



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Kalprotektin turbidimetrijska analiza
za profesionalnu upotrebu

Komplet Reagensa

B-KCAL-RSET
Verzija A5.1

Za *In Vitro* dijagnostičku upotrebu



Proizvođač

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Švicarska

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

NAMJENJENA UPOTREBA

BÜHLMANN fCAL[®] turbo je automatizirani *in vitro* dijagnostički test za kvantitativno određivanje kalprotektina u uzorcima ljudske stolice namijenjen kao pomoć pri procjeni upale crijevne sluznice (ref. 1-3). Rezultati istraživanja mogu se koristiti kao pomoć pri dijagnosticiranju za razlikovanje organske, upalne bolesti gastrointestinalnog sustava (upalna bolest crijeva, UBC, posebno Crohnove bolesti (CB) ili ulceroznog kolitisa (UK)) od funkcionalne bolesti (sindrom iritabilnog crijeva, SIC) (ref. 4-10), kod pacijenata sa kroničnom abdominalnom boli te kao pomoć pri praćenju bolesti UBC (ref. 10-22).

Samo za laboratorijsku upotrebu.

NAČELO ANALIZE

BÜHLMANN fCAL[®] turbo test je česticama pojačan turbidimetrijski imunološki test (PETIA) koji omogućava automatsku kvantifikaciju kalprotektina u fekalnom ekstraktu na kliničkim kemijskim analizatorima. Fekalni uzorci ekstrahiraju se ekstrakcijskim puferom korištenjem CALEX[®] Cap ekstrakcije ili ručnom ekstrakcijom te se primjenjuju u konačnom razrijeđenju od 1:500. Ekstrakti se inkubiraju sa reakcijskim puferom i mješaju sa polistirenskim nanočesticama obloženim sa antitijelima specifičnim za kalprotektin (imunočestice). Kalprotektin dostupan u uzorku posreduje u aglutinaciji imunočestica. Zamućenost uzorka, mjerena apsorbancijom svjetla, povećava se stvaranjem kompleksa kalprotektin-imunočestica i proporcionalna je koncentraciji kalprotektina. Detektirana apsorpcija svjetla omogućuje kvantifikaciju koncentracije kalprotektina putem interpolacije na utvrđenoj kalibracijskoj krivulji.

ISPORUČENI REAGENSI

Reagensi	Količina	Kod	Priprema
Reakcijski pufer (R1) MOPS puferirana fiziološka otopina	1 bočica 35 mL	B-KCAL-R1	Spremno za upotrebu
Imunočestice (R2) Polistirenske kuglice obložene sa ptičjim antitijelima protiv ljudskog kalprotektina	1 bočica 7 mL	B-KCAL-R2	Spremno za upotrebu

Tablica 1: Isporučeni reagensi

ČUVANJE I STABILNOST REAGENSA

Neotvoreni reagensi
Čuvati na 2-8 °C. Ne upotrebljavati komplet nakon isteka roka trajanja otisnutog na naljepnici.
Stabilnost nakon prvog otvaranja
Čuvati do 3 mjeseca na 5-12 °C.

Tablica 2: Čuvanje i stabilnost reagensa

Ne zamrzavati reagense!

POTREBNI ALI NEISPORUČENI MATERIJALI

Reagensi	Količina	Kod
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibracijski Komplet Kalibratori 1-6 za postavljanje kalibracijske krivulje u šest točaka	1 x 6 bočica 1 mL/bočica	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolni Komplet Kontrole nisko i visoko	3 x 2 bočica 1 mL/bočica	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Ekstrakcijski uređaj ispunjen sa ekstrakcijskim puferom	50 epruveta 200 epruveta 500 epruveta	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Ekstrakcijski Komplet Ekstrakcijski pufer	3 bočice 12 bočice 125 mL/bočica	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tablica 3: Potrebni ali neisporučeni materijali

UPOZORENJA I MJERE OPREZA

- Ovaj test je samo za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Imunočestice sadrže potencijalno zarazne tvari životinjskog podrijetla i s njima treba postupati u skladu s Dobrom Laboratorijskom Praksom (DLP) uz odgovarajuće mjere opreza.
- R2 sadrži nanočestice polistirena.
- Ovaj komplet sadrži komponente razvrstane u skladu s Uredbom (EZ) br. 1272/2008: 2-metil-4-izotiazolin-3-on hidroklorid (konc. $\geq 0,0015\%$), stoga reagensi mogu izazvati alergijske reakcije na koži (H317).
- Izbjegavati dodir reagensa s kožom, očima ili sluznicom. Ako dođe do dodira, odmah isprati velikom količinom vode; inače može doći do nadražaja / opekline.

