Arbeitsanleitung / Manual

Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal /
For professional use only

IDK® TurbiCAL®

Zur quantitativen in-vitro-Bestimmung von Calprotectin in Stuhl

For the quantitative in vitro determination of calprotectin in stool

Gültig ab / Valid from 2026-05-26

REF **TU1021.1**
TU1021.8

Σ 100/800

+8 °C
+2 °C

IVD

CE

Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany
Tel.: +49 6251 70190-0 Fax: + 49 6251 70190-363
e.mail: info@immundiagnostik.com www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK 2

2. EINLEITUNG 2

3. INHALT DER TESTPACKUNG 3

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL 3

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN 3

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG 4

Lagerung und Stabilität der Proben 4
Extraktion der Stuhlproben 4

7. TESTDURCHFÜHRUNG 5

Testprinzip 5
Testverfahren 5

8. QUALITÄTSKONTROLLE 6

Referenzbereich 7

9. LEISTUNGSMERKMALE 7

Analytische Sensitivität 7
Prozone 7
Klinische Sensitivität und Spezifität 7
Interferenzen 8
Kreuzreaktionen 8

10. EINSCHRÄNKUNGEN 8

11. VORSICHTSMASSNAHMEN 8

12. ENTSORGUNG 9

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST 9

14. LITERATUR 10

15. SYMBOLE 11

1. VERWENDUNGSZWECK

Der ***IDK*® TurbiCAL®** Test ist ein turbidimetrischer Latex-Assay für den quantitativen Nachweis von Calprotectin in humanen Stuhlproben. ***IDK*® TurbiCAL®** ist ausschließlich für die Unterscheidung von CED-Patienten (chronisch-entzündlichen Darmerkrankung) und Patienten mit einem Reizdarmsyndrom (IDS - irritables Darmsyndrom) bestimmt.

Dieser Test ist einfach anwendbar und für viele Analyseautomaten optimiert. Nur für den professionellen Einsatz in der *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Unter Calprotectin versteht man einen Komplex aus den kalziumbindenden Proteinen S100A8 und S100A9, der einen wissenschaftlich gesicherten Biomarker zur Unterscheidung zwischen organischen und funktionellen Darmerkrankungen darstellt. Darüber hinaus hat sich Calprotectin als wertvoller Parameter bei entzündlichen Darmerkrankungen (CED) etabliert; sowohl für deren Primärdiagnose als auch für die Überwachung der Krankheitsaktivität.

Oft ist es schwierig, zwischen Patienten mit Reizdarmsyndrom (IDS) und Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (CED) zu unterscheiden. Die Symptome beider Krankheiten sind vergleichbar und die endgültige Diagnose erfordert eine Vielzahl von aufwändigen oder sogar invasiver Untersuchungenmethoden. Die Verwendung von Calprotectin als zuverlässiger und nicht-invasiver Marker in der Primärversorgung ermöglicht eine schnelle und zuverlässige Unterscheidung zwischen Patienten, die weitere invasive Verfahren benötigen und Patienten mit funktioneller Erkrankung, für die eine konservative Behandlung ausreichend ist.

Außerdem ist Calprotectin ein zuverlässiger Biomarker, der frühzeitig ein Rezidiv bei CED-Patienten anzeigen kann. Bei Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa korreliert die Calprotectin Bestimmung im Stuhl sehr gut mit histologischen und endoskopischen Befunden. Calprotectin bietet darüber hinaus die Möglichkeit zur objektiven Bewertung des Ansprechens auf eine Therapie und ermöglicht es Ärzten solche Patienten zu monitoren, die sich in klinischer Remission befinden.

