BÜHLMANN fCAL® turbo

Turbiditetsanalys av kalprotektin
för professionellt bruk

Reagensset

B-KCAL-RSET
Version A6

För *In Vitro* Diagnostisk Användning

Tillverkare

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

ANVÄNDNINGSOMRÅDE

The BÜHLMANN fCAL® turbo är ett *in vitro* diagnostiskt test för kvantitativ bestämning av kalprotektin i humana avföringsprover avsett som en hjälp att bedöma inflammation i tarmslemhinnan (ref. 1-3). Provsvaret kan användas som ett diagnostiskt hjälpmedel för att särskilja organisk, inflammatorisk sjukdom i mag – tarmsystemet (inflammatorisk tarmsjukdom, IBD, specifikt Crohns sjukdom (CD) eller Ulcerös kolit (UC)) från funktionell sjukdom (irritable bowel syndrome, IBS) (ref. 4-10), hos patienter med kroniska magsmärtor, och som en hjälp att monitorera IBD sjukdomen (ref. 10-22). BÜHLMANN fCAL® turboanalys är avsedd att köras på analysatorer för klinisk kemi. Endast avsett för laboratory.

ANALYSPRINCIPER

BÜHLMANN fCAL® turbo test är en partikelförstärkt turbidimetrisk analysmetod (particle enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA) och medger kvantifiering av kalprotektin i fekalextrakt på kliniska kemianalysatorer. Fekalieprover extraheras med extraktionsbuffert med hjälp av CALEX® Cap-extraktion eller manuell extraktion och analyseras vid en slutlig utspädning på 1:500. Extrakten inkuberas med reaktionsbuffert och blandas med polystyren-nanopartiklar belagda med kalprotektinspecifika antikroppar (immunpartiklar). Kalprotektin som är tillgängligt i provet främjar agglutination av immunpartiklar. Provets turbiditet, uppmätt genom ljusabsorbans, ökar genom komplexbildning av kalprotektin-immunpartiklarna och är proportionell mot kalprotektinkoncentrationen. Den uppmätta ljusabsorbansen medger kvantifiering av kalprotektinkoncentrationen via interpolation från en fastställd kalibreringskurva.

REAGENSER SOM TILLHANDAHÅLLS

Reagenser	Kvantitet	Kod	Förberedelse
Reaktionsbuffert (R1) MOPS buffrad saltlösning	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Klar att använda
Immunpartiklar (R2) polystyrenkulor belagda med fågelantikroppar mot mänskligt kalprotektin	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Klar att använda

Tabell 1: Reagens som tillhandahålls

LAGRING AV OCH STABILITET HOS REAGENS

Oöppnade reagens
Förvaras i 2-8 °C. Använd inte kitreagenser efter passerat utgångsdatum angivet på etiketten.
Ombord-stabilitet
Förvara i upp till 90 dagar vid 2-15 °C.

Tabell 2: Förvaring av och stabilitet hos reagens

Låt inte reagenser frysa!

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE TILLHANDAHÅLLS

- De reagenser som beskrivs nedan ingår inte i satsen utan måste beställas separat:

Reagenser	Kvantitet	Kod
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratorset Kalibratorer 1-6 för att etablera en 6-punkts kalibreringskurva	1 x 6 vialer 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollset Kontroller låg och hög	3 x 2 vialer 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Extraktionsanordning fylld med extraktionsbuffert	50 rör 200 rör 500 rör	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extraktionsset Extraktionsbuffert	3 flaskor 12 flaskor 125 mL/flasko	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabell 3: Material som krävs men som inte tillhandahålls med satsen

- Allmän laboratorieutrustning
- Analysator för klinisk kemi
- Centrifug

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Detta test är endast för *in vitro* diagnostiskt bruk.
- Immunpartiklarna innehåller potentiellt harmfulla substanser av animaliskt ursprung och bör hanteras med tillämpliga säkerhetsåtgärder, i enlighet med god laboratoriepraktik (GLP)
- R2 innehåller polystyren-nanopartiklar.
- Detta kit innehåller komponenter som är klassificerade enligt föreskrift (EC) No. 1272/2008: 2-methyl-4-isothiazolin-3-one hydrochloride (conc. ≥ 0,0015%), vilket betyder att reagensen kan orsaka allergisk hudreaktion (H317).
- Undvik kontakt av reagenser med hud, ögon eller slemhinnor. Vid kontakt: Tvätta genast med mycket vatten, annars kan irritation uppstå.

