



# BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo

Calprotectin turbidimetrischer Test  
für die gewerbliche Verwendung

**Reagenzien-Kit**

B-KCAL-RSET

Datum der Überarbeitung: 2017-12-19

# DEUTSCH

## VERWENDUNGSZWECK

BÜHLMANN fCAL® turbo ist ein *in-vitro*-Diagnosteset für die quantitative Bestimmung von Calprotectin in humanen Stuhlproben als Hilfsmittel bei der Einschätzung von Entzündungen der Darm-Schleimhaut. Die Testresultate können als Diagnose-Hilfsmittel verwendet werden zur Unterscheidung zwischen organisch-, entzündlichen Magen-Darm-Trakt Erkrankungen (chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) z.B. Morbus Crohn (CD) oder Colitis ulcerosa (UC)) und einer funktionellen Erkrankung (Reizdarmsyndrom) (Ref. 1-7) bei Patienten mit chronischen Bauchschmerzen, die älter als vier Jahre sind (Ref. 8-9). BÜHLMANN fCAL® turbo dient auch als Hilfsmittel bei der Überwachung von Chronisch-Entzündlichen-Darm-erkrankung (CED) (Ref. 10-12).

Nur zu Laborzwecken zu verwenden.

## TESTPRINZIP

Der BÜHLMANN fCAL® turbo Test ist ein partikelverstärkter turbimetrischer Immuntest (PETIA) und ermöglicht die quantitative Bestimmung von Calprotectin in extrahierten Stuhlproben auf Analysegeräten für die klinische Chemie. Stuhlproben werden mit dem Extraktionspuffer (B-CAL-EX) mithilfe des BÜHLMANN CALEX® Cap Extraktionsröhrchen (Code: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500), oder mittels einer manuellen Wiegemethode extrahiert und auf 1:500 verdünnt verwendet. Die Extrakte werden mit Reaktionspuffer inkubiert und mit Polystyrol-Nanopartikeln, die mit Calprotectin-spezifischen Antikörpern (Immunpartikel) beschichtet sind, vermischt. Das in den Proben verfügbare Calprotectin vermittelt die Verklumpung der Immunpartikel. Die Trübheit der Probe, die mittels Lichtabsorption gemessen wird, erhöht sich mit der Bildung des Calprotectin-Immunpartikel-Komplexes und ist proportional zur Calprotectinkonzentration. Mit der gemessenen Lichtabsorption kann die Calprotectinkonzentration über Interpolation mit einer etablierten Kalibrator Standardkurve bestimmt werden.

## MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	Menge	Code	Vorbereitung
<b>Reaktionspuffer (R1)</b> MOPS-gepufferte Kochsalzlösung	1 Flasche 35 mL	B-KCAL-R1	Gebrauchsfertig
<b>Immunpartikel (R2)</b> Polystyrolkugeln, beschichtet mit aviären Antikörpern gegen humanes Calprotectin	1 Flasche 7 mL	B-KCAL-R2	Gebrauchsfertig

Tabelle 1

## LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

- Reagenzien nicht einfrieren! Haltbarkeit der nicht geöffneten Reagenzien bei 2-8 °C: Siehe Verfalldatum auf der Packungsaufschrift.
- Haltbarkeit der geöffneten Reagenzien bei 2-8 °C: Siehe Verfalldatum auf der Packungsaufschrift.

- Stabilität im Gerät: mindestens 60 Tage bei bis zu 15 °C.

## ERFORDERLICHE MATERIALIEN, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

Reagenzien	Menge	Code
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibrator-Kit</b> Kalibratoren 1-6 zur Kalibrierung des Geräts	1 x 6 Flaschen 1 mL/Flaschen	B-KCAL-CASET
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollen-Kit</b> Kontrollen; Niedrig und Hoch	3 x 2 Flaschen 1 mL/Flaschen	B-KCAL-CONSET
<b>CALEX® Cap Device</b> Extraktionsgerät, gefüllt mit Extraktionspuffer	50 Röhrchen 200 Röhrchen 500 Röhrchen	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
<b>Extraktions-Kit</b> Extraktionspuffer für alternative Extraktionsmethode	3 Flaschen 12 Flaschen 125 mL / Flasche	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabelle 2

## WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Dieser Test ist nur für den *in-vitro*-Gebrauch und ist von qualifiziertem Fachpersonal gemäß Good Laboratory Practice (GLP) durchzuführen.
- Reagenzien verschiedener Lots dürfen nicht gemischt werden. Die Deckel der Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Die Immunpartikel enthalten potenziell infektiöse Substanzen tierischer Herkunft und müssen daher mit der entsprechenden Vorsicht gehandhabt werden. Entsorgung von verworfenen Materialien muss gemäß den lokalen Vorschriften erfolgen.
- R1 enthält MOPS, das die Augen und die Haut reizen kann. Mit der nötigen Vorsicht handhaben.
- R2 enthält Polystyrol-Nanopartikel.

## PROBENGEWINNUNG UND -HANDHABUNG

**Transport der Proben:** Innerhalb von 3 Tagen nach Gewinnung des Untersuchungsmaterials sollte es vom Labor erhalten werden. Die Proben können bei Raumtemperatur transportiert werden (23 °C).

**Lagerung der Proben:** Erhaltene Stuhlproben sollten bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 3 Tagen extrahiert werden.

**Stuhlextraktion mit dem CALEX® Cap:** Stuhlproben werden entnommen, extrahiert und mithilfe des BÜHLMANN CALEX® Cap Devices (Code: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) auf die Endkonzentration 1:500 verdünnt. Die Extraktion ist in den Anleitungen beschrieben und illustriert, die dem Extraktionsbesteck beiliegen.

**Wichtig:** Nach der Extraktion wird das CALEX® Cap Device 10 Minuten bei 1000-3000 x g zentrifugiert und anschließend mit der Testdurchführung fortgefahren.

**Lagerung des Extraktes:** Calprotectin in Extrakten, die durch BÜHLMANN CALEX® Cap gewonnen wurden, sind bei Raumtemperatur 3 Tage, bei 2-8°C 6 Tage und bei -20°C 18 Monate stabil.

**Alternatives Verfahren:** Die Stuhlprobe muss in einem leeren Entnahmeröhrchen gesammelt werden.

Manuelles Wiegen 1:50 mit dem Extraktionspuffer von BÜHLMANN (Code: B-CAL-EX3, B-CAL-EX12); Zentrifugation (5 min. bei 3000 x g) und anschließende Ausführung einer weiteren 1:10 Verdünnung in Extraktionspuffer.

Calprotectin in Extrakten (1:50), die durch manuelle Wiegemethoden gewonnen wurden, ist bei 2-8°C 6 Tage oder bei -20°C 18 Monate stabil.

Wichtig: Die Stuhlproben dürfen nicht mit chemischen oder biologischen Zusätzen versetzt werden.

---

## TESTDURCHFÜHRUNG

### Anwendungshinweise / Installation des Tests

Die Testdurchführung für den BÜHLMANN fCAL® turbo Test ist auf mehreren klinisch-chemischen Analysegeräten etabliert. Validierte Anwendungshinweise, die die Installation und Analyse auf speziellen Geräten beschreiben, sind bei BÜHLMANN auf Anfrage erhältlich. Entsprechende Gerätehandbücher müssen zum Einrichten des Geräts, der Wartung, der Bedienung und für Vorsichtsmaßnahmen herangezogen werden.

### Vorbereiten der Reagenzien

Die bereitgestellten Reagenzien sind gebrauchsfertig. Vor dem Beladen des Geräts die Reagenzien vorsichtig mischen. Die Reagenzienflaschen passen in das Gerät, wenn im Anwendungshinweis nichts anderes angegeben ist.

### Erstellen einer Kalibrierkurve

Der BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibrator (Code: B-KCAL-CASET) wird zum Erstellen einer 6-Punkt-Standardkurve gemäß dem Gerätehandbuch verwendet. Kalibratorwerte sind chargenspezifisch. Für jedes neue Kalibrator- und Reagenzien-Lot muss erneut eine Kalibrierung durchgeführt werden. Ansonsten sollte die Kalibrierung alle 4 bis 8 Wochen gemäß den gerätespezifischen Anwendungshinweisen vorgenommen werden. Siehe dem BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibrator beiliegenden QC-Datenblatt für die festgelegten Kalibrierwerte.