Tehničke mjere opreza

- Molimo da se uravnoteži reagense, kontrole, kalibratore i uzorke kako je opisano u bilješci o primjeni.
- Isparavanje kalibratora i kontrola na analizatoru moglo bi dovesti do netočnih rezultata. Pokrenuti analizu odmah nakon punjenja analizatora.
- Ne miješati reagense R1 i R2 iz različitih serija reagensa niti mijenjati poklopce između reagensa.

- Reagens R2, jednom kada je zamrznut, više se ne može koristiti.
- Analiza je osmišljena za uzorke fekalnog ekstrakta pripremljene korištenjem specifičnog BÜHLMANN pufera za ekstrakciju.
- Uvjeriti se da uzorci nemaju mjehuriće prije izvođenja testa.
- Prijenos uzorka ovisi o kliničkom kemijskom analizatoru. Za više informacija pogledati napomenu za specifičnu primjenu analizatora.

PRIKUPLJANJE I SKLADIŠTENJE UZORAKA

Za postupak ekstrakcije, potrebno je manje od 1 g izvornog uzorka stolice. Prikupiti uzorak stolice u obične epruvete.

Važno: Uzorak se mora uzeti bez ikakvih kemijskih ili bioloških dodataka.

Transport uzorka

Uzorke stolice treba primiti na obradu u laboratorij unutar 3 dana od uzimanja. Uzorci stolice mogu se otpremiti na sobnoj temperaturi ili u hladnjaku.

Čuvanje uzorka

Uzorke stolice treba držati u hladnjaku na 2-8 °C i ekstrahirati unutar 3 dana od primitka u laboratorij. Ne skladištiti uzorke na povišenim temperaturama.

EKSTRAKCIJA UZORKA STOLICE I STABILNOST EKSTRAKTA

CALEX® Cap

Slijediti uputstva za upotrebu dostavljena sa CALEX® Cap kompletom. Ekstrakti fekalnih uzoraka pripremljeni korištenjem CALEX® Cap imati će konačno razrijeđenje od 1:500 i spremni su za upotrebu.

Tekući uzorci stolice mogu se pipetirati direktno u CALEX® Cap. Odviti plavi čep i odpipetirati 10 µL uzorka stolice u uređaj. Zatvoriti CALEX® Cap i nastaviti sa korakom miješanja na vorteksu u skladu sa postupkom ekstrakcije koji je opisan i ilustriran u uputstvima za upotrebu dostavljenima sa CALEX® Cap-om.

Važno: Centrifugirati CALEX® Cap 10 minuta na 1000 – 3000 g prije pokretanja BÜHLMANN fCAL® turbo postupka.

Fekalni kalprotektin u ekstraktima dobivenim pomoću CALEX® Cap je stabilan na sobnoj temperaturi (23 °C) tijekom 7 dana, na 2-8°C tijekom 15 dana i na -20°C do 23 mjeseca.

CALEX[®] Cap ekstrakti mogu se izravno zamrznuti i pohraniti unutar CALEX[®] Cap. Ekstrakti mogu biti podvrgnuti četirima ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja. Prije mjerenja, ostaviti zamrznute ekstrakte da se uravnoteže na sobnoj temperaturi, temeljito miješati na vorteksu 10 sekundi i centrifugirati u skladu sa uputstvima za upotrebu testa.

Ekstrakcijski Komplet

Za ručnu ekstrakciju slijediti uputstva za upotrebu dostavljena sa Ekstrakcijskim Kompletom. Ekstrakti fekalnih uzoraka pripremljeni korištenjem Ekstrakcijskog Kompleta imati će konačno razrijeđenje od 1:50. Razrijediti uzorke stolice na 1:10 u BÜHLMANN ekstrakcijskom puferu, dostavljenim u Ekstrakcijskom Kompletu, (npr. 50 µL ekstrakta i 450 µL ekstrakcijskog pufera) prije izvođenja BÜHLMANN fCAL[®] turbo postupka.

Fekalni kalprotektin u ekstraktima (1:50) dobiven ručnom ekstrakcijom je stabilan na 2-8 °C tijekom 7 dana ili na -20 °C do 36 mjeseci.

