



Quantum Blue[®] fCAL extended

Количествен
Латерално-поточен тест

За ин-витро диагностична употреба

LF-CALE25 25 теста

Дата на публикуване: 2022-07-13
Версия A4



Производител

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL extended удължен е един *in vitro* диагностичен тест за количествено определяне на калпротектин в проби от човешки изпражнения, предназначен като помощ при оценката на възпаление на чревната лигавица. Резултатите от анализа могат да се използват като помощ при диагностицирането за разграничаване на органично, възпалително заболяване на стомашно-чревния тракт (възпалително заболяване на червата, IBD, по-специално болест на Crohn или улцерозен колит, UC) от функционално заболяване (синдром на раздразненото черво, IBS) (реф1-7), при пациенти с хронична коремна болка и като помощно средство за наблюдение на заболяването на IBD (реф. 7-18).

Само за лабораторна употреба.

ПРИНЦИП НА АНАЛИЗА

Тестът е предназначен за селективно измерване на калпротектинов антиген чрез имуноанализ със сандвич. Моноклонално улавящо антитяло (mAb), силно специфично за калпротектин, е покрито върху тестовата мембрана. Второ моноклонално детектиращо антитяло, конюгирано със златни колоиди, се отлага върху подложката за освобождаване на конюгата и се освобождава в реакционната система след добавяне на екстрахираната и разреждана проба от изпражнения. Златният конюгат калпротектин/антикалпротектин се свързва с анти-калпротектиновото антитяло, покрито върху тестовата мембрана (тестова линия), а останалият свободен антикалпротектин златен конюгат се свързва с козе анти-миши антитяло, покрито върху тестовата мембрана (контролна линия). Интензитетите на сигнала на тестовата линия (Т) и контролната линия (С) се измерват количествено чрез BÜHLMANN Quantum Blue® Reader.

ПРЕДОСТАВЕНИ РЕАКТИВИ И ПОДГОТОВКА

Реактиви	Количество	Код	Коментари
Тест касета	25 броя	B-LFCALUS-TC	вакуумно запечатани в торбичка от фолио
Екстракционен буфер	1 бутилка 125 mL	B-CAL-EX	Готов за употреба
Контроли Ниска* / Висока*	2 флакона 0.5 mL	B-CALE-CONSET	Готов за употреба
RFID Чип карта	1 брой	B-CALE-RCC	Бяла пластмасова карта
RFID Чип карта	1 брой	B-CALE-RCC720	Зелена пластмасова карта
Бар-код карта	1 брой	B-CALE-BCC	2D бар-код пластмасова карта

Таблица 1

* Контролите съдържат специфични за партида количества естествен човешки калпротектин.

ПРОВЕРЕТЕ ТЕСТОВИЯ КОМПЛЕКТ

Продуктите на BÜHLMANN са произведени с най-голямо внимание и са положени всички възможни усилия, за да се гарантира целостта на този тестов комплект и неговите характеристики. Независимо от това, съветваме ви да проверите тестовия си комплект за състоянието на тестовата касета и нейната опаковка въз основа на следните критерии:

- Срок на годност
- Безупречно състояние на опаковката (например липса на перфорация, която може да бъде причинена от неправилно боравене).
- Безупречно състояние на тестовата касета (например липса на драскотини по аналитичната мембрана).

Ако една от тестовите касети не отговаря на посочените по-горе критерии, моля, използвайте друга тестова касета.

СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАКТИВИТЕ

Неотворени реактиви	
Съхранявайте при 2-8 °C. Не използвайте реактивите след срока на годност, отпечатан върху етикетите.	
Отворени реактиви	
Тестова касета	Тестовите касети, извадени от фолиото, трябва да се използват в рамките на 4 часа.
Екстракционен буфер	Съхранявайте до 6 месеца при 2-8 °C след отваряне.
Контроли Ниска / Висока	Съхранявайте до 6 месеца при 2-8 °C след отваряне.

Таблица 2

РЕКАТИВИ & МАТЕРИАЛИ ДОПЪЛНИТЕЛНО ПРЕДОСТАВЕНИ

Устройства за екстракция на фецес

Устройствата за екстракция на фецес, описани в таблица 3 не се доставя с тест набора. Избраните устройства за екстракция трябва да се поръчат отделно.

Устройство за екстракция	Количество	Код
Устройство CALEX® Cap	Опаковка от 50, 200 или 500 епруветки, пълни с 5 mL екстракционен буфер Готови за употреба	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Smart-Prep	50 епруветки, съдържащи шпатули и основни капачки	B-CAL-RD

Таблица 3

ИЗИСКВАНИ МАТЕРИАЛИ, НО НЕ СА ПРЕДОСТАВЕНИ

- Vortex миксер за екстракция на фецес
- Точни пипети с еднократни връхчета: 10-100 µL, 100-1000 µL и 250-2500 µL
- Центрофуга
- 5 mL полипропиленови или полестиренови епруветки за разреждане на екстрактите
- Таймер (като възможност)

- Quantum Blue® Reader наличен от BÜHLMANN (каталожен номер за заявка: BI-POCTR-ABS)
- Меки кърпички или попивателна хартия

