

# **BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo**

Dosaggio turbidimetrico della calprotectina  
per uso professionale

**Kit di reagenti**

B-KCAL-RSET

Data di revisione: 2017-12-19

## ITALIANO

### USO PREVISTO

BÜHLMANN fCAL® turbo è un test diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa della calprotectina umana nei campioni di feci impiegato come supporto alla valutazione dell'infiammazione della mucosa intestinale. I risultati del dosaggio possono essere impiegati come supporto per la diagnosi nel distinguere delle malattie infiammatorie organico del tratto gastrointestinale (malattia infiammatoria intestinale, MII (IBD) (ref. 1-7), ad es. morbo di Crohn o colite ulcerosa, CU), malattie funzionali (sindrome dell'intestino irritabile, SII (IBS)), in pazienti con dolore addominale cronico di età superiore ai Quattro anni (ref. 8-9). Inoltre contribuisce al monitoraggio dello stato della malattia IBD (ref. 10-12).

Solo per uso di laboratorio.

### PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test BÜHLMANN fCAL® turbo è un dosaggio immunologico turbidimetrico arricchito con particelle (PETIA) e consente la quantificazione della calprotectina negli estratti fecali su analizzatori di chimica clinica: I campioni fecali sono estratti con tampone di estrazione (B-CAL-EX) impiegando il dispositivo di estrazione BÜHLMANN CALEX® Cap (Codice: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) o un metodo di pesatura manuale e applicati alla diluizione finale di 1:500. Gli estratti sono incubati con tampone di reazione e miscelati con nanoparticelle di polistirene ricoperte con anticorpi di calprotectina specifici (immunoparticelle). La calprotectina presenta nel campione media l'agglutinazione delle immunoparticelle. La torbidità del campione, misurata mediante l'assorbanza della luce, aumenta con la formazione del complesso immunoparticelle-calprotectina ed è proporzionale alla concentrazione di calprotectina. Il rilevamento dell'assorbanza della luce consente la quantificazione della calprotectina mediante interpolazione di una curva di calibratori standard.

### REAGENTI FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice	Preparazione
<b>Tampone di reazione (R1)</b> Tampone salino MOPS	1 fiala 35 ml	B-KCAL-R1	Pronto per l'uso
<b>Immuno particelle (R2)</b> Palline di polistirene ricoperte con anticorpi aviari contro la calprotectina umana	1 fiala 7 ml	B-KCAL-R2	Pronto per l'uso

Tabella 1

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

- **Non congelare i reagenti!** Durata di conservazione dei reagenti non aperti a 2-8 °C: vedere la data di scadenza sull'etichetta della confezione.
- Durata di conservazione dei reagenti aperti a 2-8 °C: vedere la data di scadenza sull'etichetta della confezione.
- Stabilità a bordo: almeno 60 giorni fino a 15 °C.

### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice
<b>Kit di calibratori BÜHLMANN fCAL® turbo</b> Calibratori 1-6 per la taratura dello strumento	1 x 6 fiale 1 mL/fiala	B-KCAL-CASET
<b>Kit di controlli BÜHLMANN fCAL® turbo</b> Controlli, basso e alto	3 x 2 fiale 1 mL/fiala	B-KCAL-CONSET
<b>Dispositivo CALEX® Cap</b> Dispositivo di estrazione riempito con tampone di estrazione	50 tubi 200 tubi 500 tubi	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
<b>Kit di Estrazione</b> Tampone di estrazione per metodo alternativo di estrazione	3 bottiglie 12 bottiglie 125 mL/ bottiglia	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabella 2

### AVVERTENTE E PRECAUZIONI

- Questo test è solo per un uso *in vitro* e deve essere maneggiato da personale qualificato, in conformità con le buone pratiche di laboratorio (BPL).
- Non miscelare reagenti con reagenti di lotti diversi o scambiare i tappi tra i reagenti.
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale potenzialmente infettive e devono essere maneggiate con la dovuta cautela. Smaltire ogni materiale di scarto in conformità alla normativa locale vigente.
- R1 contiene MOPS, che può essere irritante per gli occhi e la cute. Maneggiare con la dovuta cautela.
- R2 contiene nanoparticelle di polistirene.

### RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

**Trasporto campioni:** I campioni di feci devono essere ricevuti dal laboratorio entro 3 giorni dalla raccolta. I campioni possono essere trasportati a temperatura ambientale (23 °C).

**Conservazione dei campioni:** I campioni di feci ricevuti devono essere conservati a 2-8 °C ed estratti entro 3 giorni.

**Estrazione del campione di fecce con CALEX® Cap:** I campioni di fecce sono raccolti, estratti e diluiti in una concentrazione finale di 1:500 impiegando il dispositivo BÜHLMANN CALEX® Cap (Codice: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500). La procedura di estrazione è descritta e illustrata nelle istruzioni per l'uso fornite assieme ai rispettivi dispositivi di estrazione.

**Importante:** Dopo l'estrazione, centrifugare il dispositivo CALEX® Cap per 10 minuti a 1000-3000 x g e continuare con la procedura analitica.

**Conservazione degli estratti:** Calprotectina in estratti ottenuti con BÜHLMANN CALEX® Cap è stabile a temperatura ambiente per 3 giorni, a 2-8 °C per 6 giorni e a -20 °C per 18 mesi.

**Metodo alternativo:** I campioni di fecce devono essere raccolti in provette semplici.

Pesatura manuale con tampone di estrazione BÜHLMANN 1:50 (Codice: B-CAL-EX3, B-CAL-EX12), centrifugazione (5 minuti a 3000 x g) seguita da un'ulteriore diluizione 1:10 nel tampone di estrazione BÜHLMANN. Calprotectina in estratti (1:50) ottenuti con metodo di pesatura manuale è stabile a 2-8 °C per 6 giorni e a -20 °C per 18 mesi.

**Importante:** campione deve esser raccolto senza alcun additivo chimico o biologico presente nel dispositivo.

---

## PROCEDURA ANALITICA

### Note applicative/ Installazioni per il dosaggio

Le procedure di dosaggio per il BÜHLMANN fCAL® turbo sono state stabilite su diversi analizzatori di chimica clinica. Le note applicative validate descrivono le installazioni e le analisi su strumenti specifici, che sono disponibili su richiesta presso la BÜHLMANN. I corrispondenti manuali degli strumenti devono essere consultati per le impostazioni dello strumento, manutenzione, funzioni e precauzioni.

### Preparazione del reagente

I reagenti forniti sono pronti all'uso. Miscelare delicatamente prima del caricamento sullo strumento. Le bottiglie dei reagenti possono essere adattabili direttamente allo strumento, salvo diversa indicazione riportata nella nota applicativa.

### Determinazione della curva di calibrazione

Il calibratore BÜHLMANN fCAL® turbo (Codice: B-KCAL-CASET) è usato per stabilire una curva standard su sei punti in conformità al manuale dello strumento. I valori del calibratore sono lotti specifici. Una nuova calibrazione deve essere eseguita per ogni nuovo lotto dei calibratori e dei controlli. Altrimenti, la calibrazione deve essere eseguita ogni 4-8 settimane in conformità alle specifiche note applicative. Per i valori dei calibratori assegnati si fa riferimento alla scheda dati-QC fornita con il calibratore BÜHLMANN fCAL® turbo. Contattare il supporto di BÜHLMANN se la calibrazione non può essere effettuata senza errore.

### Controlli QC

I controlli del BÜHLMANN fCAL® turbo, basso e alto, (Codice: B-KCAL-CONSET) devono essere analizzati ogni giorno per validare la curva di calibrazione prima che vengano misurati gli estratti del campione fecale. Ai controlli sono stati assegnati valori con intervalli di riferimento indicati sulla scheda dati-QC fornita con ciascun lotto nel kit dei controlli del BÜHLMANN fCAL® turbo. Le misurazioni dei controlli devono ricadere entro gli intervalli di riferimento indicati per ottenere dei risultati validi per gli estratti dei campioni fecali del paziente. Se i valori di controllo non sono validi, applicare le seguenti procedure:

- Ripetere le misurazioni di controllo QC con controlli freschi.
- Ricalibrare la strumentazione.

