



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Turbidimetrisk kalprotektinanalyse
for profesjonell bruk

Reagenssett

B-KCAL-RSET

Versjon A4

Til *in vitro*-diagnostisk bruk



Produsent

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Switzerland

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

TILTENKT BRUK

BÜHLMANN fCAL[®] turbo er en automatisert *in vitro*-diagnostisk test for kvantitativ fastsettelse av kalprotektin i humane avføringsprøver, og er ment som en hjelp i vurdering av intestinal mukosal inflammasjon (ref. 1–3). Analyseresultatene kan brukes som en hjelp til diagnostisering ved å skille organisk, inflammatorisk sykdom i mage-tarm-kanalen (inflammatorisk tarmsykdom, IBD, spesifikt Crohns sykdom (CD) eller ulcerativ kolitt (UC)) fra funksjonell sykdom (irritabel tarm-syndrom, IBS) (ref. 4–10), hos pasienter med kroniske buksmerter, og til hjelp i overvåking av IBD-sykdom (ref. 10–22).

Kun til laboratoriebruk.

ANALYSENS PRINSIPP

BÜHLMANN fCAL[®] turbo-testen er en partikkelforsterket turbidimetrisk immunanalyse (PETIA) som muliggjør automatisk kvantifisering av kalprotektin i avføringsprøver på kliniske kjemianalysatorer. Avføringsprøver ekstraheres med ekstraksjonsbuffer (B-CAL-EX) ved bruk av CALEX[®]-Cap ekstraksjonsenhet (B-CALEX-Cx) eller manuell ekstraksjon, og brukt ved en endelig fortykning på 1:500. Ekstraktene inkuberes med reaksjonsbuffer og blandes med nanopartikler i polystyren, belagt med kalprotektinspesifikke antistoffer (immunpartikler). Kalprotektin i prøven medierer agglutinerings av immunpartikler. Prøvens turbiditet, målt ved lysabsorbering, øker ved dannelse av kalprotektin-immunpartikkelkompleks og er proporsjonal med kalprotektinkonsentrasjonen. Den registrerte lysabsorberingen gjør det mulig å kvantifisere kalprotektinkonsentrasjonen via interpolering på en fastsatt kalibreringskurve.

MEDFØLGENDE REAGENSER

Reagenser	Mengde	Kode	Klargjøring
Reaksjonsbuffer (R1) MOPS-bufret saltvann	1 hetteglass 35 ml	B-KCAL-R1	Klar til bruk
Immunpartikler (R2) Polystyrenperler belagt med antistoffer fra fugl mot humant kalprotektin	1 hetteglass 7 ml	B-KCAL-R2	Klar til bruk

Tabell 1: Medfølgende reagenser

REAGENSLAGRING OG -STABILITET

Uåpnede reagenser
Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter settes utløpsdato, som er trykt på etikettene.
Onboard-stabilitet
Oppbevares i opptil 3 måneder ved 5–12 °C

Tabell 2: Oppbevaring av reagenser og reagensenes stabilitet

Reagensene må ikke fryses!

NØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE FØLGER MED

Reagenser	Mengde	Kode
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibreringssett Kalibrator 1–6 for fastsettelse av seks-punkts kalibreringskurve	1 x 6 hetteglass 1 ml/hetteglass	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollsett Lav og høy kontroll	3 x 2 hetteglass 1 ml/hetteglass	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap device Ekstraksjonsenhet fylt med ekstraksjonsbuffer	50 rør 200 rør 500 rør	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Ekstraksjonssett Ekstraksjonsbuffer	3 flasker 12 flasker 125 ml/flaske	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabell 3: Nødvendige, men ikke medfølgende materialer

ADVARSLER OG FORSIKTIGHETSREGLER

- Denne testen er kun til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Immunpartiklene inneholder potensielt smittefarlige stoffer av animalsk opprinnelse, og skal håndteres i henhold til god laboratoriepraksis (GLP) ved bruk av egnede forsiktighetsregler.
- R2 inneholder nanopartikler i polystyren.
- Dette settet inneholder komponenter som er klassifisert i samsvar med forskrift (EC) nr. 1272/2008: 2-metyl-4-isotiazolin-3-en hydroklorid (kons. $\geq 0,0015\%$), reagensene kan derfor forårsake allergiske hudreaksjoner (H317).
- Unngå at reagensen kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Hvis det oppstår kontakt, skal det umiddelbart vaskes med rikelig med vann. Hvis ikke kan det oppstå irritasjon/ brannår.