Tekniska säkerhetsåtgärder

- Vänligen adaptera reagens, controller, kalibratorer och prover så som beskrivs i applikationsprotokollet.
- Avdunstning av kalibratorer och kontroller i analysatorn kan leda till felaktiga resultat. Starta körningen omedelbart efter att dessa placerats ombord på instrumentet.
- Blanda inte R1 och R2 av olika loter och byt inte lock mellan reagensflaskorna.
- Reagens R2 måste kasseras om den varit fryst.
- Testmetoden är avsedd för fekala extrakt från extraktion med BÜHLMANN extraction buffer.
- Säkerställ att proverna inte har bubblor före start av analys.
- Överföring mellan prover (“carry over”) är instrumentberoende. För mer information se applikationsprotokoll för instrumentet.

PROVTAGNING, HANTERING OCH FÖRVARING AV PROV

För extraktionsproceduren krävs mindre än 1 g avföringsprov. Samla provet i vanligt rör utan tillsatser.
Viktigt: provet måste samlas i rör utan kemiska eller biologiska tillsatser.

Transport av prov

Avföringsprov bör anlända till laboratoriet inom 3 dagar efter uppsamlingen. Proven får transporteras i rumstemperatur eller i kylskåpstemperatur.

Förvaring av prov

Mottagna avföringsprov ska förvaras vid 2-8 °C och extraheras inom 3 dagar. Förvara inte prov vid högre temperatur.

EXTRAKTION AV AVFÖRINGSPROV OCH EXTRAKT-STABILITET

CALEX® Cap

Följ instruktionen för CALEX® Cap kit. Avföringsprover extraherade med CALEX® Cap kommer ha en slutlig spädning på 1:500 och är klara att användas.

Flytande avföringsprov kan pipetteras direkt ned i CALEX® Cap. Skruva av den blå korken och pipettera 10 µL avföring ner i röret. Återförslut CALEX® Cap och fortsätt med vortexing enligt extraktionsproceduren som beskrivs och illustreras i manualen för CALEX® Cap.

Viktigt: Centrifugera CALEX® Cap i 10 minuter vid 1000 – 3000 x g före start av körning med BÜHLMANN fCAL® turbo proceduren.

Fekalt kalprotektin i extrakt framtagna med CALEX® Cap är stabila i rumstemperatur (23 °C) i 7 dagar, vid 2-8 °C i 15 dagar och vid -20 °C i upp till 23 månader.

CALEX® Cap extrakt kan frysas direkt och förvaras i CALEX® Cap. Extrakten kan frys-tinas fyra gånger. Före analys, låt de frysta extrakten anta rumstemperatur, vortexa noggrant i 10 sekunder och centrifugera enligt manualen för metoden.

Extraktionsset

För manuell extraktion, följ instruktionerna för användning som följer med extraktionsset. Fekala provextrakt framställda med extraktionsset har en slutlig spädning av 1:50. Späd ut avföringsekstrakten 1:10 i BÜHLMANN-extraktionsbuffert, tillhandahållen i extraktionsset, (t.ex 50 µL extrakt och 450 µL extraktions buffert) före start av BÜHLMANN fCAL® turbo proceduren.

Fekalt kalprotektin i extrakt (1:50) erhållet genom manuell extraktion är stabilt vid 2-8 °C i 7 dagar eller vid -20 °C i upp till 36 månader.

PROCEDUR

Tillämpningsanvisningar / analysinstallation

Analysförfaranden för BÜHLMANN fCAL® turbo är fastställda för flera kliniska kemiinstrument. Validerade applikationsprotokoll som beskriver installation och analys på specifika instrument kan beställas från BÜHLMANN. Motsvarande instrumentmanualer måste följas vid installation av instrument, samt för underhåll, drift och försiktighetsåtgärder.