Contattare il supporto di BÜHLMANN se i valori di controllo validi non sono riproducibili.

## Misurazione dell'estratto del campione fecale del paziente

Una volta che è stata stabilita la curva di calibrazione e validata con i controlli QC, gli estratti fecali del paziente possono essere misurati. Effettuare la misurazione dell'estratto del paziente conformemente alle note applicative e al manuale dello strumento.

### Risultati

I risultati sono calcolati automaticamente sull'analizzatore di chimica clinica e mostrati in µg/g, salvo diversa indicazione nelle specifiche note applicative dell'analizzatore di chimica clinica corrispondente.

---

## STANDARDIZZAZIONE

Il BÜHLMANN fCAL® turbo è standardizzato contro il BÜHLMANN fCAL® ELISA. I risultati da entrambi i dosaggi sono altamente comparabili (vedere caratteristiche prestazionali).

---

## LIMITAZIONI

- Carryover del campione: A seconda dell'analizzatore di chimica clinica, è stato rilevato un minimo carryover del campione (0,5 %) che potrebbe causare un lieve aumento dei livelli.
- Il reagente R2 non può più essere impiegato se è stato occasionalmente congelato. Il congelamento dell'R2 determinerà una ridotta sensibilità e precisione nei campioni di basso livello o nel peggiore dei casi un calo dei livelli di misurazione.
- Il dosaggio è progettato per l'estratto fecale di campioni preparati impiegando il tampone di estrazione specifico BÜHLMANN (B-CAL-EX). L'applicazione di altri tamponi di estrazione potrebbe determinare un risultato non corretto.
- Fenomeni di evaporazione dei calibratori e dei controlli sull'analizzatore potrebbero determinare risultati non corretti. Avviare il dosaggio immediatamente dopo il caricamento dell'analizzatore.
- Potrebbe verificarsi un minore effetto hook negli estratti >8000 µg/g. Valori >8000 µg/g sono rari (<0,5 %) ma possono essere misurati falsamente tra i 1000 e 2000 µg/g. Non è stato riscontrato che il valore degli estratti >8000 µg/g possono essere determinati come valori più basso di 1000 µg/g.
- I pazienti che assumono regolarmente FANS possono avere un aumento nei loro livelli della calprotectina fecale.
- I valori di calprotectina fecale sono intesi come supporto per la diagnosi nel distinguere malattie organiche da malattie funzionali e come supporto per il monitoraggio di malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI). I risultati devono essere sempre interpretati in abbinamento ad altri esami clinici e di laboratorio.
- Per il monitoraggio delle MICI si consiglia di eseguire più misure di calprotectina fecale ad intervalli massimi di 4 settimane, al fine di ottenere la migliore accuratezza diagnostica per la previsione di recidive cliniche nei pazienti (rif. 21-22).

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### DISTINGUERE MALATTIE ORGANICHE DA DISORDINI FUNZIONALI GASTROINTESTINALI

La stima dei livelli di calprotectina fecale può essere utilizzata come un aiuto affidabile e semplice per distinguere tra patologie gastrointestinali organiche e funzionali (rif. 1-7). BÜHLMANN raccomanda di applicare gli stessi valori di cut-off come per il BÜHLMANN fCAL® ELISA:

#### Valori normali inferiori a 50 µg/g

I valori di calprotectina inferiori a 50 µg/g non sono indicativi di infiammazione del tratto gastrointestinale. I pazienti con bassi livelli di calprotectina non necessitano di procedure invasive per determinare la causa dell'infiammazione (rif. 4).

#### Valori elevati tra 50 e 200 µg/g

I valori di calprotectina tra 50 e 200 µg/g possono rappresentare una lieve malattia organica come un'infiammazione causata da FANS (farmaci anti-infiammatori non steroidei), lieve diverticolite e IBD (Malattie infiammatorie croniche intestinali) in fase di remissione. La bassa risposta infiammatoria che si manifesta entro questo intervallo può suggerire la ripetizione delle misurazioni e di effettuare ulteriori indagini.

#### Valori elevati superiori a 200 µg/g

I valori di calprotectina superiori a 200 µg/g sono indicativi di una malattia organica attiva con infiammazione nel tratto gastrointestinale. Sono suggerite appropriate ulteriori procedure investigative eseguite da specialisti.

