



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Turbidimetrični test na kalprotektin
za poklicno uporabo

Komplet reagentov

B-KCAL-RSET
Različica A5.1

Za diagnostično uporabo *in vitro*



Proizvajalec

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Švica

Tel.: +41 61 487 1212

Faks: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

PREDVIDENA UPORABA

Test BÜHLMANN fCAL[®] turbo je avtomatiziran diagnostični test *in vitro* za kvantitativno določanje kalprotektina v vzorcih človeškega blata, namenjen kot pomoč pri oceni vnetja črevesne sluznice (ref. 1-3). Rezultate testa lahko uporabimo kot pomoč pri diagnozi razlikovanja med organsko, vnetno boleznijo prebavil (vnetne črevesne bolezni, VČB, zlasti Crohnove bolezni (CD, Crohn's disease) ali ulceroznega kolitisa (UK)) in funkcionalno boleznijo (sindrom razdražljivega črevesa, SRČ) (ref. 4-10), pri bolnikih s kronično bolečino v trebuhu in kot pomoč pri spremljanju bolezni VČB (ref. 10-22).

Samo za laboratorijsko uporabo.

PRINCIP TESTA

BÜHLMANN fCAL[®] turbo je z delci izboljšani turbidimetrični imunski test (PETIA), ki omogoča avtomatizirano kvantifikacijo kalprotektina v fekalnih izvlečkih na analizatorjih klinične kemije. Fekalne vzorce ekstrahiramo z ekstrakcijskim pufrom z ekstrakcijo CALEX[®] Cap ali z ročno ekstrakcijo in jih uporabimo v končnem razredčenju 1:500. Ekstrakti se inkubirajo z reakcijskim pufrom in zmešajo s polistirenskimi nanodelci, ki so prevlečeni s protitelesi, specifičnimi za kalprotektin (imunodelci). Kalprotektin, ki je na voljo v vzorcu, posreduje pri aglutinaciji imunodelcev. Motnost vzorca, izmerjena z absorpcijo svetlobe, narašča s tvorjenjem kompleksa kalprotektin-immunodelci in je sorazmerna s koncentracijo kalprotektina. Zaznana absorpcija svetlobe omogoča kvantifikacijo koncentracije kalprotektina z interpolacijo na uveljavljeni umeritveni krivulji.

PRILOŽENI REAGENTI

Reagenti	Količina	Koda	Priprava
Reakcijski pufer (R1) Puferska fiziološka raztopina MOPS	1 viala 35 mL	B-KCAL-R1	Pripravljeno za uporabo
Imunodelci (R2) Polistirenske kroglice, prevlečene s ptičjimi protitelesi proti človeškemu kalprotektinu	1 viala 7 mL	B-KCAL-R2	Pripravljeno za uporabo

Preglednica 1: Priloženi reagenti

SHRANJEVANJE IN STABILNOST REAGENTA

Neodprti reagenti
Shranjujte pri temperaturi 2-8 °C. Kompleta ne uporabljajte po izteku roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepkah.
Stabilnost med uporabo
Shranjujte do 3 mesece pri temperaturi 5-12 °C.

Preglednica 2: Shranjevanje in stabilnost reagentov

Reagentov ne zamrzujte!

POTREBNI MATERIALI, KI NISO DOBAVLJENI

Reagenti	Količina	Koda
Komplet kalibratorjev BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratorji 1-6 za določitev šestih točk na kalibracijski krivulji	1 x 6 vial 1 mL/vialo	B-KCAL-CASET
Komplet kontrol BÜHLMANN fCAL® turbo Kontroli nizka in visoka	3 x 2 viali 1 mL/vialo	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Ekstrakcijska naprava, napolnjena z ekstrakcijskim pufrom	50 epruвет 200 epruвет 500 epruвет	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Komplet za ekstrakcijo Ekstrakcijski pufer	3 steklenice 12 steklenic 125 mL/steklenico	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Preglednica 3: Potrebni materiali, ki niso dobavljeni

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

- Ta test je samo za diagnostično uporabo *in vitro*.
- Imunodelci vsebujejo potencialno kužne snovi živalskega izvora in z njimi je treba ravnati v skladu z dobro laboratorijsko prakso (GLP) ob upoštevanju ustreznih varnostnih ukrepov.
- R2 vsebuje nanodelce polistirena.
- Ta komplet vsebuje komponente, razvrščene v skladu z Uredbo (ES) št. 1272/2008: 2-metil-4-izotiazolin-3-on hidroklorid (konc. $\geq 0,0015\%$), zato lahko reagenti povzročijo alergijske kožne reakcije (H317).
- Izogibajte se stiku reagentov s kožo, očmi ali sluznico. Če pride do stika, takoj sperite z veliko količino vode; sicer lahko pride do draženja/opeklin.