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Мерки за безопасност

- Контролите на този тест съдържат компоненти от човешки произход. Въпреки че са тествани и са установени отрицателни за повърхностен антиген на HBV, HCV и HIV1/2 антитела, с реагентите трябва да се работи така, сякаш са способни да предават инфекции и трябва да се работи в съответствие с Добрите лабораторни практики (GLP), като се използват подходящи предпазни мерки.
- Екстракционният буфер и контролите на този комплект съдържат компоненти, класифицирани в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008: 2-метил-4-изотиазолин-3-он хидрохлорид (конц. $\geq 0,0015\%$), поради което реагентите могат да причинят алергични кожни реакции (H317).
- С пробите от пациентите трябва да се работи така, сякаш са способни да пренасят инфекции и с тях трябва да се работи в съответствие с Добрата лабораторна практика (ДЛП), като се вземат подходящи предпазни мерки
- **Реагенти:** Избягвайте контакт на реагентите с кожата, очите или лигавиците. Ако възникне контакт, незабавно измийте обилно количество вода; в противен случай може да се появи дразнене.
- Реагентите и химикалите трябва да се третират като опасни отпадъци в съответствие с националните указания или разпоредби за безопасност при биологични опасности.

Технически предпазни мерки

Компоненти на комплекта

- Тестът трябва да се проведе при стайна температура (18-28 °C).
- Всички реактиви и тестови проби трябва да бъдат уравновесени до стайна температура (18-28 °C) преди започване на анализа.
- След като се уравни до стайна температура, извадете тест касетата от торбичката с фолио. Оставете тест касетата да се уравни в лабораторна среда за най-малко 2 минути преди да започнете анализа.
- Разбъркайте добре (разбъркайте) реагентите преди употреба.
- Компонентите на комплекта не трябва да се използват след изтичане на срока на годност, отпечатан върху етикетите.
- Не смесвайте различни партиди реагенти.
- Анализът е предназначен за фекални екстракти, приготвени с помощта на екстракционния буфер, предоставен в комплекта, или с устройството CALEX® Cap. Използването на други екстракционни буфери може да доведе до неправилни резултати.
- Не разглобявайте тест касетите.

- Работете внимателно с тест касетите. Не замърсявайте порта за зареждане на пробата или прозореца за отчитане при контакт с кожата, други течности и т.н. (фигура 1D).
- Осигурете плоска, хоризонтална позиция на тест касетата, докато извършвате анализа.
- Тест касетите не могат да се използват повторно.

Тест процедура

- Прочетете внимателно инструкциите, преди да извършите анализа. Ефективността на анализа ще бъде неблагоприятно засегната, ако реагентите бъдат неправилно разредени, боравени или съхранявани при условия, различни от тези, описани подробно в тази инструкция за употреба.
- Моля, имайте предвид, че има две поколения четци: Quantum Blue® Reader 2-ро поколение със серийни номера между 1000 и 3000 (QB2) и Quantum Blue® Reader 3-то поколение със серийни номера над 3000 (QB3G).
- QB2 трябва да бъде включен и програмиран за разширения анализ Quantum Blue® fCAL extended. Заредете метода за анализ, като използвате RFID чип картата (B-CALE-RCC или B-CALE-RCC720), преди да започнете анализа (вижте ръководството на Quantum Blue® Reader).
- QB3G трябва да бъде включен и програмиран за разширения анализ Quantum Blue® fCAL extended или чрез използване на карта с баркод (B-CALE-BCC) или чрез избиране от менюто за тестване (само в режим Fast Track). За повече информация, моля, вижте ръководството на Quantum Blue® Reader.
- Използвайте RFID чип карта (QB2) / карта с баркод (QB3G), за да промените специфични за партида параметри на теста.
- Пробите от пациенти, които не се обработват правилно, могат да доведат до неточни резултати.
- За да се получат надеждни и количествени резултати е важно пробата на изпражненията да се хомогенизира изцяло в екстракционния буфер в екстракционното устройство.
- Когато използвате BÜHLMANN Smart-Prep, важно е да центрофугирате екстрактите преди съхранение. Центрофугирайте епруветките за 5 минути при 3000 x g. След центрофугиране супернатантата трябва да се прехвърли в свежа епруетка за съхранение.

СЪБИРАНЕ НА ПРОБИ, СЪХРАНЕНИЕ, СТАБИЛНОСТ

За процедурата по екстракция се изисква по-малко от 1g 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 проби

Пробите от изпражненията трябва да бъдат получени за обработка в лабораторията в рамките на 3 дни след вземането. Пробите могат да се транспортират 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.

Стабилност на екстракта

Екстрактите от фекален калпротектин, получени с устройството CALEX® Cap, са стабилни при стайна температура (23 °C) в продължение на 7 дни и при 2-8 °C за до 15 дни. За по-дълго съхранение замразете екстрактите при -20 °C. Замразените екстракти са стабилни за период до 23 месеца.

Екстрактите от CALEX® Cap могат да се съхраняват и замразяват директно в устройството CALEX® Cap. Екстрактите могат да бъдат подложени на четири цикъла на замразяване-размразяване. Преди измерване оставете замразените екстракти да се уравнишат до стайна температура. За повторна употреба/повторно измерване на екстрактите вижте стъпка 2 от процедурата за анализ на главата.

Екстрактите от фекален калпротектин, получени от BÜHLMANN Smart-Prep, са стабилни при 2-8 °C за ≤ 7 дни или при -20 °C за 36 месеца.

ПРОЦЕДУРА НА АНАЛИЗА

The assay procedure consists of three steps:

1. Извличане на проби от изпражнения

Екстракцията е описана в инструкциите за употреба, доставени със съответните екстракционни устройства.

