

BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Kalprotektin - turbidimetrické stanovení pro profesionální použití

**Reagenční souprava
B-KCAL-RSET, verze A1**

Pro in vitro diagnostiku

Poslední revize: 20. 12. 2019

BÜHLMANN LABORATORIES AG
Baselstrasse 55
CH - 4124 Schönenbuch, Switzerland
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Zplnomocněný zástupce výrobce v České republice:
BioVendor –Laboratorní medicína a.s.
IČ: 63471507
Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, tel: +420 549 124 111,
fax: +420 549 211 465
Mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

POUŽITÍ TESTU

Bühlmann fCAL®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]. Stanovení slouží jako pomůcka při diagnostice k rozlišení organických zánětlivých onemocnění gastrointestinálního traktu (zánětlivého onemocnění střev (IBD), Crohnovy choroby (CD) nebo ulcerózní kolitidy (UC)) od funkčních onemocnění (syndrom dráždivého tračníku (IBS)) [4-10] u pacientů s chronickou bolestí břicha. Test je také podporou při monitoringu u zánětlivých onemocnění a průběhu jejich léčby [10-22].

Pouze pro laboratorní použití

PRINCIP ANALÝZY

Bühlmann fCAL®Turbo je imunoturbidimetrická metoda (PETIA), která umožňuje získat kvantitativní hodnoty kalprotektinu ve vzorcích stolice na biochemických analyzátoch. Vzorky stolice se extrahují pomocí extrakčního pufru (B-CAL-EX) s použitím extrakčních zkumavek CALEX Cap 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 po aglutinaci, turbidita vzorku, měřená světelnou absorbančí, se zvyšuje s formací komplexu kalprotektin-imunočástice a poměrově odpovídá koncentraci kalprotektinu. Získaná absorbance umožňuje kvantifikovat koncentraci kalprotektinu díky interpolaci na stanovené kalibrační křivce.

DODÁVANÉ REAGENCIE A PŘÍPRAVA

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

UCHOVÁVÁNÍ A SKLADOVATELNOST REAGENCIÍ

Reagencie nezmrazovat! Všechny součásti soupravy jsou stabilní při 2-8 °C do data expirace vytištěného na štítcích.

Na štítku je vytištěna doba použitelnosti reagentů po otevření při 2-8°C.

Stabilita po otevření (on-board stabilita): nejméně 3 měsíce při teplotě do 5 až 12 °C.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ TÝKAJÍCÍ SE REAGENCIÍ

- Imunočástice obsahují potenciálně infekční látky živočišného původu a je třeba s nimi zacházet s náležitou opatrností. Likvidace vyřazeného materiálu by měla probíhat v souladu s místními požadavky a pravidly správné laboratorní praxe-
- R1 obsahuje MOPS (kyselina 3- (N-morfolino) propansulfonová) (<1 %), která může dráždit oči a kůži. Zacházejte s ním opatrně.
- R2 obsahuje polystyrénové nanočástice.
Pouze pro diagnostiku in-vitro.

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Reagencie	Množství	Kat.č.
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibrační souprava Kalibrátory pro 1-6 kalibrací	1× 6 lahviček 1 ml/lahvička	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolní souprava Kontroly nízké a vysoké hladiny	3 × 2 lahvičky 1 ml/lahvička	B-KCAL-CONSET
CALEX Cap Device Extrakční zařízení plněné extrakčním puřrem	50 zkumavek 200 zkumavek 500 zkumavek	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extrakční souprava Extrakční puřr	3 lahvi 12 lahvi 125 ml/láhev	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Technická opatření

- Používejte reagencie, kontroly, kalibrátory a vzorky v příslušných poměrech podle 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 reagenciemi.
- Jakmile je činidlo R2 zmrazené, již je nelze použít.
- Test je určen pro vzorky fekálního extraktu připravené pomocí specifického extrakčního puřru BÜHLMANN.
- Před provedením testu se ujistěte, že vzorky neobsahují bubliny.

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 (2-8 °C)

Skladování vzorku

Vzorky stolice musí být uchovávány v 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 a pokračujte krokem vortexování popsaném v návodu ke zkumavce CALEX.