Reagensberedning

Reagenserna som tillhandahålls är klara att använda. Blanda försiktigt innan de fylls på i instrumentet. Reagensflaskorna passar ev. direkt i instrumentet, om inte annat anges i metodbeskrivningen.

Att fastställa kalibreringskurvan

BÜHLMANN fCAL® turbokalibratorset används för att fastställa en sexpunkts kalibreringskurva enligt instrumentmanualen. Kalibratorvärdena är lotspecifika. En ny kalibrering måste genomföras för varje ny kalibrator och reagenssats lot. Annars ska kalibrering genomföras varje till varannan månad enligt de instrumentspecifika applikationsprotokollen. Se bipacksedeln som medföljer BÜHLMANN fCAL® turbokalibrator för åsatta kalibratorvärden. Kontakta BÜHLMANNs support om det inte går att genomföra en felfri kalibrering.

Kvalitetskontroller

BÜHLMANN fCAL® turbokontroller, måste analyseras varje dag före analys av fekalprovsextrakten för att validera kalibreringskurvan. Kontrollerna har tilldelade åsatta värden som anges på kvalitetscertifikatet som medföljer varje sats av BÜHLMANN fCAL® turbo kontrollset. Kontrollmätningarna måste ligga inom angivna kontrollintervall för att få giltiga resultat för patienters fekalprovsextrakt.
Om kontrollvärdena inte är godkända, upprepa analysen med färska kontroller. Om kontrollvärdena ånyo är underkända, rekalibrera metoden. Om godkända kontrollvärden inte kan erhållas efter stegen beskrivna ovan, kontakta BÜHLMANN support.

Mätning av patienters fekalprovsextrakt

När kalibreringskurvan fastställts och validerats genom kvalitetskontrollerna, kan patienternas fekalextrakt mätas. Gör mätningen på patienternas fekalextrakt enligt metodbeskrivningen och instrumentmanualen.

Resultat

Resultaten beräknas automatiskt på den kliniska kemianalysatorn och presenteras i µg/g om annat inte angetts i applikationsprotokollet för den kliniska kemianalysatorn i fråga.

STANDARDISERING OCH METROLOGISK SPÅRBARHET

Det finns inga internationellt eller nationellt erkända referensmaterial eller referensmetoder för analyten kalprotektin i avföringsprov. BÜHLMANN fCAL® turbo är standardiserad mot ett internt etablerat referensmaterial och värden på kontroller och kalibratorer tilldelas enligt ett värdeöverföringsprotokoll (ref. 23, 24) för att garantera metrologisk spårbarhet. 95% konfidensintervall för den kombinerade osäkerheten för produktkalibratorer bestämdes till lägre än 3,7%, den kombinerade osäkerheten för kontrollerna är lägre än 6,9%.

BEGRÄNSNINGAR

- Testresultaten ska tolkas i samband med information tillgänglig från klinisk bedömning av patienten och andra diagnostiska procedurer.
- För övervakning av IBD-sjukdomar har flera fekala kalprotektinmätningar som utförts med upp till fyra veckors intervall föreslagits ha den bästa diagnostiska noggrannheten för att förutsäga kliniskt återfall hos patienter (ref. 25-26).
- Intag av icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel (NSAID) kan leda till förhöjda fekala kalprotektinnivåer.
- Resultaten kanske inte är kliniskt tillämpliga på barn under 4 år som har något ökad fekal kalprotektinnivå (ref. 27-30).

TOLKNING AV RESULTAT

I. Att urskilja organisk sjukdom från funktionell sjukdom i matsmältningsorganen

Bestämning av kalprotektinnivåer kan användas som ett pålitligt och enkelt medel för att skilja mellan organiska och funktionella sjukdomar i matsmältningsorganen (ref. 4-10). BÜHLMANN rekommenderar att samma cut-off-värden tillämpas som för BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Kliniska tröskelvärden

Kalprotektin koncentration	Tolkning	Uppföljning
< 80 µg/g	Normal	Ingen
80 – 160 µg/g	Gråzon/Gränsfall	Följ upp inom 4 – 6 veckor
> 160 µg/g	Förhöjt	Upprepa efter behov

Tabell 4: BÜHLMANN fCAL® turbo diagnostiska intervall.

