BÜHLMANN fCAL® turbo

Kalprotektínový turbidimetrický test
na profesionálne použitie

Súprava reagencií

B-KCAL-RSET
Verzia A6

Na diagnostické použitie *in vitro*

Výrobca

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

ZAMÝŠĽANÉ POUŽITIE

BÜHLMANN fCAL® turbo je automatizovaný *in vitro* diagnostický test *na* kvantitatívne stanovenie kalprotektínu vo vzorkách ľudskej stolice, ktorý je určený ako pomôcka pri hodnotení zápalu črevnej sliznice (ref. 1-3). Výsledky testu možno použiť ako pomôcku pri diagnostike na rozlíšenie idiopatických zápalových ochorení gastrointestinálneho traktu (nešpecifické črevné zápaly (IBD), konkrétne Crohnova choroba (CD) alebo ulcerózna kolitída (UC)) od funkčného ochorenia (syndróm dráždivého čreva, IBS) (ref. 4-10), u pacientov s chronickou bolesťou brucha a ako pomôcku pri monitorovaní ochorenia IBD (ref. 10-22). Test BÜHLMANN fCAL® turbo je určený na vykonávanie na analyzátoroch klinickej chémie.

Na laboratórne použitie.

PRINCÍP TESTU

BÜHLMANN fCAL® turbo test je turbidimetrický imunoanalyzátor (PETIA), ktorý umožňuje automatizovanú kvantifikáciu kalprotektínu vo fekálnych extraktoch na analyzátoroch klinickej chémie. Vzorky stolice sa extrahujú extrakčným pufrom pomocou extrakcie CALEX® Cap alebo manuálnou extrakciou a aplikujú sa v konečnom riedení 1:500. Extrakty sa inkubujú s reakčným pufrom a zmiešajú sa s polystyrénovými nanočasticami potiahnutými protilátkami špecifickými pre kalprotektín (imunočasticami). Kalprotektín dostupný vo vzorke sprostredkuje aglutináciu imunočastíc. Zákal vzorky meraný pomocou svetelnej absorbancie sa zvyšuje s tvorbou komplexu kalprotektín-imunočastica a je úmerný koncentrácii kalprotektínu vo vzorke. Zistená svetelná absorbancia umožňuje kvantifikáciu koncentrácie kalprotektínu prostredníctvom interpolácie na stanovenú kalibračnú krivku.

DODANÉ ČINIDLÁ

Činidlá	Množstvo	Kód	Príprava
Reakčný pufr (R1) Fyziologický roztok s pufrom MOPS	1 vialka/ 35 mL	B-KCAL-R1	Pripravené na použitie
Imunočastice (R2) Polystyrénové guľôčky potiahnuté vtáčími protilátkami proti ľudskému kalprotektínu	1 vialka/ 7 mL	B-KCAL-R2	Pripravené na použitie

Tabuľka 1: Dodané činidlá

SKLADOVANIE A STABILITA ČINIDLA

Neotvorené činidlá
Uchovávajte pri teplote 2-8 °C. Súpravu nepoužívajte po dátume exspirácie vytlačenom na štítkoch.
Otvorené činidlá
Skladujte do 90 dní pri teplote 2-15 °C.

Tabuľka 2: Skladovanie a stabilita činidiel

Reagencie nezmrazujte!

POŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTOVANÉ MATERIÁLY

- Nižšie opísané činidlá sa nedodávajú so súpravou a je potrebné ich objednať samostatne:

Činidlá	Množstvo	Kód
BÜHLMANN fCAL® turbo Súprava kalibrátora Kalibrátory 1-6 na vytvorenie šesťbodovej kalibračnej krivky	1 x 6 vialiek 1 mL/vialka	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolná súprava Ovládanie nízkych a vysokých hodnôt	3 x 2 vialky 1 mL/vialka	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Extrakčné zariadenie naplnené extrakčným pufrom	50 skúmaviek 200 skúmaviek 500 skúmaviek	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extrakčná súprava Extrakčný pufr	3 fľaše 12 fliaš 125 mL/fľaša	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabuľka 3: Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú so súpravou

