BÜHLMANN fCAL® turbo

Калпротектин турбидиметричен анализ
за професионална употреба

Комплект реактив

B-KCAL-RSET
Версия A6

За ин витро диагностична употреба

Производител

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Швейцария
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN fCAL® turbo е автоматизиран *in vitro* диагностичен тест за количествено определяне на калпротектин в проби от човешки изпражнения, предназначен като помощ при оценката на възпаление на чревната лигавица (реф. 1-3). Резултатите от анализа могат да се използват като помощ при диагностицирането при разграничаване на органично, възпалително заболяване на стомашно-чревния тракт (възпалително заболяване на червата, IBD, по-специално болест на Crohn (CD) или улцерозен колит (UC)) от функционално заболяване (синдром на раздразнените черва, IBS) (реф. 4-10), при пациенти с хронична коремна болка и като помощно средство за наблюдение на заболяването на IBD (реф. 10-22). Анализът BÜHLMANN fCAL® turbo е предназначен за изпълнение на клинично-химични анализатори. Само за лабораторна употреба.

ПРИНЦИП НА АНАЛИЗА

Турбо тестът BÜHLMANN fCAL® turbo е турбидиметричен имуноанализ с подобрени частици (PETIA), който позволява автоматизирано количествено определяне на калпротектин във фекални екстракти на клинично-химични анализатори. Фекалните проби се екстрахират с екстракционен буфер с помощта на CALEX® Cap екстракция или ръчна екстракция и се прилагат при окончателно разреждане 1:500. Екстрактите се инкубират с реакционен буфер и се смесват с наночастици от полистирол, покрити с калпротектин-специфични антитела (имуночастици). Калпротектинът, наличен в пробата, медиира аглутинацията на имуночастиците. Мътността на пробата, измерена чрез абсорбция на светлина, се увеличава с образуването на комплекс калпротектин-имуночастици и е пропорционална на концентрацията на калпротектин. Откритата светлинна абсорбция позволява количествено определяне на концентрацията на калпротектин чрез интерполация върху установена калибровъчна крива.

ВКЛЮЧЕНИ РЕАКТИВИ

Реагенти	Количество	кОД	Подготовка
Реакционен буфер (R1) MOPS буфериран физиологичен разтвор	1 флакон 35 mL	B-KCAL-R1	Готов за употреба
Имуночастици (R2) Зърна от полистирол, покрити с птичи антитела срещу човешки калпротектин	1 флакон 7 mL	B-KCAL-R2	Готов за употреба

Таблица 1: Доставени реагенти

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИ

Неотворени реактиви
Да се съхранява при 2-8 °C. Не използвайте комплекта с изтекъл срок на годност, отпечатан върху етикетите.
Стабилност на борда
Съхранявайте до 90 дни при температура 2-15 °C.

Таблица 2: Съхранение и стабилност на реагентите

Не замразявайте реагентите!

ИЗИСКВАНИ МАТЕРИАЛИ, НО НЕ СА ПРЕДОСТАВЕНИ

- Реагентите, описани по-долу, не се доставят с комплекта и трябва да бъдат поръчани отделно:

Реагенти	количество	код
BÜHLMANN fCAL® turbo **Коплект калибратори** Калибратори 1-6 за установяване на крива на калибриране в шест точки	1 x 6 флакона 1 mL/ флакон	B-KCAL- CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo **Контролен комплект** Контролира ниско и високо	3 x 2 флакона 1 mL/ флакон	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Екстракционно устройство, напълнено с екстракционен буфер	50 туби 200 туби 500 туби	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extraction Kit Буфер за екстракция	3 бутилки 12 бутилки 125 mL/ бутилка	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Таблица 3: Изисквани материали, но не са предоставени с комплекта

- Общо лабораторно оборудване
- Клинично-химичен анализатор
- Центрофуга

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- Този тест е само за ин витро диагностика
- Имуночастиците съдържат потенциално инфекциозни вещества от животински произход и с тях трябва да се работи в съответствие с Добрата лабораторна практика (ДЛП), като се вземат подходящи предпазни мерки.
- R2 съдържа наночастици от полистирол.
- Този комплект съдържа компоненти, класифицирани в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008: 2-метил-4-изотиазолин-3-он хидрохлорид (конц. ≥ 0,0015%), поради което реагентите могат да причинят алергични кожни реакции (H317).
- Избягвайте контакт на реагентите с кожата, очите или лигавиците. Ако възникне контакт, незабавно измийте с обилно количество вода; в противен случай може да се получи дразнене.

