 Підвищений	Всього
Клінічно здорові	112 (88,2%)	15 (11,8%)	0 (0%)	127 (100%)
IBD (ЗЗК)	2 (2,0%)	10 (9,8%)	90 (88,2%)	102 (100%)
IBS (СПК)	44 (65,7%)	15 (22,4%)	8 (11,9%)	67 (100%)
ІНШІ ЗАХВОРЮВАННЯ ШКТ	51 (71,8%)	15 (21,1%)	5 (7,1%)	71 (100%)

Результати тестів слід використовувати в поєднанні з інформацією, отриманою в результаті клінічної оцінки пацієнтів та інших діагностичних процедур.

18. СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

18.1 Метод порівняння:

Загалом 164 зразки калу, що охоплюють діапазон аналізу, були протестовані за допомогою аналізу LIAISON® Calprotectin та комерційного аналізу на кальпротектин відповідно до CLSI EP09-A3. Результати були проаналізовані за методом Пасінга та Баблока, були отримані наступні значення: нахил 0,97 (95% CI: від 0,91 до 1,00), відрізок 1,50 мкг/г (95% CI: від -2,26 до 6,46) і значення R шляхом лінійної регресії 0,961.

Також був проведений аналіз узгодженості щодо відповідних порогових значень (cut-off) аналізу для відповідних порогів медичних рішень. Позитивна та негативна узгодженість були розраховані з пограничними результатами, які вважались нормальними та підвищеними/ненормальними. Результати зведені в таблицях нижче.

Концентрація з аналізу ЛІЕЙСОН КАЛЬПРОТЕКТИН	Концентрація з порівняльного аналізу на визначення Кальпротектину			
	< 50 мкг/г (Нормальний)	50-120 мкг/г (пограничний)	>120 мкг/г (аномальний)	Всього
< 50 мкг/г (Нормальний)	32	4	0	36
50-120 мкг/г (пограничний)	4	28	2	34
>120 мкг/г (підвищений)	0	4	90	94
Всього	36	36	92	164

Пограничні розглядаються як Підвищені (Аномальні)

95% Довірчий інтервал

Позитивна узгодженість (124/128)

96,9%

(92,2% - 99,1%)

Негативна узгодженість (32/36)

88,9%

(73,9% - 96,9%)

Пограничні розглядаються як Нормальні

95% Довірчий інтервал

Позитивна узгодженість (90/92)

97,8%

(92,4% - 99,7%)

Негативна узгодженість (68/72)

94,4%

(86,3% - 98,5%)

18.2 Клінічна узгодженість

Клінічна специфічність і клінічна чутливість аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин були визначені на основі клінічних діагнозів шляхом тестування загалом 240 проспективно зібраних зразків людського калу від суб'єктів із ознаками та симптомами, що вказують на ЗЗК або СПК. Діагноз ЗЗК, СПК або іншого шлунково-кишкового розладу встановлювався на основі результатів колоноскопії, а також інших клінічних даних. Діагноз ЗЗК був підтверджений гістологічною оцінкою біопсії. Остаточні діагнози суб'єктів були такими: 102 ЗЗК (85 дорослих і 17 педіатричних), 67 СПК (65 дорослих і 2 педіатричних) і 71 інше шлунково-кишкове захворювання, крім IBD або IBS.

Порівняння ЗЗК та інших захворювань:

Чутливість і специфічність були розраховані для аналізу LIAISON® Calprotectin як допоміжного засобу в діагностиці ЗЗК у всіх суб'єктів. Пограничні результати були враховані як нормальні та як підвищені, і було повідомлено про 95% довірчі інтервали.

	Кальпротектин (мкг/г)	IBD (ЗЗК)	Non-IBD (інші захворювання)
Нормальний	<50	2	95
Пограничний	50-120	10	30
Підвищений	> 120	90	13
Всього		102	138

Пограничні розглядаються як Підвищені (Аномальні)

95% Довірчий інтервал

Клінічна чутливість 100/102
Клінічна специфічність 95/138

98,0%
66,8%

93,1% - 99,8%
60,4% - 76,7%

Пограничні розглядаються як Нормальні

95% Довірчий інтервал

Клінічна чутливість 90/102
Клінічна специфічність 125/138

88,2%
90,6%

80,4 – 93,8%
84,4 – 94,9%

Порівняння ЗЗК та СПК:

Чутливість і специфічність були розраховані для аналізу LIAISON® Calprotectin як допоміжного засобу в діагностиці ЗЗК у всіх суб'єктів. Пограничні результати були враховані як нормальні та як підвищені, і було повідомлено про 95% довірчі інтервали.