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Art.-Nr.	
		TU1021.1	TU1012.8
Reagent 1	Reagenz 1, gebrauchsfertig	1x 27 ml	8 x 27 ml
Reagent 2	Reagenz 2, gebrauchsfertig	1 x 5 ml	4 x 8 ml
CAL 0–5	Kalibrator 0–5, gebrauchsfertig	6 x 1 ml	6 x 1 ml
CTRL 1	Kontrolle 1, gebrauchsfertig	2 x 1 ml	2 x 1 ml
CTRL 2	Kontrolle 2, gebrauchsfertig	2 x 1 ml	2 x 1 ml

Die mitgelieferten Reagenzien befinden sich in neutralen Röhrchen, die nicht mit dem verwendeten Analysegerät kompatibel sind. Daher ist es notwendig, die entsprechenden Reagenzien in kompatible Reagenzgefäße umzufüllen.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Probensammelbehälter
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Zentrifuge, 3 000 *g*
- Vortex-Mixer
- Einweghandschuhe, laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Analysegerät (Liste mit kompatiblen Analysegeräten auf Anfrage erhältlich bei: tech.support@immundiagnostik.com)
- Reagenzgefäße, die für das verwendete Analysegerät zugelassen sind
- ***IDK***® **TurbiTUBE**® zur Probenentnahme (Kat. Nr.: TU0091.A)

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Alle Testreagenzien sind gebrauchsfertig und bei sachgerechter Lagerung (2–8 °C) bis zum Verfallsdatum (siehe Etikett) haltbar. Die Kitbestandteile vor direktem Sonnenlicht schützen und nicht einfrieren.
- Achten Sie darauf, dass die Reagenzienbehälter immer gut verschlossen sind, um eine Kontamination zu vermeiden.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Lagerung und Stabilität der Proben

- Sammeln Sie eine ausreichende Menge menschlichen Stuhl in einem sauberen und trockenen Gefäß (es sind keine besonderen Konservierungsmittel oder Transportmedien erforderlich).
- Die rohen Stuhlproben können bei 2–8 °C für 7 Tage gelagert werden. Wenn sie nicht sofort getestet werden, können die Stuhlproben eingefroren und bei -20 °C für maximal 6 Monate gelagert werden. In diesem Fall muss die Probe vor der Untersuchung vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur (15–30 °C) gebracht werden.
- Die Stuhlproben müssen vor der Aufbereitung so gründlich wie möglich homogenisiert werden.

Extraktion der Stuhlproben

Stuhlproben-Applikationssystem **(*IDK*® TurbiTUBE®)** (Kat. Nr.: TU0091.A)

Stuhlprobenröhrchen - Gebrauchsanweisung

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der endgültigen Stuhlsuspension von der Menge der verwendeten Stuhlprobe und dem Volumen des Puffers abhängt.

***IDK*® TurbiTUBE®** mit 1,5 ml Probenextraktionspuffer:

Aufgetragene Stuhlmenge:	15 mg
Puffervolumen:	1,5 ml
Verdünnungsfaktor:	1:100

Bitte befolgen Sie die Anweisungen zur Vorbereitung von Stuhlproben mit den ***IDK*® TurbiTUBE®** wie folgt:

a) Die rohe Stuhlprobe muss aufgetaut werden. Bei besonders heterogenen Proben empfehlen wir eine mechanische Homogenisierung mit einem Applikator, einer Impföse oder ähnliches.

b) Schrauben Sie den gelben Teil der Kappe ab, um das Röhrchen zu öffnen. Führen Sie den gelben Messstab in die Probe ein. Der untere Teil des Messstabs hat Einkerbungen, die nach dem Einführen in die Probe vollständig mit Stuhl bedeckt sein müssen. Führen Sie das Stäbchen anschließend wieder in das Röhrchen ein. Beim Zurückstecken des Stäbchens in das Röhrchen wird überschüssiges Probenmaterial abgestreift, so dass exakt 15 mg der Probe zum Verdünnen übrig bleibt. Schrauben Sie das Röhrchen fest zu.