Důležité: před zahájení analýzy fCAL turbo zcentrifugujte zkumavky CALEX 10 min při 1000 – 3000 g

Extrakty vzorku stolice získané pomocí CALEX Cap jsou stabilní při pokojové teplotě po dobu 3 dnů, při 2 – 8°C po 6 dnů a při – 20 °C po dobu alespoň 23 měsíců.

Extrakt v CALEX Cap může být přímo zamražen. Extrakty mohou podstoupit 4 cykly zamražení – rozmražení. Před měřením je nutné všechny zmražené extrakty vytemperovat na pokojovou teplotu, vortexovat po dobu 10 sekund a následně centrifugovat dle návodu

Extrakční souprava

Pro manuální extrakci postupujte podle návodu k extrakční soupravě. Extrakty připravené extrakční soupravou budou mít konečné ředění 1:50. Naředte extrakty stolice 1:10 extrakčním pufrům z extrakční soupravy (např. 50 µl extraktu a 450 µl extrakčního pufru) před zahájením analýzy 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 analyzátoři. 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 reagentie 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 sestavení standardní křivky se šesti body se používá Kalibrátor Bühlmann fCAL®Turbo (kód: B-KCAL-CASET), postupujeme dle manuálu. Kalibrátory jsou šaržované. Pro každou novou šarži kalibrátoru musí být provedena nová kalibrace. V opačném případě by kalibrace měla být prováděna každých 4 až 8 týdnů 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 datovém listu QC 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 popsanych 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 analyzátoři a prezentovány v µg/g, pokud není v aplikačním protokolu ke stroji uvedeno jinak.

OMEZENÍ

- Interpretace výsledků by měla probíhat v souladu s dalšími dostupnými informacemi a posouzením stavu pacienta dalšími diagnostickými procesy
- Pro monitoring IBD je nutné provádět vícenásobná měření prováděná nejlépe v intervalu 4 týdnů, který byl určen jako nejpřesnější pro predikci klinického relapsu pacienta (ref. 23 – 24)
- Příjem nesteroidních antiflogistik (NSDAI) může vést ke zvýšeným hodnotám kalprotektinu
- Hodnocení výsledků dle doporučení v návodu není relevantní pro děti mladší 4 let, které mají hodnoty kalprotektinu fyziologicky zvýšené (ref. 25 – 28)

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

I. ROZLIŠENÍ ORGANICKÉ A FUNKČNÍ NEMOCI GASTROINTESTINÁLNÍHO TRAKTU

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

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

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 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 MEZI 80 A 160 µg/g

Hodnoty kalprotektinu v rozmezí 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 NAD 160 µg/g

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

KLINICKÉ HODNOCENÍ

IBD – idiopatické střevní záněty

IBS – syndrom dráždivého tračníku

Schopnost soupravy 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® 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 nezápětlivá 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, 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 (viz tabulky níže).

Konečná diagnóza	Distribuce výsledků pacientů v počtech (procentech) pomocí fCAL Turbo diagnostických rozmezí			
	< 80 µg/g	80 – 160 µg/g	> 160 µg/g	celkem
IBD	11 (8,7 %)	8 (6,3 %)	108 (85 %)	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: Distribuce výsledků pacientů v diagnostických rozsazích BÜHLMANN fCAL® 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%)
specificita (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: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL® turbo při rozlišování IBD od jiných než IBD - IBS a jiných poruch souvisejících se GI, při 80 µg / ga 160 µg / g klinických hodnotách.

IBD vs. non-IBD	Hodnoty pro klinické rozhodnutí	
	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: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL® 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
senzitivita (95% CI)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
specificita (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% (73,1%, 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)	

Tabulka: 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
senzitivita (95% CI)	94,5% (89%,97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
specifická (95% CI)	67% (57%, 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%)

Tabulka: Charakteristiky klinického výkonu BÜHLMANN fCAL® turbo při rozlišování IBD od IBS při 50 µg/g a 200 µg/g vlastních rozhodovacích bodech

CI - interval spolehlivosti

PPV - pozitivní prediktivní hodnota

NPV - negativní prediktivní hodnota

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

II. MONITORING IBD

Klinické rozmezí prahů a hodnocení

Stanovení fekálního kalprotektinu je spolehlivým a jednoduchým způsobem, který napomáhá sledování pacientů s IBD (ref. 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 tabula níže). 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 (viz tabula níže).