Il livello di cut-off suggerito per gli adulti (50 µg/g) può anche essere applicato per i bambini dai 4 ai 17 anni indipendente-mente dal sesso (rif. 8-9).

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

### MONITORAGGIO DI MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI (MICI)

La determinazione delle concentrazioni di calprotectina fecale costituisce inoltre un metodo semplice e affidabile di support al monitoraggio dei pazienti affetti da MICI (rif. 10-20).

Le conoscenze consolidate dei valori di cut-off pubblicati e gli studi sulle prestazioni cliniche supportano le seguenti categorie di risultati:

#### Valori inferiori a 100 µg/g

Livelli di calprotectina fecale inferiori a 100 µg/g indicano in maniera affidabile pazienti a basso rischio di recidiva clinica in remissione endoscopica, per i quali è possibile evitare procedure endoscopiche invasive (rif. 10-20).

#### Valori compresi tra 100 e 300 µg/g

Livelli di calprotectina fecale compresi tra 100 e 300 µg/g indicano la necessità di esami più rigorosi nel periodo immediatamente successivo volti a valutare le tendenze di sviluppo della malattia.

#### Valori superiori a 300 µg/g

In caso di livelli di calprotectina fecale superiori a 300 µg/g è necessario ripetere i test e, qualora i livelli fossero confermati, predisporre ulteriori procedure di analisi (rif. 10-20).

Le categorie di risultati sopra riportate sono a livello indicativo. Si consiglia di stabilire valori di soglia individuali per ciascun paziente definiti dal professionista sanitario responsabile, determinati in base al livello di riferimento di calprotectina del paziente misurato in fase di remissione.

Eventuali risultati falsi negativi, ovvero risultati di calprotectina inferiori a 100 µg/g in pazienti con infiammazione endoscopica, che invece dovrebbero avere livelli di calprotectina superiore a 300 µg/g, e sebbene improbabili, possono ritardare adeguate decisioni cliniche e trattamenti. È pertanto importante mantenere il paziente sotto la cura di un professionista sanitario e segnalare qualsiasi sintomo clinico.

Alcuni studi hanno dimostrato che elevati livelli di calprotectina oltre 300 µg/g non indicano sempre lo sviluppo di una recidiva clinica (rif. 10-20). Livelli elevati di calprotectina devono sempre essere considerati come segnale di allarme e in tal caso le misure devono essere ripetute. A seguito di conferma di un incremento dei livelli è necessario predisporre ulteriori procedure di analisi.

## CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Le caratteristiche di prestazione qui presentate sono state determinate su Mindray BS-380 (marchio registrato da Mindray Medical International). Fare riferimento alle note specifiche dell'applicazione dell'analizzatore di chimica clinica per le caratteristiche di prestazione su altri analizzatori di chimica clinica.

#### Limite di rilevabilità

BÜHLMANN fCAL® turbo ha un limite di quantificazione (LoQ) di 19 µg/g di calprotectina sull'analizzatore BS-380, dove LoQ è definito come il più basso quantitativo attuale di un analita che può determinato in maniera affidabile e in cui l'errore totale soddisfa i requisiti di esattezza.

#### Precisione

La precisione del BÜHLMANN fCAL® turbo calibrato con il kit del calibratore (B-KCAL-CASET) è stata determinata in uno studio di precisione di 20 giorni secondo il protocollo EP5-A3 di CLSI. Quattro estratti fecali e 2 controlli (B-KCAL-CONSET) sono stati misurati sull'analizzatore BS-380.

Estratti fecali	Valore medio (µg/g)	Deviazione CV (%)	Intra-dosaggio CV (%)	Inter-dosaggio CV (%)	Totale CV (%)
Basso	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Medio basso	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Medio alto	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Alto	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Controllo basso	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Controllo alto	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Tabella 3: Modulo precisione dei risultati

### **Linearità**

BÜHLMANN fCAL® turbo calibrato con il kit del calibratore (B-KCAL-CASET) è lineare nell'intervallo di 21-2058 µg/g sull'analizzatore BS-380. Le concentrazioni al di fuori di questo intervallo verranno diluite 1:10 secondo il protocollo specifico per l'analizzatore e sottoposte nuovamente al test.