- Všeobecné laboratórne vybavenie
- Analyzátor klinickej chémie
- Centrifúga

UPOZORNENIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

- Tento test je určený len na diagnostické použitie *in vitro*.
- Imunočastice obsahujú potenciálne infekčné látky živočíšneho pôvodu a malo by sa s nimi zaobchádzať v súlade so správnou laboratórnou praxou (SLP) s použitím vhodných bezpečnostných opatrení.
- R2 obsahuje polystyrénové nanočastice.
- Táto súprava obsahuje zložky klasifikované v súlade s nariadením (ES) č. 1272/2008: 2-metyl-4-izotiazolin-3-ón hydrochlorid (konc. ≥ 0,0015%). Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu (H317).
- Zabráňte kontaktu činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu s činidlom, okamžite ho zmyte veľkým množstvom vody, inak môže dôjsť k podráždeniu.

Technické opatrenia

- Reagencie, kontroly, kalibrátory a vzorky pripravte podľa popisu v poznámkach k aplikácii.
- Odparovanie kalibračných a kontrolných látok na analyzátore by mohlo viesť k nesprávnym výsledkom. Analýzu vykonajte ihneď po vložení do analyzátora.
- Nemiešajte činidlá R1 a R2 z rôznych šarží činidiel ani nevymieňajte uzávery medzi činidlami.
- Reagent R2 sa po zmrazení už nemôže použiť.
- Test je určený pre vzorky fekálneho extraktu pripravené pomocou špecifického extrakčného pufru BÜHLMANN.
- Pred vykonaním testu sa uistite, že vo vzorkách nie sú žiadne bublinky.
- Prenos vzorky závisí od použitého analyzátora klinickej chémie. Viac informácií nájdete v aplikačnej poznámke pre konkrétny analyzátor.

ODBER A SKLADOVANIE VZORIEK

Na extrakčný postup je potrebný menej ako 1 g natívnej vzorky stolice. Vzorku stolice odoberte do obyčajných skúmaviek.
Dôležité: Vzorka musí byť odobratá bez akýchkoľvek chemických alebo biologických prísad.

Preprava vzoriek

Vzorky stolice by mali byť doručené na spracovanie do laboratória do 3 dní od odberu. Vzorky stolice sa môžu zasielať pri izbovej teplote alebo v chladničke.

Skladovanie vzoriek

Vzorky stolice by sa mali uchovávať v chladničke pri teplote 2-8 °C a mali by sa extrahovať do 3 dní od prijatia v laboratóriu. Vzorky neskladujte pri zvýšenej teplote.

EXTRAKCIA VZORIEK STOLICE A STABILITA EXTRAKTU

CALEX® Cap

Postupujte podľa návodu na použitie dodaného so súpravou CALEX® Cap. Extrakty fekálnych vzoriek pripravené pomocou CALEX® Cap budú mať konečné riedenie 1:500 a sú pripravené na použitie.

Tekuté vzorky stolice možno pipetovať priamo do CALEX® Cap. Odskrutkujte modrý uzáver a pipetujte 10 µL vzorky stolice do zariadenia. Opätovne

uzavrite CALEX® Cap a pokračujte v kroku vortexovania podľa postupu extrakcie opísaného a znázorneného v návode na použitie dodanom so CALEX® Cap.

Dôležité: CALEX® Cap odstreďujte 10 minút pri 1000 – 3000 x g pred spustením postupu BÜHLMANN fCAL® turbo.

Fekálny kalprotektín v extraktoch získaných pomocou prístroja CALEX® Cap je stabilný pri izbovej teplote (23 °C) 7 dní, pri 2-8 °C 15 dní a pri -20 °C až 23 mesiacov.

Extrakty CALEX® Cap sa môžu priamo zamraziť a skladovať v CALEX® Cap. Extrakty sa môžu podrobiť štyrom zmrazovacím a rozmrazovacím cyklom. Pred meraním nechajte zmrazené extrakty prispôsobiť sa izbovej teplote, dôkladne ich 10 sekúnd vortexujte a centrifugujte podľa návodu na použitie testu.

Extrakčná súprava

Pri manuálnej extrakcii postupujte podľa návodu na použitie dodaného so súpravou na extrakciu. Extrakty fekálnych vzoriek pripravené pomocou extrakčnej súpravy budú mať konečné riedenie 1:50. Pred spustením postupu BÜHLMANN fCAL® turbo zrieďte extrakty stolice v pomere 1:10 v extrakčnom pufri BÜHLMANN, ktorý je súčasťou súpravy Extraction Kit (napr. 50 µL extraktu a 450 µL extrakčného pufru).