Tipp: Bei flüssigen Stuhlproben empfehlen wir, 15 µl der flüssigen Probe in das Röhrchen zu pipettieren.

c) Vortexen Sie das Röhrchen bis keine Stuhlprobe mehr in den Einkerbungen verbleibt. **Wichtig:** Achten Sie darauf, dass Sie nach dem Schütteln eine möglichst homogene Suspension haben. Insbesondere bei festeren Proben verbessert ein Einweichen der Probe im Röhrchen mit Probenextraktionspuffer für ~ 10 Minuten das Ergebnis.

d) Die Proben sollten ~ 10 Minuten bei 3 000 *g* zentrifugiert werden, um eine sedimentfreie Probe zu erhalten. Schwebendes Material wie z. B. Getreidehülsen können vernachlässigt werden.

e) Schrauben Sie den kompletten Deckel des Röhrchens - einschließlich des blauen Rings und des Messstabs - vorsichtig ab. Entsorgen Sie Deckel und Messstab. Achten Sie darauf, dass das Sediment nicht wieder aufgewirbelt wird.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

***IDK*® TurbiCAL®** ist ein latex-turbidimetrischer Assay für den quantitativen Nachweis von Calprotectin in menschlichen Stuhlproben.

Der ***IDK*® TurbiCAL®** Assay basiert auf einer Agglutinationsreaktion. Dabei handelt es sich um eine *in-vitro*-Aggregation von mikroskopisch kleinen, mit spezifischen Antikörpern beschichteten, Latexpartikeln. Diese Aggregation entsteht, wenn das Antigen in der Probe vorhanden ist und an die spezifischen Antikörpern auf den Latexpartikeln bindet. Ist kein Antigen in der Probe vorhanden, behält die Mischung ihr klares Aussehen.

Testverfahren

Anwendungshinweise mit Informationen zur gerätespezifischen Testdurchführung, Leistungsmerkmalen und Anwendungsparameter stellt unser Technischer Support gerne zur Verfügung. Bei technischen Fragen zur Anwendung sowie bei der Validierung der Assays kontaktieren Sie bitte tech.support@immundiagnostik.com.

Erstellung der Kalibrierkurve

Verwenden Sie zur Kalibrierung ausschließlich die mitgelieferten ***IDK*® TurbiCAL®**-Kalibratoren. Hierbei handelt es sich um gebrauchsfertige Flüssigkalibratoren, die humanes Calprotectin in verschiedenen Konzentrationen enthalten. Die genauen Konzentrationen sind auf dem Etikett jedes Fläschchens angegeben.

Es wird dringend empfohlen, das System mindestens einmal im Monat neu zu kalibrieren. Auf jeden Fall muss das System neu kalibriert werden, wenn die Reagenziencharge gewechselt wird oder wenn die Kontrollen außerhalb des zugewiesenen Bereichs liegen (siehe das dem Kit beiliegende Qualitätskontrollprotokoll).

Bezeichnung	Konzentration	Deckelfarbe
CAL 0	0 µg/ml	Transparent
CAL 1	50 µg/ml	Rosa
CAL 2	100 µg/ml	Lila
CAL 3	250 µg/ml	Blau
CAL 4	750 µg/ml	Braun
CAL 5	1 500 µg/ml	Weiss
CTRL 1	Kontrolle 1*	Grün
CTRL 2	Kontrolle 2*	Rot

* Die chargenabhängige Konzentration ist dem beiliegenden Qualitätskontrollprotokoll zu entnehmen.

8. QUALITÄTSKONTROLLE

Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle nur ***IDK*® TurbiCAL®** Kontrolle 1 (CTRL 1) und ***IDK*® TurbiCAL®** Kontrolle 2 (CTRL 2). Hierbei handelt es sich um zwei gebrauchsfertige Flüssigkontrollen, die unterschiedliche Konzentrationen von menschlichem Calprotectin enthalten. Die entsprechende Konzentration ist für jedes Fläschchen auf dem Produktdatenblatt angegeben.

Die Verwendung von Kontrollmaterialien in zwei verschiedenen Konzentrationen wird empfohlen, um die Testgenauigkeit zu überprüfen.

Die Kontrollmessungen sollten jeden Tag, vor der Messung von extrahierten Patientenproben, durchgeführt werden, um die Kalibrierungskurve zu validieren.

