



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Test turbidimetric de calprotectină
pentru utilizare profesională

Kit Reactiv

B-KCAL-RSET
Versiunea A5.1

Pentru Utilizarea Diagnosticului *In Vitro*



Producător

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Elveția

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

UTILIZARE

BÜHLMANN fCAL[®] turbo este un test automat de diagnosticare *in vitro* pentru determinarea cantitativă a calprotectinei în probele de fecale umane conceput ca un ajutor în evaluarea inflamației mucoasei intestinale (ref. 1-3). Rezultatele testului pot fi utilizate ca un ajutor pentru diagnosticare în diferențierea bolii organice, inflamatorii a tractului gastrointestinal (boala intestinului inflamat, IBD, în special boala lui Crohn (CD) sau colita ulcerativă (UC)) de boala funcțională (sindromul de intestin iritabil, IBS) (ref. 4-10), la pacienții cu dureri abdominale cronice și ca un ajutor în monitorizarea bolii IBD (ref. 10-22).

Doar pentru utilizare în laborator.

PRINCIPIUL TESTULUI

Testul BÜHLMANN fCAL® turbo este un test imuno turbidimetric îmbunătățit cu particule (PETIA) care permite cuantificarea automată a calprotectinei din extractele de fecale pe analizoarele automate de biochimie. Probele de fecale sunt extrase cu tampon de extracție utilizând extracție CALEX® Cap sau extracția manuală prin care se ajunge la o diluție finală de 1:500. Extractele sunt incubate cu tamponul de reacție și amestecate cu nanoparticule de polistiren căptușite cu anticorpi specifici calprotectinei (imunoparticule). Calprotectina disponibilă în probă mediază aglutinarea imunoparticulelor. Turbiditatea probei, măsurată prin absorbanta luminii, crește odată cu formarea complexului de imunoparticule cu calprotectina și este proporțională cu concentrația de calprotectină. Absorbanta luminii detectate permite cuantificarea concentrației de calprotectină prin intrapolarea pe o curbă de calibrare stabilită.

REACTIVI FURNIZAȚI

Reactivi	Cantitate	Cod	Preparare
Tampon de Reacție (R1) MOPS soluție salină tamponată	1 flacon 35 mL	B-KCAL-R1	Gata de utilizare
Imunoparticule (R2) Bile de polistiren căptușite cu anticorpi aviari anti calprotectină umană	1 flacon 7 mL	B-KCAL-R2	Gata de utilizare

Tabel 1: Reactivi furnizați

STOCAREA ȘI STABILITATEA REACTIVULUI

Reactivi nedeschiși
Stocare la 2-8 °C. Nu utilizați kitul după data expirării tipărită pe etichete.
Stabilitate la-bord
Stocare timp de până la 3 luni la 5-12 °C.

Tabel 2: Stocarea și stabilitatea reactivilor

Nu înghețați reactivii!

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

Reactivi	Cantitate	Cod
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de Calibratori Calibratori 1-6 pentru stabilirea unei curbe de calibrare în șase puncte	1 x 6 flacoane 1 mL/flacon	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de Controale Controale low și high	3 x 2 flacoane 1 mL/flacon	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Dispozitiv de extracție umplut cu tampon de extracție	50 tuburi 200 tuburi 500 tuburi	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit de Extracție Tampon de extracție	3 flacoane 12 flacoane 125 mL/flacon	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabel 3: Materiale necesare dar nefurnizate

ATENȚIONĂRI ȘI PRECAUȚII

- Acest test este doar pentru utilizarea diagnosticului *in vitro*.
- Immunoparticulele conțin substanțe potențial infecțioase de origine animală și ar trebui manipulate în conformitate cu Practicile Bune de Laborator (GLP) utilizând precauții adecvate.
- R2 conține nanoparticule de polistiren.
- Acest kit conține componente clasificate în conformitate cu Regulamentul (CE) Nr. 1272/2008: hidrociorură de 2-metil-4-izotiazolin-3-onă (conc. $\geq 0.0015\%$), prin urmare reactivii pot cauza reacții alergice ale pielii (H317).
- Evitați contactul reactivilor cu pielea, ochii sau membranele mucoase. Dacă are loc contactul, spălați imediat cu cantități generoase de apă, în caz contrar pot apărea arsuri/iritație.