Технически предпазни мерки

- Моля, уравновесете реагентите, контролите, калибраторите и пробите, както е описано в бележката за приложението.
- Изпаряването на калибратори и контроли на анализатора може да доведе до неправилни резултати. Изпълнете анализа веднага след зареждане на анализатора.
- Не смесвайте реагенти R1 и R2 от различни партиди реагенти и не превключвайте капачки между реагенти.
- Реактив R2, веднъж замразен, не може да се използва повече.
- Анализът е предназначен за проби от фекални екстракти, приготвени с помощта на специфичния екстракционен буфер BÜHLMANN.
- Уверете се, че пробите нямат мехурчета, преди да започнете теста.
- Пренасянето на пробата зависи от клинично-химичния анализатор. За повече информация вижте специфичната бележка за приложението на анализатора.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

За процедурата по екстракция се изисква по-малко от 1 g естествена проба от изпражнения. Съберете пробата от изпражненията в обикновени епруветки.

Важно: Пробата трябва да бъде взета без никакви химически или биологични добавки.

Транспорт на образци

Пробите от изпражнения трябва да бъдат получени за обработка в лабораторията в рамките на 3 дни след вземането. Пробите от изпражнения могат да се изпращат при стайна температура или в хладилник.

Съхранение на образци

Пробите от изпражнения трябва да се съхраняват в хладилник при 2-8 °C и да се екстрахират в рамките на 3 дни след получаването им в лабораторията. Не съхранявайте пробите при повишени температури.

ИЗВЛИЧАНЕ НА ПРОБИ ОТ ФЕЦЕС И СТАБИЛНОСТ НА ЕКСТРАКТА

CALEX® Cap

Следвайте инструкциите за употреба, предоставени с комплекта CALEX® Cap. Екстрактите от фекални проби, приготвени с помощта на CALEX® Cap, ще имат окончателно разреждане 1:500 и са готови за употреба.

Течните проби от изпражнения могат да се пипетират директно в CALEX® Cap. Развийте синята капачка и пипетирайте 10 µL проба от изпражненията в устройството. Затворете капачката на CALEX® Cap и продължете със стъпка на завихряне, съгласно процедурата за екстракция, описана и илюстрирана в инструкциите за употреба, доставени с CALEX® Cap.

Важно: Центрофугирайте CALEX® Cap за 10 минути при 1000 – 3000 x g преди стартиране на BÜHLMANN fCAL® turbo процедурата.

Фекалният калпротектин в екстрактите, получени чрез CALEX® Cap, е стабилен при стайна температура (23 °C) за 7 дни, при 2-8 °C за 15 дни и при -20 °C за период до 23 месеца.

Екстрактите от CALEX® Cap могат да се замразяват директно и да се съхраняват в CALEX® Cap. Екстрактите могат да бъдат подложени на четири цикъла на замразяване-размразяване. Преди измерване оставете замразените екстракти да се уравновесят до стайна температура, разбъркайте добре за 10 секунди и центрофугирайте съгласно инструкциите за използване на анализа.

Комплект за извличане

За ръчно извличане следвайте инструкциите за употреба, предоставени с комплекта за извличане. Екстрактите от фекални проби, приготвени с помощта на комплекта за екстракция, ще имат окончателно разреждане 1:50. Разредете екстрактите от изпражнения 1:10 в екстракционен буфер BÜHLMANN, предоставен в комплекта за екстракция (например 50 µL екстракт и 450 µL екстракционен буфер), преди да стартирате BÜHLMANN fCAL® turbo процедурата.