	Кальпротектин (мкг/г)	IBD (ЗЗК)	IBS (СПК)
Нормальний	<50	2	44
Пограничний	50-120	10	15
Підвищений	> 120	90	8
Всього		102	67

Пограничні розглядаються як Підвищені

95% Довірчий інтервал

Клінічна чутливість 100/102
Клінічна специфічність 44/67

98,0%
65,7%

93,1% - 99,8%
53,1% - 76,9%

Пограничні розглядаються як Нормальні

95% Довірчий інтервал

Клінічна чутливість 90/102
Клінічна специфічність 59/67

88,2%
88,1%

80,4 – 93,8%
77,8 – 94,7%

18.3 Точність з аналізатором ЛІЕЙСОН:

Для визначення повторюваності та відтворюваності аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин було проаналізовано два (2) набори контролів (КС) та шість (6) зразків, що містили концентрації аналіту, підготовлені для охоплення діапазону аналізу. Аналіз проводили двічі на день у двох паралельних визначеннях протягом 20 робочих днів на одному (1) аналізаторі ЛІЕЙСОН, використовувалася одна (1) партія реагенту. Тестування проводилося відповідно до CLSI EP5-A2 (11).

Повторюваність

Зразок	КС 1	КС 2	1	2	3	4	5	6
Кількість визначень	80	80	80	80	80	80	80	80
Середнє (мкг/г)	49,0	198	381	263	647	126	56,3	27,6
Стандартне відхилення (мкг/г)	2,1	10,1	21,0	11,2	32,5	5,2	2,6	1,9
Коефіцієнт варіації (% CV)	4,2	5,1	5,5	4,3	5,0	4,1	4,7	7,0

Відтворюваність

Зразок	КС 1	КС 2	1	2	3	4	5	6
Кількість визначень	80	80	80	80	80	80	80	80
Середнє (мкг/г)	49,0	198	381	263	647	126	56,3	27,6
Стандартне відхилення (мкг/г)	2,5	11,9	22,3	15,1	33,5	6,0	2,9	2,1
Коефіцієнт варіації (% CV)	5,1	6,0	5,9	5,8	5,2	4,8	5,2	7,6

Точність з аналізатором ЛІЕЙСОН XL

DiaSorin Inc було виконано 12-денне дослідження. Було проаналізовано панель з шести (6) зразків калу людини, що містили концентрації аналіту, підготовлені для охоплення діапазону аналізу. Екстрагування виконувалось трьома (3) операторами за методом екстракції вручну, кожного дня протягом 12 робочих днів, дослідження виконувались у двох (2) паралельних визначеннях у двох (2) постановках аналізу на день, використовувалася одна (1) партія реагенту ЛІЕЙСОН Кальпротектин.

Під час підготовки протоколу тестування було використано документ CLSI EP05-A3.

ID зразка	n зразків	Середнє (мкг/г)	В межах постановки		Між постановками		У різні дні		У різних операторів		Всього	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Зразок 1	144	24,9	0,74	3,0%	0,66	2,6%	2,91	11,7%	1,04	4,2%	3,25	13,0%
Зразок 2	144	39,9	0,88	2,2%	0,76	1,9%	3,44	8,6%	0,00	0,0%	3,63	9,1%
Зразок 3	144	155	3,99	2,6%	3,47	2,2%	11,26	7,2%	8,27	5,3%	14,94	9,6%
Зразок 4	144	253	6,97	2,8%	8,18	3,2%	20,17	8,0%	2,87	1,1%	23,03	9,1%
Зразок 5	144	21,6	0,67	3,1%	0,37	1,7%	2,93	13,5%	0,62	2,9%	3,09	14,3%
Зразок 6	144	639	15,86	2,5%	25,31	4,0%	39,21	6,1%	21,03	3,3%	53,59	8,4%