Tehnični previdnostni ukrepi

- Reagente, kontrole, kalibratorje in vzorce uravnotežite, kot je opisano v opombi za uporabo.
- Izhlapevanje kalibratorjev in kontrol na analizatorju bi lahko povzročilo napačne rezultate. Zaženite test takoj potem, ko ste naložili analizator.
- Ne mešajte reagentov R1 in R2 iz različnih serij reagenta in ne zamenjajte zapork med reagenti.

- Zamrznjenega reagenta R2 ni več mogoče uporabiti.
- Test je zasnovan za vzorce fekalnih izvlečkov, pripravljenih s posebnim ekstrakcijskim pufrom BÜHLMANN.
- Pred izvedbo preskusa se prepričajte, da v vzorcih ni mehurčkov.
- Prenos vzorca je odvisen od klinično-kemijskega analizatorja. Za več informacij glejte opombo o uporabi analizatorja.

ZBIRANJE IN SHRANJEVANJE VZORCEV

Za postopek ekstrakcije je potrebno manj kot 1 g nativnega vzorca blata. Vzorec blata odvezmite v navadno epruveto.

Pomembno: Vzorec je treba odvzeti brez kakršnih koli kemičnih ali bioloških dodatkov.

Prevoz vzorcev

Vzorci blata mora laboratorij prevzeti v obdelavo v 3 dneh po odvzemu. Vzorce blata se lahko pošiljajo pri sobni temperaturi ali v hladilniku.

Shranjevanje vzorcev

Vzorci blata je treba shranjevati v hladilniku pri temperaturi 2-8 °C in ekstrahirati v 3 dneh po prejemu v laboratorij. Vzorcev ne shranjujte pri zvišanih temperaturah.

EKSTRAKCIJA VZORCA BLATA IN STABILNOST EKSTRAKTA

CALEX® Cap

Sledite navodilom za uporabo, ki so priložena kompletu CALEX® Cap. Ekstrakti fekalnih vzorcev, pripravljeni z uporabo s kompletom CALEX® Cap, bodo imeli končno razredčitev 1:500 in so pripravljeni za uporabo.

Vzorci tekočega blata je mogoče pipetirati neposredno v komplet CALEX® Cap. Odvijte modro zaporko in v napravo s pipeto vnesite 10 µL vzorca blata. Komplet CALEX® Cap zaprite z zaporko in nadaljujte s korakom mešanja na vorteks mešalniku v skladu s postopkom ekstrakcije, ki je opisan in prikazan v navodilih za uporabo, priloženih kompletu CALEX® Cap.

Pomembno: Komplet CALEX® Cap centrifugirajte 10 minut pri 1000 – 3000 x g, preden začnete postopek BÜHLMANN fCAL® turbo.

Fekalni kalprotektin v izvlečkih, pridobljenih s kompletom CALEX® Cap, je pri sobni temperaturi (23 °C) stabilen 7 dni, pri temperaturi 2-8°C 15 dni in pri temperaturi -20 °C do 23 mesecev.

Izvečke kompleta CALEX® Cap lahko neposredno zamrznete in shranite v kompletu CALEX® Cap. Izvečki so lahko izpostavljeni štirim ciklom zamrzovanja in odtaljevanja. Pred merjenjem pustite, da zamrznjeni izvečki dosežejo na sobno temperaturo, nato jih 10 sekund temeljito mešajte na vorteks mešalniku in centrifugirajte v skladu z navodili za uporabo testa.

Komplet za ekstrakcijo

Za ročno ekstrakcijo sledite navodilom za uporabo, ki so priložena kompletu za ekstrakcijo. Izvečki fekalnih vzorcev, pripravljene s kompletom za ekstrakcijo, bodo imeli končno razredčitev 1:50. Izvečke blata razredčite v razmerju 1:10 v ekstrakcijskem pufri BÜHLMANN, ki je na voljo v kompletu za ekstrakcijo (npr. 50 µL ekstrakta in 450 µL ekstrakcijskega pufra), preden začnete postopek testa BÜHLMANN fCAL® turbo.