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

2. Обработка на пробите

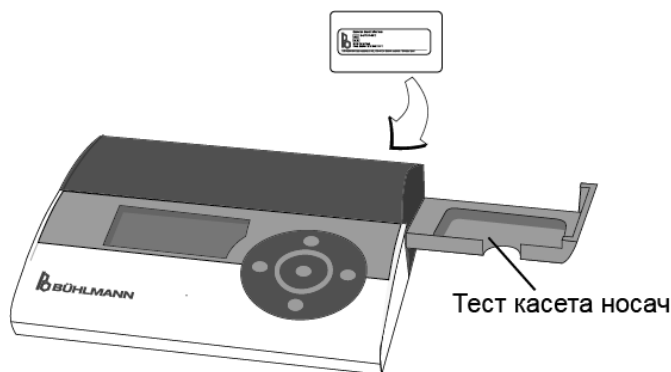
- Smart-Prep: Оставете екстракта от изпражненията да се утаи за 10 минути след екстракцията. Разреждете супернатантата 1:10 с екстракционен буфер (например 50 µL екстракт от изпражненията и 450 µL екстракционен буфер) и разбъркайте добре. Оставете пробите да се уравнишат за най-малко 5 минути при 18-28 °C, преди да преминете към следващата стъпка (стъпка № 3).
- Устройството CALEX® Cap: След екстракция оставете екстракта от изпражненията да се утаи за 10 минути с бялата глава на устройството надолу. Развийте синята капачка. Супернатантата може да се използва без допълнително разреждане в анализа на страничния поток.

3. Процедура за латерално-поточен анализ и отчитане

QB2

Два алтернативни метода могат да бъдат заредени от съответната RFID чип карта: B-CALE-RCC720 (с вътрешен таймер) или B-CALE-RCC (без вътрешен

таймер). Изберете една от RFID чип картите, преди да започнете експериментите. Заредете тестовия метод от RFID чип картата на Quantum Blue® Reader.



QB3G

От BÜHLMANN се предлагат два различни режима на работа за измерване на проби с QB3G: Fast Track Mode или Fail Safe Mode. Преди да започнете анализа, моля, информирайте се в кой режим на работа работи вашият четец.

Методът на тестване може да бъде зареден от картата с баркод (Fast Track и Fail Safe Mode) или, ако е бил използван преди това, да бъде избран от менюто за тестване (само режим Fast Track). Измерванията могат да се извършват със или без вътрешен таймер в режим Fast Track. Измерванията в Fail Safe режим могат да се извършват само с вътрешен таймер.

Следвайте инструкциите, предоставени на екрана на QB3G. Можете също да се обърнете към QB3G Quick Guides за Fast Track и Fail Safe режим.



3.1. Метод с вътрешен таймер

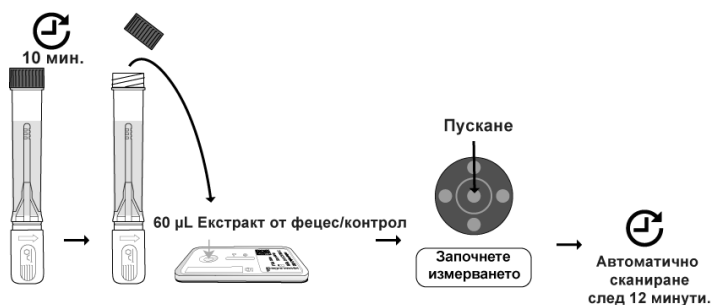
QB2: използвайте зелената RFID чип карта B-CALE-RCC720

QB3G (Fast Track Mode): когато бъдете подканени от QB3G да пропуснете времето за инкубация, изберете „NO“

QB3G (Fail Safe Mode): настройка по подразбиране

- Разопакувайте тест касетата и я уравнишете за поне 2 минути в лабораторна среда.
- Добавете 60 µL екстракт от изпражненията към порта за зареждане на пробата на тест касетата.
- Заредете тест касетата в държача за тест касета на четеца.

- Затворете държача на тест касетата и започнете измерването, като натиснете бутона за стартиране на QB2 или опцията “Start Measurement” на QB3G.
- Сканирането започва автоматично след 12 минути (720 секунди).
- За ниски/високи контроли: Повторете стъпка 3.1 с 60 µL контроли вместо екстракт от изпражнения.



3.2. Метод без вътрешен таймер

QB2: Използвайте бялата RFID чип карта B-CALE-RCC

QB3G (Fast Track Mode): когато бъдете подканени от QB3G да пропуснете времето за инкубация, изберете „YES“

QB3G (Fail Safe Mode): опцията не е налична

- Разпакувайте тест касетата и я уравновесете за поне 2 минути в лабораторна среда.
- Добавете 60 µL екстракт от изпражнения към порта за зареждане на пробата на тест касетата.
- Инкубирайте за 12 минути +/- 1 минута (задайте таймер ръчно).
- Заредете тест касетата в държача за тест касета на четца.
- Сканирайте тест касетата с Quantum Blue® Reader незабавно, като натиснете бутона за стартиране на QB2 или опцията „Стартиране на измерването“ на QB3G.
- За ниски/високи контроли: Повторете стъпка 3.2 с 60 µL контроли вместо екстракт от изпражнения.