DiaSorin Inc та двома (2) зовнішніми лабораторіями було виконано п'яти (5)-денне дослідження. Було проаналізовано панель з шести (6) зразків калу людини, що містили концентрації аналіту, підготовлені для охоплення діапазону аналізу. Екстрагування виконувалось кожного дня на кожному сайті за методом екстракції вручну. Набори контролів також були включені в дослідження. На кожному сайті екстрагування та дослідження виконувалось принаймні двома (2) операторами. Дослідження виконувались в шести (6) паралельних визначеннях в одній (1) постановці аналізу на день, використовувалася одна (1) партія реагенту ЛІЕЙСОН Кальпротектин. Під час підготовки протоколу тестування було використано документ CLSI EP05-A3.

ID зразка	Середнє мкг/г	В межах постановки аналізу		У різні дні		В межах сайту		Між сайтами		Всього	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Контроль 1	51,2	1,19	2,3%	3,67	7,2%	3,83	7,5%	0,15	0,3%	3,83	7,5%
Контроль 2	254	7,59	3,0%	26,11	10,3%	27,02	10,6%	0,00	0,0%	25,94	10,2%
Зразок 1	25,9	0,68	2,6%	2,16	8,3%	2,25	8,7%	0,00	0,0%	2,17	8,4%
Зразок 2	42,1	0,78	1,8%	5,26	12,5%	5,31	12,6%	1,87	4,4%	5,63	13,4%
Зразок 3	173	4,65	2,7%	20,47	11,9%	20,91	12,1%	20,55	11,9%	29,32	17,0%
Зразок 4	281	5,62	2,0%	26,92	9,6%	27,41	9,7%	40,10	14,3%	48,57	17,3%
Зразок 5	23,4	0,60	2,6%	2,62	11,2%	2,68	11,5%	0,000	0,0%	2,45	10,5%
Зразок 6	695	18,85	2,7%	66,06	9,5%	68,26	9,8%	39,61	5,7%	78,92	11,3%

Точність з аналізатором ЛІЕЙСОН XS

В DiaSorin Inc було проведено п'яти (5)-денне дослідження точності. Було проаналізовано панель з шести (6) зразків калу людини, що містили концентрації аналіту, підготовлені для охоплення діапазону аналізу, екстрагування виконувалось кожного дня. Набори контролів також були включені в дослідження. Дослідження виконувались в шести (6) паралельних визначеннях в одній (1) постановці аналізу на день, використовувалася одна (1) партія реагенту LIAISON® Calprotectin. Під час підготовки протоколу тестування було використано документ CLSI EP15-A3.

ID зразка	Середнє (мкг/г)	В межах постановки аналізу		Всього	
		SD	%CV	SD	%CV
Набір контролів 1	54,7	1,21	2,2%	2,65	4,8%
Набір контролів 2	262	14,4	5,5%	19,8	7,6%
Зразок 1	24,1	0,76	3,2%	1,96	8,1%
Зразок 2	39,2	0,75	1,9%	3,20	8,2%
Зразок 3	164	5,7	3,5%	12,9	7,9%
Зразок 4	275	11,5	4,2%	24,5	8,9%
Зразок 5	19,7	0,50	2,6%	1,98	10,0%
Зразок 6	693	37,5	5,4%	52,4	7,6%

ВІДТВОРЮВАНІСТЬ ЕКСТРАКЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ПРИСТРОЮ LIAISON® Q.S.E.T. Device

Відтворюваність екстракції за допомогою пристрою LIAISON® Q.S.E.T. Device досліджували, використовуючи вісім (8) зразків калу, що охоплювали аналітичний діапазон вимірювання аналізу. Зразки екстрагували, використовуючи LIAISON® Q.S.E.T. Device, і тестували один (1) раз на день, виконуючи по п'ять (5) паралельних визначень протягом п'яти (5) днів трьома (3) операторами, загалом 75 вимірювань на зразок. Кожна екстракція виконувалася щодня кожним оператором незалежно. Під час підготовки протоколу тестування було використано документ CLSI EP15-A3.