POSTUPAK

Bilješke o primjeni / instalacija testa

Postupci analize za BÜHLMANN fCAL[®] turbo su postavljeni na nekoliko kliničkih kemijskih analizatora. Potvrđene bilješke za primjenu koje opisuju instalaciju i analizu na određenim instrumentima su dostupne od strane BÜHLMANN na zahtjev. Prateći priručnici za instrumente moraju se uzeti u obzir prilikom postavljanja instrumenta, održavanja, izvršavanja i mjera opreza.

Priprema reagensa

Isporučeni reagensi su spremni za upotrebu. Miješati lagano prije stavljanja na instrument. Bočice sa reagensima mogu stati izravno u instrument, osim ako nije drugačije navedeno u bilješci za primjenu.

Postavljanje kalibracijske krivulje

BÜHLMANN fCAL[®] turbo Kalibracijski Komplet se koristi za uspostavljanje kalibracijske krivulje u šest točaka u skladu sa priručnikom od instrumenta. Kalibracijske vrijednosti su specifične za seriju. Nova kalibracija se mora provesti za svaki novi kalibrator i seriju reagensa. U protivnom, kalibraciju treba izvršiti svakih jedan do dva mjeseca u skladu s bilješkama za primjenu specifičnima za instrument. Pogledati QC-tehničke liste dostavljene sa BÜHLMANN fCAL[®] turbo Kalibracijskim Kompletom za dodijeljene vrijednosti kalibratora. Kontaktirati BÜHLMANN podršku ako kalibracija ne može biti izvedena bez pogreške.

QC kontrole

BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolni Komplet, mora se analizirati svaki dan prije pokretanja pacijentovog ekstrakta fekalnog uzorka kako bi se potvrdila kalibracijska krivulja. Kontrole imaju dodijeljene raspone vrijednosti navedene na QC-tehničkim listama isporučenima sa svakom serijom BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolnog Kompleta. Kontrolna mjerenja moraju biti unutar navedenih raspona vrijednosti kako bi se postigli valjani rezultati za ekstrakte fekalnih uzoraka pacijenta.

Ako kontrolne vrijednosti nisu važeće, ponovite mjerenje sa svježim kontrolama. Ako kontrolne vrijednosti ostanu nevažeće, recalibrirati test. Ako se valjane kontrolne vrijednosti ne mogu postići, nakon izvođenja gore opisanih koraka, kontaktirati BÜHLMANN podršku.

Mjerenje ekstrakta fekalnog uzorka pacijenta

Jednom kad se kalibracijska krivulja utvrdi i potvrdi sa kontrolama, pacijentov fekalni ekstrakt se može mjeriti. Provesti mjerenje fekalnog ekstrakta pacijenta u skladu sa bilješkama za primjenu i priručnikom od instrumenta.

Rezultati

Rezultati se računaju automatski na kliničkom kemijskom analizatoru i prikazuju u $\mu\text{g/g}$ osim ako nije drugačije navedeno u odgovarajućim specifičnim napomenama za primjenu kliničkog kemijskog analizatora.

STANDARDIZACIJA I MJERITELJSKA SLJEDIVOST

Nema međunarodno ili nacionalno priznatih referentnih materijala niti referentnih postupaka mjerenja za analit kalprotektina u uzorku stolice. BÜHLMANN fCAL® turbo je standardiziran prema interno utvrđenom referentnom materijalu, a vrijednosti kontrola i kalibratora su dodijeljene prema protokolu prijenosa vrijednosti (ref. 23, 24) kako bi se garantirala mjeriteljska sljedivost. 95%-tni interval pouzdanosti kombinirane nesigurnosti kalibratora proizvoda je utvrđen kao manji od 3,7%, kombinirana nesigurnost kontrola manja od 6,9%.

OGRANIČENJA

- Rezultate testova treba tumačiti zajedno sa informacijama dostupnim iz kliničke procjene pacijenta i ostalim dijagnostičkim postupcima.
- Za praćenje bolesti UBC-a, predloženo je da višestruka mjerenja fekalnog kalprotektina provedena u intervalima do 4 tjedna imaju najbolju dijagnostičku točnost u predviđanju kliničkog recidiva kod pacijenata (ref. 25-26).

- Unos nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID) može dovesti do povišene razine fekalnog kalprotektina.
- Rezultati možda nisu klinički primjenjivi na djecu mlađu od 4 godine koja imaju blago povećanu razinu fekalnog kalprotektina (ref. 27-30).