Precauții tehnice

- Vă rugăm să echilibrați reactivii, controalele, calibratorii și probele după cum este descris în nota aplicației.
- Evaporarea calibratorilor și controalelor de pe analizor ar putea conduce la rezultate incorecte. Efectuați testul imediat după încărcarea analizorului.

- Nu amestecați reactivii R1 și R2 din loturi diferite de reactivi sau nu schimbați capacele între reactivi.
- Reactivul R2, o dată înghețat, nu mai poate fi utilizat.
- Testul este conceput pentru probele din extractul de fecale preparat prin utilizarea tamponului specific de extracție de la BÜHLMANN.
- Asigurați-vă că probele nu au bule înainte de efectuarea testului.
- Carry over-ul probei depinde de analizorul automat de biochimie clinică. Pentru mai multe informații consultați nota aplicației specifică analizorului.

RECOLTAREA ȘI STOCAREA PROBEI

Pentru procedura de extracție, e necesar mai puțin de 1 g de probă din scaun nativ. Recoltați proba din scaun în tuburi simple.

Important: Proba trebuie să fie recoltată fără nici un fel de aditivi chimici sau biologici.

Transportul probelor

Probele din scaun ar trebui să fie primite pentru procesarea de către laborator în decurs de 3 zile de la recoltare. Probele din scaun pot fi transportate la frigider sau la temperatura camerei.

Stocarea probelor

Probele din ser ar trebui să fie puse la frigider la 2-8 °C și extrase în interval de 3 zile de la recepția din laborator. Nu stocați probele la temperaturi crescute.

EXTRACȚIA PROBEI DIN SCAUN ȘI STABILITATEA EXTRACTULUI

CALEX® Cap

Urmați instrucțiunile de utilizare furnizate cu kitul pentru CALEX® Cap. Extractele din proba de fecale preparate utilizând CALEX® Cap vor avea o diluție finală de 1:500 și sunt gata de utilizare.

Probele lichide din scaun pot fi pipetate direct în CALEX® Cap. Deșurubați capacul albastru și pipetați 10 µL din proba de scaun în interiorul dispozitivului. Reînșurubați CALEX® Cap și continuați cu etapa de vortexare în conformitate cu procedura de extracție descrisă și ilustrată în instrucțiunile de utilizare livrate cu CALEX® Cap.

Important: Centrifugați CALEX® Cap 10 minute la 1000 – 3000 x g înainte de efectuarea procedurii BÜHLMANN fCAL® turbo.

Calprotectina din fecale din extractele obținute prin CALEX® Cap este stabilă la temperatura camerei (23 °C) timp de 7 zile, la 2-8 °C timp de 15 zile și la -20 °C timp de până la 23 de luni.

Extractele pentru CALEX® Cap pot fi direct înghețate și stocate în interiorul CALEX® Cap. Extractele pot fi supuse la patru cicluri de înghețare-dezghetare. Înainte de măsurare, permiteți extractelor înghețate să se echilibreze la temperatura camerei, vortexați bine timp de 10 secunde și centrifugați în conformitate cu instrucțiunile de utilizare ale testului.

Kitul de Extracție

Pentru extracția manuală urmați instrucțiunile de utilizare furnizate cu Kitul de Extracție. Extractele din proba de fecale preparată utilizând Kitul de Extracție va avea o diluție finală de 1:50. Diluați extractele din scaun 1:10 în tamponul de extracție BÜHLMANN, furnizat în Kitul de Extracție, (ex.gen. 50 µL extract și 450 µL de extracție) înainte de efectuarea procedurii BÜHLMANN fCAL® turbo.

Calprotectina din fecale din extractele (1:50) obținute prin extracție manuală este stabilă la 2-8 °C timp de 7 zile sau la -20 °C timp de până la 36 de luni.

PROCEDURA

Nota aplicației / instalarea testului

Procedurile de testare pentru BÜHLMANN fCAL® turbo sunt stabilite pe mai multe analizoare automate de biochimie clinică. Notele aplicației validate care descriu instalarea și analiza pe instrumente specifice sunt disponibile la cerere de la BÜHLMANN. Trebuie luate în considerare manualele corespunzătoare ale instrumentului pentru configurarea, întreținerea, operarea și măsurile de precauție ale instrumentului.

