



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Dosage turbidimétrique de la calprotectine
pour usage professionnel

Coffret de réactifs

B-KCAL-RSET

Version A4

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*



Fabricant

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Switzerland

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

UTILISATION PRÉVUE

Le BÜHLMANN fCAL[®] turbo est un test de diagnostic *in vitro* automatisé pour la détermination quantitative de la calprotectine dans des échantillons de selles humains afin d'aider à l'évaluation de l'inflammation de la muqueuse intestinale (réf. 1-3). Les résultats du dosage peuvent être utilisés comme une aide au diagnostic pour distinguer une maladie inflammatoire organique du tractus gastro-intestinal (maladie inflammatoire chronique de l'intestin ou MICI, spécifiquement maladie de Crohn, MC, ou rectocolite hémorragique, RCH) d'une maladie fonctionnelle (syndrome du côlon irritable ou SCI) (réf. 4-10), chez les patients souffrant de douleurs abdominales chroniques et peuvent également aider au suivi d'une MICI (réf. 10-22).

Pour utilisation en laboratoire uniquement.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le test BÜHLMANN fCAL[®] turbo est un immunodosage turbidimétrique amplifié par particules (PETIA) qui permet la quantification automatisée de la calprotectine dans les extraits fécaux à l'aide d'analyseurs de chimie clinique. Les extraits fécaux sont extraits à l'aide d'un tampon d'extraction (B-CAL-EX) en utilisant le dispositif d'extraction CALEX[®] Cap (B-CALEX-Cx) ou une extraction manuelle et préparés à une dilution finale de 1:500. Les extraits sont incubés avec du tampon de réaction avant d'être mélangés à des nanoparticules de polystyrène revêtues d'anticorps spécifiques de la calprotectine (immunoparticules). La calprotectine présente dans les échantillons participe à l'agglutination des immunoparticules. La turbidité de l'échantillon, mesurée par absorbance lumineuse, augmente avec la formation de complexes calprotectine-immunoparticule et est proportionnelle à la concentration en calprotectine. L'absorbance lumineuse détectée permet la quantification de la concentration en calprotectine par interpolation sur une courbe d'étalonnage établie.

RÉACTIFS FOURNIS

Réactifs	Quantité	Code	Préparation
Tampon de réaction (R1) Solution saline tamponnée MOPS	1 flacon 35 mL	B-KCAL-R1	Prêt à l'emploi
Immunoparticules (R2) Billes de polystyrène revêtues d'anticorps aviaires contre la calprotectine humaine	1 flacon 7 mL	B-KCAL-R2	Prêt à l'emploi

Tableau 1 : Réactifs fournis

STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Réactifs non ouverts
Stocker à 2-8 °C. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption figurant sur les étiquettes.
Stabilité dans l'appareil
Stocker à 5-12 °C jusqu'à 3 mois

Tableau 2 : Stockage et stabilité des réactifs

Ne pas congeler les réactifs !

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Réactifs	Quantité	Code
BÜHLMANN fCAL® turbo Coffret de calibrateurs Calibrateurs 1 à 6 pour la détermination d'une courbe d'étalonnage en six points	1 x 6 flacons 1 mL/flacon	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Coffret de contrôle Contrôles haut et bas	3 x 2 flacons 1 mL/flacon	B-KCAL-CONSET
Dispositif CALEX® Cap Dispositif d'extraction pré-rempli de tampon d'extraction	50 tubes 200 tubes 500 tubes	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit d'extraction Tampon d'extraction	3 flacons 12 flacons 125 mL/flacon	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tableau 3 : Matériel requis mais non fourni

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Ce test est exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
- Les immunoparticules contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine animale et doivent être manipulées conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), en respectant les précautions appropriées.
- Le réactif R2 contient des nanoparticules de polystyrène.
- Ce kit contient des composants classés selon la réglementation (CE) n°1272/2008 : chlorhydrate de 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (conc. $\geq 0,0015\%$), les réactifs peuvent alors provoquer des réactions cutanées allergiques (H317).
- Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact accidentel, rincer immédiatement à grande eau pour éviter tout risque d'irritation ou de brûlures.