Fekálny kalprotektín v extraktoch (1:50) získaných manuálnou extrakciou je stabilný pri teplote 2-8 °C počas 7 dní alebo pri -20 °C až 36 mesiacov.

POSTUP

Poznámky k aplikácii / inštalácia testu

Postupy analýzy pre BÜHLMANN fCAL® turbo sú zavedené na viacerých analyzátoroch klinickej chémie. Overené aplikačné poznámky popisujúce inštaláciu a analýzu na konkrétnych prístrojoch sú k dispozícii na požiadanie u spoločnosti BÜHLMANN. Pri nastavovaní, údržbe, obsluhe a bezpečnostných opatreniach treba brať do úvahy príslušné príručky k prístrojom.

Príprava činidla

Dodané činidlá sú pripravené na použitie. Pred vložením do prístroja ich jemne premiešajte. Fľaštičky s činidlami sa môžu vložiť priamo do prístroja, pokiaľ nie je v poznámke k aplikácii uvedené inak.

Stanovenie kalibračnej krivky

Súprava kalibrátora BÜHLMANN fCAL® turbo sa používa na vytvorenie šesťbodovej kalibračnej krivky podľa návodu na obsluhu prístroja. Hodnoty kalibrátora sú špecifické pre danú šaržu. Pre každú novú šaržu kalibrátora a činidla sa musí vykonať nová kalibrácia. Inak by sa kalibrácia mala vykonávať každý jeden až dva mesiace podľa poznámok k aplikácii konkrétneho prístroja. Priradené hodnoty kalibrátorov nájdete v hárku s údajmi o kontrole kvality, ktorý sa dodáva so súpravou kalibrátorov BÜHLMANN fCAL® turbo. Ak sa kalibrácia nedá vykonať bezchybne, obráťte sa na podporu spoločnosti BÜHLMANN.

Kontroly QC

Kontrolná súprava BÜHLMANN fCAL® turbo, sa musí testovať každý deň pred vykonaním extraktu vzorky stolice pacienta, aby sa validovala kalibračná krivka. Kontroly majú priradené rozsahy hodnôt uvedené v hárku s údajmi o kvalite dodávanom s každou šaržou kontrolnej súpravy BÜHLMANN fCAL® turbo. Kontrolné merania musia byť v rámci uvedených rozsahov hodnôt, aby sa získali platné výsledky pre extrakty vzoriek stolice pacientov.
Ak kontrolné hodnoty nie sú platné, zopakujte meranie s novými kontrolnými prvkami. Ak kontrolné hodnoty zostanú neplatné, vykonajte rekalibráciu testu. Ak po vykonaní vyššie uvedených krokov nie je možné reprodukovať platné kontrolné hodnoty, kontaktujte podporu spoločnosti BÜHLMANN.

Meranie extraktu vzorky stolice pacienta

Po vytvorení kalibračnej krivky a jej validácii pomocou kontrol sa môžu merať extrakty stolice pacienta. Meranie fekálneho extraktu pacienta vykonajte podľa aplikačnej poznámky a príručky k prístroju.

Výsledky

Výsledky sa vypočítavajú automaticky na analyzátore klinickej chémie a uvádzajú sa v µg/g, pokiaľ nie je v príslušných aplikačných poznámkach pre analyzátor klinickej chémie uvedené inak.

NORMALIZÁCIA A METROLOGICKÁ SLEDOVATEĽNOSŤ

Pre analyt kalprotektín vo vzorke stolice neexistujú žiadne medzinárodne alebo národne uznávané referenčné materiály alebo referenčné postupy merania. BÜHLMANN fCAL® turbo je štandardizovaný podľa interne zavedeného referenčného materiálu a hodnoty kontrol a kalibrátorov sú priradené podľa protokolu o prenose hodnôt (ref. 23, 24), aby sa zaručila metrologická nadväznosť. Stanovil sa 95% interval spoľahlivosti kombinovanej neistoty kalibrátorov výrobku nižší ako 3,7%, kombinovaná neistota kontrol nižšia ako 6,9%.