Lorem ipsum

Забележка: Моля, направете справка с ръководството на вашия Quantum Blue® Reader, за да научите за основните функции и как да инициализирате и работите с Quantum Blue® Readers, особено как да изберете методи за тестване и как да заредите специфични за партида параметри от RFID чип картата (QB2) / карта с баркод (QB3G) на четца Quantum Blue® Reader. Уверете се, че тестовата касета е поставена правилно в четца Quantum Blue® Reader, като първо трябва да видите прозореца за отчитане (фигура 1D).

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

- Ако ефективността на анализа не корелира с установените граници и повторението изключва грешки в техниката, проверете следните въпроси: i) пипетиране, контрол на температурата и време ii) срок на годност на реагентите и iii) условия на съхранение и инкубация.
- Резултатът от самотеста на Quantum Blue® Reader, извършен при стартиране на инструмента, трябва да е валиден.

ВАЛИДАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- За валиден резултат от теста контролната линия (C) трябва да е видима във всеки случай (вижте фигури 1A и 1B). Използва се само като функционален тестов контрол и не може да се използва за интерпретация на тестовата линия (T). Ако тестовата линия (T) не може да бъде открита след 12 минути инкубационно време (фигура 1A), концентрацията на калпротектин, присъстващ в пробата от изпражнения, е под границата на откриване. Ако тестовата линия (T) бъде открита след 12 минути време на инкубация (фигура 1B), концентрацията на калпротектин, присъстваща в пробата от изпражнения, се изчислява от Quantum Blue® Reader.
- Ако само тестовата линия (T) е открита след 12 минути време на инкубация (фигура 1C), резултатът от теста е невалиден и анализът трябва да се повтори с друга тест касета.
- Ако нито контролната линия (C), нито тестовата линия (T) не се открият след 12 минути инкубационно време (фигура 1D), резултатът от теста е невалиден и анализът трябва да се повтори с друга тест касета.
- Тъй като Quantum Blue® Reader позволява количествена оценка на тестовите (T) и контролните (C) линии, се извършва допълнителна проверка на валидността на контролната линия (C). Ако интензитетът на сигнала на контролната линия (C) е под прага след 12 минути инкубационно време, резултатът от теста също е невалиден и анализът трябва да се повтори с друга тест касета.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

- Няма международно или национално признати референтни материали или референтни процедури за измерване на анализа на калпротектин в пробата от изпражнения. Quantum Blue® fCAL extended е стандартизиран с BÜHLMANN fCAL® ELISA (код за поръчка: EK-CAL), който е стандартизиран с помощта на вътрешен референтен материал.
- Quantum Blue® Reader използва специфична за партидата стандартна крива за изчисляване на концентрацията на калпротектин. 95% доверителен интервал на комбинираната несигурност на калибратора на продукта е по-нисък от 20,0 %, комбинираната несигурност на контролите е по-ниска от 30,0 %.
- Диапазонът на анализа е между 30 и 1000 µg/g.
- За да получите количествени резултати за концентрация на калпротектин между 850-1800 µg/g,

високи проби, отчитащи над 850 µg/g, могат да бъдат тествани повторно с BÜHLMANN Quantum Blue® high range тест за висок диапазон (код за поръчка: LF-CHR25).

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Реагентите, доставени с разширения комплект BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL extended, са предназначени само за определяне на нивата на калпротектин в проби от човешки изпражнения.
- Стойностите на фекалния калпротектин са предназначени като помощ при диагностициране при разграничаване на органично заболяване от функционално заболяване и като помощно средство за наблюдение на IBD. Резултатите винаги трябва да се интерпретират в комбинация с други клинични и лабораторни находки.
- За мониторинг на заболяването на IBD се предполага, че множество измервания на калпротектин на фекалиите, извършени на интервали от до 4 седмици, имат най-добра диагностична точност при прогнозиране на клиничен рецидив при пациенти (реф. 19-20).
- В редки случаи, когато нивата на калпротектин са изключително високи (над 5000 µg/g, например при остър UC), тестовата система може да бъде предразположена към ефект на кука с висока доза, което може да доведе до стойности под очакваните 1000 µg/g анализ граница на обхвата. Препоръчва се да се обърне особено внимание на резултатите над 300 µg/g, когато са придружени от силни симптоми.
- Пациентите, които редовно приемат НСПВС, може да имат 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 калпротектин в фекалиите (реф. 21-24).

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 при разграничаването на органични от функционални стомашно-чревни заболявания (реф. 1-7).

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 интерпретират във връзка с наличната информация от клиничните симптоми на пациента, медицинската история и други клинични и лабораторни находки.

Клинични прагове

Следните данни бяха установени с BÜHLMANN fCAL® ELISA (код за поръчка: EK-CAL).

Резултатите от 58 клинични проби от пациенти с диагноза IBS и 131 клинични проби от пациенти с диагноза IBD, от международно клинично проучване, бяха анализирани, за да се получат стойностите, описани в таблица 4.

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

Стойностите 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 възпаление.

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 на сивата зона, не са пряко показателни за активно възпаление, изискващо незабавно проследяване с инвазивно изследване. Въпреки това, наличието на възпаление не може да бъде изключено. Препоръчва се повторна оценка на нивата на фекалния калпротектин след 4 до 6 седмици за определяне на възпалителния статус.

