



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Turbiditetsanalys av kalprotektin
för professionellt bruk

Reagensset

B-KCAL-RSET

Datum för ändring: 2017-12-19

ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

The BÜHLMANN fCAL® turbo är ett in vitro diagnostiskt test för kvantitativ bestämning av kalprotektin i humana avföringsprover avsett som en hjälp att bedöma inflammation i tarmslemhinnan. Provsvaret kan användas som ett diagnostiskt hjälpmedel för att särskilja organisk, inflammatorisk sjukdom i mag – tarmsystemet (inflammatorisk tarmsjukdom, IBD, t ex Crohns sjukdom eller Ulcerös kolit, UC från funktionell sjukdom (irritable bowel syndrome, IBS) (ref. 1-7), hos patienter med kroniska magsmärtor, som är äldre än fyra år (ref. 8-9), och som en hjälp monitorera IBD sjukdomen (ref. 10-12).

Endast avsett för laboratoriebruk.

ANALYSPRINCIPER

BÜHLMANN fCAL® turbo test är en turbiditetsanalys förbättrad med hjälp av partiklar (particle enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA) och medger kvantifiering av kalprotektin i fekalieextrakt på kliniska kemianalysatorer. Fekalieprover är extraherade med extraktionsbuffert (B-CAL-EX) med hjälp av BÜHLMANN CALEX® rör. (kod: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) eller en manuell vägningsmetod och tillämpad vid en slutlig utspädning på 1:500. Extrakten utvecklas med reaktionsbuffert och blandas med polystyren-nanopartiklar belagda med kalprotektinspecifika antikroppar (immunpartiklar). Kalprotektin som är tillgängligt i provet främjar sammanklumpning av immunpartiklar. Provets turbiditet, uppmätt genom ljusabsorbans, ökar genom komplexbildning hos kalprotektin-immunpartiklarna och är proportionell mot kalprotektinkoncentrationen. Den uppmätta ljusabsorbansen medger kvantifiering av kalprotektinkoncentrationen via interpolation från en fastställd kalibreringskurva.

REAGENSER SOM TILLHANDAHÅLLS

Reagenser	Kvantitet	Kod	Förberedelse
Reaktionsbuffert (R1) MOPS buffrad saltlösning	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Klar att använda
Immunpartiklar (R2) polystyrenkulor belagda med fågelantikroppar mot mänskligt kalprotektin	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Klar att använda

Tabell 1

LAGRING AV OCH STABILITET HOS REAGENS

- Låt inte reagenser frysa! Hållbarhetstid för oöppnade reagenser vid 2-8 °C: se bäst före-datum på etiketten.
- Hållbarhetstid för öppnade reagenser vid 2-8 °C: se bäst före-datum på etiketten.
- Preparatets stabilitet: minst 60 dagar vid upp till 15 °C.

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE TILLHANDAHÅLLS

Reagenser	Kvantitet	Kod
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratorset Kalibrаторer 1-6 för instrumentkalibrering	1 x 6 vialer 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollset Kontroller låg och hög	3 x 2 vialer 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
CALEX® kapsylanordning Extraktionsanordning fylld med extraktionsbuffert	50 rör 200 rör 500 rör	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extraktionsset Extraktionsbuffert för alternativ extraktionsmetod	3 flaskor 12 flaskor 125 mL/ flasko	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabell 2

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Testet är endast avsett för användning in vitro, och måste hanteras av kvalificerad servicepersonal i enlighet med god laboratoriepraxis (GLP).
- Varken blanda reagenser från olika reagenssatser eller byt lock reagenser emellan.
- Immunpartiklarna innehåller potentiellt smittsamma ämnen av mänskligt ursprung och ska hanteras med försiktighet. Sopsortering av kasserat material ska ske i enlighet med lokala föreskrifter.
- R1 innehåller MOPS som kan irritera ögon och hud. Hanteras med försiktighet.
- R2 innehåller polystyren-nanopartiklar.

PROVTAGNING OCH HANTERING AV PROV

Transport av prov: Avföringsprov bör anlända till laboratoriet inom 3 dagar efter uppsamlingen. Proven får transporteras vid rumstemperatur (23°C).

Förvaring av prov: Mottagna avföringsprov ska förvaras vid 2-8 °C och extraheras inom 3 dagar.

Extraktion av avföring med CALEX® lock: Fekalprov inhämtas, extraheras och späds till en koncentration på 1:500 med hjälp av BÜHLMANN CALEX® kapsylanordning (kod: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500). Extraktionen beskrivs i bruksanvisningen som levereras med extraktionsanordningar i fråga.