Falls die Kalibrierung nicht fehlerfrei durchgeführt werden kann, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von BÜHLMANN.

### QC-Kontrollen

Die BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollen; Niedrig und Hoch, (Code: B-KCAL-CONSET) müssen täglich vor der Messung der extrahierten Stuhlproben der Patienten geprüft werden. Die Kontrollen haben festgelegte Wertebereiche, die auf dem mit jeder Charge des BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollen Kits mitgelieferten QC-Datenblatt angegeben sind. Die Kontrollmessungen müssen innerhalb des angegebenen Wertebereichs liegen, um gültige Ergebnisse für die Stuhlprobenextrakte der Patienten zu erhalten. Wenn die Kontrollwerte nicht gültig sind, so ist folgende Vorgehensweise anzuwenden:

- QC-Kontrollmessung mit frischen Kontrollen wiederholen.
- Gerät erneut kalibrieren.

Kontakt mit BÜHLMANN-Kundendienst aufnehmen, falls die Kontrollwerte nicht reproduzierbar sind.

## Messung der Stuhlprobenextrakten von Patienten

Nachdem die Kalibrierkurve erstellt und mit den QC-Kontrollen validiert ist, können die Stuhlprobenextrakte der Patienten gemessen werden. Die Messung der Stuhlprobenextrakte ist gemäß dem Anwendungshinweis und dem Gerätehandbuch durchzuführen.

### Ergebnisse

Das klinisch-chemische Analysegerät berechnet die Ergebnisse automatisch und gibt sie in µg/g an, sofern in den entsprechenden Anwendungshinweisen für das klinisch-chemische Analysegerät nichts anderes angegeben ist.

---

## STANDARDISIERUNG

Der BÜHLMANN fCAL® turbo wird mit dem BÜHLMANN fCAL® ELISA standardisiert. Die Ergebnisse beider Tests sind sehr gut vergleichbar (siehe Testcharakterisierung).

---

## BESCHRÄNKUNGEN

- Probenverschleppung: Je nach klinisch-chemischem Analysegerät, wurde eine geringfügige Probenverschleppung (0,5 %), die leicht erhöhte Werte verursachen kann, nachgewiesen.
- Zeitweise eingefrorenes Reagenz 2 (R2) kann nicht mehr verwendet werden. Das Einfrieren von R2 führt zu einer reduzierten Empfindlichkeit und Präzision bei Proben mit niedrigen Konzentrationen. Im schlimmsten Fall werden zu niedrige Messwerte angegeben.
- Der Test ist für Stuhlprobenextrakte vorgesehen, die mithilfe des speziellen BÜHLMANN Extraktionspuffers (B-CAL-EX) vorbereitet wurden. Die Anwendung anderer Extraktionspuffer kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Die Verdampfung der Kalibratoren und Kontrollen auf dem Analysegerät kann zu falschen Ergebnissen führen. Der Test muss unmittelbar nach dem Beladen des Analysegeräts durchgeführt werden.
- Bei Extrakten mit >8000 µg/g kann ein geringer Hook-Effekt auftreten. Werte >8000 µg/g sind selten (<0,5 %), können aber fälschlicherweise als Messwerte zwischen 1000 und 2000 µg/g angegeben werden. Es wurde nicht beobachtet, dass Extrakten mit einem Wert >8000 µg/g zu einem gemessenen Wert unter 1000 µg/g führt.
- Patienten, die regelmäßig NSAR einnehmen, könnten erhöhte Calprotectinwerte aufweisen.
- Fäkale Calprotectinwerte sind als Hilfe bei der Diagnose zur Unterscheidung einer organischen Erkrankung von einer funktionellen Erkrankung und zur IBD-Überwachung vorgesehen. Die Interpretation der Resultate sollte stets in Kombination mit anderen klinischen und Laborergebnissen erfolgen.
- Um bei der IBD-Überwachung die beste diagnostische Genauigkeit zu erzielen um einen klinischen Rückfall vorherzusehen, wurde empfohlen mehrere Messungen des Stuhlcalprotectins in bis zu 4 Wochen Intervallen durchzuführen (Ref. 21-22).