Wenn die dabei erzielten Ergebnisse außerhalb des Toleranzbereichs liegen, müssen die Geräte, die Reagenzien und die Testdurchführung überprüft werden.

Da die Probenverdünnung bereits in der Kalibrierkurve berücksichtigt ist, beträgt der Verdünnungsfaktor 1.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

Referenzbereich

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

Referenzbereich in Stuhlproben

Calprotectin Konzentrationen von weniger als 50 µg Calprotectin/g Stuhl gelten als normale Werte und deuten nicht auf eine Entzündung des Magen-Darm-Trakts hin.

Calprotectin-Konzentrationen zwischen 50 µg und 200 µg Calprotectin/g Stuhl gelten als anormal und deuten auf eine leichte Entzündung des Magen-Darm-Trakts hin, weshalb eine Überwachung und Nachsorge des Patienten empfohlen wird.

Calprotectin-Konzentrationswerte von mehr als 200 µg Calprotectin/g Stuhl sind ein eindeutiger Hinweis auf eine schwere Entzündung des Magen-Darm-Trakts.

9. LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Nachweisgrenze (LoD): **siehe Anwendungshinweis**.

Prozone

Es wurden Studien bis zu einer Konzentration von 25 mg menschlichem Calprotectin/g Stuhl durchgeführt und dabei keine falsch negativen Ergebnisse beobachtet. Studien mit höheren Konzentrationen wurden nicht durchgeführt.

Die Daten wurden mit dem Analysegerät Biolis 24i (Tokyo Boeki) ermittelt.

Klinische Sensitivität und Spezifität

Es wurde ein Vergleich zwischen dem turbidimetrischen Test *IDK*® **TurbiCAL**® und einem anderen kommerziellen Immunoassay (**Calprest**®, Eurospital) mit 100 Stuhlproben durchgeführt. Die Ergebnisse waren wie folgt:

	Sensitivität	**Spezifität**
IDK® **TurbiCAL**® *vs* **Calprest**® (Eurospital)	**87,5 %**	**100 %**

Die Ergebnisse zeigten eine hohe Sensitivität und Spezifität beim Nachweis von menschlichem Calprotectin mit *IDK*® **TurbiCAL**®.

Interferenzen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Interferenzen von ***IDK***® **TurbiCAL**® zu bestimmen. Es wurden keine Interferenzen mit anderen getesteten Substanzen festgestellt: BSA, Hämin, Ascorbinsäure.

Kreuzreaktionen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Kreuzreaktivität mit anderen fäkalen Markern zu bestimmen, die gelegentlich in Fäkalien vorkommen, wie z. B.: Rinder- und Schweinehämoglobin, Rindertransferrin und -lactoferrin sowie menschliches Hämoglobintransferrin und Lactoferrin. Es wurden **keine** Kreuzreaktivitäten bei physiologischen Konzentrationen festgestellt.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

IDK® **TurbiCAL**® ist nur für menschliche Stuhlproben bestimmt und sollte nur mit ordnungsgemäß extrahierten Stuhlproben verwendet werden (siehe Anleitung).

Die erhaltenen Ergebnisse bestimmen die Konzentration von menschlichem Calprotectin in fäkalen Proben. Ein positives Ergebnis (hohe Werte) sollte mit zusätzlichen diagnostischen Verfahren verifiziert werden, um deren Ursache zu bestimmen.

Wenn bestehende Symptome weiter anhalten, sollten weitere diagnostische Verfahren durchgeführt werden. Negative Ergebnisse schließen das Vorhandensein von Entzündungen im Darm nicht aus. Einige Krankheiten wie Zöliakie, mikroskopische Kolitis und Polypen können mit einer mononukleären Entzündung einhergehen.

Stuhlproben von Patienten, die nichtsteroidale, entzündungshemmende Medikamente (NSAR) einnehmen, können positive Ergebnisse zeigen.

Die fäkalen Calprotectinwerte bei Neugeborenen sind mit einem Mittelwert von 167 µg/g (Bereich 22–860 µg/g) höher als bei gesunden Kindern.

11. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Eine geschulte Person für die turbidimetrische Technik und den Gebrauch des Analysegerätes ist erforderlich. Eine manuelle Anwendung des Testkits ist nicht möglich.
- Das Analysegerät sollte vor Beginn der Testdurchführung bereit sein.

- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Wenn das Ergebnis den Messbereich überschreitet, verwenden Sie den Probenextraktionspuffer, um die Probe zu verdünnen, und wiederholen Sie den Test.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien sollten nicht verwendet werden, wenn die Primärverpackung beschädigt oder bereits geöffnet wurde.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Es müssen ausschließlich **neue**, leere Reagenzgefäße verwendet werden, da gewaschene oder recycelte/wiederverwendete Reagenzgefäße das Testergebnis beeinflussen können.
- Als Vorsichtsmaßnahme wird empfohlen, das verwendete Humanmaterial immer als potentiell infektiös zu betrachten.

12. ENTSORGUNG

- Flüssige Testkomponenten, Pipettenspitzen, Röhrchen usw. sind wie gewöhnlicher Laborabfall zu behandeln, sofern nicht anders angegeben. Die Lösungen sollten nach dem Test in einem dafür geeigneten Behälter, gemäß den örtlichen Vorschriften, entsorgt werden.
- Alle Proben sind als potentiell gefährlich zu betrachten und sollten daher wie ein infektiöses Agens behandelt werden. Andere potentiell infektiöse Materialien (z. B. Probensammelbehälter) müssen entsprechend den offiziellen Vorschriften entsorgt werden.

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- *IDK*® **TurbiCAL**® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.

- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu befolgen.
- Verwenden Sie Schutzkleidung, Einmalhandschuhe, Augenschutz und Maske. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken oder rauchen.
- Bei Gewährleistungsansprüchen, Beschwerden oder schwerwiegenden Vorkommnissen ist unverzüglich die Immundiagnostik AG zu benachrichtigen; spätestens jedoch innerhalb von 14 Tagen nach Auftreten des Problems. Bitte senden Sie das Produkt zusammen mit einer schriftlichen Stellungnahme (mit E-Mail, Adresse und Telefonnummer) an die Immundiagnostik AG.
- Bei sachgerechter Lagerung (2–8 °C) garantiert die Immundiagnostik AG, nach dem ersten Öffnen, für die folgenden drei Monate und mindestens 20 Öffnungs-/Schließzyklen, keinen Aktivitätsverlust der Kitkomponenten.
- Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Schwerwiegende Vorfälle sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.

14. LITERATUR

1. Matsuura et al. (2018), Fecal calprotectin reflects endoscopic activity in patients with small-bowel Crohn's disease according to double-balloon endoscopy findings. Nagoya J Med Sci 80(2):257-266

2. Walker et al. (2018), Faecal calprotectin effectively excludes inflammatory bowel disease in 789 symptomatic young adults with/without alarm symptoms: a prospective UK primary care cohort study. Aliment Pharmacol Ther 1-14

3. Chen et al. (2012), Fecal Calprotectin as a Correlative Marker in Clinical Severity of Infectious Diarrhea and Usefulness in Evaluating Bacterial or Viral Pathogens in Children. JPNG 55:541-547

15. SYMBOLE

Temperaturbegrenzung

Bestellnummer

In-Vitro-Diagnostikum

Zu verwenden mit

Hersteller

Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen

Chargenbezeichnung

Verwendbar bis

Achtung

Gebrauchsanweisung beachten

Spezifikationsdatenblatt beachten

Manual
For professional use only

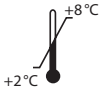
IDK® TurbiCAL®

For the quantitative in vitro determination of calprotectin in stool

Valid from 2026-05-26

TU1021.1
TU1021.8

100/800



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany
Tel.: +49 6251 70190-0 Fax: + 49 6251 70190-363
e.mail: info@immundiagnostik.com www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE 15