Tekniske forsiktighetsregler

- Ekvilibrer reagenser, kontroller, kalibratorene og prøver før bruk, som beskrevet i applikasjonsmerknaden.
- Fordamping av kalibratorene og kontroller på analysatoren kan føre til feilaktige resultater. Kjør analysen umiddelbart etter at analysatoren er lastet.
- Ikke bland reagens R1 og R2 av forskjellige reagensloter eller bytt hetter mellom reagenser.

- Reagens R2 kan ikke brukes lenger når den er frosset.
- Analysen er laget for ekstraherte avføringsprøver klargjort ved bruk av den spesifikke ekstraksjonsbufferen fra BÜHLMANN.
- Pass på at det ikke er bobler i prøven før testen kjøres.
- Overføring av prøve avhenger av den kliniske kjemianalysatoren. Se analysatorens spesifikke applikasjonsmerknaden for mer informasjon.

INNSAMLING OG OPPBEVARING AV PRØVE

Det kreves mindre enn 1 g nativ feces for ekstraksjonsprosedyren. Samle inn avføringsprøven i vanlige rør.

Viktig: Prøven må samles inn uten kjemiske eller biologiske tilsetninger.

Transport av prøve

Avføringsprøver skal mottas for behandling av laboratoriet innen 3 dager etter innsamling. Avføringsprøver kan sendes ved romtemperatur eller avkjølt.

Lagring av prøve

Avføringsprøver skal være avkjølt ved 2–8 °C og ekstraheres innen 3 dager etter at de er mottatt på laboratoriet. Ikke oppbevar prøver ved høye temperaturer.

EKSTRAKSJON AV AVFØRINGSPRØVE OG EKSTRAKTETS STABILITET

CALEX[®] Cap

Følg bruksanvisningen som følger med CALEX[®] Cap. Ekstrakter av avføringsprøver klargjort ved bruk av CALEX[®] Cap vil ha en endelig fortykning på 1:500 og er klare til bruk.

Flytende avføringsprøver kan pipetteres direkte i CALEX[®] Cap. Skru av den blå hetten og pipetter 10 µl avføringsprøve inn i enheten. Sett hetten tilbake på CALEX[®] Cap device og fortsett med virvlingstrinnet i henhold til prosedyren som er beskrevet og illustrert i bruksanvisningen som følger med CALEX[®] Cap device.

Viktig: Sentrifuger CALEX[®] Cap device i 10 minutter ved 1000–3000 g før BÜHLMANN fCAL[®] turbo-prosedyren kjøres.

Fekalt kalprotektin i ekstrakter oppnådd av BÜHLMANN CALEX[®] Cap er stabil ved romtemperatur (23 °C) i 7 dager, ved 2–8 °C i 15 dager og ved -20 °C i minst 23 måneder.

CALEX® Cap ekstrakter kan fryses direkte og lagres i CALEX® Cap device. Ekstrakter kan gjennomgå fire fryse-tine-sykluser. La frosne ekstrakter utlignes til romtemperatur før måling, virvle grundig i 10 sekunder og sentrifuger i henhold til analysens bruksanvisning.

Ekstraksjonssett

For manuell ekstraksjon følger du bruksanvisningen som følger med ekstraksjonssettet. Ekstrakter av avføringsprøver klargjort ved bruk av ekstraksjonssettet har en endelig fortykning på 1:50. Fortynn avføringsekstraktene 1:10 i BÜHLMANN ekstraksjonsbuffer som følger med i ekstraksjonssettet (f.eks. 50 µl ekstrakt og 450 µl ekstraksjonsbuffer) før BÜHLMANN fCAL® turbo-prosedyren kjøres.

Fekalt kalprotektin i ekstrakter (1:50) oppnådd ved manuell ekstraksjon er stabil ved 2–8 °C i 7 dager eller ved -20 °C i 36 måneder.

PROSEDYRE

Applikasjonsmerknader / installasjon av analysen

Analyseprosedyrer for BÜHLMANN fCAL® turbo er fastsatt på flere kliniske kjemianalysatorer. Validerte applikasjonsmerknader som beskriver installering og analyse på spesifikke instrumenter, er tilgjengelige fra BÜHLMANN på forespørsel. Tilhørende instrumenthåndbøker må vurderes for oppsett, vedlikehold og drift av instrumenter, samt forsiktighetsregler.