Resultatkategorierna är baserade på data från kliniska studier utförda av BÜHLMANN och är BÜHLMANNs rekommendationer. Alla testresultat ska tolkas i samband med information tillgänglig från patientens kliniska symtom, sjukdomshistoria och andra kliniska resultat och laboratoriefynd:

Kalprotektinvärden under 80 µg/g

Fekala kalprotektinvärden < 80 µg/g är inte indikation på inflammation i mag-tarmkanalen. Patienter med låga kalprotektinnivåer kommer troligen inte att behöva invasiva procedurer för att bestämma inflammationsorsaken (ref. 4).

Kalprotektinvärden mellan och lika med 80 till 160 µg/g

Måttliga fekala kalprotektinnivåer mellan och lika med 80 och 160 µg/g, även kallat gråzonnivåer, är inte direkt indikation på en aktiv inflammation som kräver omedelbar uppföljning med invasivt test. Förekomsten av inflammation kan emellertid inte uteslutas. Ny analys av fekala kalprotektinnivåer rekommenderas efter 4 till 6 veckor för att bestämma inflammatorisk status.

Kalprotektinvärden högre än 160 µg/g

Fekala kalprotektinvärden > 160 µg/g indikerar neutrofilinfiltrat i mag-tarmkanalen; därför kan detta signalera närvaron av aktiv inflammatorisk sjukdom. Lämpliga ytterligare undersökningsförfaranden av specialister föreslås för att uppnå en övergripande klinisk diagnos.

Klinisk utvärdering

Förmågan att skilja mellan patienter med IBD och andra icke-inflammatoriska GI-störningar, inklusive IBS, med BÜHLMANN fCAL® turbo, utvärderades med användning av kliniska prover som samlats in från 295 patienter och extraherades med CALEX® Cap. Hundratjugosju (127) patienter hade en slutlig diagnos av IBD (Crohns sjukdom, ulcerös kolit eller obestämd kolit), 103 patienter led av IBS och 65 patienter med buksmärta och / eller diarré eller annat GI-relaterat, icke- inflammatoriskt tillstånd. Den slutliga diagnosen stöddes av såväl endoskopiska som andra kliniska fynd.

Den optimala cut-off kombinationen för dessa patientpooler kunde definieras genom ROC-analys vid 80 µg/g och 160 µg/g kalprotektin (tabell 6 och 8), vilket är något striktare än en kombination av en mer känslig lägre cut-off vid 50 µg/g med lägre prestanda i specificitet, och en övre cut-off vid 200 µg/g med något lägre känslighet (tabell 7 och 9).

Slutlig diagnos	**Fördelning av patientresultat i antal (procent) inom BÜHLMANN fCAL® turbo diagnostiskt intervall.**			
	< 80 µg/g	**80 – 160 µg/g**	**> 160 µg/g**	**Total**
IBD	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
IBS	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Annan GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Tabell 5: Fördelning av patientresultat i antal (procent) inom BÜHLMANN fCAL® turbo diagnostiskt interval

IBD vs. icke-IBD	Klinisk beslutspunkt	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Sensitivitet (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Specificitet (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)	

Tabell 6: Klinisk prestanda för BÜHLMANN fCAL® turbo vid diskriminering av IBD från icke-IBD - IBS och andra GI-relaterade störningar för kliniska beslutspunkter vid 80 µg/g och 160 µg/g

IBD vs. icke-IBD	Klinisk beslutspunkt	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Sensitivitet(95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Specificitet (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%)

Tabell 7: Klinisk prestanda för BÜHLMANN fCAL® turbo vid diskriminering av IBD från icke-IBD - IBS och andra GI-relaterade störningar för kliniska beslutspunkter vid 50 µg/g och 200 µg/g

IBD vs. IBS	Klinisk beslutspunkt	
	80 µg/g	**160 µg/g**
Sensitivitet (95% CI)	91,3% (85,0%; 95,6%)	85,0% (77,6%; 90,7%)
Specificitet (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)	