OBMEDZENIA

- Výsledky testov by sa mali interpretovať v spojení s informáciami, ktoré sú k dispozícii na základe klinického hodnotenia pacienta a iných diagnostických postupov.
- Na monitorovanie ochorenia IBD sa navrhuje, aby viacnásobné merania fekálneho kalprotektínu vykonávané v intervaloch do 4 týždňov mali najlepšiu diagnostickú presnosť pri predpovedaní klinického relapsu u pacientov (ref. 25-26).
- Užívanie nesteroidných protizápalových liekov (NSAID) môže viesť k zvýšeným hladinám kalprotektínu v stolici.
- Výsledky nemusia byť klinicky použiteľné u detí mladších ako 4 roky, ktoré majú mierne zvýšené hladiny kalprotektínu v stolici (ref. 27-30).

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

I. Rozlíšenie idiopatických od funkčných ochorení gastrointestinálneho traktu

Stanovenie hladiny kalprotektínu v stolici sa môže použiť ako spoľahlivá a jednoduchá pomôcka pri rozlišovaní idiopatických a funkčných gastrointestinálnych ochorení (ref. 4-10). Spoločnosť BÜHLMANN odporúča použiť rovnaké hraničné hodnoty ako pri teste BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Klinické prahové hodnoty

Koncentrácia kalprotektínu	Výklad	Sledovanie
< 80 µg/g	Normálne	Žiadne
80 – 160 µg/g	Šedá zóna/hranica	Následná kontrola v priebehu 4 – 6 týždňov
> 160 µg/g	Zvýšené	Opakujte podľa potreby

Tabuľka 4: Diagnostické rozsahy BÜHLMANN fCAL® turbo

Kategórie výsledkov sú založené na údajoch z klinických štúdií vykonaných spoločnosťou BÜHLMANN a predstavujú odporúčania spoločnosti BÜHLMANN. Všetky výsledky testov by sa mali interpretovať v spojení s informáciami dostupnými z klinických symptómov pacienta, anamnézy a iných klinických a laboratórnych nálezov:

Hodnoty kalprotektínu pod 80 µg/g

Hodnoty fekálneho kalprotektínu < 80 µg/g neindikujú zápal v gastrointestinálnom trakte. U pacientov s nízkymi hodnotami kalprotektínu nie je pravdepodobné, že budú potrebovať invazívne postupy na určenie príčiny zápalu (ref. 4).

Hodnoty kalprotektínu medzi 80 a 160 µg/g

Stredné hladiny kalprotektínu v stolici medzi 80 a 160 µg/g, nazývané aj hladiny v šedej zóne, priamo neindikujú aktívny zápal, ktorý si vyžaduje okamžité sledovanie invazívnym testovaním. Prítomnosť zápalu však nemožno vylúčiť. Na určenie zápalového stavu sa odporúča opätovné vyhodnotenie hladín fekálneho kalprotektínu po 4 až 6 týždňoch.

Hodnoty kalprotektínu vyššie ako 160 µg/g

Hodnoty fekálneho kalprotektínu > 160 µg/g svedčia o infiltrácii neutrofilov v gastrointestinálnom trakte, preto môžu signalizovať prítomnosť aktívneho zápalového ochorenia. Na dosiahnutie celkovej klinickej diagnózy sa navrhujú vhodné ďalšie vyšetrovacie postupy u špecialistov.

Klinické hodnotenie

Schopnosť BÜHLMANN fCAL® turbo rozlišovať medzi pacientmi s IBD a inými nezápalovými poruchami tráviaceho traktu vrátane IBS sa hodnotila pomocou klinických vzoriek odobratých 295 pacientom a extrahovaných pomocou CALEX® Cap. Stodvadsaťsedem (127) pacientov malo konečnú diagnózu IBD (Crohnova choroba, ulcerózna kolitída alebo neurčitá kolitída), 103 pacientov trpelo IBS a 65 pacientov malo bolesti brucha a/alebo hnačky alebo iné nezápalové ochorenia gastrointestinálneho traktu. Konečná diagnóza bola podporená endoskopickými, ako aj inými klinickými nálezmi.