Фекалният калпротектин в екстракти (1:50), получени чрез ръчна екстракция, е стабилен при 2-8 °C за 7 дни или при -20 °C за период до 36 месеца.

ПРОЦЕДУРА

Бележки за приложението / инсталация за анализ

Процедурите за анализ на BÜHLMANN fCAL® turbo са установени на няколко клинично-химични анализатора. При поискване от BÜHLMANN можете да получите валидирани бележки за приложение, описващи монтаж и анализ на специфични инструменти. За настройката, поддръжката, експлоатацията и предпазните мерки на инструмента трябва да се вземат предвид съответните ръководства за инструменти.

Подготовка на реагенти

Доставените реагенти са готови за употреба. Разбъркайте внимателно преди зареждане върху инструмента. Бутилките с реагент могат да се поставят директно в инструмента, освен ако не е посочено друго в бележката за приложение.

Установяване на калибровъчната крива

Комплектът турбо калибратор BÜHLMANN fCAL® turbo се използва за установяване на крива на калибриране в шест точки според ръководството на инструмента. Стойностите на калибратора са специфични за партидата. Ново калибриране трябва да се извърши за всеки нов калибратор и партида реагенти. В противен случай калибрирането трябва да се извършва на всеки един до два месеца според специфичните бележки за приложението на инструмента. Вижте листа с данни за QC, предоставен с комплекта за калибратор BÜHLMANN fCAL® turbo, за зададените стойности на калибратора. Свържете се с поддръжката на BÜHLMANN, ако калибрирането не може да се извърши без грешка.

Контроли за контрол на качеството

Комплектът за контрол на турбо BÜHLMANN fCAL® turbo трябва да се анализира всеки ден, преди да се пуснат екстракти от фекална проба на пациента, за да се потвърди калибровъчната крива. Контролите имат присвоени диапазони от стойности, посочени в QC-информационния лист, доставен с всяка партида от BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit. Контролните измервания трябва да са в рамките на посочените стойности, за да се получат валидни резултати за екстракти от фекални проби на пациента.

Ако контролните стойности не са валидни, повторете измерването с нови контроли. Ако контролните стойности останат невалидни, калибрирайте отново анализа. Ако валидните контролни стойности не могат да бъдат възпроизведени, след извършване на стъпките, описани по-горе, свържете се с екипа за поддръжка на BÜHLMANN.

Измерване на екстракт от фекална проба на пациента

След като калибровъчната крива е установена и валидирана с контролите, фекалните екстракти на пациента могат да бъдат измерени. Извършете измерване на фекалния екстракт на пациента според бележката за приложение и ръководството за инструмента.

Резултати

Резултатите се изчисляват автоматично на анализатора за клинична химия и се представят в µg/g, освен ако не е посочено друго в съответните бележки за приложение, специфични за клинично-химичния анализатор.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ И МЕТРОЛОГИЧНА ПРОСЛЕДИМОСТ

Няма международно или национално признати референтни материали или референтни процедури за измерване за калпротектин аналита в проба от изпражнения. BÜHLMANN fCAL® turbo е стандартизиран спрямо вътрешно установен референтен материал и стойностите на контролите и калибраторите се задават съгласно протокол за пренос на стойност (реф. 23, 24), за да се гарантира метрологична проследимост. 95% доверителен интервал на комбинираната несигурност на продуктовите калибратори е определен като по-нисък от 3,7%, комбинираната несигурност на контролите по-ниска от 6,9%.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Резултатите от теста трябва да се тълкуват във връзка с наличната информация от клиничната оценка на пациента и други диагностични процедури.
- За мониторинг на заболяването на IBD се предполага, че множество измервания на калпротектин на фекалиите, извършени на интервали до 4 седмици, имат най-добра диагностична точност при прогнозиране на клиничен рецидив при пациенти (реф. 25-26).
- Приемът на нестероидни противовъзпалителни средства (НСПВС) може да доведе до повишени нива на калпротектин в изпражненията.
- Резултатите може да не са клинично приложими за деца на възраст под 4 години, които имат леко повишени нива на фекален калпротектин (реф. 27-30).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