Tabell 8: Klinisk prestanda för BÜHLMANN fCAL® turbo vid diskriminering av IBD från IBS för kliniska beslutspunkter vid 80 µg/g och 160 µg/g

IBD vs. IBS	Klinisk beslutspunkt	
	50 µg/g	**200 µg/g**
Sensitivitet (95% CI)	94,5% (89,0%; 97,8%)	80,3% (72,3%; 86,8%)
Specificitet (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%)

Tabell 9: Klinisk prestanda för BÜHLMANN fCAL® turbo vid diskriminering av IBD från IBS för kliniska beslutspunkter vid 50 µg/g och 200 µg/g

CI – confidence interval (=konfidensintervall)
PPV – positive predictive value (=positivt prediktivt värde)
NPV – negative predictive value (=negativt prediktivt värde)
ROC AUC – area under receiver operating characteristic curve (=ROC kurvanalys, area under kurvan)

II. IBD-UPPFÖLJNING

Kliniska tröskelvärden och utvärdering

Bestämningen av fekalt kalprotektin är ett pålitligt och enkelt sätt att underlätta övervakningen av IBD-patienter (ref. 10-22).
Korrelation av kalprotektinnivåer och den inflammatoriska statusen för patientens tarmslemhinna, enligt endoskopiska utvärderingar, bestämdes i tre oberoende studier med användning av BÜHLMANN kalprotektintester (tabell 10). Det diagnostiska värdet för kalprotektin för att förutsäga klinisk remission och återfall, enligt patientens symtom, kliniska aktivitetsindex, oplanerat behov av eskalering av terapi, sjukhusvistelse eller akut bestämdes i tre studier med BÜHLMANN kalprotektintester (tabell 11).

Kalprotektin[1] vs IBD-aktivitet bestämd med endoskopiska fynd	**Studie 1 Spanien (ref. 12)**	**Studie 2 Spanien (ref. 13)**	**Studie 3 Polen (ref. 14)**
Patientnummer och demografi	89 (CD[2]) Åldrar: 32-58 44% manlig	123 (UC[3]) Åldrar: 18-85 66,4% manlig	57 (CD[2]) Genomsnittsålder: 35,3 48% manlig
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	238,5 µg/g
NPV	98%	86%	88%
PPV	76%	80,3%	73%

Tabell 10: Korrelation av kalprotektinnivåer med IBD-sjukdomens aktivitet bestämd genom endoskopiska utvärderingar

[1] Resultat för studier 1 och 2 erhölls med BÜHLMANN-lateral flow-analyser (Quantum Blue® fCAL och Quantum Blue® fCAL high range). Resultaten i studie 3 erhölls med BÜHLMANN fCAL® ELISA och Quantum Blue® fCAL high range).
[2] CD = Patienter med Crohns sjukdom
[3] UC = Patienter med ulcerös kolit

Kalprotektin[1] vs framtida klinisk remission eller återfall	Studie 4 UK (ref. 15)	Studie 5 Spanien (ref. 16)	Studie 6 Spanien (ref. 17)
Patientnummer och demografi	92 (CD[2]) 38% manlig	30 (CD[2]) adalimumab terapi Åldrar: 24-64 43,3% manlig	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) infliximab terapi Åldrar: 18-68 47,2% manlig
Uppföljningstid efter kalprotektinmätning	12 månader	4 månader	12 månader
Patienter i kliniskt återfall efter uppföljning	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%

Tabell 11: Bestämning av diagnostiskt värde för kalprotektin för att förutsäga klinisk remission och återfall av IBD-sjukdom

[1] Resultat för studie 4 erhölls med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Resultat för studier 5 & 6 erhölls med BÜHLMANN-lateral-flow-analyser (Quantum Blue® fCAL och Quantum Blue® fCAL high range).
[2] CD = Patienter med Crohns sjukdom
[3] UC = Patienter med ulcerös kolit

De resultatkategorier som visas är rekommendationer och deras etablering är baserad på sammanfattad kunskap om publicerade cut-off värden och studier för klinisk prestanda. Det rekommenderas att sjukvårdspersonal fastställer individuella tröskelvärden för patienten genom att bestämma patientens baslinje-kalprotektinnivå under sjukdomsremission.

