



# BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo

Kalprotektin turbidimetrické stanovení  
pro profesionální použití

## Reagenční souprava

B-KCAL-RSET  
Verze A4

Pro *in vitro* diagnostiku



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

## POUŽITÍ TESTU

BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo je automatizovaný *in vitro* diagnostický test, který je určen pro kvantitativní stanovení kalprotektinu ve vzorcích extraktů z lidské stolice sloužící jako pomoc při posouzení střevního zánětu [1-3]. Výsledky testu slouží jako pomůcka při diagnostice k rozlišení organických zánětlivých onemocnění gastrointestinálního traktu (zánětlivého onemocnění střev (IBD), specificky Crohnovy choroby (CD) nebo ulcerózní kolitidy (UC)) od funkčních onemocnění (syndrom dráždivého tračníku (IBS)) [4-10] u pacientů s chronickou bolestí břicha a také pomoc při monitorování IBD onemocnění [10-22].

Pouze pro laboratorní použití.

## PRINCIP ANALÝZY

BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo je vylepšená část imunoturbidimetrické metody (PETIA), která umožňuje získat kvantitativní hodnoty kalprotektinu ve vzorcích stolice na klinických chemických analyzátoch. Vzorky stolice se extrahují pomocí extrakčního pufru (B-CAL-EX) s použitím extrakčních zkumavek CALEX<sup>®</sup> Cap extrakčního zařízení (B-CALEX-Cx) nebo manuálně metodou vážení do celkového naředění v poměru 1:500. Extrakty se inkubují s extrakčním pufrem a míchají s polystyrenovými nanočásticemi pokrytými kalprotektin specifickými protilátkami (imunočásticemi). Kalprotektin dostupný ve vzorku zprostředkovává aglutinaci imunitních částic. Zákal vzorku, měřený absorbancí světla, s tvorbou komplexu kalprotektinu imunočástice a je úměrný koncentraci kalprotektinu. Získaná absorbance světla umožňuje kvantifikovat koncentraci kalprotektinu díky interpolaci na stanovené kalibrační křivce.

## DODÁVANÉ REAGENCIE

Reagencie	Množství	Kat.č.	Komentáře
<b>Reakční pufr (R1)</b> MOPS pufr solný	1 lahvička 35 mL	B-KCAL- R1	Připraveno k použití
<b>Imunočástice (R2)</b> Polystyrénové částice pokryté ptačími protilátkami proti lidskému kalprotektinu	1 lahvička 7 mL	B-KCAL- R2	Připraveno k použití

Tabulka 1: Reagencie dodávané

## UCHOVÁVÁNÍ A SKLADOVÁNÍ REAGENCIÍ

<b>Neotevřené reagencie</b>
Skladujte při 2-8 °C. Nepoužívejte soupravu po uplynutí data vytištěného na štítku.
<b>Stabilita po otevření</b>
Skladujte maximálně 3 měsíce při 5-12 °C

Tabulka 2: Uchovávání a skladování reagentů

Reagencie nezmrazovat!

## POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Reagencie	Množství	Kat.č.
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo</b> <b>Kalibrační souprava</b> Kalibrátory pro 1-6 kalibrací šestibodové kalibrační křivky	1 x 6 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo</b> <b>Kontrolní souprava</b> Kontroly nízké a vysoké hladiny	3 x 2 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
<b>CALEX® Cap device</b> Extrakční zařízení plněné extrakčním pufrem	50 tubes 200 tubes 500 tubes	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
<b>Extraction Kit</b> Extrakční pufr	3 bottles 12 bottles 125 mL/bottle	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabulka 3: Potřebný, ale nedodávaný materiál

## UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ TÝKAJÍCÍ SE REAGENCIÍ

- Tento test je určen pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Imunočástice obsahují potenciálně infekční látky živočišného původu a je třeba s nimi zacházet s náležitou opatrností dle Správné laboratorní praxe (SLP).
- R2 obsahuje polystyrénové nanočástice.
- Tato souprava obsahuje součásti klasifikované v souladu se Směrnicí (EC) No. 1272/2008: 2-methyl-4-isothiazolin-3-one hydrochloride (conc.  $\geq$  0.0015%), a proto mohou reagencie způsobit alergickou kožní reakci (H317).
- Vyhněte se kontaktu reagensů s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud ke kontaktu i přesto dojde, ihned postižené místo opláchněte dostatečným množstvím vody, jinak může dojít k podráždění

### Technická opatření

- Reagencie, kontroly, kalibrátory a vzorky nechejte teplotně vyrovnat, jak je uvedeno v návodu.
- Odpařování kalibrátorů a kontrol na analyzátoru může vést k nesprávným výsledkům. Proveďte test ihned po naplnění analyzátoru.
- Nemíchejte reagencie R1 a R2 různých šarží ani nevyměňujte víčka mezi reagensy.

- Jakmile je činidlo R2 zmrazené, již je nelze přistě použít.
- Test je určen pro vzorky fekálního extraktu připravené pomocí specifického extrakčního pufru BÜHLMANN.
- Před provedením testu se ujistěte, že vzorky neobsahují bubliny.
- Přenos vzorků záleží na klinickém chemickém analyzátoru. Více informací naleznete v poznámce k aplikaci konkrétního analyzátoru.

---

## ODBĚR A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

Pro proces extrakce je potřeba méně než 1 g nativní stolice. Odeberte vzorky do prázdných zkumavek.

Důležité: vzorky musí být odebrány bez použití chemických nebo biologických aditiv.

### Transport vzorku

Vzorky stolice musí být doručeny k laboratornímu zpracování do 3 dnů od jejich odběru. Vzorky stolice lze odesílat při pokojové teplotě nebo chlazené.

### Skladování vzorku

Vzorky stolice musí být uchovávány chlazené při 2-8 °C a extrahovány do 3 dnů od přijetí do laboratoře. Neskladujte vzorky při vyšší teplotě.

---

## EXTRAKCE VZORKU STOLICE A UCHOVÁVÁNÍ EXTRAKTU

### CALEX® Cap

Postupujte podle návodu ke kitu CALEX® Cap. Extrakty připravené v CALEX® Cap mají finální ředění 1:500 a jsou připraveny k použití.

Vzorky tekuté stolice mohou být napipatovány přímo do zkumavky CALEX® Cap. Odšroubujte modrý uzávěr a napipetujte 10 µl vzorku stolice přímo do zkumavky. Opět zašroubujte CALEX® Cap a pokračujte krokem vortexování popsaném v návodu a vyobrazeném v návodu pro použití dodaném s CALEX® Cap.

Důležité: před zahájením BÜHLMANN fCAL® turbo analýzy zcentrifugujte zkumavky CALEX® 10 min při 1000 – 3000 g.

Fekální kalprotektin v získaných vzorcích pomocí BÜHLMANN CALEX® Cap je stabilní při pokojové teplotě (23 °C) po dobu 7 dnů, při 2 – 8°C po 15 dnů a při – 20 °C po dobu alespoň 23 měsíců.

Extrakty v CALEX® Cap mohou být přímo zamrazeny a skladovány v CALEX® Cap. Extrakty mohou podstoupit 4 cykly zamražení – rozmražení. Před měřením je nutné všechny zmražené extrakty vytemperovat na

pokožkovou teplotu, vortexovat po dobu 10 sekund a následně centrifugovat dle návodu.

## **Extrakční souprava**

Při manuální extrakci postupujte podle návodu k extrakční soupravě. Extrakty stolice připravené extrakční soupravou budou mít konečné ředění 1:50. Nařed'te extrakty stolice 1:10 extrakčním BÜHLMANN pufrem z extrakční soupravy (např. 50 µl extraktu a 450 µl extrakčního pufru) před zahájením analýzy BÜHLMANN fCAL® turbo.