Стойностите 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 разширения тест Quantum Blue® fCAL extended да разграничава пациентите с IBD и други невъзпалителни стомашно-чревни разстройства, включително IBS, беше оценена с помощта на клинични проби, събрани от 278 пациенти и извлечени с помощта на устройството CALEX® Cap. Сто двадесет и четири (124) пациенти са имали окончателна диагноза IBD (болест на Crohn, улцерозен колит или неопределен колит), 92 пациенти са страдали от IBS и 62 пациенти са с коремна болка и/или диария, или други, не свързани с GI -възпалителни състояния (вижте таблица 5). Окончателната диагноза беше подкрепена от ендоскопски, както и от други клинични находки.

Клинична чувствителност от 91,9 % при 80 µg/g и клинична специфичност от 78,6 % при 160 µg/g може да бъде постигната при диференциацията между IBD и невъзпалителните състояния, свързани с GI, включително IBS. Анализът на ROC кривата води до AUC от 0,901 (вижте таблица 6).

Клинична чувствителност от 91,9 % при 80 µg/g и клинична специфичност от 80,4 % при 160 µg/g може да бъде постигната при диференциацията между IBD и IBS. Анализът на ROC кривата доведе до AUC от 0,913 (вижте таблица 7).

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

II. IBD наблюдение

Клинични прагове

Определянето на фекален калпротектин също е надежден и прост начин за подпомагане на наблюдението на пациенти с IBD (справка 7-18).

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

Стойностите на калпротектин под 100 µg/g:

Нивата на фекален калпротектин под 100 µg/g могат надеждно да показват пациенти с нисък риск от клиничен рецидив, в ендоскопска ремисия, за които инвазивните ендоскопски процедури могат да бъдат избегнати (реф. 7-18).

Стойности на калпротектин между 100 и 300 µg/g:

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

Стойностите 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 направете допълнителни изследователски процедури (реф. 7-18).

Клинична оценка

Съотношението между нивата на калпротектин и възпалителния статус на чревната лигавица на пациентите, според ендоскопските оценки, е определено в три независими проучвания с помощта на BÜHLMANN калпротектин тестове (таблица 10). Диагностичната стойност на калпротектин 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 BÜHLMANN калпротектин тестове (таблица 11).

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ИЗПЪЛНЕНИЕ

Представените характеристики на производителност са установени на Quantum Blue® Reader 3rd Generation, с изключение на линейността, представена за двете поколения четци.

Quantum Blue® fCAL extended беше валидиран както на инструментите Quantum Blue® Reader от 2-ро и 3-то поколение. Посочените спецификации на работните характеристики се отнасят и за двете поколения четци.

Сравнение на методи

Отклонение в точките на клинично решение и средно отклонение: ≤ 15 %:

Изследването за сравнение на методите е извършено съгласно насоките на CLSI EP09-A3. Сто осемдесет и три (183) проби от изпражнения, екстрахирани с устройството CALEX® Cap, бяха измерени в продължение на 10 дни с три разширени партиди реагенти Quantum Blue® fCAL extended. Референтни стойности с краен интервал на концентрация на калпротектин от 30,5 до 925,8 µg/g са установени в клинично проучване с BÜHLMANN fCAL® ELISA, използвайки метода за ръчно претегляне и екстракция. Резултатите са обобщени в таблици 12 и 13.

Точност / Възстановяване: в рамките на 80 % – 120 %

Осем екстракта от проби от изпражнения бяха обогатени с 60,2 µg/g и 120,4 µg/g калпротектин в калибраторния материал на екстракти от изпражнения, съответно при 5 % и 10 % от обема на екстракта от пробата. Пробите за „изходно ниво“ бяха допълнени със съответния обем екстракционен буфер. Пробите „изходно ниво“ и „изходно ниво + пик“ бяха измерени в 13 повторения. Резултатите са обобщени в таблица 14.

Повторяемост: ≤ 25 % CV

В рамките на лабораторията прецизност: ≤ 25 % CV

Повторяемостта и прецизността в рамките на лабораторията бяха установени съгласно насоките на CLSI EP05-A3, като се използва стандартизиран дизайн на изследването 20 дни x 2 цикъла x 2 повторения. Изследвани са шест обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от 49,9 – 485,0 µg/g. Резултатите са обобщени в таблица 15.

Прецизност между партидите: ≤ 25 % 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. Изследвани са шест обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от 55,3 – 552,5 µg/g. Резултатите са обобщени в таблица 16.

Възпроизводимост между инструментите: ≤ 25 % CV

Прецизността между инструментите беше установена съгласно насоките на CLSI EP05-A3, като се използва дизайн на изследването с 3 инструмента x 5 дни x 5 повторения. Изследвани са шест обединени екстракта от изпражнения с концентрации на калпротектин в диапазона от 48,5 – 502,8 µg/g. Резултатите са обобщени в таблица 17.

Граница на откриване (LoD): ≤ 30 µg/g

LoD е установен съгласно насоките на CLSI EP17-A2, използвайки класическия подход, параметричен анализ и LoB <20 µg/g, определен чрез непараметричен анализ.

Граница на количествено определяне (LoQ): ≤ 30 µg/g

LoQ е установен в съответствие с насоките на CLSI EP17-A2, въз основа на 90 определения и цел за прецизност от 25 % CV.

Линейност: 25.2 to 908.9 µg/g

Линейният обхват на Quantum Blue® fCAL extended е определен съгласно насоките на CLSI EP06-A. Измерванията бяха извършени в 10 повторения на общо четири партии реагенти. Допуска се максимално отклонение от линейността от 20 % или 15 µg/g за проби под 75 µg/g. Резултатите са обобщени в таблица 18.