2. INTRODUCTION 15

3. MATERIAL SUPPLIED 16

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED 16

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS 16

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES 17

Sample storage and stability 17
Extraction of the stool samples 17

7. ASSAY PROCEDURE 18

Principle of the test 18
Test Procedure 18

8. QUALITY CONTROL 19

Reference Range 20

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS 20

Analytical sensitivity 20
Prozone 20
Clinical sensitivity and specificity 20
Interferences 21
Cross reactivity 21

10. LIMITATIONS 21

11. PRECAUTIONS 22

12. DISPOSAL 22

13. GENERAL NOTES ON THE TEST 22

14. REFERENCES 23

15. SYMBOL EXPLANATION 24

1. INTENDED USE

***IDK*® TurbiCAL®** assay is a latex turbidimetric assay for the quantitative detection of calprotectin in human stool samples.

***IDK*® TurbiCAL®** is intended to exclusively differentiate between patients with inflammatory bowel disease (IBD) and patients with irritable bowel syndrome (IBS). This assay has a simple performance and multiple applications. This product is optimised for several automated analyser. For professional *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Calprotectin is a complex of the calcium binding proteins S100A8 and S100A9 and a well-established biomarker for the differentiation between organic and functional intestinal diseases. In addition, calprotectin has been established as a valuable parameter in IBD for primary diagnosis as well as for monitoring of disease activity.

It is often difficult to distinguish between patients suffering from irritable bowel syndrome (IBS) and those with inflammatory bowel diseases (IBD). Symptoms of both diseases are comparable and final diagnosis requires a multitude of elaborate, even invasive, examinations. The use of calprotectin as a reliable and non-invasive marker in primary care allows for a quick and reliable differentiation between patients who need further invasive procedures and patients with functional disease for whom a conservative treatment is sufficient.

Furthermore, calprotectin is a reliable biomarker to indicate relapse in advance in patients suffering of IBD. The determination in stool correlates very well with histological and endoscopic findings of the disease activity in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. Calprotectin provides a measure to objectively assess the response to the treatment and enables physicians to monitor patients that are in clinical remission in order to check for disease activity allowing early intervention in case of a treatment relapse of IBD.

3. MATERIAL SUPPLIED

Label	Kit components	Quantity for cat. no.	
		TU1021.1	TU1021.8
Reagent 1	Reagent 1, ready-to-use	1 x 27 ml	8 x 27 ml
Reagent 2	Reagent 2, ready-to-use	1 x 5 ml	4 x 8 ml
CAL 0–5	Calibrators 0–5, ready-to-use	6 x 1 ml	6 x 1 ml
CTRL 1	Control 1, ready-to-use	2 x 1 ml	2 x 1 ml
CTRL 2	Control 2, ready-to-use	2 x 1 ml	2 x 1 ml

The supplied reagents are in neutral tubes that are not compatible with the used analyser. Therefore, it is necessary to fill the corresponding reagents into compatible reagent vessels.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Sample collection container
- Centrifuge, 3 000 *g*
- Vortex
- Calibrated precision pipets (adjustable volume) and 10–1 000 µl single-use tips
- Disposable gloves and laboratory equipment
- Automated analyser (list of compatible analysers on request from tech.support@immundiagnostik.com)
- Reagent vessels that are approved for the used analyser
- ***IDK***® **TurbiTUBE**® for sample collection (cat. no.: TU0091.A)

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- All test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at 2–8 °C. Do not freeze any component of the kit. Keep away from direct sunlight.
- Always consider that the reagent containers must be properly closed to avoid any contamination.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Sample storage and stability

- Collect a sufficient amount of human stool in a clean and dry container (no preservatives or transport media is necessary).
- The raw stool samples can be stored at 2–8 °C for 7 days. If not immediately tested, stool samples can be frozen and stored at -20 °C for a maximum of 6 months. In this case, the sample must be totally thawed and brought to room temperature (15–30 °C) before testing.
- Stool samples must be homogenised as thoroughly as possible prior to preparation.