Précautions techniques

- Équilibrer les réactifs, les contrôles, les calibrateurs et les échantillons comme décrit dans la note d'application.
- L'évaporation des calibrateurs et des contrôles de l'analyseur peut entraîner des résultats incorrects. Exécuter le dosage immédiatement après le chargement de l'analyseur.

- Ne pas mélanger les réactifs R1 et R2 issus de lots différents et ne pas intervertir les bouchons des réactifs.
- Une fois congelé, le réactif R2 ne peut plus être utilisé.
- Le dosage est conçu pour les échantillons d'extraits de selles préparés à l'aide du tampon d'extraction spécifique à BÜHLMANN.
- Vérifier que les échantillons sont exempts de bulles avant l'exécution du test.
- La contamination inter-échantillons dépend de l'analyseur de chimie clinique. Pour plus d'informations, consulter la note d'application spécifique à l'analyseur.

COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Moins de 1 g d'échantillon primaire de selles est exigé par la procédure d'extraction. Récupérer l'échantillon de selles dans des tubes ordinaires.

Important : l'échantillon doit être collecté sans adjonction de quelque additif chimique ou biologique que ce soit.

Transport des échantillons

Les échantillons de selles doivent être reçus par le laboratoire en charge du traitement dans les 3 jours qui suivent la collecte. Les échantillons de selles peuvent être expédiés à température ambiante ou réfrigérés.

Stockage des échantillons

Les échantillons de selles doivent être réfrigérés à 2-8 °C et extraits dans les 3 jours qui suivent leur réception par le laboratoire. Ne pas stocker les échantillons à des températures élevées.

EXTRACTION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES ET STABILITÉ DES EXTRAITS

CALEX® Cap

Suivre les instructions d'utilisation fournies avec le kit du dispositif CALEX® Cap. Les extraits d'échantillons de selles préparés à l'aide du dispositif CALEX® Cap auront une dilution finale de 1:500 et seront prêts à l'emploi.

Les échantillons de selles liquides peuvent être directement pipetés dans le dispositif CALEX® Cap. Dévisser le bouchon bleu et pipeter 10 µL d'échantillon de selles dans le dispositif. Reboucher le dispositif CALEX® Cap et passer à l'étape d'homogénéisation au vortex conformément à la procédure d'extraction décrite et illustrée dans les instructions d'utilisation livrées avec le dispositif CALEX® Cap.

Important : Centrifuger le dispositif CALEX® Cap pendant 10 minutes à 1000 – 3000 g avant d'exécuter la procédure BÜHLMANN fCAL® turbo.

La calprotectine fécale dans les extraits obtenus à l'aide du dispositif BÜHLMANN CALEX[®] Cap est stable à température ambiante (23 °C) pendant 7 jours, à 2-8 °C pendant 15 jours et à -20 °C pendant au moins 23 mois.

Les extraits CALEX[®] Cap peuvent être directement congelés et stockés dans le dispositif CALEX[®] Cap. Les extraits peuvent être soumis à quatre cycles de congélation-décongélation. Avant la mesure, laisser les extraits congelés s'équilibrer à température ambiante, les mélanger vigoureusement au vortex pendant 10 secondes et centrifuger selon les instructions d'utilisation du dosage.

Kit d'extraction

Pour l'extraction manuelle, suivre les instructions d'utilisation fournies avec le Kit d'extraction. Les extraits d'échantillons de selles préparés avec le Kit d'extraction auront une dilution finale de 1:50. Diluer les extraits de selles au 1:10e dans le tampon d'extraction BÜHLMANN fourni dans le Kit d'extraction, c'est-à-dire 50 µL d'extrait et 450 µL de tampon d'extraction, avant la mise en œuvre de la procédure BÜHLMANN fCAL[®] turbo.