Висока доза „hook effect“

Тестването на „hook effect“ с висока доза беше извършено върху две партии реагенти. Проби с концентрации на калпротектин до 5000 µg/g бяха правилно посочени като над 1000 µg/g за всички повторения. За проби с по-високи стойности на концентрация на калпротектин (6308,2 – 11214,4 µg/g) са наблюдавани повторения със стойности под 1000 µg/g (643,4 µg/g най-ниските).

ПРЕДВАРИТЕЛНА АНАЛИЗ

CALEX® Cap екстракция възпроизводимост ≤ 30% 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. Бяха анализирани осем клинични проби от изпражнения с концентрации на калпротектин, вариращи от 51,2 – 615,3 µg/g. Резултатите са обобщени в таблица 19.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ ВЕЩЕСТВА

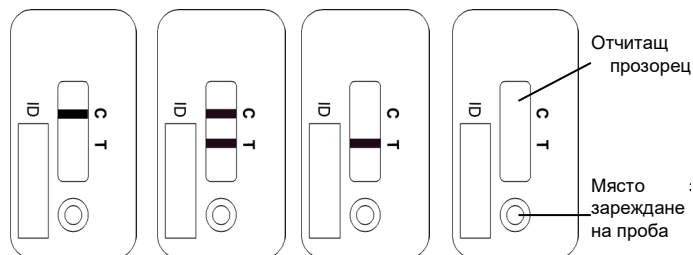
Чувствителността на разширения анализ Quantum Blue® fCAL extended към перорални фармацевтични продукти, хранителни добавки, хемоглобин, както и ентеропатологични микроорганизми беше оценена съгласно насоките на CLSI EP07-A2. Отклонение в резултатите над 20 % се счита за интерференция.

Не е установена интерференция с изброените в Таблица 20 вещества до посочените концентрации.

Не е установена интерференция с ентеропатологични микроорганизми, изброени в Таблица 21, до посочените количества колониеобразуващи единици (CFU) на mL екстракт от проба от изпражнения.

ТАБЛИЦИ И ФИГУРИ

Резултати от тестовете



Фигура 1А Фигура 1В Фигура 1С Фигура 1D
Фигура 1

Клинично изследване – разграничаване на органичното заболяване от функционалното стомашно-чревно заболяване

Окончателна диагноза	Разпределение на резултатите на пациентите в числа (проценти) в разширените диагностични обхвати на Quantum Blue® fCAL extended			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Total
IBD	10 (8.1%)	12 (9.7%)	102 (82.3%)	124
IBS	62 (67.4%)	12 (13.0%)	18 (19.6%)	92
Други GI	38 (61.3%)	9 (14.5%)	15 (24.2%)	62

Таблица 5

IBD срещу не-IBD	Точка на клинично решение	
	80 µg/g	160 µg/g
Чувствителност(95% CI)	91.9% (85.7%, 96.1%)	82.3% (74.4%, 88.5%)
Специфичност(95% CI)	64.9% (56.8%, 72.4%)	78.6% (71.2%, 84.8%)
PPV (95% CI)	67.9% (60.2%, 74.8%)	75.6% (67.4%, 82.5%)
NPV (95% CI)	90.9% (83.9%, 95.6%)	84.6% (77.6%, 90.1%)
ROC AUC (95% CI)	0.901 (0.865, 0.938)	

Таблица 6

IBD срещу IBS	Точка на клинично решение	
	80 µg/g	160 µg/g
Чувствителност(95% CI)	91.9% (85.7%, 96.1%)	82.3% (74.4%, 88.5%)
Специфичност(95% CI)	67.4% (56.8%, 76.8%)	80.4% (70.9%, 88.0%)
PPV (95% CI)	79.2% (71.6%, 85.5%)	85.0% (77.3%, 90.9%)
NPV (95% CI)	86.1% (75.9%, 93.1%)	77.1% (67.4%, 85.0%)
ROC AUC (95% CI)	0.913 (0.876, 0.950)	

Таблица 7

IBD срещу не-IBD	Точка на клинично решение	
	50 µg/g	200 µg/g
Чувствителност(95% CI)	96.0% (90.8%, 98.7%)	79.0% (70.8%, 85.8%)
Специфичност(95% CI)	50.6% (42.5%, 58.8%)	83.8% (77.0%, 89.2%)
PPV (95% CI)	61.0% (53.8%, 67.9%)	79.7% (71.5%, 86.4%)
NPV (95% CI)	94.0% (86.5%, 98.0%)	83.2% (76.4%, 88.7%)

Таблица 8

IBD срещу IBS	Точка на клинично решение	
	50 µg/g	200 µg/g
Чувствителност(95% CI)	96.0% (90.8%, 98.7%)	79.0% (70.8%, 85.8%)
Специфичност(95% CI)	52.2% (41.5%, 62.7%)	83.7% (74.5%, 90.6%)
PPV (95% CI)	73.0% (65.5%, 79.7%)	86.7% (79.1%, 92.4%)
NPV (95% CI)	90.6% (79.3%, 96.9%)	74.8% (65.2%, 82.8%)

Таблица 9

не-IBD - IBS + други GI

CI – доверителен интервал

PPV – положителна прогнозна стойност

NPV – отрицателна прогнозна стойност

ROC AUC – площ под кривата на работните характеристики на приемника

Клинични проучвания – IBD наблюдение

Калпротектин ¹ срещу Активността на IBD, определена от ендоскопски находки	Проучване 1 Испания (ref. 9)	Проучване 2 Испания (ref. 10)	Проучване 3 Австралия, Нова Зеландия (ref.11)
Брой на пациентите и демография	89 (CD ²) Възрасти: 32-58 44% мъже	123 (UC ³) Възрасти: 18-85 66.4% мъже	99 (CD ² след резекция) Възрасти: 29-47 46.5% мъже
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 10