Kalprotektin värden under 100 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer under 100 µg/g kan pålitligt indikera patienter, med låg risk för kliniskt återfall, vid endoskopisk remission för vilka invasiva endoskopiska förfaranden kan undvikas (ref. 10-22).

Kalprotektin värden mellan 100 – 300 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer mellan 100 – 300 µg/g kan indikera behovet av tätare kontroller under följande period för att utvärdera tendenser till sjukdomsutveckling.

Kalprotektinvärden över 300 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer över 300 µg/g bör upprepas och om höjda nivåer bekräftas, bör ytterligare undersökningsförfaranden vidtagas (ref. 10-22).

PRESTANDAEGENSKAPER

De presenterade prestandaegenskaperna har fastställts på ett Roche cobas® 6000 c501 instrument. Se specifikt applikationsprotokoll för klinisk kemianalysator för prestandaegenskaperna på andra kliniska kemi-analysatorer.

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

Metodjämförelsestudien utfördes enligt CLSI-guidelin EP09-A3. Etthundranittionio (199) kliniska prover mättes med en lot BÜHLMANN fCAL® turbo under 18 dagar i en kalibreringscykel. Referensvärden, med ett slutligt kalprotektinkoncentrationsintervall av 30,3 – 1672,5 µg/g, uppmättes med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Prover extraherades med CALEX® Cap. Enkla bestämningar från CALEX® Cap-extrakt utfördes i båda metoderna. Bias bestämdes med av Passing-Bablok linjär regression och Bland-Altman-analys.

Bland-Altman Analys			Passing-Bablok Regressionsanalys				
Medel bias (95% CI)	**Lägre LoA (95% CI)**	**Övre LoA (95% CI)**	**Lutning (95% CI)**	**Intercept [µg/g] (95% CI)**	**Bias vid 80 µg/g (95% CI)**	**Bias vid 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

Metodjämförelse – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA manuell extraktion

Metodjämförelsestudien utfördes enligt CLSI-guideline EP09-A3. Hundrasextioåtta (168) kliniska prover extraherades med användning av tre loter av CALEX® Cap och mättes med en lot BÜHLMANN fCAL® turbo under 18 dagar i en kalibreringscykel. Referensvärden, med ett slutligt kalprotektinkoncentrationsintervall av 30,5 – 1573,8 µg/g, upprättades med hjälp av den manuella extraktionsmetoden och extraktmätning med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Extrakt mättes i enstaka bestämningar i båda metoderna. Bias bestämdes med användning av Passing-Bablok linjär regression och Bland-Altman-analys.

Bland-Altman Analys			Passing-Bablok Regressionsanalys				
Medel bias (95% CI)	**Lägre LoA (95% CI)**	**Övre LoA (95% CI)**	**Lutning (95% CI)**	**Intercept [µg/g] (95% CI)**	**Bias vid 80 µg/g (95% CI)**	**Bias vid 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

Reproducerbarhet (Multisite precisionsutvärdering): 3,2 – 9,1% CV
Reproducerbarheten fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med ett studieupplägg av 3 laboratorier x 5 dagar x 5 replikat. Åtta extrakt av poolade avföringsprover med kalprotektinkoncentrationer från 47,2 – 5475,6 µg/g testades.

Mellan-lot precision: 2,4 – 8,2% CV
Mellan-lot precision fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med ett studieupplägg av 3 loter x 5 dagar x 5 replikat. Åtta extrakt av poolade avföringsprover med kalprotektinkoncentrationer från 45,2 – 5303,1 µg/g testades.

Reproducerbarhet: 0,7 – 8,3% CV

Inom-laboratorie-precision: 1,4 – 9,1% CV
Reproducerbarhet och inom-laboratorieprecision fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med det standardiserade studieupplägget 20 dagar x 2 körningar x 2 replikat. Åtta extrakt av poolade avföringsprover med kalprotektinkoncentrationer från 42,9 – 5405,6 µg/g testades.