Klargjøring av reagenser

De medfølgende reagensene er klare til bruk. Bland lett før lasting på instrumentet. Reagensflaskene kan passe direkte på instrumentet, med mindre noe annet er oppgitt i applikasjonsmerkningen.

Fastsettelse av kalibreringskurven

BÜHLMANN fCAL® turbo-kalibratorsett brukes til å fastsette en sekspunkts kalibreringskurve i samsvar med instrumenthåndboken. Kalibratorverdiene er lotspesifikke. Det må utføres en ny kalibrering for hver ny kalibrator og reagenslot. Hvis ikke skal kalibrering utføres hver eller annenhver måned i henhold til de instrumentspesifikke applikasjonsmerkningene. Se kvalitetskontroll-dataarket som følger med BÜHLMANN fCAL® turbo-kalibratorsettet for tilordnede kalibratorverdier. Kontakt BÜHLMANN kundestøtte hvis kalibreringen ikke kan utføres uten feil.

Kvalitetskontroller

BÜHLMANN fCAL[®] turbo-kontrollsettet må analyseres hver dag før kjøring av ekstraherte avføringsprøver fra pasient. Kontrollene har tilordnede verdiområder angitt på kvalitetskontroll-dataarket som følger med hver lot av BÜHLMANN fCAL[®] turbo-kontrollsettet. Kontrollmålingene må være innenfor de angitte verdiområdene for å få gyldige resultater for ekstraherte avføringsprøver fra pasient.

Hvis kontrollverdiene ikke er gyldige, skal målingen gjentas med nye kontroller. Hvis kontrollverdiene fortsatt ikke er gyldige, skal analysen recalibreres. Hvis gyldige verdier ikke kan reproduseres etter at de ovennevnte trinnene er utført, skal du kontakte BÜHLMANN kundestøtte.

Måling av avføringsekstrakter fra pasient

Når en kalibreringskurve er fastsatt og validert med kontrollene, kan avføringsekstrakter fra pasienter måles. Utfør måling av avføringsekstrakt fra pasient i henhold til applikasjonsmerknaden og instrumenthåndboken.

Resultater

Resultatene beregnes automatisk på den kliniske kjemianalysatoren, og presenteres i µg/g med mindre noe annet er oppgitt i de tilhørende applikasjonsmerknadene som er spesifikke for den kliniske kjemianalysatoren.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHET

Det finnes ingen internasjonalt eller nasjonalt anerkjente referansematerialer eller referansemåleprosedyrer for kalprotektinanalytt i avføringsprøver. BÜHLMANN fCAL[®] turbo er standardisert mot et internt fastsatt referansemateriale, og verdier for kontroller og kalibratorer er tilordnet i samsvar med en verdioverføringsprotokoll (ref. 23, 24) for å garantere metrologisk sporbarhet. Konfidensintervallet på 95 % til den kombinerte usikkerheten for produktkalibratorer ble fastslått som lavere enn 3,7 %, og den kombinerte usikkerheten for kontrollene lavere enn 6,9 %.

BEGRENSNINGER

- Restresultatene skal tolkes i sammenheng med tilgjengelig informasjon fra kliniske vurderinger av pasienten og andre diagnostiske prosedyrer.
- For overvåking av IBD-sykdom har det vært antydning at flere målinger av fekalt kalprotektin, utført med opptil 4 ukers intervall, har den høyeste diagnostiske nøyaktigheten i å forutse klinisk tilbakefall hos pasienter (ref. 25–26).

- Inntak av ikke-steroid antiinflammatoriske legemidler (NSAID) kan gi økte nivåer av fekalt kalprotektin.
- Det kan hende at resultatene ikke er gyldige for barn under 4 år som har lett økte nivåer av fekalt kalprotektin (ref. 27–30).

TOLKNING AV RESULTATER

I. Skille organisk sykdom fra funksjonell gastrointestinal sykdom

Fastsettelse av fekale kalprotektinnivåer kan brukes som en pålitelig og enkel hjelp i å skille organisk fra funksjonell gastrointestinal sykdom (ref. 4–10). BÜHLMANN anbefaler å bruke samme cutoff-verdier som for BÜHLMANN fCAL[®] ELISA:

Kliniske terskler

Kalprotektin-konsentrasjon	Tolkning	Oppfølging
< 80 µg/g	Normal	Ingen
80–160 µg/g	Gråsoner/borderline	Oppfølging inne 4–6 uker
> 160 µg/g	Forhøyet	Gjenta etter behov

Tabell 4: BÜHLMANN fCAL[®] turbo diagnostiske områder.