Fekalni kalprotektin v izvlečkih (1:50), pridobljenih z ročno ekstrakcijo, je pri temperaturi 2-8 °C stabilen 7 dni in pri temperaturi -20 °C do 36 mesecev.

POSTOPEK

Opombe o uporabi / namestitvah testa

Postopki testiranja s testom BÜHLMANN fCAL® turbo so vzpostavljeni za več analizatorjev klinične kemije. Validirana navodila za uporabo, ki opisujejo namestitve in analizo na konkretnih instrumentih, so na zahtevo na voljo pri družbi BÜHLMANN. Za nastavitve, vzdrževanje, delovanje in previdnostne ukrepe je treba upoštevati ustrezne priročnike za instrumente.

Priprava reagenta

Priloženi reagenti so pripravljene za uporabo. Pred nalaganjem na instrument previdno premešajte. Steklenice z reagentom lahko položite neposredno v instrument, razen če ni drugače navedeno v navodilih za uporabo.

Vzpostavitev kalibracijske krivulje

Komplet kalibratorjev BÜHLMANN fCAL® turbo se uporablja za določitev šestih točk na kalibracijski krivulji v skladu z navodili za uporabo instrumenta. Vrednosti kalibratorjev so specifične za serijo. Vsako novo serijo kalibratorja in reagent je treba na novo kalibrirati. V nasprotnem primeru je treba instrument kalibrirati vsak mesec do dva meseca v skladu z navodili za uporabo instrumenta. Za dodeljene vrednosti kalibratorjev glejte priloženi list s podatki za kontrolo kakovosti, priložen kompletu kalibratorja za BÜHLMANN fCAL® turbo. Obrnite se na podporo strankam družbe BÜHLMANN, če kalibriranja ni mogoče izvesti brez napak.

Kontrole kakovosti

Komplet kontrol BÜHLMANN fCAL® turbo je treba testirati vsak dan, preden merite izvlečke bolnikovega fekalnega vzorca, da potrdite umeritveno krivuljo. Kontrolam so dodeljena območja vrednosti, ki so navedena na listu s podatki za kontrolo kakovosti, ki je priložen vsaki seriji kompleta kontrol BÜHLMANN fCAL® turbo. Kontrolne meritve morajo biti znotraj navedenih razponov vrednosti, da dobimo veljavne rezultate za izvlečke fekalnega vzorca bolnika.

Če kontrolne vrednosti niso veljavne, ponovite meritev s svežimi kontrolami. Če kontrolne vrednosti ostanejo neveljavne, znova kalibrirajte test. Če veljavnih kontrolnih vrednosti ni mogoče ponoviti, se po izvedbi zgoraj opisanih korakov obrnite na podporo pri družbi BÜHLMANN.

Merjenje izvlečka fekalnega vzorca bolnika

Ko je umeritvena krivulja vzpostavljena in potrjena s kontrolami, je mogoče izmeriti izvlečke blata bolnikov. Opravite meritev bolnikovega fekalnega izvlečka v skladu z navodili za uporabo in priročnikom za instrument.

Rezultati

Rezultati so samodejno izračunani na klinično-kemijskem analizatorju in predstavljeni v µg/g, razen če ni drugače navedeno v ustreznih opombah za uporabo posameznega klinično-kemijskega analizatorja.

STANDARDIZACIJA IN MEROSLOVNA SLEDLJIVOST

Za analit kalprotektina v vzorcu blata ni mednarodno ali nacionalno priznanih referenčnih materialov ali referenčnih merilnih postopkov. Test BÜHLMANN fCAL® turbo je standardiziran glede na interno vzpostavljen referenčni material, vrednosti kontrol in kalibratorjev pa so dodeljene v skladu s protokolom za prenos vrednosti (ref. 23, 24), da se zagotovi meroslovna sledljivost. 95-% interval zaupanja kombinirane negotovosti kalibratorjev izdelka je bil določen pri manj kot 3,7%, kombinirana negotovost kontrol pri manj kot 6,9%.