INTERPRETACIJA REZULTATA

I. Razlikovanje organskih bolesti od funkcionalnih gastrointestinalnih bolesti

Određivanje razine fekalnog kalprotektina može se koristiti kao pouzdana i jednostavna pomoć u razlikovanju organskih od funkcionalnih gastrointestinalnih bolesti (ref. 4-10). BÜHLMANN preporuča primjenu istih graničnih vrijednosti kao i za BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Klinički pragovi

Koncentracija kalprotektina	Interpretacija	Praćenje
< 80 µg/g	normalno	Nijedno
80 – 160 µg/g	Siva zona / Granično	Praćenje u roku od 4 do 6 tjedana
> 160 µg/g	Povišeno	Ponoviti po potrebi

Tablica 4: BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostički rasponi.

Kategorije rezultata temelje se na podacima iz kliničkih studija koje je proveo BÜHLMANN te su BÜHLMANN-ove preporuke. Sve rezultate ispitivanja treba tumačiti zajedno s informacijama dostupnim iz kliničkih simptoma pacijenta, povijesti bolesti, i drugih kliničkih i laboratorijskih nalaza:

Vrijednosti kalprotektina ispod 80 µg/g

Vrijednosti fekalnog kalprotektina <80 µg/g ne ukazuju na upalu u gastrointestinalnom sustavu. Pacijenti s niskom razinom kalprotektina vjerojatno neće trebati invazivne postupke za određivanje uzroka upale (ref. 4).

Vrijednosti kalprotektina između i jednake 80 i 160 µg/g

Srednje-fekalne razine kalprotektina između i jednake 80 i 160 µg/g, koje se nazivaju i razine sive zone, nisu izravni pokazatelj aktivne upale koja zahtijeva hitno praćenje invazivnim testiranjem. Međutim, prisutnost upale ne može se isključiti. Ponovljena procjena razine fekalnog kalprotektina nakon 4 do 6 tjedana se preporuča kako bi se odredio upalni status.

Vrijednosti kalprotektina veće od 160 µg/g

Vrijednosti fekalnog kalprotektina >160 µg/g ukazuju na infiltrat neutrofila u gastrointestinalnom traktu; stoga, to može signalizirati prisutnost aktivne upalne bolesti. Odgovarajući daljnji istražni postupci stručnjaka se preporučaju kako bi se postigla cjelokupna klinička dijagnoza.

Klinička procjena

Sposobnost BÜHLMANN fCAL® turbo da radi razliku između pacijenata sa UBC-om i ostalim neupalnim GI poremećajima, uključujući SIC, procijenjeno je pomoću kliničkih uzoraka sakupljenih od 295 pacijenata i ekstrahirano pomoću CALEX® Cap. Sto dvadeset i sedam (127) pacijenata imalo je konačnu dijagnozu UCB-a (Crohnova bolest, ulcerozni kolitis ili neodređeni kolitis), 103 pacijenta oboljelo je od UBC-a, a 65 pacijenata imalo je bolove u truhu i/ili proljev, ili druga neupalna stanja povezana s GI. Konačna dijagnoza potkrijepljena je endoskopskim i drugim kliničkim nalazima.

Optimalna granična kombinacija za ove uzorke pacijenata mogla bi se definirati ROC analizom na 80 µg/g i 160 µg/g kalprotektina (tablica 6 i 8), što je nešto strože od kombinacije osjetljivije donje granice od 50 µg/g s nižim performansama u specifičnosti i gornje granice od 200 µg/g s nešto manjom osjetljivošću (tablica 7 i 9).

Konačna dijagnoza	Distribucija pacijenata rezultira u brojkama (postotkom) unutar BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostičkih raspona.			
	< 80 µg/g	80 – 160 µg/g	> 160 µg/g	Ukupno
UBC	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
SIC	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Ostale GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Tablica 5: Distribucija pacijenata rezultira unutar BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostičkih raspona

UBC u odnosu na ne-UBC	Točka kliničke odluke	
	80 µg/g	160 µg/g
Osjetljivost (95% IP)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifičnost (95% IP)	69,6% (62,1%, 76,5%)	81,0% (74,2%, 86,6%)
PPV (95% IP)	69,5% (61,9%, 76,3%)	77,1% (69,3%, 83,8%)
NPV (95% IP)	91,4% (85,1%, 95,6%)	87,7% (81,5%, 92,5%)
ROC AUC (95% IP)	0,912 (0,878, 0,946)	