Fekální kalprotektin v extraktech (1:50) získaný manuální extrakcí je stailní po dobu 7 dnů při 2 – 8 °C po dobu 36 měsíců při -20 °C

---

## **POSTUP ANALÝZY**

### **APLIKAČNÍ POZNÁMKY / INSTALACE**

Testovací postupy pro BÜHLMANN fCAL® turbo jsou určeny pro různé biochemické analyzátoy. Ověřené aplikační manuály popisující instalaci a analýzu na konkrétních přístrojích jsou na vyžádání k dispozici u firmy BioVendor. Podle odpovídajícího manuálu k přístroji se postupuje při nastavování, údržbě, provozu a bezpečnostních opatřeních.

### **PŘÍPRAVA REAGENCIÍ**

Dodané reagencie jsou připraveny ihned k použití. Před vložením do přístroje jemně promíchejte. Reagenční láhve se mohou zasunout přímo do přístroje, pokud není v návodu uvedeno jinak.

### **STANOVENÍ KALIBRAČNÍ KŘIVKY**

K sestrojení standardní šestibodové křivky se používá Kalibrátor BÜHLMANN fCAL® turbo dle návodu v manuálu. Kalibrátory jsou šaržované. Pro každou novou šarži a kalibrátor musí být provedena nová kalibrace. V opačném případě by kalibrace měla být prováděna každý 1 až 2 měsíce dle přístrojového manuálu. Ke kalibrátorům jsou přiřazeny hodnoty, které naleznete v QC-listu dodávaném pro BÜHLMANN fCAL® turbo. Pokud nelze přístroj správně nakalibrovat, kontaktujte technickou podporu.

### **KONTROLA KVALITY**

Kit BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit musí být testován každý den před spuštěním extraktů vzorků stolice pacienta, aby byla validována kalibrační křivka. Kontroly mají přiřazeny rozsahy hodnot uvedené v QC listu dodávaném s každou šarží sady BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit.

Kontrolní měření musí být v rozmezí uvedených hodnot, aby se získaly platné výsledky pro extrakty vzorků stolice pacienta.

Pokud kontrolní hodnoty nejsou platné, opakujte měření s čerstvými kontrolami. Pokud kontrolní hodnoty zůstanou neplatné, proveďte recalibraci testu. Pokud platné kontrolní hodnoty nelze reprodukovat po provedení výše popsaných kroků, kontaktujte podporu BÜHLMANN.

### **Měření extraktu vzorku stolice pacienta**

Jakmile je kalibrační křivka stanovena a validována pomocí kontrol, mohou být měřeny extrakty stolice pacienta. Proveďte měření fekálního extraktu pacienta podle aplikační poznámky a příručky k přístroji.

### **VÝSLEDKY**

Výsledky jsou automaticky přepočítány na analyzátoru a prezentovány v  $\mu\text{g/g}$ , pokud není v aplikačním protokolu k přístroji uvedeno jinak.

---

### **STANDARDIZACE A METROLOGICKÁ NÁVAZNOST**

Ve vzorku stolice nejsou žádné mezinárodně nebo národně uznávané referenční materiály nebo měřicí postupy pro kalprotektinový analyt. BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo je standardizovaný podle interně stanoveného referenčního materiálu a hodnoty kontrol a kalibrátorů jsou přiřazeny podle protokolu o přenosu hodnot (viz 23,24), aby byla zaručena metrologická sledovatelnost. 95% interval spolehlivosti kombinované nejistoty produktů kalibrátorů byl stanovený nižší než 3.7%, kombinovaná nejistota kontrol nižší než 6.9%.