I. Разграничаване на органично заболяване от функционално стомашно-чревно заболяване

Определянето на нивата на фекалния калпротектин може да се използва като надеждна и проста помощ за разграничаване на органични от функционални стомашно-чревни заболявания (реф. 4-10). BÜHLMANN препоръчва прилагането на същите гранични стойности като за BÜHLMANN fCAL® ELISA:

<u>Клинични прагове</u>

Концентрация на калпротектин	Интерпретация	Проследяване
< 80 µg/g	Нормално	няма
80 – 160 µg/g	Сива зона/Гранична линия	Проследяване в рамките на 4-6 седмици
> 160 µg/g	Повишена	Повторете, ако е необходимо

Таблица 4: Турбо диагностични обхвати на BÜHLMANN fCAL® turbo.

Категориите на резултатите се основават на данни от клинични проучвания, проведени от BÜHLMANN и са препоръките на BÜHLMANN. Всички резултати от теста трябва да се тълкуват във връзка с наличната информация от клиничните симптоми на пациента, медицинската история и други клинични и лабораторни находки:

Стойности на калпротектин под 80 µg/g

Стойностите на фекалния калпротектин <80 µg/g не са показателни за възпаление в стомашно-чревния тракт. Пациентите с ниски нива на калпротектин е малко вероятно да се нуждаят от инвазивни процедури за определяне на причината за възпалението (реф. 4).

Стойности на калпротектин между и равни на 80 и 160 µg/g

Нивата на калпротектин в средата на фекалиите между и равни на 80 и 160 µg/g, наричани още нива в сивата зона, не са пряко показателни за активно възпаление, изискващо незабавно проследяване с инвазивно изследване. Въпреки това не може да се изключи наличието на възпаление. Препоръчва се повторна оценка на нивата на фекалния калпротектин след 4 до 6 седмици за определяне на възпалителния статус.

Стойности на калпротектин над 160 µg/g

Стойностите на фекалния калпротектин >160 µg/g са показателни за неутрофилен инфилтрат в стомашно-чревния тракт; следователно това може да сигнализира за наличието на активно възпалително заболяване. Препоръчват се подходящи допълнителни изследователски процедури от специалисти за постигане на цялостна клинична диагноза.

Клинична оценка

Способността на BÜHLMANN fCAL® turbo да прави разлика между пациенти с IBD и други невъзпалителни стомашно-чревни разстройства, включително IBS, беше оценена с помощта на клинични проби, събрани от 295 пациенти и извлечени с помощта на CALEX® Cap. Сто двадесет и седем (127) пациенти са имали окончателна диагноза IBD (болест на Crohn, улцерозен колит или неопределен колит), 103 пациенти са страдали от IBS и 65 пациенти са имали коремна болка и/или диария, или други GI, не-свързани възпалителни състояния. Окончателната диагноза беше подкрепена от ендоскопски, както и други клинични находки.

Оптималната гранична комбинация за тези групи пациенти може да бъде определена чрез ROC анализ при 80 µg/g и 160 µg/g калпротектин (таблици 6 и 8), което е малко по-строго от комбинация от по-чувствителна долна граница на 50 µg/g с по-ниска специфичност и горна граница 200 µg/g с малко по-ниска чувствителност (таблица 7 и 9).