Tablica 6: Karakteristike kliničke učinkovitosti BÜHLMANN fCAL® turbo u razlučivanju UBC-a od ne-UBC – SIC i ostalih GI-povezanih poremećaja, pri 80 µg/g i 160 µg/g kliničkih točaka odluke

UBC u odnosu na ne-UBC	Točka kliničke odluke	
	50 µg/g	200 µg/g
Osjetljivost (95% IP)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifičnost (95% IP)	62,5% (54,7%, 69,8%)	85,7% (79,5%, 90,6%)
PPV (95% IP)	65,6% (58,2%, 72,4%)	81,0% (73,0%, 87,4%)
NPV (95% IP)	93,8% (87,5%, 97,5%)	85,2% (78,9%, 90,2%)

Tablica 7: Karakteristike kliničke učinkovitosti BÜHLMANN fCAL® turbo u razlučivanju UBC-a od ne-UBC – SIC i ostalih GI-povezanih poremaćaja, pri 50 µg/g i 200 µg/g kliničkih točaka odluke

UBC u odnosu na SIC	Točka kliničke odluke	
	80 µg/g	160 µg/g
Osjetljivost (95% IP)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifičnost (95% IP)	72,8% (63,2%, 81,1%)	83,5% (74,9%, 90,1%)
PPV (95% IP)	80,6% (73,1%, 86,7%)	86,4% (79,1%, 91,9%)
NPV (95% IP)	87,2% (78,3%, 93,4%)	81,9% (73,2%, 88,7%)
ROC AUC (95% IP)	0,925 (0,892, 0,958)	

Tablica 8: Karakteristike kliničke učinkovitosti BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju UBC od SIC na 80 µg/g i 160 µg/g kliničke točke odluke

UBC u odnosu na SIC	Točka kliničke odluke	
	50 µg/g	200 µg/g
Osjetljivost (95% IP)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifičnost (95% IP)	67,0% (57,0%, 75,9%)	88,3% (80,5%, 93,8%)
PPV (95% IP)	77,9% (70,5%, 84,2%)	89,5% (82,3%, 94,4%)
NPV (95% IP)	90,8% (81,9%, 96,2%)	78,4% (69,9%, 85,5%)

Tablica 9: Karakteristike kliničke učinkovitosti BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju UBC od SIC na 50 µg/g i 200 µg/g kliničke točke odluke

IP – interval pouzdanosti

PPV – pozitivna predviđena vrijednost

NPV – negativna predviđena vrijednost

ROC AUC – površina ispod krivulje značajke djelovanja prijavnika

II. Praćenje UBC-a

Klinički pragovi i procjena

Određivanje fekalnog kalprotektina je pouzdan i jednostavan način za pomoć pri praćenju pacijenata sa UBC-om (ref. 10-22).

Korelacija razine kalprotektina i upalnog statusa pacijentove crijevne sluznice, prema endoskopskim procjenama, je određena u tri neovisne studije korištenjem BÜHLMANN kalprotektinskih testova (tablica 10). Dijagnostička vrijednost kalprotektina u predviđanju kliničke remisije i relapsa, prema pacijentovim simptomima, indeksima kliničke aktivnosti, neplaniranoj potrebi za eskalacijom terapije, hospitalizacijom ili hitnim slučajevima je utvrđena u tri studije korištenjem BÜHLMANN kalprotektinskih testova (tablica 11).

Kalprotektin ¹ u odnosu na aktivnost UBC-a određene endoskopskim nalazima	Studija 1 Španjolska (ref. 12)	Studija 2 Španjolska (ref. 13)	Studija 3 Australija, Novi Zeland (ref. 14)
Broj pacijenata i demografska skupina	89 (CB ²) Starost: 32-58 44% muškarci	123 (UK ³) Starost: 18-85 66,4% muškarci	99 (CB ² nakon resekcija) Starost: 29-47 46,5% muškarci
Granica	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80,3%	53%

Tablica 10: Korelacija razina kalprotektina sa aktivnosti UBC-a određena endoskopskim procjenama.

¹ Rezultati za studije 1 i 2 dobiveni su BÜHLMANN analizom bočnog protoka (Quantum Blue® fCAL i Quantum Blue® fCAL high range). Rezultati u studiji 3 dobiveni su BÜHLMANN fCAL® ELISA.