---

### **OMEZENÍ**

- Interpretace výsledků by měla probíhat v souladu s dalšími dostupnými informacemi a posouzením stavu pacienta dalšími diagnostickými procesy.
- Pro monitoring IBD bylo navrženo provádět vícenásobná měření prováděná nejlépe v intervalu 4 týdnů, aby byla predikce klinického relapsu pacienta co nejpřesnější (ref. 25 – 26).
- Příjem nesteroidních antiflogistik (NSAID) může vést ke zvýšeným hodnotám kalprotektinu.
- Hodnocení výsledků není klinicky použitelné u dětí mladších 4 let, které mají hodnoty kalprotektinu fyziologicky zvýšené (ref. 27 – 30).

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

### I. ROZLIŠENÍ ORGANICKÉ A FUNKČNÍ NEMOCI GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU

Stanovení hodnot fekálního kalprotektinu je možné použít jako spolehlivý a jednoduchý prostředek k rozlišení organické a funkční choroby střev (viz 4 – 10). BÜHLMANN doporučuje aplikovat stejné cut- off hodnoty jako u metody BÜHLMANN fCAL® ELISA:

#### Klinické hodnoty

Koncentrace kalprotektinu	Interpretace výsledku	Sledování
< 80 µg/g	Normální	Žádné
80 - 160 µg/g	Šedá zóna – hraniční výsledky	Opakovat vyšetření za 4 až 6 týdnů
> 160 µg/g	Zvýšené hodnoty	Opakovat dle potřeby

Tabulka 4: BÜHLMANN fCAL® turbo diagnostické rozmezí.

Doporučená interpretace je dána výsledky klinických studií prováděných firmou BÜHLMANN a jsou to doporučení firmy BÜHLMANN. Všechny výsledky testů je nutné hodnotit v souladu se stavem pacienta, jeho anamnézou a dalšími klinickými a laboratorními nálezy:

#### **HODNOTY KALPROTEKTINU POD 80 µg/g**

Hodnoty kalprotektinu <80 µg/g neindikují zánět v gastrointestinálním traktu. Pacienti s nízkými hladinami kalprotektinu s největší pravděpodobností nepotřebují použití invazivních procedur pro určení příčin zánětu (ref. 4).

#### **HODNOTY KALPROTEKTINU MEZI A PŘESNĚ 80 A 160 µg/g**

Hodnoty kalprotektinu mezi a přesně 80 a 160 µg/g, tzv. šedá zóna, neindikuje přímo aktivní zánět vyžadující následné invazivní testování. Ovšem přítomnost zánětu nelze přímo vyloučit. Při stanovení těchto hodnot se doporučuje opakovat měření za 4 – 6 týdnů.

#### **HODNOTY KALPROTEKTINU NAD 160 µg/g**

Hodnoty kalprotektinu >160 µg/g svědčí o infiltraci neutrofilů do gastrointestinálního traktu, tudíž signalizují přítomnost aktivního zánětu. Doporučuje se další vyšetření k určení celkové diagnózy.

#### **KLINICKÉ HODNOCENÍ**

Schopnost soupravy BÜHLMANN fCAL® turbo rozlišit pacienty s IBD od dalších chorob nepodmíněných zánětlivým procesem, včetně IBS, byla zhodnocena použitím klinických vzorků 295 pacientů a jejich extrakcí

pomocí CALEX<sup>®</sup> Cap. 127 pacientů mělo jako konečnou diagnózu IBD (Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu nebo neurčenou kolitidu). 103 pacientů mělo IBS a 65 abdominální bolesti a/nebo průjem nebo další nezánettivá onemocnění spojená s gastrointestinálním traktem. Konečná diagnóza byla podpořena endoskopickým vyšetřením nebo dalšími klinickými nálezy.

Optimální cut-off kombinace pro tyto skupiny pacientů by mohla být definována ROC analýzou při 80 µg/g a 160 µg/g kalprotektinu (tabulka 6 a 8), což je o něco přísnější, než kombinace citlivější spodní mezní hodnoty 50 µg/g s nižší specificitou a horní mezní hodnoty 200 µg/g s mírně nižší senzitivitou (tabulka 7 a 9).