Окончателна диагноза	Разпределението на пациентите води до числа (проценти) в рамките на BÜHLMANN fCAL® turbo диагностични диапазони.			
	< 80 µg/g	**80 – 160 µg/g**	**> 160 µg/g**	**Общо**
IBD	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
IBS	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Други GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Таблица 5: Разпределение на резултатите от пациентите в рамките на BÜHLMANN fCAL® turbo диагностични диапазони

IBD срещу не-IBD	Точка на клинично решение	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Чувствителност (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Специфичност (95% CI)	69,6% (62,1%; 76,5%)	81,0% (74,2%; 86,6%)
PPV (95% CI)	69,5% (61,9%; 76,3%)	77,1% (69,3%; 83,8%)
NPV (95% CI)	91,4% (85,1%; 95,6%)	87,7% (81,5%; 92,5%)
ROC AUC (95% CI)	0,912 (0,878; 0,946)	

Таблица 6: Клинични характеристики на работата на BÜHLMANN fCAL® turbo при разграничаване на IBD от не-IBD – IBS и други заболявания, свързани с GI, при 80 µg/g и 160 µg/g точки на клинично решение

IBD срещу не-IBD	Точка на клинично решение	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Чувствителност (95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Специфичност (95% CI)	62,5% (54,7%; 69,8%)	85,7% (79,5%; 90,6%)
PPV (95% CI)	65,6% (58,2%; 72,4%)	81,0% (73,0%; 87,4%)
NPV (95% CI)	93,8% (87,5%; 97,5%)	85,2% (78,9%; 90,2%)

Таблица 7: Клинични характеристики на BÜHLMANN fCAL® turbo при разграничаване на IBD от не-IBD – IBS и други заболявания, свързани с GI, при 50 µg/g и 200 µg/g точки на клинично решение

IBD срещу IBS	Точка на клинично решение	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Чувствителност (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Специфичност (95% CI)	72,8% (63,2%; 81,1%)	83,5% (74,9%; 90,1%)
PPV (95% CI)	80,6% (73,1%; 86,7%)	86,4% (79,1%; 91,9%)
NPV (95% CI)	87,2% (78,3%; 93,4%)	81,9% (73,2%; 88,7%)
ROC AUC (95% CI)	0,925 (0,892; 0,958)	

Таблица 8: Клинични характеристики на BÜHLMANN fCAL® turbo при разграничаване на IBD от IBS при 80 µg/g и 160 µg/g точки на клинично решение

IBD срещу IBS	Точка на клинично решение	
	50 µg/g	200 µg/g
Чувствителност (95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Специфичност (95% CI)	67,0% (57,0%; 75,9%)	88,3% (80,5%; 93,8%)
PPV (95% CI)	77,9% (70,5%; 84,2%)	89,5% (82,3%; 94,4%)
NPV (95% CI)	90,8% (81,9%; 96,2%)	78,4% (69,9%; 85,5%)

Таблица 9: Клинични характеристики на BÜHLMANN fCAL® turbo при разграничаване на IBD от IBS при 50 µg/g и 200 µg/g точки на клинично решение

CI – доверителен интервал
PPV – положителна прогнозна стойност
NPV – отрицателна прогнозна стойност
ROC AUC – площ под кривата на работната характеристика на приемника

I. IBD наблюдение

<u>Клинични прагове и оценка</u>

Определянето на фекален калпротектин е надежден и прост начин за подпомагане на наблюдението на пациенти с IBD (реф. 10-22).

Съотношението между нивата на калпротектин и възпалителния статус на чревната лигавица на пациента, според ендоскопските оценки, е определено в три независими проучвания с помощта на BÜHLMANN калпротектин тестове (таблица 10). Диагностичната стойност на калпротектина при прогнозиране на клинична ремисия и рецидив, според симптомите на пациента, индексите на клинична активност, непланираната нужда от ескалация на терапията, хоспитализация или спешна помощ е определена в три проучвания с помощта на тестове за калпротектин BÜHLMANN (таблица 11).