Optimálnu kombináciu hraničných hodnôt pre tieto skupiny pacientov možno definovať pomocou analýzy ROC pri 80 µg/g a 160 µg/g kalprotektínu (tabuľka 6 a 8), čo je o niečo prísnejšie ako kombinácia citlivejšej dolnej hraničnej hodnoty 50 µg/g s nižšou výkonnosťou v špecifickosti a hornej hraničnej hodnoty 200 µg/g s o niečo nižšou citlivosťou (tabuľka 7 a 9).

Konečná diagnóza	**Rozdelenie výsledkov pacientov v počtoch (percentách) v rámci diagnostických rozsahov BÜHLMANN fCAL® turbo.**			
	< 80 µg/g	**80 – 160 µg/g**	**> 160 µg/g**	**Celkom**
IBD	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
IBS	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Ostatné GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Tabuľka 5: Rozdelenie výsledkov pacientov v rámci diagnostických rozsahov BÜHLMANN fCAL® turbo

IBD vs. non-IBD	Klinický rozhodovací bod	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Citlivosť (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Špecifickosť (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)	

Tabuľka 6: Klinické charakteristiky výkonnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri rozlišovaní IBD od iných ochorení ako IBD - IBS a iných ochorení súvisiacich s tráviacim traktom, pri klinických rozhodovacích bodoch 80 µg/g a 160 µg/g

IBD vs. non-IBD	Klinický rozhodovací bod	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Citlivosť (95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Špecifickosť (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%)

Tabuľka 7: Klinické charakteristiky výkonnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri rozlišovaní IBD od iných ochorení ako IBD - IBS a iných ochorení súvisiacich s tráviacim traktom, pri klinických rozhodovacích bodoch 50 µg/g a 200 µg/g

IBD vs. IBS	Klinický rozhodovací bod	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Citlivosť (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Špecifickosť (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)	

Tabuľka 8: Klinické charakteristiky výkonnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri rozlišovaní IBD od IBS pri klinických rozhodovacích bodoch 80 µg/g a 160 µg/g

IBD vs. IBS	Klinický rozhodovací bod	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Citlivosť (95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Špecifickosť (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%)

Tabuľka 9: Klinické charakteristiky výkonnosti BÜHLMANN fCAL® turbo pri rozlišovaní IBD od IBS pri klinických rozhodovacích bodoch 50 µg/g a 200 µg/g

CI - interval spoľahlivosti
PPV - pozitívna prediktívna hodnota
NPV - negatívna prediktívna hodnota
ROC AUC - plocha pod krivkou operačnej charakteristiky zariadenia

II. Monitorovanie IBD

Klinické prahové hodnoty a hodnotenie

Stanovenie fekálneho kalprotektínu je spoľahlivý a jednoduchý spôsob, ako pomôcť pri monitorovaní pacientov s IBD (ref. 10-22).
Korelácia hladín kalprotektínu a zápalového stavu črevnej sliznice pacienta podľa endoskopického hodnotenia bola stanovená v troch nezávislých štúdiách s použitím BÜHLMANN kalprotektínových testov (tabuľka 10). Diagnostická hodnota kalprotektínu pri predpovedaní klinickej remisie a relapsu podľa symptómov pacienta, indexov klinickej aktivity, neplánovanej potreby zvýšenia terapie, hospitalizácie alebo urgentného stavu sa stanovila v troch štúdiách s použitím BÜHLMANN kalprotektínových testov (tabuľka 11).

Kalprotektín[1] vs. aktivita IBD stanovená na základe endoskopických nálezov	**Štúdia 1 Španielsko (ref. 12)**	**Štúdia 2 Španielsko (ref. 13)**	**Štúdia 3 Poľsko (ref. 14)**
Počet pacientov a demografické údaje	89 (CD[2]) Vek: 32-58 44% mužov	123 (UC[3]) Vek: 18-85 66,4% mužov	57 (CD[2]) Priemerný vek: 35,3 48% mužov
Vypnutie	272 µg/g	280 µg/g	238,5 µg/g
NPV	98%	86%	88%
PPV	76%	80,3%	73%

Tabuľka 10: Korelácia hladín kalprotektínu s aktivitou ochorenia IBD stanovenou na základe endoskopického hodnotenia.