² CB = pacijenti sa Crohnovom bolesti

³ UK = pacijenti sa Ulceroznim Kolutisom

Kalprotektin ¹ u odnosu na buduću kliničku remisiju ili relaps	Studija 4 UK (ref. 15)	Studija 5 Španjolska (ref. 16)	Studija 6 Španjolska (ref. 17)
Broj pacijenata i demografska skupina	92 (CB ²) 38% muškarci	30 (CB ²) terapija adalimumabom Starost: 24-64 43,3% muškarci	33 (CB ²) 20 (UK ³) terapija infliksimabom Starost: 18-68 47,2% muškarci
Vrijeme praćenja nakon mjerenja kalprotektina	12 mjeseci	4 mjeseci	12 mjeseci
Pacijenti u kliničkom relapsu nakon praćenja	11%	30%	23%
Granica	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8%	100%	96,1%
PPV	27,6%	75%	68,7%

Tablica 11: Određivanje dijagnostičke vrijednosti kalprotektina u predviđanju kliničke remisije i relapsu UBC bolesti.

¹ Rezultati za studiju 4 dobiveni su pomoću BÜHLMANN fCAL® ELISA. Rezultati za studije 5 i 6 dobiveni su pomoću BÜHLMANN analize bočnog protoka (Quantum Blue® fCAL i Quantum Blue® fCAL high range).

² CB = pacijenti sa Crohnovom bolesti

³ UK = pacijenti sa Ulceroznim Kolutisom

Prikazane kategorije rezultata su preporuke i njihovo utvrđivanje se temelji na sažetom znanju objavljenih graničnih vrijednosti i studijama kliničke učinkovitosti. Savjetuje se da zdravstveni djelatnici utvrde individualne pragove za pacijenta utvrđivanjem pacijentove početne razine kalprotektina tijekom remisije bolesti.

Vrijednosti kalprotektina ispod 100 µg/g

Razine fekalnog kalprotektina ispod 100 µg/g mogu pouzdano ukazivati na pacijente, sa niskim rizikom kliničkog recidiva, u endoskopskoj remisiji kod kojih bi se invazivni endoskopski postupci mogli izbjeći (ref. 10-22).

Vrijednosti kalprotektina između 100 – 300 µg/g

Razine fekalnog kalprotektina između 100 - 300 µg/g mogu ukazivati na potrebu strože kontrole u narednom razdoblju kako bi se procjenile tendencije razvoja bolesti.

Vrijednosti kalprotektina iznad 300 µg/g

Razine fekalnog kalprotektina iznad 300 µg/g trebalo bi ponoviti te, ako su povišene razine potvrđene, potaknuti daljnje istražne postupke (ref. 10-22).

KARAKTERISTIKE DJELOVANJA

Predstavljene karakteristike djelovanja utvrđene su na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu. Pogledati specifične napomene za primjenu kliničkog kemijskog analizatora za karakteristike djelovanja na ostalim kliničkim kemijskim analizatorima.

Usporedba metoda – fCAL® turbo CALEX® Cap u odnosu na fCAL® ELISA CALEX® Cap

Studija usporedbe metoda napravljena je u skladu s CLSI smjernicom EP09-A3. Stotinu devedeset i devet (199) kliničkih uzoraka je izmjereno korištenjem jedne serije BÜHLMANN fCAL® turbo preko 18 dana u jednom ciklusu kalibracije. Referentne vrijednosti, sa konačnim intervalom vrijednosti kalprotektina od 30,3 – 1672,5 µg/g, utvrđene su pomoću BÜHLMANN fCAL® ELISA. Uzorci su ekstrahirani korištenjem CALEX® Cap. Pojedinačna određivanja sa CALEX® Cap ekstrakata su provedena u obje metode. Odstupanje je određeno korištenjem Passing-Bablok linearne regresije i Bland-Altmanove analize.

Bland-Altman Analiza			Passing-Bablok Regresijska Analiza				
Srednje odstupanje (95% IP)	Donja LoA (95% IP)	Gornja LoA (95% IP)	Nagib (95% IP)	Sjecište [µg/g] (95% IP)	Odstupanje na 80 µg/g (95% IP)	Odstupanje na 160 µg/g (95% IP)	r
0,68% (-2,6%, 4,0%)	-46,0% (-51,6%, -40,3%)	47,3% (41,6%, 53,0%)	1,139 (1,104, 1,172)	-18,3 (-24,4, -13,2)	-9,0% (-15,1%, -3,1%)	2,4% (-1,2%, 5,4%)	0,982