Konečná diagnóza	Distribuce výsledků pacientů v číslech (procentech) pomocí BÜHLMANN fCAL <sup>®</sup> turbo diagnostických rozmezí			
	< 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%)
Ostatní GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tabulka 5: Klasifikace výsledků pacientů v diagnostických rozsazích BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo

IBD vs. non-IBD	Hodnoty pro klinické rozhodnutí	
	80 µg/g	160 µg/g
Senzitivita (95% CI)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Specificity (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)	

Tabulka 6: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo při rozlišování IBD od jiných než IBD - IBS a jiných poruch souvisejících se GI, při 80 µg / g a 160 µg / g klinických hodnotách.

IBD vs. non-IBD	Clinical decision point	
	50 µg/g	200 µg/g
Senzitivita (95% CI)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Specificita (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%)

Tabulka 7: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo při rozlišování IBD od jiných než IBD - IBS a jiných poruch souvisejících se GI, při 50 µg/g a 200 µg/g klinických rozhodovacích hodnotách.



IBD vs. IBS	Hodnoty pro klinické rozhodnutí	
	80 µg/g	160 µg/g
<b>Senzitivita (95% CI)</b>	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
<b>Specifická (95% CI)</b>	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
<b>PPV (95% CI)</b>	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
<b>NPV (95% CI)</b>	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
<b>ROC AUC (95% CI)</b>	0.925 (0.892, 0.958)	

Tabulka 8: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL® turbo při rozlišování IBD od IBS při 80 µg/g a 160 µg/g klinických rozhodovacích hodnotách.

IBD vs. IBS	Hodnoty pro klinické rozhodnutí	
	50 µg/g	200 µg/g
<b>Senzitivita (95% CI)</b>	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
<b>Specifická (95% CI)</b>	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
<b>PPV (95% CI)</b>	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
<b>NPV (95% CI)</b>	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Tabulka 9: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL® turbo při rozlišování IBD od IBS při 50 µg/g a 200 µg/g klinických rozhodovacích hodnotách.

CI – interval spolehlivosti

PPV – pozitivní prediktivní hodnota

NPV – negativní prediktivní hodnota

ROC AUC – oblast s největší plochou pod křivkou (Area Under Curve – AUC)

## II. IBD monitoring

### Klinické rozmezí a hodnocení

Stanovení fekálního kalprotektinu je spolehlivým a jednoduchým způsobem, který napomáhá sledování pacientů s IBD (viz 10-22).

Korelace hladin kalprotektinu a zánětlivého stavu střevní sliznice pacienta, podle endoskopických hodnocení, byla stanovena ve třech nezávislých studiích s použitím testů BÜHLMANN kalprotektin (viz tabulka 10).

Diagnostická hodnota kalprotektinu při predikci klinické remise a relapsu podle symptomů pacienta, ukazatelů klinické aktivity, neplánované potřeby eskalace terapie, hospitalizace nebo nouzové situace byla stanovena ve třech studiích pomocí testů BÜHLMANN kalprotektin (tabulka 11).

Kalprotektin <sup>1</sup> vs. IBD aktivita určená endoskopií	Studie 1 Španělsko (ref. 12)	Studie 1 Španělsko (ref. 13)	Study 3 Austrálie NZ (ref.14)
Počet pacientů a demografie	89 (CD <sup>2</sup> ) 32-58 let 44% mužif	123 (UC <sup>3</sup> ) 18-85 let 66.4% muži:	99 (CD <sup>2</sup> after resection) 29-47 let 46.5% muži:
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Tabulka 10: Korelace hladin kalprotektinu s aktivitou IBD onemocnění stanovenou endoskopickým vyšetřením.

<sup>1</sup>Výsledky studií 1 a 2 byly získány pomocí testů laterálního průtoku BÜHLMANN (Quantum Blue<sup>®</sup> fCAL a Quantum Blue<sup>®</sup> fCAL high range). Výsledky ve studii 3 byly získány pomocí BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> ELISA).