[1] Výsledky štúdií 1 a 2 boli získané pomocou testov laterálneho toku BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL a Quantum Blue® fCAL high range). Výsledky v štúdii 3 boli získané pomocou testu BÜHLMANN fCAL® ELISA a Quantum Blue® fCAL high range).
[2] CD = pacienti s Crohnovou chorobou
[3] UC = pacienti s ulceróznou kolitídou

Kalprotektín[1] vs. budúca klinická remisia alebo relaps	Štúdia 4 UK (ref. 15)	Štúdia 5 Španielsko (ref. 16)	Štúdia 6 Španielsko (ref. 17)
Počet pacientov a demografické údaje	92 (CD[2]) 38% mužov	30 (CD[2]) liečba adalimumabom Vek: 24-64 43,3% mužov	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) liečba infliximabom Vek: 18-68 47,2% mužov
Čas sledovania po meraní kalprotektínu	12 mesiacov	4 mesiace	12 mesiacov
Pacienti s klinickým relapsom po sledovaní	11%	30%	23%
Vypnutie	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8%	100%	96,1%
PPV	27,6%	75%	68,7%

Tabuľka 11: Stanovenie diagnostickej hodnoty kalprotektínu pri predpovedaní klinickej remisie a relapsu ochorenia IBD.

[1] Výsledky štúdie 4 boli získané pomocou testu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Výsledky štúdií 5 a 6 boli získané pomocou BÜHLMANN lateral flow testov (Quantum Blue® fCAL a Quantum Blue® fCAL high range).

[2] CD = pacienti s Crohnovou chorobou

[3] UC = pacienti s ulceróznou kolitídou

Uvedené kategórie výsledkov sú odporúčaniami a ich stanovenie vychádza zo skrátených poznatkov publikovaných hraničných hodnôt a štúdií klinického výkonu. Zdravotníckym pracovníkom sa odporúča, aby stanovili hraničné hodnoty pre jednotlivých pacientov určením východiskovej hladiny kalprotektínu pacienta počas remisie ochorenia.

Hodnoty kalprotektínu pod 100 µg/g

Hladiny fekálneho kalprotektínu pod 100 µg/g môžu spoľahlivo indikovať pacientov s nízkym rizikom klinickej recidívy v endoskopickej remisii, u ktorých sa možno vyhnúť invazívnym endoskopickým zákrokom (ref. 10-22).

Hodnoty kalprotektínu medzi 100 – 300 µg/g

Hladiny fekálneho kalprotektínu v rozmedzí 100 – 300 µg/g môžu naznačovať potrebu prísnejšej kontroly v nasledujúcom období na posúdenie tendencií vývoja ochorenia.

Hodnoty kalprotektínu nad 300 µg/g

Hladiny fekálneho kalprotektínu nad 300 µg/g by sa mali opakovať a v prípade potvrdenia zvýšených hladín by sa mali vykonať ďalšie vyšetrovacie postupy (ref. 10-22).

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Prezentované výkonnostné charakteristiky boli stanovené na prístroji Roche cobas® 6000 c501. Výkonnostné charakteristiky na iných analyzátoroch klinickej chémie sú uvedené v aplikačných poznámkach pre jednotlivé analyzátory klinickej chémie.

Porovnanie metód – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

Štúdia porovnania metód sa vykonala podľa usmernenia CLSI EP09-A3. Sto deväťdesiatdeväť (199) klinických vzoriek sa meralo pomocou jednej šarže BÜHLMANN fCAL® turbo počas 18 dní v jednom kalibračnom cykle. Referenčné hodnoty s konečným intervalom koncentrácie kalprotektínu 30,3 – 1672,5 µg/g boli stanovené pomocou testu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Vzorky sa extrahovali pomocou CALEX® Cap. Pri oboch metódach sa vykonali jednotlivé stanovenia z extraktov CALEX® Cap. Zaujatosť sa určila pomocou Passing-Bablokovej lineárnej regresie a Bland-Altmanovej analýzy.