Prepararea reactivului

Reactivii furnizați sunt gata de utilizare. Omogenizați ușor înainte de încărcarea pe instrument. Flacoanele de reactiv se pot încarca direct în interiorul instrumentului, doar dacă nu s-a specificat altfel în instrucțiunile aplicației.

Stabilirea curbei de calibrare

Kitul Calibrator BÜHLMANN fCAL® turbo este utilizat pentru a stabili o curbă de calibrare în șase puncte în conformitate cu manualul instrumentului. Valorile calibratorului sunt specifice pentru fiecare lot. O calibrare nouă trebuie efectuată pentru fiecare calibrator nou și fiecare lot de reactiv. În caz contrar, calibrarea ar trebui să fie efectuată în fiecare lună până la două luni în conformitate cu instrucțiunile de folosire. Consultați instrucțiunile de

folosire furnizate împreuna cu kitul de Calibrator BÜHLMANN fCAL® turbo pentru valorile atribuite calibratorului. Contactați echipa de suport BÜHLMANN dacă calibrarea nu poate fi efectuată fără eroare.

Controalele QC

Kitul Control BÜHLMANN fCAL® turbo, trebuie să fie rulat la fiecare sesiune de lucru înainte de testarea extractelor din proba de fecale de la pacienti pentru a valida curba de calibrare. Controalele au intervale de valori atribuite indicate pe instructiunire furnizate cu fiecare lot al Kitului de Control BÜHLMANN fCAL® turbo. Măsurătorile controlului trebuie să se încadreze în intervalul valorii indicate pentru a obține rezultate valide pentru extractele din proba de fecale de la pacient.

Dacă valorile controlului nu sunt valide, repetați măsurarea cu controale proaspete. Dacă valorile controlului rămân invalide, recalibrați testul. Dacă nu pot fi reproduse valori valide ale controlului, după efectuarea etapelor descrise mai sus, contactați suportul de la BÜHLMANN.

Măsurarea extractului din proba de fecale de la pacient

O data ce o curbă de calibrare este stabilită și validată cu controale, extractele din fecalele de la pacientul pot fi măsurate. Efectuați măsurarea extractului din fecalele pacientului în conformitate cu nota aplicației și cu manualul instrumentului.

Rezultate

Rezultatele sunt calculate automat pe analizorul automat de biochimie clinică și prezentate în $\mu\text{g/g}$ doar dacă nu s-a specificat altfel în notele aplicației corespunzătoare specifice analizorului automat de biochimie clinică.

STANDARDIZAREA ȘI TRASABILITATEA METROLOGICĂ

Nu există materiale de referință recunoscute pe plan național și internațional sau proceduri măsurare a referinței pentru analitul de calprotectină în proba din scaun. BÜHLMANN fCAL® turbo este standardizat față de un material de referință stabilit intern iar valorile controalelor și calibratorilor sunt atribuite în conformitate cu un protocol de transfer a valorii (ref. 23, 24) pentru a garanta trasabilitatea metrologică. Intervalul de confidență 95% al incertitudinii combinate a calibratorilor produsului a fost determinat ca mai mic decât 3,7%, incertitudinea combinată a controalelor e de sub 6,9%.

LIMITE

- Rezultatele testului ar trebui să fie interpretate împreună cu informația disponibilă din evaluarea clinică a pacientului și alte proceduri de diagnosticare.
- Pentru monitorizarea bolii IBD, s-a sugerat că măsurătorile multiple ale calprotectinei din fecale efectuate la intervale de până la 4 săptămâni au cea mai bună precizie de diagnosticare în prezicerea recidivei clinice la pacienți (ref. 25-26).
- Aportul de medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (NSAID) poate conduce la nivele crescute ale calprotectinei din fecale.
- E posibil ca rezultatele să nu poată fi aplicabile din punct de vedere clinic la copiii cu vârsta sub 4 ani care au nivele ușor crescute ale calprotectinei din fecale (ref. 27-30).

INTERPRETAREA REZULTATELOR

I. Diferențierea bolii organice de boala gastrointestinală funcțională

Determinarea nivelului de calprotectină din fecale poate fi utilizată ca un instrument simplu și fiabil în diferențierea bolilor organice de bolile gastrointestinale funcționale (ref. 4-10). BÜHLMANN recomandă aplicarea aceluiași valori de cut-off ca și a celor pentru BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Praguri clinice

Concentrația de calprotectină	Interpretare	Urmărire
< 80 µg/g	Normală	Nici una
80 – 160 µg/g	Zona gri / Limita	Urmărire în interval de 4 – 6 săptămâni
> 160 µg/g	Crescută	Repetăți după cum e necesar

Tabel 4: Intervale ale diagnosticului fCAL® turbo BÜHLMANN.

