

BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Dosage de la calprotectine par turbidimétrie
Pour utilisation professionnelle

Coffret de réactifs

B-KCAL-RSET

Revision date: 2017-12-19

FRANÇAIS

UTILISATION PRÉVUE

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est un test diagnostique *in vitro* de dosage quantitatif de la calprotectine dans les échantillons de selles humaines, conçu pour aider à évaluer l'état inflammatoire de la muqueuse intestinale. Les résultats du test peuvent contribuer, d'une part, au diagnostic permettant de distinguer – chez les patients de plus de quatre ans (ref. 8-9) souffrant de douleurs abdominales chroniques – une maladie inflammatoire du tractus gastro-intestinal de type organique (maladie inflammatoire chronique de l'intestin MICI, par ex. maladie de Crohn ou recto-colite hémorragique, RCH) (ref. 1-7) d'une maladie fonctionnelle (syndrome de l'intestin irritable, SII) et, d'autre part, à la surveillance d'une MICI (ref. 10-12).

Pour utilisation en laboratoire uniquement.

PRINCIPE DU TEST

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est basé sur la technique d'immunoturbidimétrie (PETIA) et permet la quantification d'extraits fécaux de calprotectine sur différents analyseurs de chimie clinique. Les échantillons de selles sont extraits à l'aide du tampon d'extraction (B-CAL-EX) contenu dans le dispositif BÜHLMANN CALEX® Cap (Réf : B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) ou par pesée. La dilution finale appliquée est au 1/500^{ème}. Les extraits sont incubés avec du tampon de réaction et mélangés avec des nanoparticules de latex revêtues d'anticorps spécifiques de la calprotectine (immunoparticules). La calprotectine présente crée une agglutination d'immunoparticules. La turbidité de l'échantillon, mesurée par absorbance de la lumière, augmente avec la formation de complexes calprotectine-immunoparticules et est proportionnelle à la concentration en calprotectine. L'absorbance détectée permet de quantifier la concentration en calprotectine grâce à une courbe de calibration.

REACTIFS FOURNIS ET PREPARATION

Réactifs	Quantité	Référence	Préparation
Tampon de réaction (R1) Tampon salin MOPS	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Prêt à l'emploi
Immunoparticules (R2) Billes de polystyrène revêtues d'anticorps aviaires dirigés contre la calprotectine humaine	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Prêt à l'emploi

Table 1

CONSERVATION DES RÉACTIFS ET STABILITÉ

- Ne pas congeler les réactifs ! Les réactifs non entamés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration inscrite sur le coffret.
- Les réactifs entamés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration inscrite sur le coffret.
- Stabilité à bord : au moins 60 jours jusqu'à 15 °C.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Réactifs	Quantité	Référence
Coffret de calibrateurs BÜHLMANN fCAL® turbo Calibrateurs 1 à 6 pour la calibration de l'analyseur	1 x 6 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
Coffret de contrôles BÜHLMANN fCAL® turbo Contrôles haut et bas	3 x 2 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
Dispositif CALEX® Cap Tubes d'extraction remplis avec du tampon d'extraction	50 tubes 200 tubes 500 tubes	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit d'extraction Tampon d'extraction nécessaire si d'autres techniques d'extraction utilisées	3 flacons 12 flacons 125 mL/ flacon	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Table 2

PRECAUTIONS ET SECURITE

- Ce test est prévu pour une utilisation *in vitro* et doit être réalisé par un personnel qualifié, en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire (BPL).
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents, ni les bouchons des réactifs.
- Les immunoparticules contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine humaine et doivent être manipulées avec précaution. Pour en savoir plus sur les précautions pour la manipulation et l'élimination des déchets, nous vous recommandons fortement de consulter l'organisme réglementaire compétent pour votre pays.
- Le R1 contient du MOPS pouvant être irritant pour les yeux et la peau. A manipuler avec précaution.
- Le R2 contient des nanoparticules de polystyrène.