¹ Проучване 1 & 2 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range

Проучване 3 – BÜHLMANN fCAL® ELISA

² CD = Пациенти с болест на Crohn

³ UC = Пациенти с улцерозен колит

Клинични проучвания – IBD наблюдение

Calprotectin ¹ срещу бъдеща клинична ремисия или рецидив	Проучване 4 Обединеното кралство (ref. 12)	Проучване 5 Испания (ref. 13)	Проучване 6 Испания (ref. 14)
Брой на пациентите и демография	92 (CD ²) 38% мъже	30 (CD ²) adalimumab терапия Възрасти: 24-64 43.3% мъже	33 (CD ²) 20 (UC ³) infliximab терапия Възрасти: 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

¹ Проучване 4 – BÜHLMANN fCAL® ELISA

Проучване 5 & 6 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range

² CD = Пациенти с болест на Crohn

³ UC = Пациенти с улцерозен колит

ТАБЛИЦИ И ФИГУРИ

Сравнение на методи

Регресионен анализ на преминаване-Баблок						
Наклон (95% CI)	Прихващане [$\mu\text{g/g}$] (95% CI)	Отклонение при 80 $\mu\text{g/g}$ (95% CI)	Отклонение при 100 $\mu\text{g/g}$ (95% CI)	Отклонение при 160 $\mu\text{g/g}$ (95% CI)	Отклонение при 300 $\mu\text{g/g}$ (95% CI)	r
1.123 (1.045, 1.221)	-2.7 (-11.3, 3.6)	8.9% (4.2%, 15.3%)	9.6% (4.6%, 16.8%)	10.6% (4.3%, 19.2%)	11.4% (3.8%, 21.1%)	0.900

Таблица 12

Анализ на Бланд-Алтман		
Среден bias (95 % CI)	Долна LoA (95 % CI)	Горна LoA (95 % CI)
9.7% (4.9%, 14.5%)	-54.6% (-62.8%, -46.4%)	74.0% (65.8%, 82.2%)

Таблица 13

Възстановяване

ID	Стойност на пика [$\mu\text{g/g}$]	Средно изходно ниво [$\mu\text{g/g}$]	Очаквано изходно ниво + пик [$\mu\text{g/g}$]	Наблюдавана се изходна линия + пик [$\mu\text{g/g}$]	Степен на възстановяване [%]
#1	60.2	52	112	110	99
#2	60.2	63	123	127	103
#3	60.2	63	123	131	107
#4	60.2	78	138	137	99
#5	60.2	115	175	179	102
#6	120.4	149	270	272	101
#7	120.4	221	341	341	100
#8	120.4	469	589	559	95

Таблица 14

В рамките на лабораторията прецизност

ID	Средно [$\mu\text{g/g}$]	n	В рамките на изпълнение (повторяемост) %CV	Между пусканията %CV	Между дните %CV	Обща прецизност %CV
S1	49.9	80	18.2	0.0	5.3	18.9
S2	87.1	80	17.0	0.0	2.9	17.2
S3	135.7	80	11.7	8.9	0.0	14.7
S4	213.2	80	14.5	6.5	1.8	16.0
S5	337.4	80	14.8	3.2	5.0	15.9
S6	485.0	80	21.4	0.0	0.0	21.4

Таблица 15

Прецизност между партидите

ID	Средно [$\mu\text{g/g}$]	n	В рамките на изпълнение (повторяемост) %CV	Между дните %CV	Между партидите %CV	Обща прецизност %CV
S1	55.3	75	16.6	10.0	0.0	19.4
S2	94.4	75	16.4	8.7	0.0	18.5
S3	155.2	75	20.1	2.6	2.1	20.4
S4	227.0	75	17.3	2.8	0.0	17.5
S5	361.5	75	16.9	2.5	4.8	17.7
S6	552.5	75	17.3	6.8	4.6	19.1

Таблица 16

Прецизност между апаратите

ID	Средно [$\mu\text{g/g}$]	n	В рамките на изпълнение (повторяемост) %CV	Между дните %CV	Между апаратите %CV	Пълна прецизност %CV
L1	48.5	75	16.9	2.4	4.3	17.6
L2	86.9	75	12.4	5.6	0.0	13.6
L3	151.6	75	19.4	3.2	0.0	19.7
L4	224.1	75	17.5	4.2	3.5	18.3
L5	355.0	75	17.0	4.9	0.0	17.7
L6	502.8	75	19.8	7.3	4.5	21.6

Таблица 17

Линейност

Серия за разреждане	Партида	Интервал на измерване [$\mu\text{g/g}$]	R2	p-стойност за нелинеен коефициент	Линеен обхват [$\mu\text{g/g}$]
1	M0527	15.5 до 939.1	0.911	<0.0001*	15.5 до 939.1
2	M2128	16.1 до 908.9	0.927	<0.0001*	25.2 до 908.9
3	M3048	11.7 до 972.9	0.856	0.018*	11.7 до 972.9
4	M4851	24.3 до 1004.2	0.939	<0.0001*	24.3 до 1004.2