Categoriile de rezultate sunt bazate pe datele de la studiile clinice efectuate de BÜHLMANN și sunt recomandări ale BÜHLMANN. Toate rezultatele testului trebuie să fie interpretate împreună cu informația disponibilă din simptomele clinice ale pacientului, istoricul medical, și alte constatări clinice și de laborator:

Valori ale calprotectinei sub 80 µg/g

Valori ale calprotectinei din fecale <80 µg/g nu sunt indicativul unei inflamații în tractul gastrointestinal. Nu este probabil ca pacienții cu nivele scăzute de calprotectină să aibă nevoie de proceduri invazive pentru a determina cauza inflamației (ref. 4).

Valori ale calprotectinei între și egale cu 80 și 160 µg/g

Nivelele medii ale calprotectinei din fecale între și egale cu 80 și 160 µg/g, denumite de asemenea nivele ale zonei-gri, nu sunt indicativul direct al unei inflamații active care necesită urmărirea imediată cu testarea invazivă. Prin urmare, prezența inflamației nu poate fi exclusă. Este recomandată reevaluarea nivelelor de calprotectină din fecale după 4 până la 6 săptămâni pentru a determina starea inflamatorie.

Valori ale calprotectinei de peste 160 µg/g

Valori ale calprotectinei din fecale >160 µg/g reprezintă indicativul infiltratului de neutrofile în tractul gastrointestinal; prin urmare, acest lucru poate semnala prezența bolii inflamatorii active. Sunt sugerate proceduri de investigație suplimentare adecvate de către specialiști pentru a obține un diagnostic clinic general.

Evaluare clinică

Capacitatea testului BÜHLMANN fCAL[®] turbo de a diferenția între pacienții cu IBD și cei cu alte tulburări GI ne-inflamatorii, inclusiv IBS, a fost evaluată utilizând probe clinice recoltate de la 295 de pacienți și extrase prin utilizarea CALEX[®] Cap. 127 pacienți au avut un diagnostic final de IBD (boala lui Crohn, colită ulcerativă sau colită nedeterminată), 103 pacienți au suferit de IBS iar 65 de pacienți au prezentat durere abdominală și/sau diaree, sau alte afecțiuni ne-inflamatorii legate-de GI. Diagnosticul final a fost susținut atât de rezultatele endoscopice cât și de alte studii clinice.

Combinarea optimă de cut-off pentru aceste grupuri de pacienți ar putea fi definită prin analiza ROC la calprotectină 80 µg/g și 160 µg/g (tabelele 6 și 8), care este ușor mai strictă decât o combinație a unui cut off inferior mai sensibil de 50 µg/g cu rezultat mai scăzut în specificitate, și a unui cut off superior de 200 µg/g cu sensibilitate ușor scăzută (tabelele 7 și 9).

Diagnostic final	Distribuția rezultatelor de la pacienți în numere (procent) în cadrul intervalelor de diagnostic al BÜHLMANN fCAL® turbo.			
	< 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%)
Alte GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

Tabel 5: Distribuția rezultatelor de la pacienți în cadrul intervalelor de diagnostic pentru BÜHLMANN fCAL® turbo

IBD vs. non-IBD	Punct de decizie clinică	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilitate (95% CI)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specificitate (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)	

Tabel 6: Caracteristici ale rezultatului clinic al BÜHLMANN fCAL® turbo în diferențierea IBD de IBD non-IBD – IBS și alte tulburări legate-de GI, la punctele de decizie clinică de 80 µg/g și 160 µg/g

IBD vs. non-IBD	Punct de decizie clinică	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilitate (95% CI)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specificitate (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%)

Tabel 7: Caracteristici ale rezultatului clinic al BÜHLMANN fCAL® turbo în diferențierea IBD de IBD non-IBD – IBS și alte tulburări legate-de GI, la punctele de decizie clinică de 50 µg/g și 200 µg/g

IBD vs. IBS	Punct de decizie clinică	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilitate (95% CI)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specificitate (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)	