Калпротектин[1] срещу Активността на IBD, определена от ендоскопски находки	Проучване 1 Испания (реф. 12)	Проучване 2 Испания (реф. 13)	Проучване 3 Полша (реф. 14)
Брой на пациентите и демография	89 (CD[2]) Възраст: 32-58 44% мъже	123 (UC[3]) Възраст: 18-85 66,4% мъже	57 (CD[2]) Средна възраст: 35.3 48% мъже
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	238,5 µg/g
NPV	98%	86%	88%
PPV	76%	80,3%	73%

Таблица 10: Корелация на нивата на калпротектин с активността на заболяването на IBD, определена чрез ендоскопски оценки.

[1] Резултати от проучвания 1 и 2 са получени с анализите на BÜHLMANN за страничния поток (Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range (висок диапазон)). Резултатите от проучване 3 са получени с BÜHLMANN fCAL® ELISA и Quantum Blue® fCAL high range (висок диапазон)).

[2] CD = пациенти с болест на Crohn

[3] UC = пациенти с улцерозен колит

Калпротектин [1] срещу бъдеща клинична ремисия или рецидив	Проучване 4 Обединеното кралство (реф. 15)	Проучване 5 Испания (реф. 16)	Проучване 6 Испания (реф. 17)
Брой на пациентите и демография	92 (CD[2]) 38% мъже	30 (CD[2]) терапия с адалимумаб Възраст: 24-64 43,3% мъже	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия с инфликсимаб Възраст: 18-68 47,2% мъже
Време за проследяване след измерване на калпротектин	12 месеца	4 месеца	12 месеца
Пациенти с клиничен рецидив след проследяване	11%	30%	23%
Cut-off	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8%	100%	96,1%
PPV	27,6%	75%	68,7%

Таблица 11: Определяне на диагностичната стойност на калпротектин при прогнозиране на клинична ремисия и рецидив на заболяването IBD.
[1] Резултати от проучване 4 са получени с BÜHLMANN fCAL® ELISA. Резултати от проучвания 5 и 6 са получени с анализите на BÜHLMANN за латералния поток (Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range (висок диапазон)).
[2] CD = пациенти с болест на Crohn
[3] UC = пациенти с улцерозен колит

Показаните категории резултати са препоръки и тяхното установяване се основава на съкратени познания за публикувани гранични стойности и проучвания за клинично представяне. Препоръчително е здравните лекари да установят индивидуални прагове за пациента, като определят изходното ниво на калпротектин на пациента по време на ремисия на заболяването.

Стойности на калпротектин под 100 µg/g

Нивата на фекален калпротектин под 100 µg/g могат надеждно да посочат пациенти с нисък риск от клиничен рецидив в ендоскопска ремисия, за които инвазивните ендоскопски процедури могат да бъдат избегнати (реф. 10-22).

Стойности на калпротектин между 100 – 300 µg/g

Нивата на калпротектин в изпражненията между 100 – 300 µg/g могат да показват необходимостта от по-строг контрол в следващия период за оценка на тенденциите за развитие на заболяването.

Стойности на калпротектин над 300 µg/g

Нивата на фекален калпротектин над 300 µg/g трябва да се повторят и, ако се потвърдят повишените нива, незабавно да се предприемат допълнителни изследователски процедури (реф. 10-22).

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗПЪЛНЕНИЕ

Представените работни характеристики са установени на инструмент Roche cobas® 6000 c501. Обърнете се към специфичните бележки за приложение на анализатора за клинична химия за характеристиките на работата на други анализатори за клинична химия.

Сравнение на методи – fCAL® turbo CALEX® Cap срещу fCAL® ELISA CALEX® Cap

Изследването за сравнение на методите е извършено съгласно насоките на CLSI EP09-A3. Сто деветдесет и девет (199) клинични проби бяха измерени с помощта на една партида BÜHLMANN fCAL® turbo за 18 дни в един цикъл на калибриране. Референтните стойности с краен интервал на концентрация на калпротектин от 30,3 – 1672,5 µg/g са установени с BÜHLMANN fCAL® ELISA. Пробите се екстрахират с помощта на CALEX® Cap. Единични определяния от екстракти от CALEX® Cap бяха извършени и при двата метода. Отклонението беше определено с помощта на линейна регресия на Passing-Bablok и анализ на Bland-Altman.