ID зразка	N	Середнє	Повторюваність		У різні дні		У одного оператора		У різних операторів		Всього	
		мкг/г	SD (мкг/г)	%CV	SD (мкг/г)	%CV	SD (мкг/г)	%CV	SD (мкг/г)	%CV	SD (мкг/г)	%CV
1	75	21,9	0,636	2,9%	3,179	14,5%	3,232	14,8%	0,945	4,3%	3,052	13,9%
2	75	26,2	0,807	3,1%	1,951	7,4%	2,085	7,9%	1,843	7,0%	2,643	10,1%
3	75	38,6	1,428	3,7%	4,727	12,2%	4,903	12,7%	1,335	3,5%	4,621	12,0%
4	75	166	6,137	3,7%	9,110	5,5%	10,69	6,5%	8,141	4,9%	12,81	7,7%
5	75	297	11,29	3,8%	28,62	9,6%	30,42	10,2%	6,594	2,2%	28,37	9,6%
6	75	505	18,59	3,7%	59,39	11,8%	61,77	12,2%	34,35	6,8%	65,49	13,0%
7	75	2381	62,56	2,6%	410,4	17,2%	414,4	17,4%	254,7	10,7%	450,5	18,9%
8	75	4140	126,8	3,1%	309,2	7,5%	330,1	8,0%	228,9	5,5%	377,1	9,1%

18.4 LoB – Межа бланку (LoB)*

Відповідно до методу CLSI EP17-A2 (12), межа бланка для аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин становить **1,095** мкг/г.

18.5 LoD – Межа виявлення (LoD)

Відповідно до методу CLSI EP17-A2 (12), межа виявлення для аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин становить **1,535** мкг/г.

18.6 LoQ – Межа кількісного визначення (LoQ)

Відповідно до методу CLSI EP17-A2 (12), межа кількісного визначення для аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин становить <5,0 мкг/г.

18.7 Дослідження лінійності

1 екстракт зразка калу людини з високим вмістом ендogenous кальпротектину, що перевищує діапазон вимірювання аналізу при 800 мкг/г, був розведений і протестований за допомогою аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин відповідно до CLSI EP06-A (13). Результати аналізували методом регресії спостережуваної концентрації порівняно з очікуваною концентрацією.

Отримане рівняння:

Спостережуваний Кальпротектин = $0.96x + 4.145$; $R^2 = 1.00$

18.8 Відновлення

Були проаналізовані п'ять (5) екстрактів зразків калу людини з високою концентрацією (H) та п'ять (5) екстрактів зразків калу людини з низькою концентрацією (L). Потім готували відновлені зразки шляхом змішування зразків із високою і низькою концентрацією у визначених співвідношеннях і тестували в п'яти (5) паралельних визначеннях. Середні результати п'яти (5) паралельних визначень наведено в таблиці нижче.

	Очікувані концентрації (мкг/г)	Отримані концентрації (мкг/г)	% Відновлення
Зразок 1			
3 високою концентрацією, без добавок	-	747	-
2 H:1 L	516	526	102%
1 H:1 L	397	413	104%
1 H:2 L	278	301	108%
3 низькою концентрацією, без добавок	-	47,3	-
Зразок 2			
3 високою концентрацією, без добавок	-	674	-
2 H:1 L	466	454	98%
1 H:1 L	359	370	103%
1 H:2 L	252	256	102%
3 низькою концентрацією, без добавок	-	43,6	-
Зразок 3			
3 високою концентрацією, без добавок	-	611	-
2 H:1 L	422	417	99%
1 H:1 L	325	331	102%
1 H:2 L	227	234	103%
3 низькою концентрацією, без добавок	-	37,7	-
Зразок 4			
3 високою концентрацією, без добавок	-	672	-
2 H:1 L	459	454	99%
1 H:1 L	349	370	106%
1 H:2 L	239	245	103%
3 низькою концентрацією, без добавок	-	26,1	-
Зразок 5			
3 високою концентрацією, без добавок	-	339	-
2 H:1 L	232	225	97%
1 H:1 L	177	162	91%
1 H:2 L	122	116	94%
3 низькою концентрацією, без добавок	-	15,9	-
-	-	Середнє відновлення	101% (91%-108%)