La calprotectine fécale contenue dans les extraits, au 1:50e, obtenue par extraction manuelle, est stable à 2-8 °C pendant 7 jours ou à -20 °C pendant 36 mois.

MODE OPÉRATOIRE

Notes d'application/installation du dosage

Les modes opératoires de dosage du test BÜHLMANN fCAL[®] turbo sont établis sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les notes d'application validées qui décrivent l'installation et l'analyse sur des instruments spécifiques sont disponibles auprès de BÜHLMANN sur simple demande. Les manuels d'instruments correspondants doivent être pris en compte pour la configuration, la maintenance, l'utilisation et les précautions relatives aux instruments.

Préparation des réactifs

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Mélanger avec précaution avant chargement dans l'instrument. Les flacons de réactifs peuvent être installés directement dans l'instrument, à moins que le contraire ne soit précisé dans la note d'application.

Établissement de la courbe d'étalonnage

Le coffret de calibrateurs BÜHLMANN fCAL[®] turbo sert à établir une courbe d'étalonnage en six points conformément au manuel de l'instrument. Les valeurs des calibrateurs sont spécifiques à chaque lot. Vous devez effectuer un nouvel étalonnage pour chaque nouveau lot de calibrateurs et de réactifs.

Autrement, effectuer une calibration tous les un à deux mois conformément aux notes d'application spécifiques à l'instrument. Consulter la fiche de données de contrôle qualité fournie avec le coffret de calibrateurs BÜHLMANN fCAL[®] turbo pour obtenir les valeurs des calibrateurs attribuées. Contacter l'assistance de BÜHLMANN en cas de difficultés à effectuer une calibration sans erreur.

Contrôles CQ

Le coffret de contrôle BÜHLMANN fCAL[®] turbo doit être analysé tous les jours avant l'analyse des extraits d'échantillons de selles de patients pour valider la courbe d'étalonnage. Les contrôles ont des plages de valeurs attribuées indiquées sur la fiche de données de contrôle qualité fournie avec chaque lot de coffret de contrôle BÜHLMANN fCAL[®] turbo. Les mesures des contrôles doivent se situer dans les plages de valeurs indiquées pour obtenir des résultats valides pour les extraits d'échantillons de selles de patients.

Si les valeurs de contrôle ne sont pas valides, répéter la mesure avec des contrôles frais. Si les valeurs des contrôles ne sont toujours pas valides, calibrer à nouveau le dosage. S'il est impossible de reproduire des valeurs de contrôle valides, après avoir suivi les étapes décrites ci-dessus, contacter l'assistance de BÜHLMANN.

Mesure des extraits d'échantillons de selles de patients

Une fois la courbe de calibration établie et validée à l'aide des contrôles, les extraits de selles de patients peuvent être analysés. Effectuer la mesure de l'extrait fécal du patient conformément à la note d'application et au manuel de l'instrument.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement sur l'analyseur de chimie clinique et présentés en µg/g à moins que le contraire ne soit précisé dans les notes d'application spécifiques à l'analyseur de chimie clinique.

NORMALISATION ET TRAÇABILITÉ MÉTROLOGIQUE

Il n'existe pas de substances de référence ou de procédures de mesure de référence reconnues au niveau national ou international pour l'analyte calprotectine dans des échantillons de selles. Le dosage BÜHLMANN fCAL[®] turbo est normalisé par rapport à une substance de référence établie en interne et les valeurs des contrôles et des calibrateurs sont attribuées suivant un protocole de transfert de valeurs (réf. 23, 24) pour garantir la traçabilité métrologique. L'intervalle de confiance à 95% de l'incertitude combinée des calibrateurs de produit a été déterminé comme étant inférieur à 3,7%, et pour l'incertitude combinée des contrôles, inférieur à 6,9%.