---

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

### UNTERSCHIEDEN EINER ORGANISCHEN ERKRANKUNG VON EINER FUNKTIONELLEN GASTROINTESTINALEN ERKRANKUNG

Die Bestimmung des Calprotectinspiegels in Stuhlproben kann als zuverlässige und einfache Hilfe bei der Unterscheidung zwischen organischen und funktionellen gastrointestinalen Erkrankungen verwendet werden (Ref. 1-7). BÜHLMANN empfiehlt die Verwendung der gleichen Grenzwerte wie für den BÜHLMANN fCAL® ELISA:

#### Normalwerte unter 50 µg/g

Calprotectinwerte unter 50 µg/g weisen nicht auf eine Entzündung des Magen-Darm-Traktes hin. Patienten mit niedrigen Calprotectinwerten benötigen vermutlich keine Invasivmaßnahmen zur Bestimmung der Entzündungsursache (Ref.4).

#### Erhöhte Werte zwischen 50 und 200 µg/g

Calprotectinwerte zwischen 50 und 200 µg/g können eine leichte organische Erkrankung anzeigen, beispielsweise eine durch NSAR hervorgerufene Entzündung, eine leichte Divertikulitis und entzündliche Erkrankung des Magen-Darm-Traktes in der Remissionsphase. Die innerhalb dieses Bereichs gezeigte niedrige entzündliche Reaktion empfiehlt das Wiederholen der Messungen und das Durchführen weiterer Untersuchungen.

#### Erhöhte Werte oberhalb von 200 µg/g

Calprotectinwerte oberhalb von 200 µg/g weisen auf eine aktive organische Erkrankung mit einer Entzündung des Magen-Darm-Traktes hin. Entsprechende weiterführende Maßnahmen zur Ermittlung durch Fachärzte werden empfohlen.

Der empfohlene Grenzwert für Erwachsene (50 µg/g) kann auch für Kinder im Alter von 4 bis 17 Jahren verwendet werden, unabhängig von deren Geschlecht (Ref. 8-9).

---

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

### IBD-ÜBERWACHUNG

Die Bestimmung von fäkalem Calprotectin ist auch eine zuverlässige und einfache Methode, um die Überwachung von IBD-Patienten zu unterstützen (Ref. 10-20).

Verdichtete Kenntnisse der publizierten Grenzwerte und klinischen Leistungsstudien, unterstützen die folgenden Ergebniskategorien:

#### Werte unterhalb von 100 µg/g

Fäkale Calprotectinkonzentrationen unter 100 µg/g machen zuverlässig auf Patienten aufmerksam, die sich in der endoskopischen Remission befinden und bei denen die invasiven endoskopischen Untersuchungen vermieden werden können, da ein geringes Risiko eines klinischen Rückfalls besteht (Ref. 10-20).

#### Werte zwischen 100-300 µg/g

Fäkale Calprotectinkonzentrationen zwischen 100 und 300 µg/g können auf den Bedarf einer engmaschigeren Kontrolle in den folgenden Perioden hinweisen, um Entwicklungstendenzen der Krankheit beurteilen zu können.

#### Werte oberhalb von 300 µg/g

Messungen von fäkalen Calprotectinkonzentrationen oberhalb von 300 µg/g sollten wiederholt werden. Falls die erhöhten Werte bestätigt werden, sollten unverzüglich weitere Untersuchungen erfolgen (Ref. 10-20).

Die oben genannten Ergebniskategorien sind als Empfehlungen zu betrachten. Es wird empfohlen, dass Gesundheitsfachkräfte die Grenzwerte für den einzelnen Patienten festlegen, indem Sie den Ausgangswert für Calprotectin während der Remission bestimmen.

Ein falsch-negatives Resultat bei einem Patienten mit einer endoskopisch nachweisbaren Entzündung, das ein Calprotectinergebnis in der Kategorie mit Werten unter 100 µg/g anzeigt, aber einen Wert oberhalb von 300 µg/g zeigen sollte, kann - obwohl unwahrscheinlich - geeignete klinische Entscheidungen und die Behandlung des Patienten verzögern. Daher ist es wichtig, dass der Patient weiterhin von einer Gesundheitsfachkraft betreut wird und mögliche klinische Symptome meldet.