18.9 Перешкоджаючі речовини

Контрольовані дослідження потенційно заважаючих речовин і мікроорганізмів, проведені в екстракті зразка калу на рівні кальпротектину приблизно 50 мкг/г, не показали впливу на аналіз LIAISON® Calprotectin при найвищій концентрації для кожної речовини або мікроорганізмів, перелічених нижче. Тестування базувалося на CLSI-EP7-A2(14).

Препарат/речовина	Досліджувана концентрація
Стеаринова кислота	2,65 мг/мл
Пальмітинова кислота	1,3 мг/мл
Гемоглобін	6,7 мкг/мл
Протеїн S100A12	21,0 мкг/мл
Сульфат барію	0,5 мг/мл
Imodium AD®	6,67 мкг/мл
Kapectate®	0,87 мг/мл
Метронідазол	12,5 мг/мл
Муцин	3,33 мг/мл
Mylanta®	4,2 мг/мл
Pepto Bismol®	0,87 мг/мл
Поліетиленгліколь 3350	79,05 мг/мл
Prilosec®	0,5 мг/мл
Симетикон	0,625 мг/мл
Tagamet®	0,5 мг/мл
Tums®	0,5 мг/мл
Ванкоміцин гідрохлорид	2,5 мг/мл
Месаламін	5,0 мг/мл
Преднізон	0,3 мг/мл
Лансопразол	0,2 мг/мл
Сульфаметоксазол	1,6 мг/мл
Ципрофлоксацин	1,25 мг/мл
Вітамін Е	0,3 мг/мл
Вітамін D ₃	0,1 мкг/мл
Провітамін А	5 мг/мл
Азатиоприн	0,2 мг/мл
Вітамін С	0,1 мг/мл

Мікроорганізм	Кінцева концентрація варіанту зразка
<i>Citrobacter freundii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Escherichia coli</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Salmonella enterica</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Shigella boydii</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,2 x 10 ⁸ КУО/мл

18.10 Перенесення

Було проведено тестування, щоб визначити, чи існує потенційне перенесення приладу. Отримані результати не показали зміни очікуваного значення; отже, результати показують, що у зразках калу в аналізі LIAISON® Calprotectin на аналізаторі ЛІЕЙСОН не спостерігається переносу. Перенесення не застосовне до аналізаторів ЛІЕЙСОН XL та ЛІЕЙСОН XS, оскільки для піпетування зразків використовуються одноразові наконечники.

18.11 Ефект прозони

Не спостерігалось ефекту прозони для концентрацій кальпротектину до 100000 мкг/г.

8.12 ТОЧНІСТЬ LIAISON® Q.S.E.T. Device (ЛІЕЙСОН Пристрій для екстракції зразків калу).

128 зразків людського калу, що охоплюють діапазон вимірювання аналізу ЛІЕЙСОН Кальпротектин, були екстраговані за допомогою LIAISON® Q.S.E.T. Device та методу зважування, щоб визначити, чи дають ці методи екстракції еквівалентні результати. Кожен екстракт людського калу досліджували окремо в одній постановці аналізу з використанням 1 партії реагентів аналізу LIAISON® Calprotectin. Результати методу ручного зважування порівняно з методом пристрою LIAISON® Q.S.E.T. Device були проаналізовані за допомогою регресійного аналізу Пасінга-Баблока.

у- перетин (95% CI)	Нахил (95% CI)	Зсув при 50 мкг/г (95% CI)	Зсув при 120 мкг/г (95% CI)	Кореляція r
-1,12 мкг/г (-2.81 – 0.60)	0,96 (0,92 – 1,02)	-2,914 мкг/г (-5.154 – -0.529)	-5,428 мкг/г (-9.575 – -0.450)	0,970

Аналіз процентної відповідності між двома методами екстракції дав наступні результати.