LIMITATIONS

- Les résultats des tests doivent être interprétés en conjonction avec les informations issues de l'évaluation clinique du patient et des autres procédures diagnostiques.
- Pour le suivi des MICI, il a été suggéré que de multiples mesures de la calprotectine fécale réalisées à des intervalles pouvant aller jusqu'à 4 semaines permettent d'obtenir la meilleure précision diagnostique dans la prédiction de la rechute clinique des patients (réf. 25-26).
- La prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peut entraîner une augmentation des niveaux de calprotectine fécale.
- Les résultats peuvent ne pas être cliniquement applicables aux enfants de moins de 4 ans dont les niveaux de calprotectine sont légèrement supérieurs à la normale (réf. 27-30).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

I. Différenciation d'une maladie organique d'une maladie gastro-intestinale fonctionnelle

La détermination des niveaux de calprotectine fécale peut servir d'aide fiable et simple à la différenciation des maladies organiques des maladies gastro-intestinales fonctionnelles (réf. 4-10). BÜHLMANN recommande d'appliquer les mêmes valeurs seuils que dans le dosage BÜHLMANN fCAL® ELISA :

Seuils cliniques

Concentration en calprotectine	Interprétation	Suite
< 80 µg/g	Normale	Aucune
80 – 160 µg/g	Zone grise/frontière	Suivi dans les 4 à 6 semaines
> 160 µg/g	Supérieure à la normale	Répéter si besoin

Tableau 4 : plages diagnostiques du test BÜHLMANN fCAL® turbo.

Les catégories de résultats se basent sur les données d'études cliniques mises en œuvre par BÜHLMANN et constituent des recommandations de BÜHLMANN. Tous les résultats de test doivent être interprétés en conjonction avec les informations obtenues à partir des symptômes cliniques du patient, ses antécédents médicaux et les autres résultats cliniques et biologiques :

Valeurs de calprotectine inférieures à 80 µg/g

Des valeurs de calprotectine fécale < 80 µg/g n'indiquent pas d'inflammation du tractus gastro-intestinal. Il est peu probable que les patients présentant

de faibles niveaux de calprotectine nécessitent des procédures invasives visant à déterminer la cause de l'inflammation (réf. 4).

Valeurs de calprotectine comprises entre 80 et 160 µg/g (bornes incluses)

Des niveaux de calprotectine fécale moyens, compris entre 80 et 160 µg/g, bornes incluses, également qualifiés de niveaux dans la zone grise, ne sont pas directement révélateurs d'une inflammation active exigeant un suivi thérapeutique immédiat par des tests invasifs. Cependant, la présence d'une inflammation ne peut pas être exclue. Il est recommandé de réévaluer les niveaux de calprotectine fécale après 4 à 6 semaines pour déterminer l'état d'inflammation.

Valeurs de calprotectine supérieures à 160 µg/g

Des valeurs de calprotectine fécale supérieures à 160 µg/g indiquent une infiltration de neutrophiles dans le tractus gastro-intestinal ; ceci peut signaler la présence d'une maladie inflammatoire active. Des procédures de recherche supplémentaires et appropriées menées par des spécialistes sont suggérées pour obtenir un diagnostic clinique global.

Évaluation clinique

La capacité du test BÜHLMANN fCAL® turbo à différencier les patients atteints de MICI des autres troubles gastro-intestinaux non inflammatoires, y compris une SCI, a été évaluée en utilisant des échantillons cliniques collectés auprès de 295 patients et extraits à l'aide du dispositif CALEX® Cap. Cent vingt-sept patients (127) présentaient un diagnostic final de MICI (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique ou colite indéterminée), 103 patients souffraient de SCI et 65 patients présentaient des douleurs abdominales et/ou des diarrhées, ou d'autres états non inflammatoires liés au tractus gastro-intestinal. Le diagnostic final était étayé par des résultats endoscopiques ainsi que d'autres résultats cliniques.

La combinaison optimale des seuils pour ces pools de patients a pu être définie par analyse de la fonction d'efficacité du récepteur (courbe ROC) à 80 µg/g et 160 µg/g de calprotectine (tableaux 6 et 8), ce qui est légèrement plus restrictif que la combinaison du seuil bas plus sensible de 50 µg/g mais avec une performance de spécificité inférieure, et du seuil haut de 200 µg/g de sensibilité légèrement inférieure (tableaux 7 et 9).