OMEJITVE

- Rezultate testov je treba razlagati v povezavi z informacijami, ki so na voljo iz klinične ocene bolnika in drugih diagnostičnih postopkov.
- Za spremljanje bolezni VČB se domneva, da imajo večkratne meritve fekalnega kalprotektina, opravljene v intervalih do 4 tednov, najboljšo diagnostično natančnost pri napovedovanju klinične ponovitve pri bolnikih (ref. 25-26).

- Jemanje nesteroidnih protivnetnih zdravil (NSAID, non-steroidal anti-inflammatory drugs) lahko povzroči povišane ravni fekalnega kalprotektina.
- Rezultati morda niso klinično uporabni pri otrocih, mlajših od 4 let, ki imajo blago povišane ravni fekalnega kalprotektina (ref. 27-30).

TOLMAČENJE REZULTATOV

I. Razlikovanje organske bolezni od funkcionalne bolezni prebavil

Določanje ravni fekalnega kalprotektina se lahko uporablja kot zanesljiv in preprost pripomoček pri razlikovanju med organskimi in funkcionalnimi boleznimi prebavil (ref. 4-10). Družba BÜHLMANN priporoča uporabo istih mejnih vrednosti kot za test BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Klinični pragovi

Koncentracija kalprotektina	Tolmačenje	Spremljanje
< 80 µg/g	Normalno	Brez
80 – 160 µg/g	Siva cona/meja	Spremljanje čez 4 – 6 tednov
> 160 µg/g	Zvišan	Po potrebi ponovite

Preglednica 4: Diagnostični razpon testa BÜHLMANN fCAL® turbo

Kategorije rezultatov temeljijo na podatkih iz kliničnih študij, ki jih je izvedla družba BÜHLMANN, so priporočila družbe BÜHLMANN. Vse rezultate testov je treba razlagati v povezavi z informacijami, ki so na voljo na osnovi bolnikovih kliničnih simptomov, zdravstvene anamneze ter drugih kliničnih in laboratorijskih izvidov:

Vrednosti kalprotektina pod 80 µg/g

Vrednosti fekalnega kalprotektina < 80 µg/g ne kažejo na vnetje v prebavnem traktu. Bolniki z nizkimi ravnmi kalprotektina verjetno ne bodo potrebovali invazivnih postopkov za določitev vzroka za vnetje (ref. 4).

Vrednosti kalprotektina od 80 do 160 µg/g

Srednje fekalne ravni kalprotektina od 80 do 160 µg/g, imenovane tudi ravni sive cone, ne kažejo neposredno na aktivno vnetje, ki bi zahtevalo takojšnje spremljanje z invazivnim testiranjem. Vendar pa ni mogoče izključiti prisotnosti vnetja. Da se določi stanje vnetja, se priporoča ponovna ocena ravni fekalnega kalprotektina po 4 do 6 tednih.

Vrednosti kalprotektina nad 160 µg/g

Vrednosti fekalnega kalprotektina > 160 µg/g kažejo na infiltracijo nevtrofilcev v prebavnem traktu, kar je lahko znak za prisotnost aktivne vnetne bolezni. Za celovito klinično diagnozo se predlagajo ustrezni nadaljnji preiskovalni postopki s strani specialistov.

Klinična ocena

Sposobnost BÜHLMANN fCAL® turbo za razlikovanje med bolniki s VČB in drugimi nevnetnimi boleznimi prebavil, vključno z SRČ, so ocenili z uporabo kliničnih vzorcev, zbranih pri 295 bolnikih in ekstrahiranih s kompletom CALEX® Cap. Sto sedemindvajset (127) bolnikov je imelo končno diagnozo VČB (Crohnova bolezen, ulcerozni kolitis ali nedoločen kolitis), 103 bolniki so imeli SRČ in 65 bolnikov je imelo bolečine v trebuhu in/ali drisko ali druga z GI povezana nevnetna stanja. Končno diagnozo so podprli endoskopski in drugi klinični izvidi.

Optimalno kombinacija presečnih vrednosti za te skupine bolnikov je mogoče določiti z analizo ROC pri 80 µg/g in 160 µg/g kalprotektina (preglednici 6 in 8), kar je nekoliko strožje od kombinacije občutljivejše nižje mejne vrednosti 50 µg/g z manjšo specifičnostjo in zgornje meje 200 µg/g z nekoliko manjšo občutljivostjo (preglednici 7 in 9).