LIAISON® Q.S.E.T. Device	Екстракція вручну (зважування)			
	Підвищений	Пограничний	Нормальний	Всього
Підвищений	36	0	0	36
Пограничний	6	23	3	32
Нормальний	0	7	53	60
Всього	42	30	56	128

Пограничні розглядаються як Підвищені

95% Довірчий інтервал

Позитивна узгодженість	(65/72)	90,3%	(81,0%-96,0%)
Негативна узгодженість	(53/56)	94,6%	(85,1%-99,0%)
Загалом	(119/128)	93,0%	(87,1%-96,7%)

Пограничні розглядаються як Нормальні

95% Довірчий інтервал

Позитивна узгодженість	(36/42)	85,7%	(71,5%-94,6%)
Негативна узгодженість	(86/86)	100%	(95,8%- 100,0%)
Загалом	(122/128)	95,3%	(90,1%-98,3%)

19. ЛІТЕРАТУРНІ ПОСИЛАННЯ

- Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12(6):524-534.
- Van Rhee PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ* 2010;341:c3369.
- Burri E, Beglinger C. Faecal calprotectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Biochem Med* 2011;21(3):245-53.
- Roseth AG, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion* 1997;58(2):176-80.
- Roseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999;34(1):50-4.
- Limburg PJ, Ahlquist DA, Sandborn WJ, Mahoney DW, Devens ME, Harrington JJ, Zinsmeister AR. Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2000;95(10):2831-7.
- Burri E, Beglinger C. Faecal calprotectin – a useful tool in the management of inflammatory bowel disease. *Swiss Med Wkly* 2012;142:w13557.
- Carroccio A, Iacono G, Cottone M, Di Prima L, Cartabellotta F, Cavataio F, Scalici C, Montalto G, Di Fede G, Rini G, Notarbartolo A, Averna M. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: A prospective study in adults and children. *Clinical Chemistry* 2003;49(6):861-7.
- Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, Bjarnason I. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999;45:362-6.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C24-A3, Vol.19, No.5, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2, Vol.24, No.25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A2, Vol.32, No.8, Evaluation of Detection Capability for

13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP6-A, Vol.23, No.16 Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline- Approved Guideline
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP7-A2, Vol.25, No.27 Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition
15. Fiorino G, et al. LIAISON® Calprotectin for the prediction of relapse in quiescent ulcerative colitis: The EuReCa study. United European Gastroenterology Journal. 2022;10(8):836-843. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12268>
16. Li Wai Suen C, et al. Early faecal calprotectin predicts clinical outcomes in Acute Severe Ulcerative Colitis: results from PREDICT-UC. Journal of Crohn's and Colitis. 2025;19(Supplement_1):i1365. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjae190.0872>
17. Naismith GD, et al. A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. Journal of Crohn's and Colitis. 2014;8(9):1022-1029. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.01.029>
18. Zhulina Y, et al. The prognostic significance of faecal calprotectin in patients with inactive inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther. 2016;44:495–504.
19. De Vos M, et al. Fast and sharp decrease in calprotectin predicts remission by infliximab in anti-TNF naïve patients with ulcerative colitis. J Crohns Colitis. 2012;6:557–562

Тільки для ЄС: зверніть увагу, що про будь-який серйозний інцидент, пов'язаний з цим медичним виробом для діагностики in vitro, слід повідомляти компанію DiaSorin та компетентний орган держави-члена ЄС, в якій проживає користувач та/або пацієнт.

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 08.2025



ДіаСорін Інк.

1951 Нортвестерн Авеню, Стілловотер, MN55082, США
DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, Stillwater, MN 55082, USA



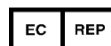
Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «ЛАБСЕППОРТ»

01133, місто Київ, б. Лесі Українки, будинок 34, Україна
Тел: +380673234344, E-mail: info@labsupport.com.ua

Відповідальна особа у Великобританії:

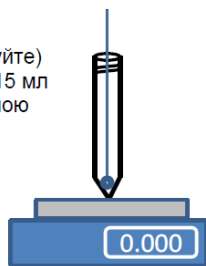
DiaSorin Italia S.p.A.
UK Branch Central Road Dartford Kent DA1 5LR UK
ДіаСорін Італія С.п.А. ЮК Бренч
Централ Родд, Дартфорд, ДА1 5ЛР, Велика Британія