Diagnostic final	Distribution des résultats patients en nombre (pourcentage) dans les intervalles diagnostiques du test BÜHLMANN fCAL® turbo			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Total
MICI	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
SCI	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Autres troubles GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tableau 5 : Distribution des résultats patients dans les intervalles diagnostiques du test BÜHLMANN fCAL® turbo

MICI vs. non MICI	Point de décision clinique	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilité (IC à 95 %)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Spécificité (IC à 95 %)	69.6% (62.1%, 76.5%)	81.0% (74.2%, 86.6%)
VPP (IC à 95 %)	69.5% (61.9%, 76.3%)	77.1% (69.3%, 83.8%)
VPN (IC à 95 %)	91.4% (85.1%, 95.6%)	87.7% (81.5%, 92.5%)
AUC ROC (IC à 95 %)	0.912 (0.878, 0.946)	

Tableau 6 : Caractéristiques de performances cliniques du test BÜHLMANN fCAL® turbo dans la différenciation entre MICI et non-MICI - SCI et autres troubles GI, aux points de décision clinique de 80 µg/g et de 160 µg/g

MICI vs. non MICI	Point de décision clinique	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilité (IC à 95 %)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Spécificité (IC à 95 %)	62.5% (54.7%, 69.8%)	85.7% (79.5%, 90.6%)
VPP (IC à 95 %)	65.6% (58.2%, 72.4%)	81.0% (73.0%, 87.4%)
VPN (IC à 95 %)	93.8% (87.5%, 97.5%)	85.2% (78.9%, 90.2%)

Tableau 7 : Caractéristiques de performances cliniques du test BÜHLMANN fCAL® turbo dans la différenciation entre MICI et non-MICI – SCI et autres troubles GI, aux points de décision clinique de 50 µg/g et de 200 µg/g

MICI vs. SCI	Point de décision clinique	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilité (IC à 95 %)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Spécificité (IC à 95 %)	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
VPP (IC à 95 %)	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
VPN (IC à 95 %)	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
AUC ROC (IC à 95 %)	0.925 (0.892, 0.958)	

Tableau 8 : Caractéristiques de performances cliniques du test BÜHLMANN fCAL® turbo dans la différenciation entre MICI et SCI, aux points de décision clinique de 80 µg/g et de 160 µg/g

MICI vs. SCI	Point de décision clinique	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilité (IC à 95 %)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Spécificité (IC à 95 %)	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
VPP (IC à 95 %)	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
VPN (IC à 95 %)	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Tableau 9 : Caractéristiques de performances cliniques du test BÜHLMANN fCAL® turbo dans la différenciation entre MICI et SCI aux points de décision clinique de 50 µg/g et de 200 µg/g

IC – intervalle de confiance

VPP – valeur prédictive positive

VPN – valeur prédictive négative

AUC ROC – Aire sous la courbe de l'analyse ROC (fonction d'efficacité du récepteur)

II. Suivi des MICI

Seuils cliniques et évaluation

Le dosage de la calprotectine fécale constitue un moyen simple et fiable d'aider au suivi des patients atteints de MICI (réf. 10-22).

La corrélation entre les niveaux de calprotectine et l'état inflammatoire de la muqueuse intestinale du patient, évalué par endoscopie, a été déterminée dans trois études indépendantes utilisant les tests de calprotectine BÜHLMANN (tableau 10). La valeur diagnostique de la calprotectine dans la prédiction de la rémission et de la rechute cliniques, en fonction des symptômes du patient, des indices d'activité clinique, du recours non planifié à une intensification thérapeutique, une hospitalisation ou une intervention d'urgence, a été déterminée dans trois études utilisant les tests de calprotectine BÜHLMANN (tableau 11).