Resultatkategoriene er basert på data fra kliniske studier utført av BÜHLMANN og er BÜHLMANNs anbefalinger. Alle testresultater skal tolkes i sammenheng med tilgjengelig informasjon fra pasientens kliniske symptomer, anamnese og andre kliniske funn og laboratoriefunn:

Kalprotektinverdier under 80 µg/g

Fekale kalprotektinverdier under 80 µg/g er ikke indikative for inflammasjon i mage-tarm-kanalen. Pasienter med lave kalprotektinnivåer trenger trolig ikke invasive prosedyrer for å fastslå årsak til inflammasjon (ref. 4).

Kalprotektinverdier mellom eller lik 80 µg/g og 160 µg/g

Midtnivåer av fekalt kalprotektin mellom 80 og 160 µg/g, også kalt gråsonenivåer, er ikke direkte indikative for en aktiv inflammasjon som krever umiddelbar oppfølging med invasiv testing. En inflammasjon kan imidlertid ikke utelukkes. Ny evaluering av fekale kalprotektinnivåer etter 4 til 6 uker anbefales for å fastslå inflammasjonsstatus.

Kalprotektinverdier over 160 µg/g

Kalprotektinverdier over 160 µg/g er indikative for nøytrofil-infiltrasjon i mage-tarm-kanalen. Derfor kan dette være et tegn på aktiv inflammatorisk sykdom. Det foreslås egnede ytterligere undersøkende prosedyrer av spesialister for å få en total klinisk diagnose.

Klinisk evaluering

BÜHLMANN fCAL[®] turbo evne til å skille mellom pasienter med IBD og andre ikke-inflammatoriske gastrointestinale sykdommer, inkludert IBS, ble evaluert ved bruk av kliniske prøver innsamlet fra 295 pasienter, og ekstrahert ved bruk av CALEX[®] Cap device. Ett hundre og tjuesyv (127) pasienter hadde en endelig diagnose med IBD (Crohns sykdom, ulcerativ kolitt eller ubestemt kolitt), 103 pasienter hadde IBS, og 65 pasienter hadde buksmerter og/eller diaré eller andre Gi-relaterte ikke-inflammatoriske sykdommer. Den endelige diagnosen ble støttet av både endoskopiske og andre kliniske funn.

Den optimale cutoff-kombinasjonen for disse pasientpoolene kunne defineres med ROC-analyse ved 80 µg/g og 160 µg/g kalprotektin (tabell 6 og 8), som er noe strengere enn en kombinasjon av en mer følsom, lavere cutoff på 50 µg/g med lavere ytelse i spesifisitet, og en øvre cutoff på 200 µg/g med noe lavere følsomhet (tabell 7 og 9).

Endelig diagnose	Fordeling av pasientresultater i antall (prosent) innenfor diagnostiske områder for BÜHLMANN fCAL [®] turbo.			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Totalt
IBD	11 (8,7 %)	8 (6,3 %)	108 (85,0 %)	127 (100 %)
IBS	75 (72,8 %)	11 (10,7 %)	17 (16,5 %)	103 (100 %)
Annen GI	42 (64,6 %)	8 (12,3 %)	15 (23,1 %)	65 (100 %)

Tabell 5: Fordeling av pasientresultater innenfor diagnostiske områder for BÜHLMANN fCAL[®] turbo

IBD vs. ikke-IBD	Punkt for klinisk avgjørelse	
	80 µg/g	160 µg/g
Følsomhet (95 % KI)	91,3 % (85,0%, 95,6 %)	85,0 % (77,6%, 90,7 %)
Spesifisitet (95 % KI)	69,6 % (62,1%, 76,5 %)	81,0 % (74,2%, 86,6 %)
PPV (95 % KI)	69,5 % (61,9%, 76,3 %)	77,1 % (69,3%, 83,8 %)
NPV (95 % KI)	91,4 % (85,1%, 95,6 %)	87,7 % (81,5%, 92,5 %)
ROC AUC (95 % KI)	0,912 (0,878, 0,946)	

Tabell 6: Kliniske ytelsesegenskaper for BÜHLMANN fCAL[®] turbo i å skille IBD fra ikke-IBD – IBS og andre Gi-relaterte sykdommer, ved 80 µg/g og 160 µg/g punkter for kliniske avgjørelser