<sup>2</sup> CD = pacienti s Crohnovou chorobou

<sup>3</sup> UC = pacienti s ulcerózní kolitidou

Kalprotektin <sup>1</sup> vs. budoucí klinická remise nebo relaps	Studie 4 UK (ref. 15)	Studie 5 Španělsko (ref. 16)	Studie 6 Španělsko (ref. 17)
Počet pacientů a demografie	92 (CD <sup>2</sup> ) 38% muži	30 (CD <sup>2</sup> ) adalimumab therapy 24-64 let 43.3% muži	33 (CD <sup>2</sup> ) 20 (UC <sup>3</sup> ) terapie infliximabem 18-68 let 47.2% muži
Doba sledování po měření kalprotektinu	12 měsíců	4 měsíce	12 měsíců
Pacienti s klinickým relapse po sledování	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%

Tabulka 11: Stanovení diagnostické hodnoty kalprotektinu při predikci klinické remise a relapsu IBD onemocnění.

<sup>1</sup> Výsledky studie 4 byly získány pomocí testu BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> ELISA. Výsledky studií 5 a 6 byly získány pomocí testů laterálního průtoku BÜHLMANN (Quantum Blue<sup>®</sup> fCAL a Quantum Blue<sup>®</sup> fCAL high range).

<sup>2</sup> CD = pacienti s Crohnovou chorobou

<sup>3</sup> UC = pacienti s ulcerózní kolitidou

Uvedené kategorie výsledků jsou doporučení a jejich stanovení je založeno na znalostech publikovaných mezních hodnot a studiích klinického výkonu. Doporučuje se, aby zdravotníci stanovili individuální prahové hodnoty pro pacienta stanovením základní hladiny kalprotektinu pacienta během remise onemocnění.

### **Hodnoty kalprotektinu pod 100 µg/g**

Hladiny kalprotektinu ve stolici pod 100 µg/g mohou spolehlivě indikovat pacienty s nízkým rizikem klinického relapsu, u endoskopické remise ty, u kterých se lze vyhnout invazivním endoskopickým výkonům (viz 10-22).

### **Hodnoty kalprotektinu mezi 100-300 µg/g**

Hladiny kalprotektinu v stolici mezi 100 - 300 µg/g mohou naznačovat nutnost přísnější kontroly v následujícím období pro posouzení tendencí vývoje onemocnění.

### **Hodnoty kalprotektinu nad 300 µg/g**

Hladiny kalprotektinu ve stolici nad 300 µg/g by se měly opakovat, a pokud jsou zvýšené hladiny potvrzeny, použít další vyšetřovací postupy (viz 10-22).

---

## **CHARAKTERISTIKY VÝKONNOSTI**

Prezentované výkonnostní charakteristiky byly stanoveny na přístroji Roche cobas® 6000 c501. Výkonové charakteristiky ostatních analyzátorů klinické chemie najdete v manuálu ke specifickým aplikacím analyzátoru klinické chemie.

### **Porovnání metod – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap**

Srovnávací studie metod byla provedena podle směrnice CLSI EP09-A3. Sto devadesát devět (199) klinických vzorků bylo měřeno pomocí jedné šarže BÜHLMANN fCAL® turbo po dobu 18 dnů v jednom kalibračním cyklu. Referenční hodnoty s konečným koncentračním intervalem kalprotektinu 30.3 – 1672.5 µg/g byly stanoveny pomocí BÜHLMANN fCAL® ELISA. Vzorky byly extrahovány pomocí zařízení CALEX® Cap. Jednotlivá stanovení z CALEX® Cap extraktů byla provedena oběma metodami. Systematická chyba byla stanovena pomocí Passing-Bablok lineární regrese a Bland-Altmanovy analýzy.