Končna diagnoza	Porazdelitev rezultatov bolnikov so številu (v odstotkih) znotraj diagnostičnega območja testa BÜHLMANN fCAL® turbo.			
	< 80 µg/g	80 – 160 µg/g	> 160 µg/g	Skupaj
VČB	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
SRČ	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Druge prebavne motnje	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Preglednica 5: Porazdelitev rezultatov bolnikov znotraj diagnostičnega območja testa BÜHLMANN fCAL® turbo

VČB v primerjavi z ne-VČB	Točka klinične odločitve	
	80 µg/g	160 µg/g
Občutljivost (95% IZ)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifičnost (95% IZ)	69,6% (62,1%, 76,5%)	81,0% (74,2%, 86,6%)
PPV (95% IZ)	69,5% (61,9%, 76,3%)	77,1% (69,3%, 83,8%)
NPV (95% IZ)	91,4% (85,1%, 95,6%)	87,7% (81,5%, 92,5%)
ROC AUC (95% IZ)	0,912 (0,878, 0,946)	

Preglednica 6: Značilnosti klinične uspešnosti testa BÜHLMANN fCAL® turbo pri razlikovanju med VČB in ne-VČB – SRČ in drugimi motnjami, povezanimi s prebavili, pri kliničnih točkah odločanja 80 µg/g in 160 µg/g

VČB v primerjavi z ne-VČB	Točka klinične odločitve	
	50 µg/g	200 µg/g
Občutljivost (95% IZ)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifičnost (95% IZ)	62,5% (54,7%, 69,8%)	85,7% (79,5%, 90,6%)
PPV (95% IZ)	65,6% (58,2%, 72,4%)	81,0% (73,0%, 87,4%)
NPV (95% IZ)	93,8% (87,5%, 97,5%)	85,2% (78,9%, 90,2%)

Preglednica 7: Značilnosti klinične uspešnosti testa BÜHLMANN fCAL® turbo pri razlikovanju med VČB in ne-VČB – SRČ in drugimi motnjami, povezanimi s prebavili, pri kliničnih točkah odločanja 50 µg/g in 200 µg/g

VČB v primerjavi s SRČ	Točka klinične odločitve	
	80 µg/g	160 µg/g
Občutljivost (95% IZ)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifičnost (95% IZ)	72,8% (63,2%, 81,1%)	83,5% (74,9%, 90,1%)
PPV (95% IZ)	80,6% (73,1%, 86,7%)	86,4% (79,1%, 91,9%)
NPV (95% IZ)	87,2% (78,3%, 93,4%)	81,9% (73,2%, 88,7%)
ROC AUC (95% IZ)	0,925 (0,892, 0,958)	

Preglednica 8: Značilnosti klinične uspešnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri razlikovanju med VČB in SRČ pri točkah klinične odločitve 80 µg/g in 160 µg/g

VČB v primerjavi s SRČ	Točka klinične odločitve	
	50 µg/g	200 µg/g
Občutljivost (95% IZ)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifičnost (95% IZ)	67,0% (57,0%, 75,9%)	88,3% (80,5%, 93,8%)
PPV (95% IZ)	77,9% (70,5%, 84,2%)	89,5% (82,3%, 94,4%)
NPV (95% IZ)	90,8% (81,9%, 96,2%)	78,4% (69,9%, 85,5%)

Preglednica 9: Značilnosti klinične uspešnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri razlikovanju med VČB in SRČ pri točkah klinične odločitve 50 µg/g in 200 µg/g

IZ – interval zaupanja

PPV – pozitivna napovedna vrednost

NPV – negativna napovedna vrednost

ROC AUC – površina pod karakteristično krivuljo delovanja prejemnika

II. Nadzorovanje VČB

Klinični pragovi in vrednotenje

Določanje fekalnega kalprotektina je zanesljiv in preprost način za pomoč pri spremljanju bolnikov z VČB (ref. 10-22).