Kalprotektin ¹ vs. IBD aktivita určená endoskopií	Studie 1, Španělsko, ref.12	Studie 2, Španělsko, ref.13	Studie 3, Austrálie + NZ, ref.14
Počet pacientů a demografie	89 (CD ²) 32-58 let muži 44 %	123 (UC ³) 18-85 let muži 66,4 %	99 (CD ² po resekci) 29-47 let muži 46,5 %
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98 %	86 %	91 %
PPV	76 %	80,3 %	53 %

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

¹Výsledky studií 1 a 2 byly získány pomocí testů laterálního průtoku BÜHLMANN (vysoký rozsah Quantum Blue® fCAL a Quantum Blue® fCAL). Výsledky ve studii 3 byly získány pomocí BÜHLMANN fCAL® ELISA).

²CD = pacienti s Crohnovou chorobou

³UC = pacienti s ulcerózní kolitidou

Kalprotektin ¹ 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 ²) Muži 38 %	30 (CD ³) Terapie adalimumabem Muži 43,3 % 24-64 let	33 (CD ²) 20 (UC ³) Terapie infliximabem Muži 47,2 % 18-68 let
Doba sledování po měření kalprotektinu	12 měsíců	4 měsíce	12 měsíců
Pacienti s klinickým relapsem 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: Stanovení diagnostické hodnoty kalprotektinu při predikci klinické remise a relapsu IBD onemocnění.

¹ Výsledky studie 4 byly získány pomocí testu BÜHLMANN fCAL® ELISA. Výsledky studií 5 a 6 byly získány pomocí testů laterálního průtoku BÜHLMANN (vysoký rozsah Quantum Blue® fCAL a Quantum Blue® fCAL).

²CD = pacienti s Crohnovou chorobou

³UC = 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 v stolici pod 100 µg/g mohou spolehlivě indikovat pacienty s nízkým rizikem klinického relapsu, u endoskopické remise, kterým 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 v 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 (multisite-studie pro zhodnocení přesnosti): 3,2 - 9,1% CV

Reproducibilita byla stanovena podle směrnice CLSI EP05-A3 s použitím designu studie 3 laboratorní místa x 5 dnů x 5 replikátů. Bylo testováno osm extraktů vzorků stolice s koncentracemi kalprotektinu v rozmezí od 47,2 do 5475,6 µg/g.

Přesnost mezi šaržemi: 2,4 - 8,2% CV

Reproducibilita byla stanovena podle směrnice CLSI EP05-A3 s použitím designu 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 mezi laboratořemi: 1,4 - 9,1% CV

Opakovatelnost a přesnost v rámci laboratoře byly stanoveny podle směrnice CLSI EP05-A3 pomocí standardizovaného návrhu studie 20 dní x 2 cykly x 2 replikátů. 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 2 dnů x 2 operátorů x 3 šarží CALEX® Cap x 2 extrakce x 3 replikace studie studie. 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 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 turbo testu BÜHLMANN fCAL® 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 (α) pod 5% a falešně negativních záchytů (β) 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. 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 turbo BÜHLMANN fCAL® byl stanoven podle směrnice CLSI EP06-A. Vzorky 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

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

Interferující látky

Citlivost testu BÜHLMANN fCAL® turbo na perorální léčiva, výživové doplňky, hemoglobin a 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 CFU/ ml extraktu 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* ($9,8 \times 10^7$).

Hlášení incidentů

Pokud v souvislosti s tímto zařízením došlo k nějaké závažné události, neprodleně to oznámte výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

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 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. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
24. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
25. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
26. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
27. Zhu Q. et al. PLoS ONE 11 (3) (2016).
28. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.







POŠKOZENÍ BĚHEM PŘEPRAVY

V případě poškození zásilky, prosím upozorněte distributora.

REACH

Žádný z materiálů a činidel v kitu nevyžaduje bezpečnostní list (BL) podle nařízení CLP (ES) 1272/2008 a směrnice ES 1907/2006 (REACH).

SYMBOLY

	Použitelné do
	Katalogové číslo
	Šarže
	Pro <i>in vitro</i> použití
	Viz návod k použití
	Rozmezí teplot



Výrobce
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Švýcarsko