Bland-Altmanova analýza			Passing-Bablok lineární regrese				
Průměrná systematická chyba (95% CI)	Dolní LoA (95% CI)	Horní LoA (95% CI)	Sklon (95% CI)	Intercept [µg/g] (95% CI)	Systematická chyba při 80 µg/g (95% CI)	Systematická chyba při 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

## Porovnání metod - manuální extrakce – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA

Srovnávací studie metod byla provedena podle směrnice CLSI EP09-A3. Sto šedesát osm (168) klinických vzorků bylo extrahováno pomocí tří šarží zařízení CALEX® Cap a měřeno pomocí jedné šarže BÜHLMANN fCAL® turbo po dobu 18 dnů v jednom kalibračním cyklu. Referenční hodnoty s konečným koncentračním intervalem kalprotektinu 30.5 – 1573.8 µg/g byly stanoveny pomocí metody manuální extrakce a měření extraktu pomocí BÜHLMANN fCAL® ELISA. Extrakty byly měřeny v jediném stanovení v obou metodách. Chybovost byla stanovena pomocí Passing-Bablok lineární regrese a Bland-Altmanovy analýzy.

Bland-Altmanova analýza			Passing-Bablok lineární regrese				
Průměrná systematická chyba (95% CI)	Dolní LoA (95% CI)	Horní LoA (95% CI)	Sklon (95% CI)	Intercept [µg/g] (95% CI)	Systematická chyba při 80 µg/g (95% CI)	Systematická chyba při 160 µg/g (95% CI)	r
11.1% (5.5%, 16.6%)	-60.7% (-70.3%, -51.2%)	82.8% (73.3%, 92.4%)	1.336 (1.265, 1.429)	-31.7 (-44.1, -19.4)	-6.0% (-16.4%, 7.1%)	13.8% (8.1%, 23.2%)	0.955

## Reproducibilita (studie pro zhodnocení přesnosti na více místech: 3.2-9.1% CV

Reproducibilita byla stanovena podle směrnice CLSI EP05-A3 s použitím studie 3 laboratorní místa x 5 dnů x 5 replikátů. Bylo testováno osm extraktů vzorků stolice s koncentracemi kalprotektinu v rozmezí od 47.2 – 5475.6 µg/g.

### **Přesnost mezi šaržemi: 2.4 – 8.2% CV**

Reproducibilita byla stanovena podle směrnice CLSI EP05-A3 s pomocí studie 3 šarže x 5 dní x 5 replik. Bylo testováno osm extraktů vzorků stolice s koncentracemi kalprotektinu v rozmezí 45.2 – 5303.1 µg/g

### **Opakovatelnost: 0.7 – 8.3% CV**

### **Přesnost v rámci laboratoře: 1.4 - 9.1% CV**

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle směrnice CLSI EP05-A3 pomocí standardizovaného návrhu studie 20 dny x 2 cykly x 2 replikáty. Bylo testováno osm extraktů vzorků stolice s koncentracemi kalprotektinu v rozmezí 42.9 – 5405.6 µg/g.

### **Extrakční reprodukovatelnost – CALEX® Cap: 8.1% – 19.7% CV**

Reprodukovatelnost extrakce byla stanovena podle směrnice CLSI EP05-A3 pomocí studie 2 dny x 2 operátory x 3 šarže CALEX® Cap x 2 extrakce x 3 replikace. Bylo testováno dvanáct klinických vzorků stolice, včetně vzorků s pevnou, polotuhou a kapalnou konzistencí, s koncentracemi kalprotektinu v rozmezí 42.7 – 3440.0 µg/g.

### **Přesnost/výtěžnost: 93.6 – 102% CV**

Sedm extraktů vzorků stolice z klinických vzorků s hladinami kalprotektinu v rozmezí mezi 44.1 – 1076.3 µg/g bylo spikováno s 56.9 µg/g nebo 227.8 µg/g kalprotektinu v materiálu kalibrátoru. Spikování bylo prováděno při 10% extrakčního objemu vzorku. “Základní” vzorky byly spikovány odpovídajícím objemem vzorku bez analytu. “Základní” vzorky a “vzorky se spike” byly měřeny ve čtyřech replikátech.