IBD vs. ikke-IBD	Punkt for klinisk avgjørelse	
	50 µg/g	200 µg/g
Følsomhet (95 % KI)	94,5 % (89,0%, 97,8 %)	80,3 % (72,3%, 86,8 %)
Spesifisitet (95 % KI)	62,5 % (54,7%, 69,8 %)	85,7 % (79,5%, 90,6 %)
PPV (95 % KI)	65,6 % (58,2%, 72,4 %)	81,0 % (73,0%, 87,4 %)
NPV (95 % KI)	93,8 % (87,5%, 97,5 %)	85,2 % (78,9%, 90,2 %)

Tabell 7: Kliniske ytelsesegenskaper for BÜHLMANN fCAL® turbo i å skille IBD fra ikke-IBD – IBS og andre Gi-relaterte sykdommer, ved 50 µg/g og 200 µg/g punkter for kliniske avgjørelser

IBD vs. IBS	Punkt for klinisk avgjørelse	
	80 µg/g	160 µg/g
Følsomhet (95 % KI)	91,3 % (85,0%, 95,6 %)	85,0 % (77,6%, 90,7 %)
Spesifisitet (95 % KI)	72,8 % (63,2%, 81,1 %)	83,5 % (74,9%, 90,1 %)
PPV (95 % KI)	80,6 % (73,1%, 86,7 %)	86,4 % (79,1%, 91,9 %)
NPV (95 % KI)	87,2 % (78,3%, 93,4 %)	81,9 % (73,2%, 88,7 %)
ROC AUC (95 % KI)	0,925 (0,892, 0,958)	

Tabell 8: Kliniske ytelsesegenskaper for BÜHLMANN fCAL® turbo i å skille IBD fra IBS ved 80 µg/g og 160 µg/g punkter for kliniske avgjørelser

IBD vs. IBS	Punkt for klinisk avgjørelse	
	50 µg/g	200 µg/g
Følsomhet (95 % KI)	94,5 % (89,0%, 97,8 %)	80,3 % (72,3%, 86,8 %)
Spesifisitet (95 % KI)	67,0 % (57,0%, 75,9 %)	88,3 % (80,5%, 93,8 %)
PPV (95 % KI)	77,9 % (70,5%, 84,2 %)	89,5 % (82,3%, 94,4 %)
NPV (95 % KI)	90,8 % (81,9%, 96,2 %)	78,4 % (69,9%, 85,5 %)

Tabell 9: Kliniske ytelsesegenskaper for BÜHLMANN fCAL® turbo i å skille IBD fra IBS ved 50 µg/g og 200 µg/g punkter for kliniske avgjørelser

KI – konfidensintervall

PPV – positiv prediktiv verdi

NPV – negativ prediktiv verdi

ROC AUC – område under Receiver Operating Characteristic-kurven

II. IBD-overvåking

Kliniske terskler og evaluering

Fastsettelse av fekalt kalprotektin er en pålitelig og enkel måte å hjelpe ved overvåking av IBD-pasienter på (ref. 10–22).

Korrelasjonen mellom kalprotektinnivåer og inflammasjonsstatus for pasientens intestinale slimhinner i henhold til endoskopiske verdier, ble fastsatt i tre uavhengige studier som brukte BÜHLMANN kalprotektin-tester (tabell 10). Den diagnostiske verdien til kalprotektin i å forutsi klinisk remisjon og tilbakefall, i henhold til pasientens symptomer, kliniske aktivitetsindikatorer, uplanlagt behov for økt behandling, sykehusinnleggelse eller akutsituasjon ble fastsatt i tre studier som brukte BÜHLMANN kalprotektin-tester (tabell 11).

Kalprotektin¹ vs IBD-aktivitet fastsatt ved endoskopiske funn	Studie 1 Spania (ref. 12)	Studie 2 Spania (ref. 13)	Studie 3 Australia, New Zealand (ref.14)
Pasientantall og -demografi	89 (CD ²) Alder: 32-58 44 % menn	123 (UC ³) Alder: 18-85 66,4 % menn	99 (CD ² etter reseksjon) Alder: 29-47 46,5 % menn
Cutoff	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98 %	86 %	91 %
PPV	76 %	80,3 %	53 %

Tabell 10: Korrelasjon mellom kalprotektin og IBD-sykdomsaktivitet fastsatt ved endoskopiske vurderinger.

¹ Resultater for studie 1 og 2 ble oppnådd med BÜHLMANN lateral flow-analyser (Quantum Blue[®] fCAL og Quantum Blue[®] fCAL high range). Resultater i studie 3 ble oppnådd med BÜHLMANN fCAL[®] ELISA).