Studien haben gezeigt, dass hohe Calprotectinwerte, oberhalb von 300 µg/g, nicht immer auf die Entwicklung eines klinischen Rückfalls hindeuten (Ref. 10-20). Hohe Calprotectinwerte müssen als Warnsignal betrachtet und die Messung muss wiederholt werden. Bei einer Bestätigung erhöhter Werte sind unverzüglich weitere Untersuchungen vorzunehmen.

---

## LEISTUNGSMERKMALE

Die angegebenen Leistungsfähigkeiten wurden auf einem Mindray BS-380 (eingetragenes Markenzeichen von Mindray Medical International) bestimmt. Um mehr über die Leistungsmerkmale des Tests auf anderen klinisch-chemischen Analysegeräte zu erfahren, beziehen Sie sich bitte auf die spezifischen Anwendungshinweise derselben.

#### Erfassungsgrenze

BÜHLMANN fCAL® turbo hat auf dem BS-380 Analysegerät eine Bestimmungsgrenze (LoQ) von 19 µg/g Calprotectin, wobei LoQ als die niedrigste, tatsächliche Menge eines Analyten definiert ist, bei dem der Gesamtfehler die Anforderungen bezüglich der Genauigkeit erfüllt.

## Genauigkeit

Die Präzision des BÜHLMANN fCAL® turbo, der mit dem Kalibrator-Kit (B-KCAL-CASET) kalibriert wurde, wurde in einer 20-tägigen Präzisionsstudie gemäß CLSI Richtlinie EP5-A3 festgelegt. Vier Stuhlprobenextrakte und 2 Kontrollen (B-KCAL-CONSET) wurden auf dem BS-380 Analysegerät gemessen.

Stuhlprobenextrakte	Mittelwert (µg/g)	VK innerhalb der Messung (%)	VK zwisch. Tagen (%)	VK zwisch. der Messung (%)	Gesamt VK (%)
Gering	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Mittel niedrig	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Mittel hoch	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Hoch	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Kontrolle niedrig	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Kontrolle hoch	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Tabelle 3: Präzisionsergebnisse

## Linearität

Der mit dem Kalibrator-Kit (B-KCAL-CASET) kalibrierte BÜHLMANN fCAL® turbo ist auf dem BS-380 Analysegerät innerhalb des Bereichs von 21-2058 µg/g linear. Konzentrationen außerhalb dieses Bereichs werden durch das für das Analysegerät spezifische Protokoll auf 1:10 verdünnt und erneut geprüft.

## Hook-Effekt

Für den BÜHLMANN fCAL® turbo wurde für Calprotectinkonzentrationen bis zu 8000 µg/g kein Hook-Effekt beobachtet.

## Interferenz

Mit Hämoglobin (0,05 g/L), Triglyceriden (Intralipid®) (1 g/L) oder Bilirubin (0,5 mg/L) wurden auf dem BS-380 Analysegerät keine Interferenz nachgewiesen. Da die Proben für den BÜHLMANN fCAL® turbo in hoher Verdünnung (1:500) extrahiert werden, werden Störstoffkonzentrationen verwendet, die niedriger als der Standard sind. Mit standardmäßigen, oral verabreichten Arzneimitteln und Lebensmittelzusatzstoffen, die für Magen-Darm-Beschwerden verschrieben werden, wurde keine Interferenz beobachtet. Die Interferenzstudie wurde gemäß dem CLSI Richtlinie EP07-A2 durchgeführt [5].

## Methodenvergleich

Die mit dem BÜHLMANN fCAL® turbo erhaltenen Ergebnissen auf dem BS-380 Analysegerät und die mit den erzielten Ergebnissen auf dem BÜHLMANN fCAL® ELISA wurden mithilfe der Passing-Bablok-Regression verglichen. Die Studie umfasste 112 Stuhlprobenextrakte im Bereich von 30-1800 µg/g.