Reproducerbarhet för extraktion – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV
Extraktions-reproducerbarheten fastställdes enligt CLSI-guideline EP05-A3 med ett studieupplägg av 2 dagar x 2 operatörer x 3 CALEX® Cap-loter x 2 extraktioner x 3 replikat. Tolv kliniska avföringsprover, inklusive prover med fast, halvfast och flytande konsistens, med kalprotektinkoncentrationer i området 42,7 – 3440,0 µg/g, testades.

Riktighet / Recovery: 93,6 – 102% CV
Sju extrakt från avföringsprov från kliniska prover med kalprotektinnivåer mellan 44,1 – 1076,3 µg/g spetsades med 56,9 µg/g eller 227,8 µg/g kalprotektin från kalibratormaterial. Spetsning utfördes vid 10% av provextraktvolymen. "Baseline" -prover spetsades med motsvarande volym analytfritt prov. "Baseline" och "baseline + spetsade" -prover mättes i fyra replikat.

Provöverföring
Provöverföring (sample carry-over) fastställdes enligt CLSI-guideline EP10-A2. Ingen statistiskt signifikant provöverföring med BÜHLMANN fCAL® turbotest på Roche cobas® 6000 c501 instrument påvisades.

Detektionsgräns (Limit of Detection) / (LoD): 23,7 µg/g
LoD fastställdes enligt CLSI-guideline EP17-A2 och med andelar av falskt positiva (α) mindre än 5% och falskt negativa (ß) mindre än 5% baserat på 120 bestämningar, med 60 tomma och 60 lågnivå-replikat; och en **LoB vid 16,7 µg/g**.

Kvantifieringsgräns (Limit of Quantitation) / (LoQ): 23,7 µg/g
LoQ fastställdes enligt CLSI-guideline EP17-A2, baserat på 90 bestämningar och ett precisionsmål på 20% CV. LoQ-uppskattningen befanns vara under LoD och anges därför som lika med den uppskattade LoD.

Linjärt omfång: 15,6 – 12216 µg/g
Det linjära området för BÜHLMANN fCAL® turbo bestämdes enligt CLSI-guideline EP06-A. Prover med en koncentration över 2000 µg/g späddes automatiskt 1:10 av analysatorn. En maximal avvikelse från linjäriteten på 10% tilläts. För värden under 75 µg/g tilläts en absolut skillnad på mindre än 7,5 µg/g.

Högdos hook effekt
Prover med teoretisk koncentration upp till 45715 µg/g kan mätas utan att begränsa mätområdet för metoden.

Interfererande substanser
Känsligheten hos BÜHLMANN fCAL® turboanalys för orala läkemedel, kosttillskott, hemoglobin samt enteropatologiska mikroorganismer bedömdes enligt CLSI-guideline EP07-A2. Systematiskt fel i resultat som översteg 10% ansågs som interferens.

Ingen interferens detekterades med följande ämnen [Koncentration i mg /50 mg avföring]; 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), Vitamin E (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobin (1,25).

Ingen interferens detekterades med följande enteropatologiska mikroorganismer [Koncentration i kolonibildande enheter (CFU) /mL avföringsekstrakt]; *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).

REFERENSER

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.

ÄNDRINGSLOG

Datum	Version	Ändring
2025-09-01	A6	Precisering av *Användningsområde* genom tillägg av testplattformen. Revidering av kapitlen *Lagring av och stabilitet hos reagens*, *Material som krävs men som inte tillhandahålls*, *Varningar och försiktighetsåtgärder*, *Kliniska tröskelvärden och utvärdering (tabell 10)* samt *Referenser*. Uppdatering av kapitlet *Prestandaegenskaper* (avsnitt *Metodjämförelse* och *Linjärt omfång*).

INCIDENTRAPPORTERING I EU'S MEDLEMSSTATER

Om någon allvarlig incident relaterad till denna produkt inträffat, vänligen rapportera detta utan dröjsmål till tillverkaren och behörig myndighet i din medlemsstat.

LEVERANSSKADA

Meddela återförsäljaren om denna produkt mottogs i skadat skick.

SYMBOLER

BÜHLMANN använder de symboler och tecken som anges och beskrivs i ISO 15223-1.
För definition av symboler, se symbolordlistan på:
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Delar av kit och preanalytiska förfaranden är patentskyddade av EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

CE 0123