Extraction of the stool samples

Stool Sample Application System (***IDK*® TurbiTUBE®**) (cat. no.: TU0091.A)

Stool sample tube – Instructions for use

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

***IDK*® TurbiCAL®** with 1.5 ml sample extraction buffer:

Applied amount of stool:	15 mg
Buffer Volume:	1.5 ml
Dilution Factor:	1:100

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the ***IDK*® TurbiTUBE®** as follows:

a) The raw stool sample has to be thawed and brought to room temperature (15–30 °C). For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.

b) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.

Hint: In case of liquid stool samples we recommend to pipette 15 µl of liquid sample into the tube.

c) Vortex the tube well until no stool sample remains in the notches.
Important: Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with sample extraction buffer for ~10 minutes improves the result.

d) Samples should be centrifuged for ~10 minutes at 3000 *g* to obtain a sediment-free sample. Floating material such as grain shells can be neglected.

e) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

***IDK*® TurbiCAL®** is a latex turbidimetric assay for the quantitative detection of calprotectin in human stool samples.

***IDK*® TurbiCAL®** assay is based on agglutination reactions. These involve *in vitro* aggregation of microscopic latex particles. This aggregation consists in the specific reaction between antigen and antibodies. Antigens contained in the sample bind with the antibodies' anti-antigen coated on polystyrene latex particles. The sample is mixed with a suspension containing antibodies against the antigen bound to latex particles. If the antigen is present in the sample, it will react with the antibodies and form an aggregate. If no antigen is present in the sample, the mixture will maintain its clear appearance.

Test Procedure

Application notes with information on instrument-specific assay set-up, performance characteristics and application parameters will be provided by our Technical Support. For technical questions regarding the application as well as assay validation, please contact tech.support@immundiagnostik.com.

Preparation of the calibration curve

The calibrator liquid vials of ***IDK*® TurbiCAL®** (all calibrators) are ready to use. For calibration use only ***IDK*® TurbiCAL®** calibrator vials. The calibrators containing recombinant calprotectin at different concentrations. The exact concentrations are indicated on the label of each vial.

Calibration of the system at least once a month is highly recommended. The system must be recalibrated when the reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range (see the quality control protocol provided with the kit).

Label	Concentration	Lid Colour
CAL 0	0 µg/g	transparent
CAL 1	50 µg/g	pink
CAL 2	100 µg/g	purple
CAL 3	250 µg/g	blue
CAL 4	750 µg/g	brown
CAL 5	1 500 µg/g	white
CTRL 1	Control 1*	green
CTRL 2	Control 2*	red

* The batch-dependent concentration is given by the quality control protocol.

8. QUALITY CONTROL

For quality control use only ***IDK*® TurbiCAL®** Control 1 (CTRL 1) and ***IDK*® TurbiCAL®** Control 2 (CTRL 2). These are two ready-to-use liquid controls containing different concentrations of recombinant calprotectin. The respective concentration for each vial is given by the quality control protocol.

The use of control materials at two different concentrations is recommended in order to verify test precision.

Controls should be assayed every day before running extracted patient samples to validate the calibration curve.

If the obtained results are out of the tolerance range, the equipment, the reagents, and the technique must be reviewed.

Since the sample dilution is already considered in the calibration curve, the dilution factor is 1.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

Reference Range

We recommend each laboratory to establish its own reference concentration range.

Reference range in stool samples

Calprotectin concentrations lower than 50 µg of calprotectin/g of stool are considered as normal values and do not indicate to an inflammation of gastro-intestinal tract.

Calprotectin concentrations between 50 and 200 µg calprotectin/g of stool are considered as an abnormal presence being indicative of mild inflammation of gastro-intestinal tract, therefore monitoring and follow-up of the patient is recommended.

Calprotectin concentration values higher than 200 µg of calprotectin/g of stool are indicative of a severe inflammation of gastrointestinal tract.