RECUEIL DE L'ÉCHANTILLON ET MANIPULATION

Transport des échantillons: Les échantillons de selles doivent être réceptionnés au laboratoire jusqu'à 3 jours après leur recueil. Le transport peut être réalisé à température ambiante (23°C).

Conservation des échantillons: Les échantillons de selles réceptionnés doivent être conservés entre 2 et 8°C et extraits dans les 3 jours.

Extraction des échantillons de selles avec CALEX® Cap: Les selles sont recueillies, extraites et diluées à une concentration finale de 1/500^e en utilisant le dispositif d'extraction BÜHLMANN CALEX® Cap (Réf : B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500). L'extraction est décrite dans le manuel d'utilisation fourni avec les dispositifs d'extraction respectifs.

Important: Après l'extraction, centrifuger le dispositif CALEX® Cap pendant 10 minutes à 1000-3000 x g et continuer avec la « Procédure de test ».

Conservation des extraits: La calprotectine présente dans les extraits obtenus à l'aide du dispositif d'extraction CALEX® Cap est stable à température ambiante pendant 3 jours, entre 2 et 8°C pendant 6 jours ou à -20°C pendant 18 mois.

Technique alternative: Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des tubes lisses.

Peser les selles et les extraire dans le tampon d'extraction de BÜHLMANN au 1/50ème (Réf : B-CAL-EX3, B-CAL-EX12), centrifuger (5 minutes à 3000 x g) puis réaliser une dilution supplémentaire au 1/10ème avec le tampon d'extraction de BÜHLMANN.

La calprotectine présente dans les extraits (1:50) obtenus par méthode de pesée est stable entre 2 et 8°C pendant 6 jours ou à -20°C pendant 18 mois.

Important: Les échantillons doivent être prélevés sans aucune addition chimique ou biologique.

PROCÉDURE DE TEST

Protocoles d'application / Installation du test

Les procédures de test pour le BÜHLMANN fCAL® turbo sont établies sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les protocoles d'application décrivant l'installation et l'analyse sur chaque instrument sont disponibles sur demande chez BÜHLMANN. Se référer au manuel instrument pour le paramétrage, la maintenance, la réalisation d'un dosage et les précautions générales à prendre.

Préparation des réactifs

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Homogénéiser légèrement avant de charger l'analyseur. Les bouteilles de réactifs sont normalement adaptées à l'analyseur, sauf indication contraire marquée sur le protocole d'application.

Etablissement de la courbe de calibration

Le set de calibrateurs BÜHLMANN fCAL® turbo (Réf. B-KCAL-CASET) permet de réaliser une courbe d'étalonnage de 6 points selon la notice de l'instrument. Une nouvelle calibration doit être réalisée pour chaque nouveau lot de calibrateurs et de réactifs ou toutes les 4 à 8 semaines selon les indications du protocole d'application de l'instrument. Se référer à la fiche de contrôle qualité incluse dans le set de calibrateurs BÜHLMANN fCAL® turbo pour connaître les valeurs de calibrateur définies.

Contactez le support BÜHLMANN si la calibration ne peut être réalisée sans erreur.

Contrôles qualité

Les contrôles BÜHLMANN fCAL® turbo, haut et bas, (Réf. B-KCAL-CONSET) doivent être dosés chaque jour avant le dosage d'échantillons patients afin de valider la courbe de calibration. Les valeurs des contrôles sont définies par lot, voire fiche de contrôle qualité incluse dans le set de contrôles BÜHLMANN fCAL® turbo. Les valeurs des contrôles doivent être comprises dans l'intervalle de mesure afin de pouvoir valider les valeurs des échantillons patients. Si les valeurs des contrôles sont invalides, réaliser les étapes suivantes :

- Répéter la mesure des contrôles avec de nouveaux contrôles.
- Re-calibrer l'analyseur.

Contactez le support BÜHLMANN si les contrôles sont toujours invalides.