² CD = Pasienter med Crohns sykdom

³ UC = Pasienter med ulcerativ kolitt

Kalprotektin¹ vs fremtidig klinisk remisjon eller tilbakefall	Studie 4 Storbritannia (ref. 15)	Studie 5 Spania (ref. 16)	Studie 6 Spania (ref. 17)
Pasientantall og -demografi	92 (CD ²) 38 % menn	30 (CD ²) adalimumab-behandling Alder: 24-64 43,3 % menn	33 (CD ²) 20 (UC ³) infliksimab-behandling Alder: 18-68 47,2 % menn
Oppfølgingstid etter måling av kalprotektin	12 måneder	4 måneder	12 måneder
Pasienter i klinisk tilbakefall etter oppfølging	11 %	30 %	23 %
Cutoff	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8 %	100 %	96,1 %
PPV	27,6 %	75 %	68,7 %

Tabell 11: Fastsettelse av diagnostisk verdi av kalprotektin i å forutsi klinisk remisjon og tilbakefall av IBD-sykdom.

¹ Resultater i studie 4 ble oppnådd med BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Resultater for studie 5 og 6 ble oppnådd med BÜHLMANN lateral flow-analyser (Quantum Blue[®] fCAL og Quantum Blue[®] fCAL high range).

² CD = Pasienter med Crohns sykdom

³ UC = Pasienter med ulcerativ kolitt

Resultatkategoriene som vises, er anbefalinger. Fastsettelsen av disse er basert på samlet kunnskap om publiserte cutoffs og studier av klinisk ytelse. Det anbefales at helsepersonell fastsetter individuelle pasientterskler ved å fastsette pasientens kalprotektinnivå ved baseline under sykdomsremisjon.

Kalprotektinverdier under 100 µg/g

Fekale kalprotektinnivåer under 100 µg/g kan pålitelig angi pasienter med lav risiko for klinisk tilbakefall, i endoskopisk remisjon der invasive endoskopiske prosedyrer kan unngås (ref. 10–22).

Kalprotektinverdier mellom 100 og 300 µg/g

Fekale kalprotektinnivåer mellom 100 og 300 µg/g kan indikere at det er nødvendig med tettere kontroll i den etterfølgende perioden, for å vurdere tendenser i sykdommens utvikling.

Kalprotektinverdier over 300 µg/g

Fekale kalprotektinverdier over 300 µg/g skal gjentas, og hvis forhøyede nivåer bekreftes, skal dette utløse ytterligere undersøkende prosedyrer (ref. 10–22).

YTELSESEGENSKAPER

De presenterte ytelsesegenskapene er fastsatt på et Roche cobas® 6000 c501-instrument. Se applikasjonsmerknadene som er spesifikke for den kliniske kjemianalysatoren for å finne ytelsesegenskaper for andre kliniske kjemianalysatorer.

Metodesammenligning – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

Metodesammenligningsstudien ble utført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3. Ett hundre og nittini (199) kliniske prøver ble målt ved bruk av én lot med BÜHLMANN fCAL® turbo over 18 dager i én kalibreringscyklus. Referanseverdier med et endelig kalprotektin-konsentrasjonsintervall på 30,3–1672,5 µg/g, ble fastsatt med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Prøver ble ekstrahert ved bruk av CALEX® Cap device. Enkeltfastsettelser fra CALEX® Cap ekstrakter ble utført i begge metodene. Bias ble fastsatt ved bruk av Passing-Bablok lineær regresjon og Bland-Altman-analyse.

Bland-Altman-analyse			Passing-Bablok regresjonsanalyse				
Gjennomsnittlig bias (95 % KI)	Nedre LoA (95 % KI)	Øvre LoA (95 % KI)	Helling (95 % KI)	Avskjærning [$\mu\text{g/g}$] (95 % KI)	Bias ved 80 $\mu\text{g/g}$ (95 % KI)	Bias ved 160 $\mu\text{g/g}$ (95 % KI)	r
0,68 % (-2,6 %, 4,0 %)	-46,0 % (-51,6 %, -40,3 %)	47,3 % (41,6 %, 53,0 %)	1,139 (1,104, 1,172)	-18,3 (-24,4, -13,2)	-9,0 % (-15,1 %, -3,1 %)	2,4 % (-1,2 %, 5,4 %)	0,982

Metodesammenligning – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA manuell ekstraksjon

Metodesammenligningsstudien ble utført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3. Et hundre og sekstiåtte (168) kliniske prøver ble målt ved bruk av tre loter med CALEX® Cap device og målt ved bruk av én lot med BÜHLMANN fCAL® turbo over 18 dager i én kalibreringscyklus. Referanseverdier med et endelig kalprotektin-konsentrasjonsintervall på 30,5–1573,8 $\mu\text{g/g}$, ble fastsatt ved bruk av den manuelle ekstraksjonsmetoden, og ekstraktmåling med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Ekstrakter ble målt i enkeltfastsettelse i begge metodene. Bias ble fastsatt ved bruk av Passing-Bablok lineær regresjon og Bland-Altman-analyse.