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Limit of Detection (LoD): **See application note.**

Prozone

Studies have been carried out to a concentration of 25 mg of calprotectin/g of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Data obtained by the analyser Biolis 24i (Tokyo Boeki)

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation with 100 stool samples was performed comparing a turbidimetric assay (***IDK*® TurbiCAL®**) and another commercial immunoassay (**Calprest®**, Euro-spital). The results were as follows:

	Sensitivity	Specificity
***IIDK*® TurbiCAL®** vs **Calprest®** (Eurospital)	**87,5 %**	**100 %**

The results showed a high sensitivity and specificity to detect calprotectin using ***IDK*® TurbiCAL®**.

Interferences

An evaluation was performed to determine the interferences of ***IDK***® **TurbiCAL**® with other substances. No interferences were found against tested substances: BSA, Hemin, Ascorbic acid.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity against other faecal markers occasionally present in faeces, such as: bovine and pig haemoglobin, bovine transferrin, bovine lactoferrin and human haemoglobin transferrin and lactoferrin. No cross reactivity was found.

10. LIMITATIONS

IDK® **TurbiCAL**® should only be used in human stool samples. The use of other samples, such as blood, serum, plasma, urine, cerebrospinal fluid, oral fluid, synovial fluid or empyema fluid, has not been established. ***IDK***® **TurbiCAL**® must be used with properly extracted faecal samples.

The results obtained determine the concentration of calprotectin in faecal samples. A positive result should be contrasted with additional diagnostic procedures. Colonoscopy and a biopsy are the most adequate methods to detect and quantify the inflammation in the intestine.

If symptoms persist further diagnostic procedures should be carried out. Negative results do not exclude the presence of inflammation in the intestine. Some diseases as celiac diseases, microscopic colitis and polys can involve mononuclear inflammation.

Stool samples from patients taking non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) could show positive results.

Neonatal faecal calprotectin levels have been reported higher than those in normal children with a mean of 167 µg/g (range 22–860 µg/g).

11. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- A trained person in the turbidimetric technique and the use of the auto-analyser is required. Manual application of the test kit is not possible.
- The analyser should be ready before performing any assay.
- Read and follow the instructions for use provided with the kit.
- If the result exceeds the measurement range, use the sample diluent to dilute the sample and repeat the assay again.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- Reagents should not be used if the primary packaging is damaged or opened.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Only **new** empty reagent vessels are strictly recommended, because washed or recycled/reused reagent vessels may influence the test result.
- As a precaution, it is recommended that the human material used is always considered potentially infectious.

12. DISPOSAL

- Liquid test components, pipets tips, tubes etc. are to be treated as ordinary laboratory waste, unless otherwise stated. The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. Other potentially infectious materials (e.g. sample collection container) must be disposed in accordance with official regulations.

13. GENERAL NOTES ON THE TEST

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- *IDK*® **TurbiCAL**® is a trademark of Immundiagnostik AG.

- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, eye protection and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- In the event of warranty claims, notifications of defects or serious incidents, notify Immundiagnostik AG immediately, but at the latest within 14 days after the problem occurring. Please send the product together with a written complaint (including e-mail, address and telephone number) to Immundiagnostik AG.
- If stored properly (2–8 °C), Immundiagnostik AG guarantees, after the first opening, no loss of activity of the kit components for the following three months and at least 20 opening-closing cycles.
- Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.

14. REFERENCES

1. Matsuura et al. (2018), Fecal calprotectin reflects endoscopic activity in patients with small-bowel Crohn's disease according to double-balloon endoscopy findings. Nagoya J Med Sci 80(2):257-266
2. Walker et al. (2018), Faecal calprotectin effectively excludes inflammatory bowel disease in 789 symptomatic young adults with/without alarm symptoms: a prospective UK primary care cohort study. Aliment Pharmacol Ther 1-14
3. Chen et al. (2012), Fecal Calprotectin as a Correlative Marker in Clinical Severity of Infectious Diarrhea and Usefulness in Evaluating Bacterial or Viral Pathogens in Children. JPNG 55:541-547

15. SYMBOL EXPLANATION

Temperature limitation

Catalogue number

In Vitro Diagnostic Medical Device

To be used with

Manufacturer

Contains sufficient for <n> tests

Lot number

Use by

Attention

Consult instructions for use

Consult specification data sheet

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0
Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com