Bland-Altman Анализ			Passing-Bablok Регресионен анализ				
Среден bias (95% CI)	Долна LoA (95% CI)	Горна LoA (95% CI)	Наклон (95% CI)	Прихващане [µg/g] (95% CI)	Отклонение при 80 µg/g (95% CI)	Отклонение при 160 µg/g (95% CI)	r
0,7% (-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

Сравнение на методи – fCAL® turbo CALEX® Cap срещу fCAL® ELISA ръчно извличане

Изследването за сравнение на методите е извършено съгласно насоките на CLSI EP09-A3. Сто шестдесет и осем (168) клинични проби бяха извлечени с помощта на три партиди от CALEX® Cap и измерени с помощта на една партида BÜHLMANN fCAL® turbo в продължение на 18 дни в един цикъл на калибриране. Референтни стойности, с краен интервал на концентрация на калпротектин от 30,5 – 1573,8 µg/g, бяха установени с помощта на ръчния метод на екстракция и измерване на екстракта с BÜHLMANN fCAL® ELISA. Екстрактите бяха измерени в единични определяния и при двата метода. Отклонението беше определено с помощта на линейна регресия на Passing-Bablok и анализ на Bland-Altman.

Bland-Altman Анализ			Passing-Bablok Регресионен анализ				
Среден bias (95% CI)	**Долна LoA (95% CI)**	**Горна LoA (95% CI)**	**Наклон (95% CI)**	**Прихващане [µg/g] (95% CI)**	**Отклонение при 80 µg/g (95% CI)**	**Отклонение при 160 µg/g (95% CI)**	**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

Възпроизводимост (проучване за оценка на многостранна прецизност): 3,2 – 9,1% CV

Възпроизводимостта беше установена съгласно насоките на CLSI EP05-A3, като се използва 3 лабораторни места x 5 дни x 5 повторения дизайн на изследването. Осем обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от Тествани са 47.2 – 5475,6 µg/g.

Прецизност между партидите: 2,4 – 8,2% CV

Прецизността между партидите беше установена съгласно насоките на CLSI EP05-A3, като се използва дизайн на изследването 3 лота x 5 дни x 5 повторения. Осем обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от Тествани са 45,2 – 5303,1 µg/g.

Повторяемост: 0,7 – 8,3% CV

В рамките на лабораторна точност: 1,4 – 9,1% CV

Повторяемостта и прецизността в рамките на лабораторията бяха установени в съответствие с насоките на CLSI EP05-A3, използвайки стандартизираните 20 дни x 2 цикъла x 2 копия на дизайна на изследването. Тествани са осем обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от 42,9 – 5405,6 µg/g.

Възпроизводимост на екстракция – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV

Възпроизводимостта на екстракцията беше установена съгласно насоките на CLSI EP05-A3, като се използва 2 дни x 2 оператора x 3 CALEX® Cap lots x 2 екстракции x 3 повторения дизайн на изследването. Изследвани са 12 клинични проби от изпражнения, включително проби с твърда, полутвърда и течна консистенция, с концентрации на калпротектин в диапазона от 42,7 – 3440,0 µg/g.

Точност / Възстановяване: 93,6 – 102% CV

Седем екстракта от проби от изпражнения от клинични проби с нива на калпротектин, вариращи от 44,1 – 1076,3 µg/g, бяха добавени с 56,9 µg/g или 227,8 µg/g калпротектин в калибраторния материал. Пилинг се извършва при 10% от обема на екстракта от пробата. „Изходните“ проби бяха допълнени със съответния обем проба без аналити. Пробите „базова линия“ и „базова линия + пик“ бяха измерени в четири повторения.

Пренасяне на проба

Пренасянето на пробата беше установено в съответствие с насоките на CLSI EP10-A2. Не е установено статистически значимо пренасяне с BÜHLMANN fCAL® turbo тест върху инструмента Roche cobas® 6000 c501.