Bland-Altmanova analýza			Regresná analýza Passing-Bablok				
Priemerná odchýlka (95% CI)	**Nižšia LoA (95% CI)**	**Horná hranica prípustnosti (95% CI)**	**Svah (95% CI)**	**Intercept [µg/g] (95% CI)**	**Predsudky v 80 µg/g (95% CI)**	**Predsudky v 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

Porovnanie metód – fCAL® turbo CALEX® Cap vs. fCAL® ELISA manuálna extrakcia

Štúdia porovnania metód sa vykonala podľa usmernenia CLSI EP09-A3. Sto šesťdesiatosem (168) klinických vzoriek bolo extrahovaných pomocou troch šarží CALEX® Cap a meraných pomocou jednej šarže BÜHLMANN fCAL® turbo počas 18 dní v jednom kalibračnom cykle. Referenčné hodnoty s konečným intervalom koncentrácie kalprotektínu 30,5 – 1573,8 µg/g boli stanovené pomocou metódy manuálnej extrakcie a merania extraktu pomocou testu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Pri oboch metódach sa extrakty merali v jednotlivých stanoveniach. Zaujatosť sa stanovila pomocou Passing-Bablokovej lineárnej regresie a Bland-Altmanovej analýzy.

Bland-Altmanova analýza			Regresná analýza Passing-Bablok				
Priemerná odchýlka (95% CI)	**Nižšia LoA (95% CI)**	**Horná hranica prípustnosti (95% CI)**	**Svah (95% CI)**	**Intercept [µg/g] (95% CI)**	**Predsudky v 80 µg/g (95% CI)**	**Predsudky v 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

Reprodukovateľnosť (štúdia hodnotenia presnosti na viacerých miestach): 3,2 – 9,1% CV

Reprodukovateľnosť sa stanovila podľa usmernenia CLSI EP05-A3 s použitím štúdie 3 laboratórne pracoviská x 5 dní x 5 opakovaní. Osem spoločných extraktov vzoriek stolice s koncentráciami kalprotektínu v rozmedzí od 47,2 – 5475,6 µg/g.

Presnosť medzi jednotlivými dávkami: 2,4 – 8,2% CV

Precíznosť medzi jednotlivými šaržami sa stanovila podľa usmernenia CLSI EP05-A3 s použitím plánu štúdie 3 šarže x 5 dní x 5 opakovaní. Osem spoločných extraktov vzoriek stolice s koncentráciami kalprotektínu v rozmedzí od 45,2 – 5303,1 µg/g.

Opakovateľnosť: 0,7 – 8,3% CV

Presnosť v rámci laboratória: 1,4 – 9,1% CV

Opakovateľnosť a vnútro-laboratórna presnosť sa stanovili podľa usmernenia CLSI EP05-A3 s použitím štandardizovaných 20 dní x 2 cykly x 2 opakovania. Testovalo sa osem spoločných extraktov vzoriek stolice s koncentráciami kalprotektínu v rozmedzí 42,9 – 5405,6 µg/g.

Reprodukovateľnosť extrakcie - CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV

Reprodukovateľnosť extrakcie sa stanovila podľa usmernenia CLSI EP05-A3 s použitím plánu štúdie 2 dni x 2 operátori x 3 dávky CALEX® Cap x 2 extrakcie x 3 opakovania. Testovalo sa dvanásť klinických vzoriek stolice vrátane vzoriek s pevnou, polotuhou a tekutou konzistenciou s koncentráciami kalprotektínu v rozmedzí 42,7 – 3440,0 µg/g.

Presnosť / výťažnosť: 93,6 – 102% CV

Sedem výťažkov zo vzoriek stolice z klinických vzoriek s hladinami kalprotektínu v rozmedzí 44,1 – 1076,3 µg/g bolo obohatených o 56,9 µg/g alebo 227,8 µg/g kalprotektínu v kalibračnom materiáli. Nabranie („spike“) vzorky sa vykonalo v množstve 10% objemu extraktu. "Základné" vzorky boli nabrané zodpovedajúcim objemom vzorky bez analytu. "Baseline" a "baseline + spike" vzorky sa merali v štyroch opakovaniach.

Prenos vzoriek
Prenos vzoriek bol stanovený podľa usmernenia CLSI EP10-A2. Nebol zistený žiadny štatisticky významný prenos s testom BÜHLMANN fCAL® turbo na prístroji Roche cobas® 6000 c501.