DiaSorin Italia S.p.A.
Via Crescentino snc, 13040 Saluggia (VC), Italy
ДіаСорін Італія С.п.А.
Віа Кресцентіно, снс, 13040 Салуджа (ВК), Італія

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин Метод зважування калу

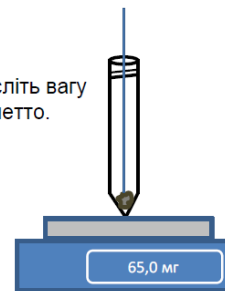
Зважте (таруйте) пробірку на 15 мл з інокуляційною петлею.



За допомогою інокуляційної петлі перенесіть 50-100 мг калу в пробірку

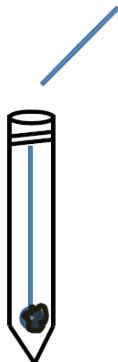


Обчисліть вагу калу нетто.

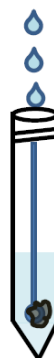


Додайте 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer

Відламайте ручку петлі



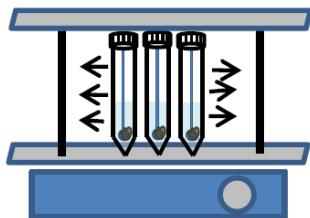
Додайте приготований 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (49x вага калу). Див. приклади в таблиці. Закрийте кришечкою.



Вага калу (мг)	Об'єм 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer (мл)
50	2.5
55	2.7
60	2.9
65	3.2
70	3.4
75	3.7
80	3.9
85	4.2
90	4.4
95	4.7
100	4.9

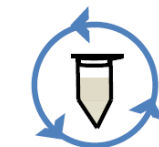
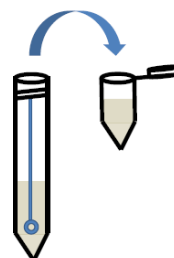
Гомогенізуйте

Гомогенізуйте зразок на мультитортексі протягом 30 хв, встановивши найвищу швидкість.



Центрифугуйте

Перенесіть 1,0 мл гомогенізованого зразка в мікроцентрифужну пробірку.



Центрифугуйте протягом 5 звини при 3,000xg.

Виконайте розведення і аналіз зразків

Перенесіть 100 мкл прозорого супернатанту в нову пробірку для зразка



Додайте до пробірки 850 мкл приготованого LIAISON® 1X Extraction Buffer та перемішайте



Помістіть пробірку на відповідний аналізатор DiaSorin для проведення аналізу, або дивіться розділ 9 інструкцій з використання щодо рекомендованого зберігання.

Очистіть робочу зону за допомогою 10% розчину відбілювача (0.5% гіпохлориту натрію).



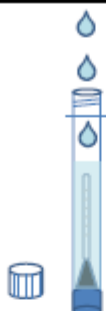
Біологічна небезпека

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин Метод LIAISON® Q.S.E.T. Device

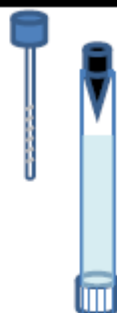
Додайте до пристрою 6 мл приготованого 1X LIAISON® Q.S.E.T. Buffer.

Закрийте кришечкою.

Переверніть пристрій.

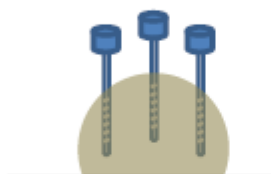


Відкрутіть паличку для відбору проб (синя кришечка). Вийміть паличку для відбору проб з пристрою, чорний гумовий обмежувач повинен залишитися в пристрої. Не користуйтеся пристроєм, якщо чорний гумовий обмежувач виймається при вийманні палички.



Внесіть кал до пристрою

Занурте паличку для відбору проб у зразок калу кілька разів, доки канавки не будуть повністю покриті. Для рідкого калу: внесіть 12 мкл калу прямо в пристрій. Переконайтеся, що внесено належний об'єм.