Korelacija ravni kalprotektina in vnetnega statusa bolnikove črevesne sluznice glede na endoskopske ocene je bila določena v treh neodvisnih študijah z uporabo testov kalprotektina BÜHLMANN (preglednica 10). Diagnostično vrednost kalprotektina pri napovedovanju klinične remisije in recidiva glede na bolnikove simptome, indekse klinične aktivnosti, nenačrtovano potrebo po

stopnjevanju terapije, hospitalizacijo ali nujne primere so določili v treh študijah so z uporabo testov kalprotektina BÜHLMANN (preglednica 11).

Kalprotektin ¹ v primerjavi z aktivnostjo VČB, določena z endoskopskimi izvidi	Študija 1 Španija (ref. 12)	Študija 2 Španija (ref. 13)	Študija 3 Avstralija, Nova Zelandija (ref. 14)
Število bolnikov in demografija	89 (CD ²) Starosti: 32-58 44% moških	123 (UC ³) Starosti: 18-85 66,4% moških	99 (CD ² po resekcija) Starosti: 29-47 46,5% moških
Presečna vrednost	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80,3%	53%

Preglednica 10: Korelacija ravni kalprotektina z aktivnostjo bolezni VČB, določena z endoskopskimi ocenami

¹ Rezultati za študiji 1 in 2 so bili pridobljeni s testi lateralnega toka (Quantum Blue® fCAL in Quantum Blue® fCAL high range) družbe BÜHLMANN. Rezultati v študiji 3 so bili pridobljeni s testom BÜHLMANN fCAL® ELISA).

² CD = bolniki s Crohnovo boleznijo

³ UC = bolniki z ulceroznim kolitisom

Kalprotektin ¹ v primerjavi z bodočo klinično remisijo ali ponovitvijo	Študija 4 Združeno kraljestvo (ref. 15)	Študija 5 Španija (ref. 16)	Študija 6 Španija (ref. 17)
Število bolnikov in demografija	92 (CD ²) 38% moški	30 (CD ²) zdravljenje z adalimumabom Starosti: 24-64 43,3% moški	33 (CD ²) 20 (UC ³) zdravljenje z infliksimabom Starosti: 18-68 47,2% moški
Čas spremljanja po merjenju kalprotektina	12 mesecev	4 mesece	12 mesecev
Bolniki s kliničnim recidivom po obdobju spremljanja	11%	30%	23%
Presečna vrednost	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8%	100%	96,1%
PPV	27,6%	75%	68,7%

Preglednica 11: Določanje diagnostične vrednosti kalprotektina pri napovedovanju klinične remisije in ponovitve bolezni VČB

¹ Rezultati za študijo 4 so bili pridobljeni s testom BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Rezultati za študiji 5 in 6 so bili pridobljeni s testi lateralnega toka (Quantum Blue[®] fCAL in Quantum Blue[®] fCAL high range) družbe BÜHLMANN.

² CD = bolniki s Crohnovo boleznijo

³ UC = bolniki z ulceroznim kolitisom

Prikazane kategorije rezultatov so priporočila, njihova uporaba pa temelji na zgoščenem poznavanju objavljenih mejnih vrednosti in študij klinične učinkovitosti. Priporočljivo je, da zdravstveni delavci določijo pragove za posamezne bolnike tako, da med remisijo bolezni določijo bolnikovo izhodiščno raven kalprotektina.

Vrednosti kalprotektina pod 100 µg/g

Raven fekalnega kalprotektina pod 100 µg/g lahko zanesljivo kaže na bolnike z majhnim tveganjem za klinično ponovitev bolezni v endoskopski remisiji, pri katerih se je mogoče izogniti invazivnim endoskopskim posegom (ref. 10-22).

Vrednosti kalprotektina med 100 – 300 µg/g

Raven kalprotektina v blatu med 100 – 300 µg/g lahko kaže na potrebo po strožjem nadzoru v naslednjem obdobju, da se oceni tendence razvoja bolezni.

Vrednosti kalprotektina nad 300 µg/g

Koncentracije fekalnega kalprotektina nad 300 µg/g je treba ponoviti in, če se potrdijo zvišane vrednosti, sprožiti nadaljnje preiskave (ref. 10-22).

ZNAČILNOSTI DELOVANJA

Predstavljene karakteristike delovanja so bile določene na instrumentu Roche cobas[®] 6000 c501. Glejte specifične opombe o uporabi klinično-kemijskega analizatorja za karakteristike delovanja drugih klinično-kemijskih analizatorjev.