Limity detekcie (LoD): 23,7 µg/g
LoD bola stanovená podľa usmernenia CLSI EP17-A2 a s podielom falošne pozitívnych výsledkov (α) menej ako 5% a falošne negatívnych výsledkov (β) menej ako 5% na základe 120 stanovení so 60 slepými a 60 nízkoúrovňovými opakovaniami; a **LoB 16,7 µg/g.**

Limity stanovenia (LoQ): 23,7 µg/g
LoQ bola stanovená podľa usmernenia CLSI EP17-A2 , na základe 90 stanovení a cieľa presnosti 20% CV . Zistilo sa, že odhad LoQ je nižší ako LoD, a preto je uvedený ako rovný odhadnutej LoD.

Rozsah linearity: 15,6 – 12216 µg/g
Lineárny rozsah BÜHLMANN fCAL® turbo bol stanovený podľa usmernenia CLSI EP06-A. Vzorky s koncentráciou vyššou ako 2000 µg/g boli analyzátorom automaticky riedené v pomere 1:10. Povolená bola maximálna odchýlka od linearity 10%. Pre hodnoty nižšie ako 75 µg/g bola povolená absolútna odchýlka menšia ako 7,5 µg/g.

Účinok Hook efektu
Vzorky s teoretickými koncentráciami až do 45715 µg/g možno merať bez obmedzenia meracieho rozsahu testu.

Rušivé látky
Citlivosť testu BÜHLMANN fCAL® turbo na perorálne liečivá, výživové doplnky, hemoglobín, ako aj enteropatologické mikroorganizmy sa posudzovala podľa usmernenia CLSI EP07-A2. Za interferenciu sa považovalo skreslenie výsledkov presahujúce 10%.

Nebola zistená žiadna interferencia s nasledujúcimi látkami [Koncentrácia v mg/ 50 mg stolice]; gyno-Tardyferon (0,11), Prednisone (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Sulfametoxazol (1,6), Trimetoprim (0,35), Ciproxine (1,25), Vitamín E (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobín (1,25).

Nebola zistená žiadna interferencia s nasledujúcimi enteropatologickými mikroorganizmami [Koncentrácia v jednotkách tvoriacich kolónie (CFU)/mL extraktu stolice]; *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).

ODKAZY

1. Nilsen T et al.: J Clin Lab Anal 2017; 31(4). doi: 10.1002/jcla.22061
2. Mandič-Havelka A a kol.: 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.: Tibb: Gastroenterol 2002; 123, 450-60.
7. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2009; 129(8), 743-5.
8. Manz M. a kol.: Manz: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
9. Pavlidis P. et al.: Scand J Gastroenterol. 2013; 48(9), 1048-54.
10. Konikoff MR a Denson LA: Denson a Densonová: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
11. Lin a kol.: Lin: 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.: 2015, 3(1) 72-9.
20. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 29(7), 369-72.
21. Peyrin-BL a kol.: Am J Gastroenterol 2015, 110, 1324-38.
22. Ricciuto A et al.: 2019; 56(5):307-320.
23. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22
24. Blirup-Jensen et al.: Juprupensen: 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 a iní: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. a kol.: (2015): PLoS ONE 10(3).
29. Zhu Q. et al.: PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. a kol.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

ZOZNAM ZMIEN

Dátum	Verzia	Zmena
2025-09-01	A6	Spresnenie časti *Zamýšľané použitie* pridaním testovacej platformy. Revízia kapitol *Skladovanie a stabilita činidla*, *Požadované, ale neposkytované materiály*, *Upozornenia a bezpečnostné opatrenia*, *Klinické prahové hodnoty a hodnotenie(tabuľka 10)* a *Odkazy*. Aktualizácia kapitoly *Výkonnostné charakteristiky* (podkapitoly *Porovnanie metód* a *Rozsah linearity*).

HLÁSENIE UDALOSTÍ V ČLENSKÝCH ŠTÁTOCH EÚ

Ak sa v súvislosti s touto pomôckou vyskytne akýkoľvek závažný incident, bezodkladne to nahláste výrobcovi a príslušnému orgánu vášho členského štátu.

POŠKODENIE PRI PREPRAVE

Ak ste tento výrobok dostali poškodený, oznámte to svojmu distribútorovi.

SYMBOLY

Spoločnosť BÜHLMANN používa symboly a značky uvedené a opísané v norme ISO 15223-1.
Definície symbolov nájdete v slovníku symbolov na adrese:
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Časti súprav a predanalytických postupov sú patentovo chránené EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

CE 0123