Tabel 8: Caracteristici ale rezultatului clinic al BÜHLMANN fCAL® turbo în diferențierea IBD de IBS la punctele de decizie clinică de 80 µg/g și 160 µg/g

IBD vs. IBS	Punct de decizie clinică	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilitate (95% CI)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specificitate (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%)

Tabel 9: Caracteristici ale rezultatului clinic al BÜHLMANN fCAL® turbo în diferențierea IBD de IBS la punctele de decizie clinică de 50 µg/g și 200 µg/g

CI – interval de confidență

PPV – valoare predictivă pozitivă

NPV – valoare predictivă negativă

ROC AUC – zonă sub curba caracteristică de funcționare a receptorului

II. Monitorizare IBD

Praguri clinice și evaluare

Determinarea calprotectinei din fecale este un mod fiabil și simplu de a ajuta la monitorizarea pacienților cu IBD (ref. 10-22).

Corelarea nivelelor de calprotectină și a stării inflamatorii a mucoasei intestinale de la pacienți, în conformitate cu evaluările endoscopice, a fost realizată în trei studii independente utilizând testele de calprotectină BÜHLMANN (tabel 10). Valoarea de diagnostic a calprotectinei în prezicerea remisiei clinice și a recidivei, în conformitate cu simptomele pacientului, indiciile de activitate clinică, necesitatea neplanificată de escaladare a terapiei, spitalizarea sau urgența a fost determinată în trei studii utilizând testele de calprotectină BÜHLMANN (tabel 11).

Calprotectina ¹ vs activitatea IBD determinată prin studii de endoscopie	Studiu 1 Spania (ref. 12)	Studiu 2 Spania (ref. 13)	Studiu 3 Australia, Noua Zeelandă (ref. 14)
Număr de pacienți și date demografice	89 (CD ²) Vârste: 32-58 44% bărbați	123 (UC ³) Vârste: 18-85 66,4% bărbați	99 (CD ² după rezeecție) Vârste: 29-47 46,5% bărbați
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80,3%	53%

Tabel 10: Corelarea nivelelor de calprotectină cu activitatea bolii IBD determinată prin evaluări ale endoscopiei.

¹ Rezultatele pentru studiile 1 și 2 au fost obținute cu testele de flux lateral BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL cu Quantum Blue® fCAL high range). Rezultatele din studiul 3 au fost obținute cu BÜHLMANN fCAL® ELISA).

- ² CD = pacienți cu boala lui Crohn
³ UC = pacienți cu Colită Ulcerativă

Calprotectina¹ vs viitoare remisie sau recidivă clinică	Studiu 4 UK (ref. 15)	Studiu 5 Spania (ref. 16)	Studiu 6 Spania (ref. 17)
Număr de pacienți și date demografice	92 (CD ²) 38% bărbați	30 (CD ²) terapie cu adalimumab Vârste: 24-64 43,3% bărbați	33 (CD ²) 20 (UC ³) terapie cu infliximab Vârste: 18-68 47,2% bărbați
Perioadă de urmărire după măsurarea calprotectinei	12 luni	4 luni	12 luni
Pacienți în recidivă clinică după urmărire	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%

Tabel 11: Determinarea valorii diagnosticului de calprotectină în prezicerea remisiei clinice și a recidivei bolii IBD.

¹ Rezultatele pentru studiul 4 au fost obținute cu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Rezultatele pentru studiile 5 & 6 au fost obținute cu testele de flux lateral BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL cu Quantum Blue® fCAL high range).

² CD = Pacienți cu boala lui Crohn

³ UC = Pacienți cu Colită Ulcerativă

Categoriile de rezultate prezentate sunt recomandări iar stabilirea lor se bazează pe cunoștințe condensate despre cut-off-urile publicate și despre studiile rezultatelor clinice. Se recomandă ca profesioniștii din domeniul sănătății să stabilească praguri individuale pentru pacienți prin determinarea nivelului de bază de calprotectină al pacientului în timpul remisiei bolii.

Valori ale calprotectinei sub 100 µg/g

Nivelele calprotectinei din fecale aflate sub 100 µg/g pot indica în mod fiabil pacienții cu risc scăzut de recidivă clinică, în remisia endoscopică pentru care pot fi evitate procedurile endoscopice invazive (ref. 10-22).

Valori ale calprotectinei între 100 – 300 µg/g

Nivelele calprotectinei din fecale aflate între 100 - 300 µg/g pot indica necesitatea unui control mai strict în perioada următoare pentru a evalua tendințele de dezvoltare a bolii.