Primerjava metod – fCAL[®] turbo CALEX[®] Cap v primerjavi s fCAL[®] ELISA CALEX[®] Cap

Študija primerjave metod je bila izvedena v skladu s smernico CLSI EP09-A3. Sto devetindevetdeset (199) kliničnih vzorcev je bilo izmerjenih z uporabo ene serije BÜHLMANN fCAL[®] turbo tekom 18 dni v enem kalibracijskem ciklu. Referenčne vrednosti s končnim intervalom koncentracije kalprotektina 30,3 – 1672,5 µg/g so bile določene s testom BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Vzorci so bili ekstrahirani s kompletom CALEX[®] Cap. Enkratne odločitve izvlečkov s kompletom CALEX[®] Cap so bile izvedene pri obeh metodah. Pristranskost je bila določena z uporabo Passing-Bablokove linearne regresije in Bland-Altmanove analize.

Bland-Altmanova analiza			Passing-Bablokova regresijska analiza				
Povprečna pristranskost (95-% IZ)	Spodnja raven zagotovila (95-% IZ)	Zgornja raven zagotovila (95-% IZ)	Naklon (95-% IZ)	Intercept [$\mu\text{g/g}$] (95-% IZ)	Priistranskost pri 80 $\mu\text{g/g}$ (95-% IZ)	Priistranskost pri 160 $\mu\text{g/g}$ (95-% IZ)	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

Primerjava metod – fCAL[®] turbo CALEX[®] kapa v primerjavi z ročno ekstrakcijo s fCAL[®] ELISA

Študija primerjave metod je bila izvedena v skladu s smernico CLSI EP09-A3. Sto osemindeset (168) kliničnih vzorcev je bilo ekstrahiranih z uporabo treh serij kompleta CALEX[®] Cap in merjeno z uporabo ene serije testa BÜHLMANN fCAL[®] turbo tekom 18 dni v enem kalibracijskem ciklu. Referenčne vrednosti s končnim intervalom koncentracije 30,5 – 1573,8 $\mu\text{g/g}$ so bile določene z metodo ročne ekstrakcije in merjenjem ekstrakta s testom BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Ekstrakti so bili izmerjeni v posameznih določitvah pri obeh metodah. Priistranskost je bila določena z uporabo Passing-Bablokove linearne regresije in Bland-Altmanove analize.

Bland-Altmanova analiza			Passing-Bablokova regresijska analiza				
Povprečna pristranskost (95-% IZ)	Spodnja raven zagotovila (95-% IZ)	Zgornja raven zagotovila (95-% IZ)	Naklon (95-% IZ)	Intercept [$\mu\text{g/g}$] (95-% IZ)	Priistranskost pri 80 $\mu\text{g/g}$ (95-% IZ)	Priistranskost pri 160 $\mu\text{g/g}$ (95-% IZ)	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

Ponovljivost (študija ocenjevanja natančnosti na več mestih): 3,2 – 9,1% KV

Ponovljivost je bila določena v skladu s smernico CLSI EP05-A3 z uporabo načrta študije 3 laboratorijskih mest x 5 dni x 5 ponovitev. Testiralo se je osem združenih izvlečkov vzorcev blata s koncentracijo kalprotektina v razponu 47,2 – 5475,6 $\mu\text{g/g}$.

Natančnost med serijami: 2,4 – 8,2% KV

Natančnost med serijami je bila določena v skladu s smernico CLSI EP05-A3 z uporabo načrta študije 3 serij x 5 dni x 5 ponovitev. Testiralo se je osem združenih izvlečkov vzorcev blata s koncentracijo kalprotektina v razponu 45,2 – 5303,1 µg/g.

Ponovljivost: 0,7 – 8,3% KV

V okviru laboratorijske natančnosti: 1,4 – 9,1% KV

Ponovljivost in natančnost znotraj laboratorija se je določilo v skladu s smernico CLSI EP05-A3 z uporabo standardiziranega načrta študije 20 dni x 2 poskusa x 2 ponovitvi. Testiranih je bilo osem združenih ekstraktov vzorcev blata s koncentracijo kalprotektina v razponu od 42,9 – 5405,6 µg/g.