Usporedba metoda – fCAL® turbo CALEX® Cap u odnosu na fCAL® ELISA ručnom ekstrakcijom

Studija usporedbe metoda napravljena je u skladu s CLSI smjernicom EP09-A3. Sto šezdeset osam (168) kliničkih uzoraka je ekstrahirano pomoću tri serije CALEX® Cap i izmjereno pomoću jedne serije BÜHLMANN fCAL® turbo tijekom 18 dana u jednom ciklusu kalibracije. Referentne vrijednosti, sa konačnim intervalom koncentracije kalprotektina od 30,5 – 1573,8 µg/g, utvrđene su korištenjem metode ručne ekstrakcije i mjerenjem ekstrakcije pomoću BÜHLMANN fCAL® ELISA. Ekstrakti su izmjereni pojedinačnim određivanjem u obje metode. Odstupanje je određeno korištenjem Passing-Bablok linearne regresije i Bland-Altmanove analize.

Bland-Altman Analiza			Passing-Bablok Regresijska Analiza				
Srednje odstupanje (95% IP)	Donja LoA (95% IP)	Gornja LoA (95% IP)	Nagib (95% IP)	Sjecište [µg/g] (95% IP)	Odstupanje na 80 µg/g (95% IP)	Odstupanje na 160 µg/g (95% IP)	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

Mogućnost obnavljanja (Studija procjene preciznosti na više mjesta): 3,2 – 9,1% CV

Mogućnost obnavljanja je utvrđena prema CLSI smjernici EP05-A3 korištenjem 3 laboratorijska mjesta x 5 dana x 5 ponavljanja dizajna studije. Osam skupnih ekstrakata uzoraka stolice sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 47,2 – 5475,6 µg/g je testirano.

Među-serijska preciznost: 2,4 – 8,2% CV

Među-serijska preciznost je utvrđena prema CLSI smjernici EP05-A3 korištenjem 3 serije x 5 dana x 5 ponavljanja dizajna studije. Osam skupnih ekstrakata uzoraka stolice sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 45,2 – 5303,1 µg/g je testirano.

Mogućnost ponavljanja: 0,7 – 8,3% CV

Preciznost unutar laboratorija: 1,4 – 9,1% CV

Mogućnost ponavljanja i unutar-laboratorijska preciznost utvrđene su prema CLSI smjernici EP05-A3 korištenjem standardiziranih 20 dana x 2 izvođenja x 2 ponovljena dizajna studije. Osam skupnih ekstrakata uzoraka stolice sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 42,9 – 5405,6 µg/g je testirano.

Mogućnost obnavljanja ekstrakcije – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV

Mogućnost obnavljanja ekstrakcije je utvrđena prema CLSI smjernici EP05-A3 korištenjem 2 dana x 2 operatera x 3 CALEX® Cap serije x 2 ekstrakcije x 3 ponovljena dizajna studije. Dvanaest kliničkih uzoraka stolice, uključujući uzorke čvrste, polučvrste i tekuće konzistencije, sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 42,7 – 3440,0 µg/g, je testirano.

Točnost / Oporavak: 93,6 – 102% CV

Sedam ekstrakata uzoraka stolice iz kliničkih uzoraka sa razinama kalprotektina u rasponu od 44,1 - 1076,3 µg/g bilo je obogaćeno sa 56,9 µg/g ili 227,8 µg/g kalprotektina u materijalu kalibratora. Dodavanje je provedeno na 10% volumena ekstrakta uzorka. “Osnovni” uzorci su obogaćeni sa odgovarajućim volumenom uzorka bez analita. “Osnovni” i “osnovni + šiljak” uzorci su izmjereni u četiri ponavljanja.

Prijenos uzorka

Prijenos uzorka je utvrđen prema CLSI smjernici EP10-A2. Nije otkriven statistički značajan prijenos pomoću BÜHLMANN fCAL® turbo testa na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu.

Granica Detekcije (LoD): 23,7 µg/g

LoD je utvrđena u skladu sa CLSI smjernicom EP17-A2 i sa udjelima lažno pozitivnih (α) manje od 5% i lažno negativnih (β) manje od 5% na temelju 120 određivanja, sa 60 slijepih i 60 ponavljanja niske razine; i **LoB od 16,7 µg/g**.

Granica Kvantitacije (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ je utvrđena u skladu sa CLSI smjernicom EP17-A2, na temelju 90 određivanja i cilju preciznosti od 20% CV. LoQ procjena je utvrđena ispod one od LoD te je stoga indicirana kao jednaka procjenjenoj LoD.