---

## SCHÄDEN BEIM VERSAND

Bitte informieren Sie Ihren Vertriebspartner, falls dieses Produkt beim Empfang beschädigt war.

---

## REACH

Keine der Materialien und Reagenzien im Kit benötigen ein Sicherheitsdatenblatt (MSDS) gemäß CLP-Verordnung (EG) 1272/2008 und der Richtlinie EC 1907/2006 (REACH).

## ANHANG I

### TABELLEN UND ABBILDUNGEN

N	Lineare Regression (turbo vs. ELISA)		Bland-Altman Analyse (turbo vs. ELISA)		
	Steigung	Determinationskoeffizient (R <sup>2</sup> )	Systematischer Fehler (%)	Untere LoA*	Obere LoA*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Tabelle 4: Ergebnisse des Methodenvergleichs.  
\*LoA = Grenzen der Übereinstimmung

### Methodenvergleich

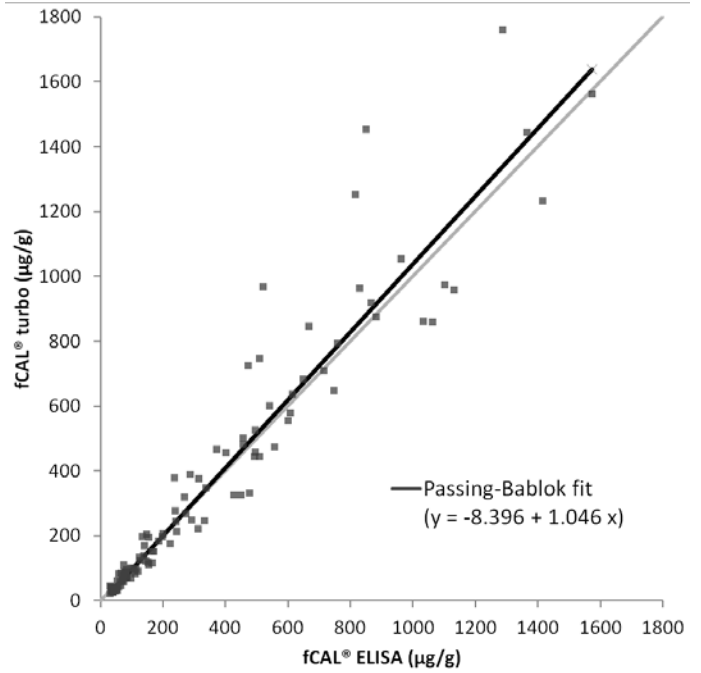


Abbildung 1: Streudiagramm von 112 Proben, die in die Methodenvergleichsanalyse mit aufgenommen wurden.

---





## ANHANG II




### REFERENZEN

1. Fagerhol MK: Lancet 2000; 356, 1783-4.
2. Tibble JA et al.: Gut 2000; 47, 506-13.
3. Tibble JA et al.: Gastroenterol 2002; 123, 450-60.
4. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2008; 128, 743-5.
5. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
6. Pavlidis P. et al. Scand J Gastroenterol. 2013; 48, 1048-54.
7. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
8. Kapel N et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 50.
9. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
10. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407-1415.
11. Lobatón T et al.: J Crohns Colitis 2013, 641-51.
12. Lobatón T et al.: Inflamm Bowel Dis 2013, 1034-42.
13. Wright et al.: Gastroenterology 2015; 148, 938-947.
14. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
15. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
16. Ferreiro-Iglesias R1 et al. : J Clin Gastroenterol 2015, 147-51.
17. Guardiola J. et al. Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014, 1865-70.
18. Lasso A et al.: United European Gastroenterol J 2015, 72-9.
19. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 369-72.
20. Peyrin-BL et al.: Am J Gastroenterol 2015, 1324-38.
21. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
22. De Vos M et al. : Inflamm Bowel Dis. 9 2013, 2111-2117.

## ANHANG III

### SYMBOLE

Symbol	Erläuterung
	Verfalldatum
	Katalognummer
	Chargennummer
	Medizinisches Gerät für die <i>In-vitro</i> -Diagnostik

Symbol	Erläuterung
	Gebrauchsanweisung durchlesen
	Hersteller
	Temperaturbegrenzungen