Граница на откриване (LoD): 23,7 µg/g

LoD е установен съгласно насоките на CLSI EP17-A2 и с пропорции на фалшиво положителни (α) по-малко от 5% и фалшиво отрицателни (β) по-малко от 5% въз основа на 120 определяния, с 60 празни и 60 повторения с ниско ниво; и **LoB от 16,7 µg/g**.

Граница на количествено определяне (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ е установен в съответствие с насоките на CLSI EP17-A2, въз основа на 90 определения и цел за прецизност от 20% CV. Оценката за LoQ е намерена под тази на LoD и следователно е посочена като равна на изчислената LoD.

Диапазон на линейност: 15,6 – 12216 µg/g

Линейният обхват на BÜHLMANN fCAL® turbo е определен в съответствие с насоките на CLSI EP06-A. Проби с концентрация над 2000 µg/g се разреждат автоматично 1:10 от анализатора. Допустимо е максимално отклонение от линейността от 10%. За стойности под 75 µg/g се допуска абсолютна разлика от по-малка от 7,5 µg/g.

Висока доза Hook- ефект

Могат да се измерват проби с теоретични концентрации до 45715 µg/g, без да се ограничава обхватът на измерване на анализа.

Интерфериращи вещества

Чувствителността на BÜHLMANN fCAL® turbo анализа към перорални фармацевтични продукти, хранителни добавки, хемоглобин, както и ентеропатологични микроорганизми беше оценена в съответствие с насоките на CLSI EP07-A2. Отклонение в резултатите над 10% се счита за интерференция.

Не е установена интерференция със следните вещества [Концентрация в mg/ 50 mg изпражнения]; gyno-Tardyferon (0,11), Prednisone (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Сулфаметоксазол (1,6), Триметоприм (0,35), Ciproxine (1,25), Витамин E (0,30), Bion 3 (1,06), Хемоглобин (1,25).

Не е установена интерференция със следните ентеропатологични микроорганизми [Концентрация в колониеобразуващи единици (CFU)/mL екстракт от изпражнения]; *Escherichia coli* (3,3 x 10^7), *Salmonella enterica subsp. Enterica* (9,0 x 10^7), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* (5,3 x 10^7), *Citrobacter freundii* (12,9 x 10^7), *Shigella flexneri* (5,0 x 10^7), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* (9,8 x 10^7).

ПРЕПРАТКИ

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. Moniuszko A et al.: Polish Arch. Intern. Med. 127, 312-318 (2017).
15. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
16. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2016, 23, 1-6.
17. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: J Clin Gastroenterol 2016; 50(2),147-51.
18. Guardiola J. et al.: Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014; 12(11) 1865-70.
19. Lasson 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.

ПРОМЕНИ

Дата	Версия	Промяна
2025-09-01	A6	Прецизиране на глава *Предназначение* чрез добавяне на тестовата платформа. Ревизия на глави *Съхранение и стабилност на реагенти*, *Изисквани материали, но не са предоставени*, *Предупреждения и предпазни мерки*, *Клинични прагове и оценка (Таблица 10)* и *Препратки*.I Актуализация на глава Характеристики на изпълнение (подглави *Сравнение на методи* и *Диапазон на линейност*).

ДОКЛАДВАНЕ ЗА ИНЦИДЕНТИ В ДЪРЖАВИТЕ-ЧЛЕНКИ НА ЕС

Ако е възникнал сериозен инцидент във връзка с това устройство, моля, уведомете незабавно производителя и компетентния орган на вашата държава-членка.

ПОВРЕЖДА ОТ ПРАВКАТА

Моля, уведомете вашия дистрибутор, ако този продукт е получен повреден.

СИМВОЛИ

BÜHLMANN използва символите и знаците, изброени и описани в ISO 15223-1.
За определение на символите вижте речника на символите на адрес: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Части от комплектите и преаналитичните процедури са патентно защитени с EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

CE 0123