Bland-Altman-analyse			Passing-Bablok regresjonsanalyse				
Gjennomsnittlig bias (95 % KI)	Nedre LoA (95 % KI)	Øvre LoA (95 % KI)	Helling (95 % KI)	Avskjærning [$\mu\text{g/g}$] (95 % KI)	Bias ved 80 $\mu\text{g/g}$ (95 % KI)	Bias ved 160 $\mu\text{g/g}$ (95 % KI)	r
11,1 % (5,5 %, 16,6 %)	-60,7 % (-70,3 %, -51,2 %)	82,8 % (73,3 %, 92,4 %)	1,336 (1,265, 1,429)	-31,7 (-44,1, -19,4)	-6,0 % (-16,4 %, 7,1 %)	13,8 % (8,1 %, 23,2 %)	0,955

Reproduserbarhet (Flersenter presisjonsvurderingsstudie): 3,2–9,1 % CV

Reproduserbarhet ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP05-A3 ved bruk av en studiedesign med 3 laboratoriesteder x 5 dager x 5 replikater. Åtte poolede avføringsprøveekstrakter med kalprotektin-konsentrasjoner i området 47,2–5475,6 $\mu\text{g/g}$ ble testet.

Presisjon mellom loter: 2,4–8,2 % CV

Presisjon mellom loter ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP05-A3 ved bruk av en studiedesign med 3 loter x 5 dager x 5 replikater. Åtte poolede avføringsprøveekstrakter med kalprotektin-konsentrasjoner i området 45,2–5303,1 $\mu\text{g/g}$ ble testet.

Repeterbarhet: 0,7–8,3 % CV

Presisjon innenfor laboratorium: 1,4–9,1 % CV

Repeterbarhet og presisjon innenfor laboratorium ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP05-A3 ved bruk av den standardiserte studiedesignen med 20 dager x 2 kjøringar x 2 replikater. Åtte poolede avføringsprøveekstrakter med kalprotektin-konsentrasjoner i området 42,9–5405,6 µg/g ble testet.

Ekstraksjonsreproduserbarhet – CALEX® Cap: 8,1–19,7 % CV

Ekstraksjonsreproduserbarheten ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP05-A3 ved bruk av studiedesignen med 2 dager x 2 brukere x 3 CALEX®-Cap-loter x 2 ekstraksjoner x 3 replikater. Tolv kliniske avføringsprøver, inkludert prøver med fast, halvfast og flytende konsistens, med kalprotektin-konsentrasjoner i området 42,7–3440,0 µg/g, ble testet.

Nøyaktighet/gjenfinning: 93,6–102 % CV

Syv avføringsprøveekstrakter fra kliniske prøver med kalprotektinnivåer i området 44,1–1076,3 µg/g ble spiket med 56,9 µg/g eller 227,8 µg/g kalprotektin i kalibratormaterialet. Spiking ble utført ved 10 % av prøveekstraktvolumet. «Baseline»-prøve ble spiket med det tilsvarende volumet analyttfri prøve. «Baseline»- og "baseline + spike"-prøver ble målt i fire replikater.

Enkel overføring

Prøveoverføringen ble fastsatt i samsvar med CLSI-retningslinjer EP10-A2. Ingen statistisk signifikant overføring med BÜHLMANN fCAL® turbo-testen på Roche cobas® 6000 c501-instrumentet ble detektert.

Deteksjonsgrense (LoD): 23,7 µg/g

LoD ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP17-A2 og med andel falske positive (α) under 5 % og falske negative (β) under 5 % basert på 120 fastsettelse, med 60 blanke replikater og 60 replikater med lavt nivå, og en **LoB på 16,7 µg/g**.

Kvantifiseringsgrense (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP17-A2, basert på 90 fastsettelse og et presisjonsmål på 20 % CV. LoQ-estimatet ble funnet under estimatet for LoD og er derfor angitt som lik estimert LoD.