Ponovljivost ekstrakcije – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% KV

Ponovljivost ekstrakcije je bila določena v skladu s smernico CLSI EP05-A3 z uporabo načrta študije 2 dni x 2 operaterja x 3 CALEX® Cap serije x 2 izvlečka x 3 ponovitve. Testiranih je bilo dvanajst kliničnih vzorcev blata, vključno z vzorci s trdno, poltrdno in tekočo konsistenco, s koncentracijo kalprotektina v območju od 42,7 – 3440,0 µg/g.

Natančnost/obnovitev: 93,6 – 102% KV

Sedem izvlečkov vzorcev blata iz kliničnih vzorcev z ravnmi kalprotektina v razponu od 44,1 do 1076,3 µg/g je bilo v materialu kalibratorja cepljenih z 56,9 µg/g ali 227,8 µg/g kalprotektina. Dodatek je bil izveden pri 10% volumna ekstrakta vzorca. "Izhodiščni" vzorci so bili cepljeni z ustrezno prostornino vzorca brez analita. Vzorci "izhodiščna linija" in "izhodiščna linija + cepljeno" so bili izmerjeni v štirih ponovitvah.

Prenos vzorca

Prenos vzorca je bil urejen v skladu s smernico CLSI EP10-A2. Statistično pomembnega prenosa s testom BÜHLMANN fCAL® turbo na Roche cobas® 6000 c501 instrument ni bilo zaznati.

Meja zaznavanja (LoD): 23,7 µg/g

Meja zaznavnosti je bila določena v skladu s Smernico CLSI EP17-A2 in z deležem lažno pozitivnih rezultatov (α) manj kot 5% in lažno negativnih rezultatov (β) manj kot 5% na podlagi 120 določitev, s 60 slepimi in 60 ponovitvami nizke ravni; in **meja slepega vzorca (LoB) od 16,7 µg/g**.

Meja kvantifikacije (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ je bila določena v skladu s smernico CLSI EP17-A2, na podlagi 90 določitev in cilja natančnosti 20% KV. Za oceno LoQ se je ugotovilo, da je nižja od ocene LoD in je zato navedena kot enaka ocenjeni LoD.

Območje linearnosti: 9,13 – 13'339 µg/g

Linearni razpon testa BÜHLMANN fCAL® turbo je bil določen v skladu s smernico CLSI EP06-A. Vzorce s koncentracijo nad 2000 µg/g je analizator avtomatsko razredčil v razmerju 1:10. Največje dovoljeno odstopanje od linearnosti 10%. Za vrednosti pod 75 µg/g je bila dovoljena absolutna razlika pod 7,5 µg/g.

Učinek kljuke visokega odmerka

Vzorce s teoretičnimi koncentracijami do 45'715 µg/g je mogoče izmeriti brez omejitve merilnega območja testa.

Moteče snovi

Dovzetnost testa BÜHLMANN fCAL® turbo na peroralne farmacevtske izdelke, prehranska dopolnila, hemoglobin in enteropatološke mikroorganizme se je ocenila v skladu s smernico CLSI EP07-A2. Pristranskost rezultatov večja od 10% se šteje za motnjo.

Pri naslednjih snoveh [koncentracija v mg/50 mg blata] niso zaznali motenj; gino-tardiferon (0,11), prednizon (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).

Pri naslednjih enteropatoloških mikroorganizmih [koncentracija enot, ki tvorijo kolonije (CFU)/mL v izvlečku blata] ni bilo zaznati motenj; *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. Enterokolitika* ($9,8 \times 10^7$).

REFERENCE

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. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreiro-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.

DNEVNIK SPREMEMB

Datum	Različica	Sprememba
2023-11-10	A5.1	Vključenje patentnih informacij, revizija <i>Simboli</i>

POROČANJE O ZAPLETIH V DRŽAVAH ČLANICAH EU

O morebitnem resnem zapletu s tem pripomočkom nemudoma obvestite proizvajalca in pristojni organ svoje države članice.

POŠKODBE PRI POŠILJANJU

Obvestite distributerja, če ste prejeli poškodovan izdelek.

SIMBOLI

Družba BÜHLMANN uporablja simbole in znake, navedene in opisane v ISO 15223-1.

Za opredelitev simbolov glejte slovarček simbolov na:

www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Deli kompletov in predanalitični postopki so patentno zaščiteni z EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