Viktigt: Centrifugera CALEX® kapsylanordning under 10 minuter vid 1000 x g – 3000 x g efter extraktion och fortsätt sedan med analysproceduren».

Förvaring av extrakt: Kalprotektinet i extrakt som erhållits med BÜHLMANN CALEX® locket är stabilt vid rumstemperatur i 3 dagar, vid 2-8°C i 6 dagar och vid -20°C i 18 månader.

Alternativ metod: Avföringsproven ska samlas in i enkla provrör.

Manuell invägning 1:50 med BÜHLMANN extraktionsbuffert (Kod: B-CAL-EX3, B-CAL-EX12), centrifugera (5 minuter vid 3000 x g) följt av en ytterligare spädning 1:10 med BÜHLMANN extraktionsbuffert. Kalprotektinextrakt (1:50) som erhållits genom manuell vägning är stabila vid 2-8°C i 6 dagar eller vid -20°C i 18 månader.

Viktigt: Provet måste samlas in utan några kemiska eller biologiska tillsatser i insamlingsanordningen.

ANALYSPROCEDUR

Användningsinstruktioner/analysinstallation

Analysförfaranden för BÜHLMANN fCAL turbo® är fastställda för flera kliniska kemiinstrument. Validerade metodbeskrivningar som beskriver installation och analys på specifika instrument kan beställas från BÜHLMANN. Motsvarande instrumentmanualer måste följas vid installation av instrument, samt för underhåll, drift och försiktighetsåtgärder.

Reagensberedning

Reagenserna som tillhandahålls är klara att använda. Blanda försiktigt innan de fylls på i instrumentet. Reagensflaskorna passar ev. direkt i instrumentet, om inte annat anges i metodbeskrivningen.

Att fastställa kalibreringskurvan

BÜHLMANN fCAL® turbokalibrator (kod: B-KCAL-CASET) används för att fastställa en sexpunkts standardkurva enligt instrumentmanualen. Kalibratorvärdena är lotspecifika. En ny kalibrering måste genomföras för varje ny kalibrator och reagenssats lot. Annars ska kalibrering genomföras var 4:e till var 8:e vecka enligt de instrumentspecifika metodbeskrivningarna. Se bipacksedeln som medföljer BÜHLMANN fCAL® turbokalibrator för åsatta kalibratorvärden. Kontakta BÜHLMANNs support om det inte går att genomföra en felfri kalibrering.

Kvalitetskontroller

BÜHLMANN fCAL® turbokontroller, låg och hög, (kod: B-KCAL-CONSET) måste analyseras varje dag före analys av fekalprovsextraktet för att validera kalibreringskurvan. Kontrollerna har tilldelade åsatta värden som anges på kvalitetscertifikatet som medföljer varje sats av BÜHLMANN fCAL® turbokontrollset. Kontrollmätningarna måste ligga inom angivna kontrollintervall för att få giltiga resultat för patienters fekalprovsextrakt. Om kontrollvärdena inte är giltiga, genomförs följande rutiner:

- Analysera om QC mätningarna med färsk kontroll.
- Kalibrera instrumentet igen.

Kontakta BÜHLMANNs support om giltiga kontrollvärden inte kan återskapas.

Mätning av patienters fekalprovsextrakt

När kalibreringskurvan fastställts och validerats genom kvalitetskontrollerna, kan patienternas fekalextrakt mätas. Gör mätningen på patienternas fekalextrakt enligt metodbeskrivningen och instrumentmanualen.

Resultat

Resultaten beräknas automatiskt på den kliniska kemianalysatorn och presenteras i µg/g om annat inte angetts i tillämpningsinstruktionerna för den kliniska kemianalysatorn i fråga.

STANDARDISERING

BÜHLMANN fCAL® turbo är standardiserad mot BÜHLMANN fCAL® ELISA. Resultaten från de båda analysmetoderna är i stor utsträckningen jämförbara (se prestandaegenskaper).