Таблица 18: * значителен

Възпроизводимост на извличане преди анализ

ID	Средно [$\mu\text{g/g}$]	n	В рамките на пусканията %CV	между-				Общо %CV
				извличане %CV	Дни %CV	партида %CV	Оператор %CV	
S1	51.2	72	11.7	6.1	10.2	0.0	0.0	16.7
S2	63.5	72	19.0	9.9	4.3	0.0	0.0	21.9
S3	87.4	72	13.2	12.4	1.8	4.6	1.2	18.8
S4	159.5	72	16.6	0.0	5.0	0.0	2.1	17.5
S5	181.4	72	11.6	11.0	0.0	3.5	11.0	19.7
S6	270.5	72	15.1	12.5	6.6	9.6	6.4	23.7
S7	570.8	72	16.9	8.1	5.7	2.0	0.0	19.6
S8	615.3	72	17.0	8.9	9.3	0.0	0.0	21.3

Таблица 19

ТАБЛИЦИ И ФИГУРИ

Интерфериращи вещества

Търговско наименование	Активен компонент	Концентрация mg/50 mg изпражнения
Duofer Fol	Iron (II) sulfate (contains 0.4 mg folic acid)	0.11
Prednisone	Prednisone	0.31
Imurek	Azathioprine	0.19
Salofalk	Mesalamine; 5-ASA	5.21
Agopton	Lansoprazole	0.18
Asacol	Mesalamine; 5-ASA	2.50
Vancocin	Vancomycin	2.00
Bactrim	Sulfamethoxazole + Trimethoprim	1.7 + 0.35
Ciproxine	Ciprofloxacin	1.25
Vitamin E	DL- α -Tocopherol Acetate	0.30
Berocca	B1 (1.4 mg), B2 (1.6 mg), B6 (2 mg), B12 (1 μ g), C (60 mg), folic acid (200 mg), nicotinamid (18 mg), pantothensäure (6 mg), biotin (0.15 mg), calcium (120 mg), magnesium (120 mg), zink (9.5 mg)	1.06
Hemoglobin	Hemoglobin	1.25

Таблица 20

Име	Крайна концентрация (CFU/mL)
<i>Escherichia coli</i>	2.9 x 10 ⁶
<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i>	8.2 x 10 ⁶
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia</i>	4.5 x 10 ⁶
<i>Citrobacter freundii</i>	5.5 x 10 ⁶
<i>Shigella flexneri</i>	5.0 x 10 ⁶
<i>Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica</i>	5.3 x 10 ⁶

Таблица 21

1. Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality*. Lancet 356, 1783-4 (2000)
2. Tibble JA et al.: *A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease*. Gut 47,506-513 (2000).
3. Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123, 450-460 (2002)
4. Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E.: *Measurement of calprotectin in faeces*. Tidsskr Nor Legeforen 128, 743–5 (2008)
5. Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study*. BMC Gastroenterology 12, 5 (2012)
6. Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care*. Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7. Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease*. Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8. Lin JF et al.: *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity*. Inflamm Bowel Dis. Aug;20(8), 1407-15 (2014)
9. Lobatón T et al.: *A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease*. J Crohns Coliti, 7(12), 641-51 (2013)
10. Lobatón T et al.: *A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery*. Gastroenterology. 148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecal calprotectin test to predict relapse in Crohn's disease patients on maintenance treatment with adalimumab*. Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: *Fecal calprotectin as Predictor of Relapse in Patients with Inflammatory Bowel Disease Under Maintenance Infliximab Therapy*. J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectin Identifies Histologic Inflammation in Patients with Ulcerative Colitis In Clinical And Endoscopic Remission*. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasso A et al.: *Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study*. United European Gastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease*. Can J Gastroenterol Hepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target*. Am J Gastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin Predict Short-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-Blocking Agents In Inflammatory Bowel Disease Patients In Deep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al. *Consecutive fecal calprotectin measurements to predict relapse in patients with ulcerative colitis receiving infliximab maintenance therapy*. Inflamm Bowel Dis. 19, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months*. PLoS ONE 10(3) (2015)
23. Zhu Q. et al.: *Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years*. PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 78(1-2), 120-124 (2018)

ПРОМЕНИ

Дата	Версия	Промяна
2022-07-13	A4	Актуализирайте към глава <i>Storage and shelf life of reagents</i> Актуализирайте към глава <i>Reagents and materials supplied supplementary</i> Актуализирайте към глава <i>Precautions</i> Актуализирайте към глава <i>Standardization</i> Актуализирайте до <i>Limitation</i> regarding high dose hook effect Актуализирайте до <i>Clinical performance data in chapter Distinguishing organic disease from functional gastrointestinal disease, Clinical Evaluation</i> Актуализация на данните за ефективността в глава <i>Performance characteristics</i> Въведение на глава <i>Interfering substances</i> Ревизия на глава <i>Symbols</i> Включване на номера на нотифициран орган към CE маркировката – процедура за оценка на съответствието съгласно IVDR 2017/746

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.

ПОВРЕЖДЕНИЯ ОТ ПРАТКАТА

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

СИМВОЛИ

BÜHLMANN използва символите и знаците, изброени и описани в ISO 15223-1. Освен това се използват следните символи и знаци:

Символ	Обяснение
	Тест касета
	Буфер за извличане
	Контрол Нисък
	Висок контрол
	RFID Чип карта
	Карта с баркод

Части от комплекта са защитени с патент от EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