Linearni raspon: 9,13 – 13'339 µg/g

Linearni raspon BÜHLMANN fCAL[®] turbo je određen prema CLSI smjernici EP06-A. Uzorci sa koncentracijom preko 2000 µg/g su razrijeđeni automatski 1:10 pomoću analizatora. Maksimalno odstupanje od linearnosti u iznosu 10% je dopušteno. Za vrijednosti ispod 75 µg/g apsolutna razlika manja od 7,5 µg/g je dopuštena.

Hookov Efekt Visoke Doze

Uzorci sa teorijskim koncentracijama do 45'715 µg/g mogu se mjeriti bez ograničavanja mjernog raspona analize.

Interferentne tvari

Osjetljivost BÜHLMANN fCAL[®] turbo testa na oralne lijekove, dodatke prehrani, hemoglobin kao i enteropatološke mikroorganizme procjenjena je prema CLSI smjernici EP07-A2. Odstupanje u rezultatima koje premašuje 10% smatralo se smetnjom.

Nije otkrivena interferencija sa sljedećim tvarima [Koncentracija u mg/ 50 mg stolice]; gyno-Tardiferon (0,11), Prednizon (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vankomicin (2,00), Sulfametoksazol (1,6), Trimetoprim (0,35), Ciproxin (1,25), Vitamin E (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobin (1,25).

Nije otkrivena interferencija sa sljedećim enteropatološkim mikroorganizmima [Koncentracija u jedinicama koje tvore kolonije (CFU)/ mL ekstrakta stolice]; *Escherichia coli* ($3,3 \times 10^7$), *Salmonella enterica subsp. Enterica* ($9,0 \times 10^7$), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* ($5,3 \times 10^7$), *Citrobacter freundii* ($12,9 \times 10^7$), *Shigella flexneri* ($5,0 \times 10^7$), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* ($9,8 \times 10^7$).

REFERENCE

1. Nilsen T et al.: J Clin Lab Anal 2017 ; 31(4). doi: 10.1002/jcla.22061.
2. Mandic-Havelka A et al.: Clin Lab. 2017 ; 63(5):907-913.
3. Noebauer B et al.: Biochem Med (Zagreb) 2017 ; 27(3):030710.
4. Fagerhol MK: Lancet 2000; 356, 1783-4.
5. Tibble JA et al.: Gut 2000; 47, 506-13.
6. Tibble JA et al.: Gastroenterol 2002; 123, 450-60.
7. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2009; 129(8), 743-5.
8. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
9. Pavlidis P. et al.: Scand J Gastroenterol. 2013; 48(9), 1048-54.
10. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
11. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407-15.
12. Lobatón T et al.: J Crohns Colitis 2013, 641-51.
13. Lobatón T et al.: Inflamm Bowel Dis 2013; 19(5), 1034-42.
14. Wright et al.: Gastroenterology 2015; 148(5), 938-947.
15. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
16. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: J Clin Gastroenterol 2015; 50(2),147-51.
18. Guardiola J. et al.: Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014; 12(11) 1865-70.
19. Lason A et al.: United European Gastroenterol J 2015, 3(1) 72-9.
20. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 29(7), 369-72.
21. Peyrin-BL et al.: Am J Gastroenterol 2015, 110, 1324-38.
22. Ricciuto A et al.: Crit Rev Clin Lab Sci. 2019; 56(5):307-320.
23. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22.
24. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9.
25. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
26. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
27. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
29. Zhu Q. et al.: PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

DNEVNIK PROMJENA

Datum	Verzija	Promjena
2023-11-10	A5.1	Uključivanje informacija o patentima Revizija poglavlja <i>Simboli</i>

IZVJEŠĆIVANJE O INCIDENTIMA U DRŽAVAMA ČLANICAMA EU-A

Ukoliko se dogodio bilo kakav ozbiljan incident u vezi s ovim uređajem, molimo vas da bez odgađanja prijavite proizvođača i nadležno tijelo vaše države članice.

OŠTEĆENJE U PRIJEVOZU

Molimo da obavijestite svog distributera, ukoliko je ovaj proizvod primljen oštećen.

SIMBOLI

BÜHLMANN koristi simbole i znakove navedene i opisane u ISO 15223-1. Za definiciju simbola pogledajte rječnik simbola na:
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Dijelovi kompleta i pred-analitičkih postupaka su zaštićeni patentom EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