Linearitetsområde: 9,3–13 339 µg/g

Det lineære området for BÜHLMANN fCAL[®] turbo ble fastsatt i henhold til CLSI-retningslinjer EP06-A. Prøver med en konsentrasjon over 2000 µg/g ble automatisk fortynnet 1:10 av analysatoren. Et maksimalt avvik på 10 % fra linearitet var tillatt. For verdier under 75 µg/g var en absolutt forskjell på under 7,5 µg/g tillatt.

Hook-effekt ved høy dose

Prøver med teoretiske konsentrasjoner på opptil 45 715 µg/g kan måles uten å begrense analyseområdet.

Interfererende stoffer

Følsomheten til BÜHLMANN fCAL[®] turbo-analysen for orale legemidler, kosttilskudd, hemoglobin samt enteropatologiske mikroorganismer ble vurdert i henhold til CLSI-retningslinjer EP07-A2. Bias i resultater som overskred 10 % ble ansett som interferens.

Ingen interferens ble detektert med følgende stoffer [Konsentrasjon i mg / 50 mg avføring]; gyno-tardyferon (0,11), prednison (0,31), imurek (0,19); salofalk (5,21), asacol (2,50), agopton (0,18), vancocin (2,00), sulfametoksazol (1,6), trimetoprim (0,35), ciproksin (1,25), vitamin E (0,30), bion 3 (1,06), hemoglobin (1,25).

Ingen interferens ble detektert med følgende enteropatologiske mikroorganismer [Konsentrasjon i kolonidannende enheter (CFU) / ml avføringsekstrakt]; *Escherichia coli* ($3,3 \times 10^7$), *Salmonella enterica subsp. Enterica* ($9,0 \times 10^7$), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* ($5,3 \times 10^7$), *Citrobacter freundii* ($12,9 \times 10^7$), *Shigella flexneri* ($5,0 \times 10^7$), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* ($9,8 \times 10^7$).

REFERANSER

1. Nilsen T et al.: J Clin Lab Anal 2017 ; 31(4). doi: 10.1002/jcla.22061
2. Mandic-Havelka A et al.: Clin Lab. 2017 ; 63(5):907-913.
3. Noebauer B et al. : Biochem Med (Zagreb) 2017 ; 27(3):030710.
4. Fagerhol MK: Lancet 2000; 356, 1783-4.
5. Tibble JA et al.: Gut 2000; 47, 506-13.
6. Tibble JA et al.: Gastroenterol 2002; 123, 450-60.
7. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2009; 129(8), 743-5.
8. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
9. Pavlidis P. et al. Scand J Gastroenterol. 2013; 48(9), 1048-54.
10. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
11. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407-15.
12. Lobatón T et al.: J Crohns Colitis 2013, 641-51.
13. Lobatón T et al.: Inflamm Bowel Dis 2013; 19(5), 1034-42.
14. Wright et al.: Gastroenterology 2015; 148(5), 938-947.
15. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
16. Ferreira-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreira-Iglesias R1 et al. : J Clin Gastroenterol 2015; 50(2),147-51.
18. Guardiola J. et al. Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014; 12(11) 1865-70.
19. Lason A et al.: United European Gastroenterol J 2015, 3(1) 72-9.
20. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 29(7), 369-72.
21. Peyrin-BL et al.: Am J Gastroenterol 2015, 110, 1324-38.
22. Ricciuto A et al.: Crit Rev Clin Lab Sci. 2019; 56(5):307-320.
23. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22
24. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9
25. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
26. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
27. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
29. Zhu Q. et al. PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

ENDRINGSLOGG

Dato	Versjon	Endring
2022-02-28	A4	Oppdatering av avsnittet "Advarsler og forsiktighetsregler", revisjon av kapittel "symboler", inkludering av avsnittet "Standardisering og metrologisk sporbarhet", inkludering av kontrollorgannummer i CE-merke – prosedyre for samsvarsvurdering i henhold til IVDR 2017/746

HENDELSESRAPPORTERING I EU-LAND

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse knyttet til dette utstyret, skal det umiddelbart rapporteres til produsenten og den kompetente myndigheten i medlemsstaten din.

TRANSPORTSKADE

Varsle distributøren hvis dette produktet var skadet ved mottak.

SYMBOLFORKLARINGER

BÜHLMANN bruker symboler og skilt som er oppført og beskrevet i ISO 15223-1.