Dosage de l'extrait patient

Une fois la courbe de calibration établie et validée avec les contrôles qualité, les extraits patients peuvent être dosés. Lancer le dosage des extraits patients selon la Note d'Application et le manuel d'utilisation de l'analyseur.

Résultats

Les résultats se calculent automatiquement par l'analyseur de chimie clinique et sont rendus en µg/g sauf autre indication dans les notes d'application spécifiques de l'analyseur de chimie clinique en question.

STANDARDISATION

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est standardisé avec le test BÜHLMANN fCAL® ELISA. Les résultats des deux tests sont hautement comparables (voir les caractéristiques de performances).

LIMITES

- Contamination inter-échantillon: En fonction de l'analyseur de chimie clinique, un transfert mineur d'échantillon (« carry-over ») a été détecté (0,5 %), qui pourrait provoquer une faible augmentation des valeurs.
- Le réactif R2, occasionnellement congelé, ne peut pas être utilisé. Congeler le réactif R2 a pour conséquence la réduction de la sensibilité et de la précision pour les échantillons de faibles concentrations et dans les situations plus critiques, la diminution des valeurs mesurées.
- Le test est conçu pour les échantillons fécaux extraits avec le tampon spécifique d'extraction BÜHLMANN (B-CAL-EX). Utiliser tout autre tampon d'extraction pourra engendrer des résultats incorrects.
- L'évaporation des contrôles et calibrateurs dans l'analyseur pourra provoquer des résultats incorrects. Réaliser le test immédiatement après avoir chargé l'analyseur.
- Un effet crochet mineur peut apparaître pour les extraits >8000 µg/g. Les valeurs >8000 µg/g sont rares (<0,5 %) mais peuvent être incorrectement mesurées entre 1000 et 2000 µg/g. Aucune valeur pour ces extraits n'a été observée en dessous de 1000 µg/g.
- Les patients prenant régulièrement des AINS peuvent présenter des taux de calprotectine fécale plus élevés.
- Les dosages de la calprotectine fécale visent à contribuer, d'une part, au diagnostic permettant de distinguer une maladie organique d'une maladie fonctionnelle et, d'autre part, au suivi d'une MICI. Les résultats devraient toujours être interprétés en association avec ceux d'autres investigations cliniques et de laboratoire.
- Pour le suivi d'une MICI, il a été suggéré que de multiples dosages de la calprotectine fécale, effectués à des intervalles allant jusqu'à 4 semaines, permettent une meilleure exactitude diagnostique pour anticiper une rechute clinique chez les patients (réf. 21-22).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

DISTINGUER UNE MALADIE ORGANIQUE D'UNE MALADIE GASTRO-INTESTINALE FONCTIONNELLE

La détermination des taux de calprotectine fécale peut aider de manière simple et fiable dans la distinction entre les maladies gastro-intestinales organiques et fonctionnelles (réf. 1-7). BÜHLMANN recommande d'appliquer les mêmes seuils que ceux utilisés pour BÜHLMANN fCAL® ELISA.

Valeurs normales inférieures à 50 µg/g

Les valeurs de calprotectine inférieures à 50 µg/g ne sont pas indicatives d'une inflammation du tractus gastro-intestinal. Les patients avec des niveaux bas n'ont généralement pas besoin d'investigation invasive plus poussée pour déterminer la cause de l'inflammation (réf.4).

Valeurs élevées entre 50 et 200 µg/g

Les valeurs de calprotectine entre 50 et 200 µg/g peuvent représenter une maladie organique douce telle qu'une inflammation causée par les AINS, une diverticulite légère et une MICI en phase de rémission. La faible réponse inflammatoire démontrée dans cette zone suggérerait de répéter le test et de réaliser des investigations supplémentaires.

Valeurs élevées supérieures à 200 µg/g

Les valeurs de calprotectine supérieures à 200 µg/g sont indicatives d'une maladie organique active avec inflammation du tube digestif. Des procédures d'investigations appropriées par des spécialistes sont suggérées.