Valori ale calprotectinei peste 300 µg/g

Nivelele calprotectinei din fecale de peste 300 µg/g trebuie repetate și, dacă sunt confirmate nivele crescute, solicită proceduri ulterioare de investigație (ref. 10-22).

CARACTERISTICI ALE REZULTATULUI

Caracteristicile prezentate ale rezultatului au fost stabilite pe un analizor cobas® 6000 c501 Roche. Consultați instrucțiunile de lucru specifice ale analizorului automat de biochimie clinică pentru caracteristici ale rezultatului pe alte analizoare automate de biochimie clinică.

Compararea metodei – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

Studiul de comparare al metodei a fost efectuat în conformitate cu ghidul EP09-A3 al CLSI. Au fost măsurate 199 de probe clinice utilizând un lot de fCAL® turbo BÜHLMANN de-a lungul a 18 zile într-un ciclu de calibrare. Valorile de referință, cu un interval final al concentrației de calprotectină de 30.3 – 1672.5 µg/g, au fost stabilite cu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Probele au fost supuse extracției utilizând CALEX® Cap. Determinările unice din extractele CALEX® Cap au fost efectuate în ambele metode. Biasul a fost determinat utilizând regresia liniară Passing-Bablok și analiza Bland-Altman.

Analiza Bland-Altman			Analiza de Regresie Passing-Bablok				
Bias mediu (95% CI)	LoA Inferior (95% CI)	LoA Superior (95% CI)	Inclinare (95% CI)	Intercept [µg/g] (95% CI)	Bias la 80 µg/g (95% CI)	Bias la 160 µg/g (95% CI)	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

Compararea metodei – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA cu extracție manuală

Studiul de comparare al metodei a fost efectuat în conformitate cu ghidul EP09-A3 al CLSI. 168 de probe clinice au fost extrase utilizând trei loturi ale CALEX® Cap și măsurate utilizând un lot de BÜHLMANN fCAL® turbo de-a lungul a 18 zile într-un ciclu de calibrare. Valorile de referință, cu un interval final al concentrației de calprotectină de 30,5 – 1573,8 µg/g, au fost stabilite utilizând metoda de extracție manuală și măsurarea extractului cu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Concentrațiile extractelor au fost măsurate prin determinări unice în ambele metode. Biasul a fost determinat utilizând regresia liniară Passing-Bablok și analiza Bland-Altman.

Analiza Bland-Altman			Analiza de Regresie Passing-Bablok				
Bias mediu (95% CI)	LoA Inferior (95% CI)	LoA Superior (95% CI)	Inclinare (95% CI)	Intercept [$\mu\text{g/g}$] (95% CI)	Bias la 80 $\mu\text{g/g}$ (95% CI)	Bias la 160 $\mu\text{g/g}$ (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

Reproductibilitatea (Studiu de evaluare a preciziei în mai multe locații): 3,2 – 9,1% CV

Reproductibilitatea a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP05-A3 al CLSI utilizând un proiect de studiu cu 5 replici x 5 zile x 3 locații ale laboratoarelor. Au fost testate opt extracte din proba din scaun cu concentrații ale calprotectinei variind între 47,2 – 5475,6 $\mu\text{g/g}$.

Precizia între-loturi: CV 2,4 – 8,2%

Precizia între-loturi a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP05-A3 al CLSI utilizând un proiect de studiu cu 5 replici x 5 zile x 3 loturi. Au fost testate opt extracte din proba din scaun cu concentrații ale calprotectinei variind între 45,2 – 5303,1 $\mu\text{g/g}$.

Repetabilitatea: 0,7 – 8,3% CV

Precizia în cadrul-laboratorului: 1,4 – 9,1% CV

Repetabilitatea și precizia din cadrul laboratorului au fost stabilite în conformitate cu ghidul EP05-A3 al CLSI utilizând proiectul de studiu standardizat cu 2 replici x 2 run-uri x 20 de zile. Au fost testate opt extracte din proba din scaun cu concentrații ale calprotectinei variind între 42,9 – 5405,6 $\mu\text{g/g}$.