### **Effetto Hook**

Non è stato osservato alcun effetto hook per il BÜHLMANN fCAL® turbo per le concentrazioni di calprotectina fino a 8000 µg/g.

### **Interferenza**

Non è stata riscontrata alcuna interferenza con l'emoglobina (0,05 g/L), trigliceridi (Intralipid®) (1 g/L) o bilirubina (0,5 mg/L) sull'analizzatore BS-380.

I campioni per il BÜHLMANN fCAL® turbo sono estratti ad una concentrazione dell'interferente ad alta diluizione (1:500) più bassa di quella standard che abbiamo impiegato. Non è stata osservata alcuna interferenza con farmaci standard somministrati via orale e additivi alimentari prescritti per problemi gastrointestinali. Lo studio sulle interferenze è stato progettato in conformità con il protocollo CLSI EP07-A2.

### **Metodo del confronto**

I risultati ottenuti con BÜHLMANN fCAL® turbo sull'analizzatore BS-380 sono stati confrontati con quelli ottenuti dal BÜHLMANN fCAL® ELISA attraverso la regressione Passing-Bablok. Lo studio include 112 estratti fecali nell'intervallo di 30-1800 µg/g (Fig. 1).

---

### **DANNI DA TRASPORTO**

Si prega di avvisare il distributore se questo prodotto è stato ricevuto danneggiato.

---

### **REACH**

Nessuno dei materiali e reagenti nel kit richiede una scheda di dati di sicurezza (SDS) in base al regolamento CLP (CE) N. 1272/2008 e la direttiva CE 1907/2006 (REACH).

## APPENDICE I

### TABELLE E FIGURE

N	Regressione lineare (turbo vs. ELISA)		Analisi di Bland Altman (turbo vs. ELISA)		
	Pendenza	Coefficiente di determinazione (R <sup>2</sup> )	Scostamento (%)	Inferiore LoA*	Superiore LoA*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Tabella 4 : Metodo per confronto dei risultati.

\*LoA = Limiti dell'accordo

### Metodo del confronto

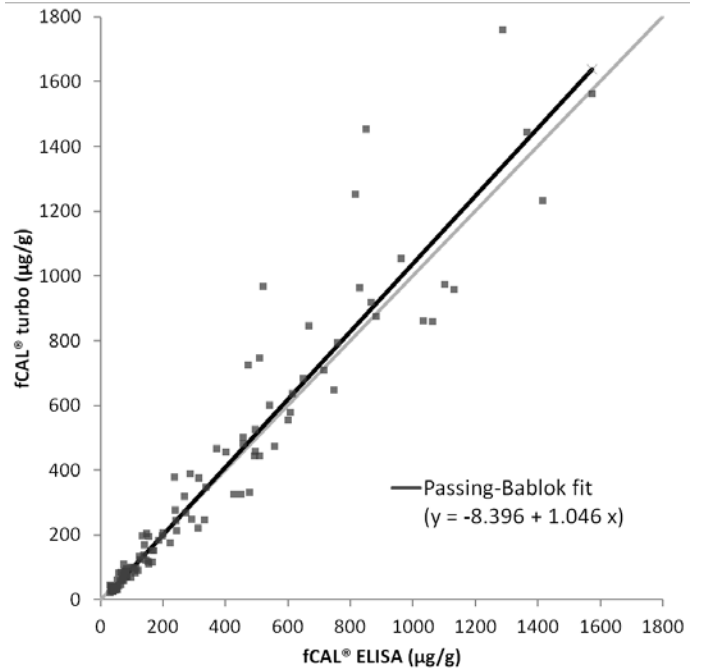


Fig. 1: Grafico di dispersione di 112 campioni inclusi nell'analisi di confronto metodologico.

---





## APPENDICE II




### RIFERIMENTI

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.

## APPENDICE III

### SIMBOLI

Simbolo	Spiegazione
	Data di scadenza
	Numero di catalogo
	Numero di lotto
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>

Simbolo	Spiegazione
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Limiti di temperatura

CE

IVD