### **Přenos vzorku**

Přenos vzorku byl stanoven podle směrnice CLSI EP10-A2. Nebyl zjištěn statisticky významný přenos vzorku pomocí testu BÜHLMANN fCAL® turbo na přístroji Roche cobas® 6000 c501.

### **Mez detekce (LoD): 23.7 µg/g**

LoD byl stanoven podle směrnice CLSI EP17-A2 a s poměry falešně pozitivních záchytů ( $\alpha$ ) pod 5% a falešně negativních záchytů ( $\beta$ ) pod 5% na základě 120 stanovení, s 60 slepými replikáty a 60 replikáty s nízkou hladinou; a **LoB 16.7 µg/g**.

### **Mez kvantifikace (LoQ): 23.7 µg/g**

LoQ byl stanoven podle směrnice CLSI EP17-A2 na základě 90 stanovení a cíli přesnosti 20%. Odhad LoQ byl nalezen pod odhadem LoD, a proto se uvádí, že se rovná odhadovanému LoD.

## **Rozsah linearity: 9.13 – 13'339 µg/g**

Lineární rozsah BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo byl stanoven podle směrnice CLSI EP06-A. Vzorokly s koncentrací nad 2000 µg/g byly analyzátorem automaticky zředěny 1:10. Byla povolena maximální odchylka od linearity 10%. Pro hodnoty pod 75 µg/g byl povolen absolutní rozdíl menší než 7.5µg /g.

## **Hook efekt**

Vzorokly s teoretickými koncentracemi až do 45'715 µg/g lze měřit bez omezení měřicího rozsahu testu.

## **Interferující látky**

Citlivost testu BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo na perorální léčiva, výživové doplňky, hemoglobin a také na enteropatologické mikroorganismy byla hodnocena podle směrnice CLSI EP07-A2. Systémová chyba ve výsledcích přesahujících 10 % byla považována za interferenci.

Nebyla zjištěna žádná interference s následujícími látkami [koncentrace v mg/50 mg stolice]; gyno- Tardyferon (0.11), Prednison (0.31), Imurek (0.19); Salofalk (5.21), Asacol (2.50), Agopton (0.18), Vancocin (2.00), Sulfamethoxazol (1.6), Trimethoprim (0.35), Ciproxin (1.25), Vitamin E (0.30), Bion 3 (1.06), Hemoglobin (1.25).

Nebyla detekována žádná interference s následujícími enteropatologickými mikroorganismy [Koncentrace v jednotkách tvořících kolonie (CFU)/ ml extraktu stolice]; *Escherichia coli* (3.3 x 10<sup>7</sup>), *Salmonella enterica subsp. Enterica* (9.0 x 10<sup>7</sup>), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* (5.3 x 10<sup>7</sup>), *Citrobacter freundii* (12.9 x 10<sup>7</sup>), *Shigella flexneri* (5.0 x 10<sup>7</sup>), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* (9.8 x 10<sup>7</sup>).

---

## LITERATURA

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 Lægeforen 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. Ferreira-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreira-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.

## SEZNAM ZMĚN

Datum	Verze	Změna
2022-02-28	A4	Aktualizace kapitoly “varování a opatření”, revize kapitoly "symboly", Úvod kapitoly “standardizace a metrologická sledovatelnost”, zařazení čísla notifikovaného subjektu do označení CE – postupu posuzování shody dle IVDR 2017/746

## HLÁŠENÍ POTÍŽÍ V ČLENSKÝCH ZEMÍCH EU

IPokud se vyskytnou závažné problémy s tímto zařízením, bez odkladu prosím vše ohlašte výrobci a příslušnému orgánu ve vaší zemi.

## POŠKOZENÍ PŘI PŘEPRAVĚ

Informujte prosím svého distributora, pokud byl produkt dodán poškozený.

## SYMBOLY

Společnost BÜHLMANN používá symboly a značky uvedené a popsané v normě ISO 15223-1.