Calprotectine¹ en fonction de l'activité des MICI déterminée par endoscopie	Étude 1 Espagne (réf. 12)	Étude 2 Espagne (réf. 13)	Étude 3 Australie, Nouvelle- Zélande (réf. 14)
Nombre et distribution démographique des patients	89 (MC ²) Âges : 32-58 44% d'hommes	123 (RCH ³) Âges : 18-85 66,4% d'hommes	99 (MC ² après résection) Âges : 29-47 46,5% d'hommes
Seuil	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
VPN	98%	86%	91%
VPP	76%	80.3%	53%

Tableau 10 : Corrélation entre les niveaux de calprotectine et l'activité des MICI déterminée par évaluation endoscopique

¹ Les résultats des études 1 et 2 ont été obtenus par dosages à flux latéral BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL et Quantum Blue® fCAL high range). Les résultats de l'étude 3 ont été obtenus par dosage BÜHLMANN fCAL® ELISA.

² MC = patients atteints de la maladie de Crohn

³ RCH = patients atteints de rectocolite hémorragique

Calprotectine¹ en fonction de la rémission ou de la rechute cliniques futures	Étude 4 Royaume-Uni (réf. 15)	Étude 5 Espagne (réf. 16)	Étude 6 Espagne (réf. 17)
Nombre et distribution démographique des patients	92 (MC ²) 38% d'hommes	30 (MC ²) thérapie par adalimumab Âges : 24-64 43,3% d'hommes	33 (MC ²) 20 (RCH ³) thérapie par infliximab Âges : 18-68 47,2% d'hommes

Suivi thérapeutique après la mesure de la calprotectine	12 mois	4 mois	12 mois
Patients en rechute clinique après suivi	11%	30%	23%
Seuil	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
VPN	96.8%	100%	96.1%
VPP	27.6%	75%	68.7%

Tableau 11 : Détermination de la valeur diagnostique de la calprotectine dans la prédiction de la rémission et de la rechute cliniques dans les MICI

¹ Les résultats de l'étude 4 ont été obtenus par dosage BÜHLMANN fCAL® ELISA. Les résultats des études 5 et 6 ont été obtenus par dosages à flux latéral BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL et Quantum Blue® fCAL high range).

² MC = patients atteints de la maladie de Crohn

³ RCH = patients atteints de rectocolite hémorragique

Les catégories de résultats indiquées sont des recommandations ; elles sont établies en condensant les connaissances des études publiées sur les seuils et performances cliniques. Il est recommandé aux praticiens de santé d'établir des seuils individuels pour chaque patient en déterminant le niveau "basal" de calprotectine du patient pendant les périodes de rémission :

Valeurs de calprotectine inférieures à 100 µg/g

Des niveaux de calprotectine fécale en dessous de 100 µg/g peuvent indiquer de façon fiable des patients à faible risque de rechute clinique, en rémission endoscopique pour lesquels des procédures endoscopiques invasives peuvent être évitées (réf. 10-22).

Valeurs de calprotectine comprises entre 100 et 300 µg/g

Des niveaux de calprotectine fécale entre 100 et 300 µg/g peuvent indiquer la nécessité d'un contrôle plus rapproché dans la période suivante pour évaluer les tendances d'évolution de la maladie.

Valeurs de calprotectine supérieures à 300 µg/g

En cas de niveau de calprotectine fécale supérieur à 300 µg/g, la mesure doit être répétée, et si ces niveaux élevés sont confirmés, des procédures d'investigation supplémentaires doivent être mises en œuvre (réf. 10-22).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été établies sur un instrument Roche cobas® 6000 c501. Consulter la note d'application spécifique à l'analyseur de chimie clinique utilisé pour prendre connaissance de ses caractéristiques de performance.