Les valeurs de seuil suggérées pour les adultes (50 µg/g) peuvent aussi être appliquées aux enfants de 4 à 17 ans sans distinction de sexe (réf.8-9).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

SUIVI D'UNE MICI

La détermination des taux de calprotectine fécale est aussi un moyen fiable et simple pour faciliter le suivi des patients atteints d'une MICI (réf. 10-20).

La synthèse de l'ensemble des valeurs-seuils publiées et des études de performance clinique permet d'établir les catégories de résultats suivantes :

Valeurs inférieures à 100 µg/g

Des concentrations de calprotectine fécale inférieures à 100 µg/g peuvent indiquer de façon fiable des patients à faible risque de rechute clinique, en rémission endoscopique et chez lesquels des procédures endoscopiques invasives peuvent être évitées (réf. 10-20).

Valeurs entre 100 et 300 µg/g

Des concentrations en calprotectine fécale comprises entre 100 et 300 µg/g peuvent indiquer la nécessité d'un contrôle plus étroit au cours de la période suivante avec pour objectif l'évaluation des tendances évolutives de la maladie.

Valeurs supérieures à 300 µg/g

Des concentrations en calprotectine fécale dépassant 300 µg/g doivent conduire à la répétition du test et, si les valeurs élevées se confirment, à la réalisation d'investigations supplémentaires (réf. 10-20).

Les catégories de résultats ci-dessus sont des recommandations. Il est conseillé aux praticiens médicaux d'établir des seuils individuels propres au patient à partir de la détermination, lors d'une période de rémission de la maladie, de sa propre concentration de base en calprotectine.

Un résultat faux-négatif, à savoir une valeur de calprotectine dans la catégorie moins de 100 µg/g alors qu'il devrait dépasser 300 µg/g, dans le cas d'un patient montrant une inflammation endoscopique, bien que cela soit peu probable, risque de retarder des décisions cliniques et un traitement appropriés du patient. Par conséquent, il importe que le patient reste sous la surveillance d'un médecin et l'informe de tout symptôme clinique.

Des études ont montré que des concentrations élevées en calprotectine, supérieures à 300 µg/g, ne traduisent pas systématiquement la survenue d'une rechute clinique (réf. 10-20). Des taux élevés de calprotectine doivent être considérés comme un signal d'alerte et conduire à une répétition du test. La confirmation de taux élevés doit inciter à la réalisation d'investigations supplémentaires.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été générées sur l'analyseur Mindray BS-380 (marque déposée de Mindray Medical International). Se référer aux notes d'application spécifiques de l'analyseur de chimie clinique utilisé pour les caractéristiques de performance sur celui-ci.

Limites de détection

La limite de quantification est définie comme suit : La plus faible quantité réelle d'un analyte qui peut être détectée de manière fiable et à laquelle l'erreur totale répond aux exigences de précision.

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo a une limite de quantification de 19 µg/g de calprotectine sur l'analyseur BS-380.

Précision

La précision du test BÜHLMANN fCAL® turbo a été évaluée pendant 20 jours avec le coffret de calibrateurs (B-KCAL-CASET) en accord avec la directive CLSI, EP5-A3. 4 extraits fécaux et 2 niveaux de contrôles ont été mesurés sur l'analyseur BS-380.

Extraits fécaux	Valeur moyenne (µg/g)	CV intra-série (%)	CV inter-jour (%)	CV inter-série (%)	CV total (%)
Faible	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Moyennement faible	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Moyennement fort	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Fort	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Contrôle bas	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Contrôle haut	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Linéarité

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est linéaire entre 21 et 2058 µg/g sur l'analyseur BS-380 en utilisant le set de calibrateurs (B-KCAL-CASET). Les extraits dont les concentrations sont au-delà de cette gamme, seront dilués au 1:10 selon un protocole spécifique de l'analyseur et dosés à nouveau.