Reproducibilitatea extracției – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV

Reproducibilitatea extracției a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP05-A3 al CLSI utilizând un proiect de studiu cu 3 replici x 2 extracții x 3 loturi CALEX® Cap x 2 operatori x 2 zile. Au fost testate 12 probe clinice din scaun, inclusiv probe cu consistență solidă, semi-solidă și lichidă, cu concentrații ale calprotectinei în intervalul 42,7 – 3440,0 $\mu\text{g/g}$.

Precizia / Recuperarea: 93,6 – 102% CV

Șapte extracte din proba din scaun de la probe clinice cu nivele ale calprotectinei variind între 44,1 – 1076,3 $\mu\text{g/g}$ au fost marcate cu 56,9 $\mu\text{g/g}$ sau 227,8 $\mu\text{g/g}$ calprotectină în materialul pentru calibrator. Marcajul a fost efectuat la 10% din volumul extractului din probă. Probele “baseline” au fost marcate cu volumul corespunzător de probă fără-analit. Probele “baseline” și “baseline + spike” au fost măsurate în patru replici.

Carry-over-ul probei

Carry-over-ul probei a fost stabilit în conformitate cu ghidul EP10-A2 al CLSI. Nu a fost detectat nici un carry-over statistic semnificativ cu testul BÜHLMANN fCAL® turbo pe analizorul cobas® 6000 c501Roche.

Limita de Detectie (LoD): 23,7 µg/g

LoD a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP17-A2 al CLSI și cu proporții de fals pozitive (α) mai puțin de 5% fals negative (β) mai puțin de 5% pe baza a 120 determinări, cu 60 blancuri și 60 replici de nivel scăzut; și o **LoB de 16,7 µg/g**.

Limita de Cuantificare (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ a fost stabilită în conformitate cu ghidul EP17-A2 al CLSI, pe baza a 90 de determinări și o țintă a preciziei de 20% CV. Estimarea LoQ a fost găsită sub cea a LoD și de aceea este indicată ca egală cu LoD estimată.

Interval de linearitate: 9,13 – 13339 µg/g

Intervalul de liniaritate al reactivului BÜHLMANN fCAL® turbo a fost determinat în conformitate cu ghidul EP06-A al CLSI. Probele cu o concentrație de peste 2000 µg/g au fost diluate automat 1:10 de analizor. A fost permisă o deviație maximă de la liniaritate de 10%. Pentru valori sub 75 µg/g a fost permisă o diferență absolută de sub 7,5 µg/g.

Efectul Hook de Doză Concentrată

Probele cu concentrații teoretice de până la 45715 µg/g pot fi măsurate fără limitarea intervalului de măsură al testului.

Substanțe de interferență

Susceptibilitatea testului BÜHLMANN fCAL® turbo la produse farmaceutice orale, suplimente nutritive, hemoglobină precum și microorganisme enteropatologice a fost evaluată în conformitate cu ghidul EP07-A2 al CLSI. Biasul în rezultate care depășesc 10% a fost considerat interferență.

Nici o interferență nu a fost detectată cu următoarele substanțe [Concentrația în mg/ 50 mg scaun]; gyno-Tardiferon (0,11), Prednison (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Sulfametoxazol (1,6), Trimetoprim (0,35), Ciproxină (1,25), Vitamina E (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobină (1,25).

Nici o interferență nu a fost detectată cu următoarele microorganisme enteropatologice [Concentrația în unități formatoare de colonii (CFU)/ mL extract din scaun]; *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* ($9,8 \times 10^7$).

BIBLIOGRAFIE

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. 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.

JURNAL DE MODIFICĂRI

Data	Versiunea	Modificare
2023-11-10	A5.1	Includerea de informații privind brevetele Revizuirea capitolului <i>Simboluri</i>

RAPORTAREA INCIDENTELOR ÎN STATELE MEMBRE UE

Dacă a avut loc orice incident grav legat de acest dispozitiv, vă rugăm să raportați fără întârziere la producător și la autoritatea competentă a Statului dvs. Membru.

DAUNE ÎN TIMPUL TRANSPORTULUI

Vă rugăm să vă anunțați distribuitorul, dacă acest produs a fost primit deteriorat.

SIMBOLURI CHEIE

BÜHLMANN utilizează simbolurile și semnele enumerate și descrise în ISO 15223-1.

Pentru definiție a simbolurilor, consultați glosarul de simboluri la adresa: www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

Unele părți ale kiturilor și procedurile preanalitice sunt protejate prin brevet de către EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