Comparaison de méthodes – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

L'étude de comparaison des méthodes a été réalisée en suivant la ligne directrice EP09-A3 du CLSI. Cent quatre-vingt-dix-neuf (199) échantillons cliniques ont été analysés en utilisant un lot de BÜHLMANN fCAL® turbo sur 18 jours dans un seul cycle de calibration. Les valeurs de référence, couvrant une gamme de concentrations en calprotectine finale de 30,3 à 1672,5 µg/g, sont établies avec le dosage BÜHLMANN fCAL® ELISA. Les échantillons sont extraits à l'aide du dispositif CALEX® Cap. Des déterminations simples à partir des extraits de CALEX® Cap ont été mesurées avec les deux méthodes. Le biais a été déterminé en utilisant une régression linéaire de Passing-Bablok et une analyse de Bland-Altman.

Analyse de Bland-Altman			Analyse par régression de Passing-Bablok				
Biais moyen (IC 95%)	Limite de concordance inférieure (IC 95%)	Limite de concordance supérieure (IC 95%)	Pente (IC 95%)	Ordonnée à l'origine (µg/g) (IC 95%)	Biais à 80 µg/g (IC 95%)	Biais à 160 µg/g (IC 95%)	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

Comparaison de méthodes – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA extraction manuelle

L'étude de comparaison des méthodes a été réalisée en suivant la ligne directrice EP09-A3 du CLSI. Cent soixante-huit (168) échantillons cliniques ont été extraits en utilisant trois lots du dispositif CALEX® Cap et analysés en utilisant un lot de BÜHLMANN fCAL® turbo sur 18 jours dans un seul cycle de calibration. Les valeurs de référence, couvrant une gamme de concentrations en calprotectine finale de 30,5 à 1573,8 µg/g, sont établies à l'aide de la méthode d'extraction manuelle et de la mesure d'extraction avec le test BÜHLMANN fCAL® ELISA. Les extraits ont été mesurés par déterminations simples pour les deux méthodes. Le biais a été déterminé en utilisant une régression linéaire de Passing-Bablok et une analyse de Bland-Altman.

Analyse de Bland-Altman			Analyse par régression de Passing-Bablok				
Biais moyen (IC 95%)	Limite de concordance inférieure (IC 95%)	Limite de concordance supérieure (IC 95%)	Pente (IC 95%)	Ordonnée à l'origine (µg/g) (IC 95%)	Biais à 80 µg/g (IC 95%)	Biais à 160 µg/g (IC 95%)	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% (-16.4%, 7.1%)	13.8% (8.1%, 23.2%)	0.955

Reproductibilité (étude d'évaluation de précision multisite) :

CV 3,2 - 9,1%

La reproductibilité a été établie en suivant la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude de 3 laboratoires x 5 jours x 5 répétitions. Huit extraits de prélèvements de selles regroupés avec des concentrations en calprotectine comprises entre 47,2 et 5475,6 µg/g ont été testés.

Précision entre lots : CV 2,4 – 8,2%

La reproductibilité inter-lot a été établie conformément à la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude de 3 lots x 5 jours x 5 répétitions. Huit extraits de prélèvements de selles regroupés avec des concentrations en calprotectine comprises entre 45,2 et 5303,1 µg/g ont été testés.

Répétabilité : CV 0,7– 8,3%

Précision intra-laboratoire : CV 1,4 - 9,1%

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été établies en suivant la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude normalisé de 20 jours x 2 analyses x 2 répétitions. Huit extraits de prélèvements de selles regroupés avec des concentrations en calprotectine comprises entre 42,9 et 5405,6 µg/g ont été testés.

Reproductibilité de l'extraction – CALEX® Cap : CV 8,1% – 19,7%

La reproductibilité de l'extraction a été établie en suivant la ligne directrice EP05-A3 du CLSI en utilisant un modèle d'étude de 2 jours x 2 opérateurs x 3 lots de CALEX® Cap x 2 extractions x 3 répétitions. Douze prélèvements de selles cliniques, y compris des prélèvements de consistance solide, semi-solide et liquide, avec des concentrations en calprotectine dans la gamme de 42,7 à 3440 µg/g, ont été testés.