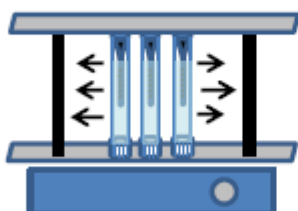


Вставте паличку для відбору проб через чорний гумовий обмежувач та ретельно вкрутіть її в пристрій знову. Надлишок калу буде видалено обмежувачем.

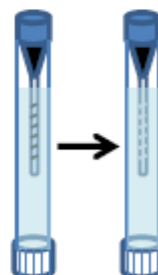


Гомогенізуйте зразки

Встановіть пристрій на мультитортекс синьою кришечкою догори, гомогенізуйте на мультитортексі протягом 30 хвилин, встановивши найвищу швидкість.

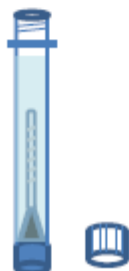


Переконайтеся, що в пазах не залишилося видимих залишків калу. За потреби продовжіть перемішування.



Виконайте аналіз

Переверніть пристрій і відкрутіть прозору кришечку.



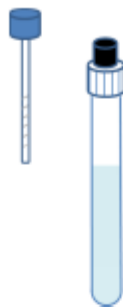
Помістіть пробірку на відповідний аналізатор DiaSorin для проведення аналізу, або дивіться розділ 9 інструкцій з використання щодо рекомендованого зберігання. Очистіть робочу зону за допомогою 10% відбілювача (0.5% гіпохлориду натрію).



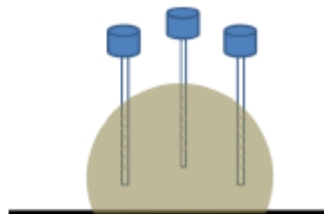
Біологічна небезпека
Виріб для одноразового використання

Аналіз ЛІЕЙСОН Кальпротектин Метод LIAISON® Q.S.E.T. Device Plus

Викрутіть паличку для відбору проб (синя кришечка).
Вийміть паличку для відбору проб з пристрою, чорний гумовий обмежувач повинен залишатися в пристрої. Не використовуйте пристрій, якщо чорний гумовий обмежувач виймається при вийманні палички.

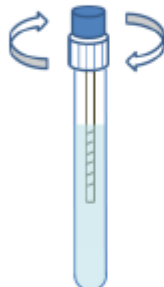


Занурте паличку для відбору проб у зразок калу кілька разів, доки канавки не будуть повністю покриті. Для рідкого калу: внесіть 12 мкл калу прямо в пристрій. Переконайтеся, що внесено належний об'єм.

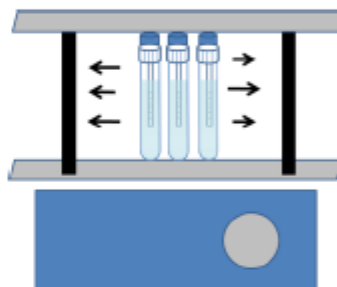


Гомогенізуйте зразки

Вставте паличку для відбору проб через чорний гумовий обмежувач та ретельно вкрутіть її в пристрій знову. Надлишок калу буде видалено обмежувачем.

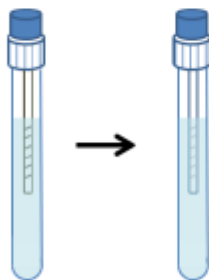


Встановіть пристрій на мультитортекс синьою кришечкою догори, гомогенізуйте на мультитортексі протягом 30 хвилин, встановивши найвищу швидкість.

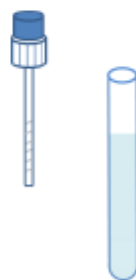


Перевірте зразки

Переконайтеся, що в пазах не залишилися видимих залишків калу. За потреби продовжіть перемішування.



Відкрутіть прозору кришечку та вийміть паличку



Виконайте аналіз

Помістіть пробірку на відповідний аналізатор DiaSorin для проведення аналізу, або дивіться розділ 9 інструкцій з використання щодо рекомендованого зберігання.

Очистіть робочу зону за допомогою 10% відбілювача (0.5% гіпохлориду натрію).



Біологічна небезпека

Виріб для одноразового використання