Effet crochet

Pour le test BÜHLMANN fCAL® turbo, aucun effet crochet n'est observé pour des concentrations en calprotectine jusqu'à 8000 µg/g.

Interférences

Aucune interférence n'est détectée avec l'hémoglobine (0,05 g/L), l'intralipide (1 g/L) ou la bilirubine (0,5 mg/L) sur l'analyseur BS-380. Du fait de l'extraction et donc de la dilution au 1:500e des échantillons de selles, les concentrations testées sont plus faibles que celles testées normalement avec les échantillons de sang.

Aucune interférence n'a été observée avec différents médicaments, ni additifs alimentaires administrés oralement et liés à des troubles intestinaux. L'évaluation des interférences a été menée en accord avec la directive CLSI, EP07-A2 [5].

Comparaison de méthodes

Les résultats obtenus avec le test BÜHLMANN fCAL® turbo sur l'analyseur BS-380 ont été comparés avec la régression de Passing et Bablok au test BÜHLMANN fCAL® ELISA. L'évaluation a inclus 112 extraits de selles dans la gamme de 30 à 1800 µg/g.

DOMMAGES LIÉS AU TRANSPORT

Merci d'indiquer à votre distributeur si le produit a été réceptionné endommagé.

REACH

Aucun des matériaux et des réactifs dans le kit nécessite une fiche de données de sécurité (FDS) conformément au règlement CLP (CE) n ° 1272/2008 et de la directive CE 1907/2006 (REACH).

APPENDIX I

TABLES ET FIGURES

N	Régression linéaire (turbo vs. ELISA)		Analyse Altman Bland (turbo vs. ELISA)		
	Pente	Coefficient de détermination (R ²)	Biais (%)	Lower LoA*	Upper LoA*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Table 4 : Résultats de comparaison de méthodes.
*LoA = Limites d'Acceptabilité

Method Comparison

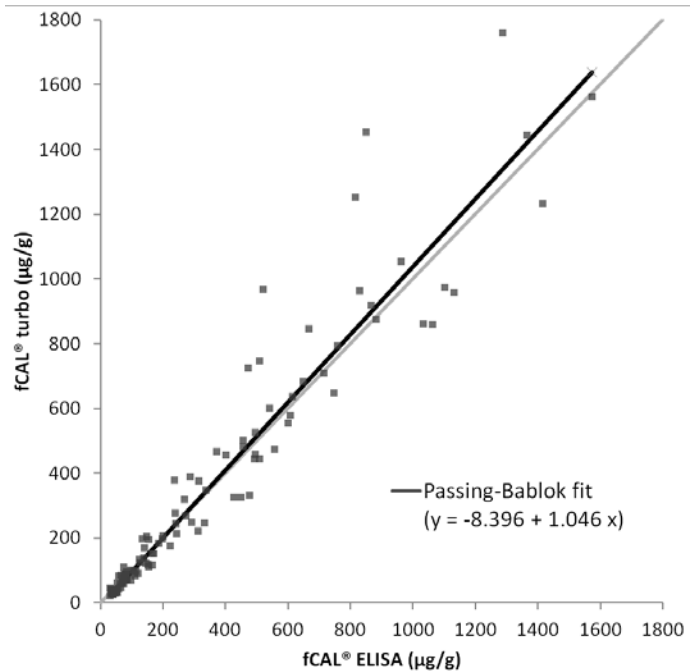


Fig. 1 : Nuage de points des 112 échantillons inclus dans l'analyse de comparaison de méthodes.





APPENDIX II




REFERENCES

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. Lasson 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.

APPENDIX III

SYMBOLS

Symbol	Explanation
	Utiliser jusqu'au
	Référence du catalogue
	No. du lot
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>

Symbol	Explanation
	Consulter le mode d'emploi
	Fabricant
	Limites de température

CE

IVD