Exactitude / Récupération : CV 93,6– 102%

Sept extraits d'échantillons de selles issus de "fonds de tubes" d'échantillons cliniques avec des niveaux de calprotectine compris entre 44,1 et 1076,3 µg/g ont été complétés par du matériel de calibration contenant de la calprotectine aux concentrations de 56,9 µg/g ou 227,8 µg/g. Le complément a été réalisé à hauteur de 10% du volume d'extrait d'échantillon. Les échantillons « de base » ont été additionnés du volume correspondant d'échantillon sans analyte. Les échantillons « de base » et « de base + complément » ont été mesurés en quatre réplicats.

Contamination inter-échantillons

La contamination inter-échantillons a été établie en suivant la ligne directrice EP10-A2 du CLSI. Aucune contamination inter-échantillons statistiquement significative n'a été détectée dans le test BÜHLMANN fCAL® turbo sur un instrument Roche cobas® 6000 c501.

Limite de détection (LD) : 23,7 µg/g

La LD a été établie en suivant la ligne directrice EP17-A2 du CLSI et avec des proportions de faux positifs (α) inférieure à 5 % et de faux négatifs (β) inférieure à 5% basées sur 120 déterminations, avec 60 blancs et 60 répétitions de faible niveau ; et une **LB de 16,7 µg/g**.

Limite de quantification (LQ) : 23,7 µg/g

La LQ a été établie en suivant la ligne directrice EP17-A2 du CLSI en se basant sur 90 déterminations et un objectif de précision de 20% CV. La LQ estimée a été déterminée comme étant inférieure à la LD, et est donc indiquée comme étant égale à la LD estimée.

Linéarité : 9,13 – 13 339 µg/g

La plage linéaire du test BÜHLMANN fCAL[®] turbo a été déterminée en suivant la ligne directrice EP06-A du CLSI. Les échantillons de concentration supérieure à 2000 µg/g ont été dilués automatiquement au 1:10 par l'analyseur. Une déviation maximale de la linéarité de 10% était autorisée. Pour les valeurs inférieures à 75 µg/g, une différence absolue de moins de 7,5 µg/g était autorisée.

« Effect crochet » à dose élevée

Les échantillons de concentrations théoriques jusqu'à 45 715 µg/g peuvent être analysés sans limitation de la gamme de mesure du test.

Substances interférentes

La sensibilité du dosage BÜHLMANN fCAL[®] turbo aux produits pharmaceutiques oraux, aux suppléments nutritionnels, à l'hémoglobine ainsi qu'aux micro-organismes entéro-pathologiques a été évaluée en suivant la ligne directrice EP07-A2 du CLSI. Un biais dans les résultats excédant 10% a été considéré comme une interférence.

Aucune interférence détectée avec les substances suivantes [Concentration en mg/ 50 mg de selles] ; gyno-Tardyféron (0,11), Prednisone (0,31), Imurek (0,19) ; Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Sulfaméthoxazole (1,6), Triméthoprim (0,35), Ciproxine (1n25), Vitamine E (0,30), Bion 3 (1,06), Hémoglobine (1,25).

Aucune interférence n'a été détectée avec les micro-organismes entéro-pathologiques suivants [Concentration en unités formant colonie (UFC)/ mL d'extrait de selles] ; *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* ($9,8 \times 10^7$).

REFERENCES

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.

JOURNAL DES MODIFICATIONS

Date	Version	Modification
2022-02-28	A4	Mise à jour du chapitre "Avertissements et précautions", Révision du chapitre "Symboles", introduction du chapitre "Normalisation et traçabilité métrologique", inclusion du numéro de l'organisme notifié au marquage CE – procédure d'évaluation de la conformité selon IVDR 2017/746

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État Membre.

DOMMAGES PENDANT L'EXPEDITION

Veillez notifier votre distributeur si vous avez reçu un produit endommagé.

SYMBOLES

BÜHLMANN utilise des symboles et des signes énumérés et décrits dans l'ISO 15223-1.