BEGRÄNSNINGAR

- Provöverföring: Beroende på klinisk kemianalysator kan det förekomma en mindre överföring (0,5 %) som kan orsaka något ökade nivåer.
- Provrest: en mindre provrest (0,5 %) som kan orsaka något förhöjda nivåer har upptäckts.
- Reagens R2 som råkat bli djupfryst kan inte längre användas. När R2 fryser kan det leda till minskad känslighet och precision vid låga nivåer och i värsta fall till lägre mätnivåer.
- Analysen är utformad för fekalprovsextrakt med hjälp av den specifika BÜHLMANN extraktionsbuffert (B-CAL-EX). Användning av andra extraktionsbuffetar kan leda till felaktiga resultat.
- Evaporation av kalibratörer och kontroller på analysinstrumentet skulle kunna leda till felaktiga resultat. Kör analysen omedelbart efter att instrumentet laddats.
- En mindre hook effekt av kurvan för extrakt på >8000 µg/g kan inträffa. Värden >8000 µg/g är sällsynta (<0,5 %) men kan mätas upp felaktigt mellan 1000 och 2000 µg/g. Det har inte noterats att värdet för extraktet > 8000 µg/g skulle kunna fastställas som under 1000 µg/g.
- Patienter som står på regelbunden behandling med NSAIDs kan erhalla förhöjda kalprotektinvärden i faeces.
- Värden på fekal kalprotektin är avsedda som ett diagnostiskt hjälpmedel för att urskilja organisk sjukdom från funktionell sjukdom och som ett hjälpmedel för IBD-övervakning. Resultat ska alltid tolkas i kombination med andra kliniska och laboratoriefynd.
- Vad gäller uppföljning av inflammatorisk tarmsjukdom har det föreslagits att mätningar av fekal kalprotektin med upp till 4 veckors mellanrum har den bästa diagnostiska precisionen när det gäller att förutspå patienters kliniska återfall (ref. 21-22).

TOLKNING AV RESULTAT

ATT URSKILJA ORGANISK SJUKDOM FRÅN FUNKTIONELL SJUKDOM I MATSMÄLTNINGSGRANEN

Bestämning av kalprotektinnivåer kan användas som ett pålitligt och enkelt medel för att skilja mellan organiska och funktionella sjukdomar i matsmältningssystemet (ref. 1-7). BÜHLMANN rekommenderar att samma cut-off-värden tillämpas som för BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Normala värden under 50 µg/g

Kalprotektinvärden under 50 µg/g utgör inte någon indikering på inflammation i mag-tarmsystemet. För patienter med låga kalprotektinnivåer behöver sannolikt inte invasiva metoder tillämpas för att avgöra inflammationsorsaken (ref. 4).

Förhöjda värden mellan 50 och 200 µg/g

Kalprotektinvärden mellan 50 och 200 µg/g kan indikera lindrig organisk sjukdom, till exempel inflammation som förorsakats av NSAIDs, lindrig divertikulit och IBD i återhämtningsfas. Den låga inflammatoriska responsen som visas inom detta område kan innebära att mätningarna behöver upprepas och att ytterligare undersökningar bör göras.

Förhöjda värden över 200 µg/g

Kalprotektinvärden över 200 µg/g tyder på aktiv organisk sjukdom med inflammation i mag-tarmsystemet. Det rekommenderas att vidta lämpliga undersökningar.

Den cut-off-nivå som föreslås för vuxna (50 µg/g) kan även användas för barn från 4 till 17 år oavsett kön (ref. 8-9).

TOLKNING AV RESULTAT

IBD-UPPFÖLJNING

Bestämning av kalprotektinnivåer kan användas som ett pålitligt och enkelt medel för att skilja mellan organiska och funktionella sjukdomar i matsmältningsorganen (ref. 10-20).

Kondenserad kunskap om publicerade tröskelvärden och de prestationsstudierna stöder de följande resultatkategorierna:

Värden under 100 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer på under 100 µg/g kan pålitligt indikera patienter med låg risk för kliniskt återfall i endoskopisk remission för vilka invasiva endoskopiska procedurer kan undvikas (ref. 10-20).

Värden mellan 100-300 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer på 100-300 µg/g kan indikera behov av striktare kontroll under den följande perioden för att bedöma sjukdomens utveckling.

Värden över 300 µg/g

Fekala kalprotektinnivåer på över 300 µg/g bör upprepas och, om förhöjda nivåer bekräftas, föranleda ytterligare undersökningar (ref. 10-20).

De ovannämnda resultatkategorierna är rekommendationer. Det är tillrådligt att vårdgivare fastställer individuella patienttröskelvärden genom att bestämma patientens grundläggande kalprotektinnivå under sjukdomens remission.

Ett falskt negativt resultat som visar ett kalprotektinresultat under 100 µg/g i stället för ett värde på över 300 µg/g för en patient med endoskopisk inflammation, är visserligen sällsynt men det kan försena tillbörliga kliniska beslut och behandlingen av patienten. Därför är det viktigt att patienten hålls under vårdgivarens vård och rapporterar alla kliniska symptom.

Studier har visat att höga kalprotektinnivåer, över 300 µg/g, inte alltid indikerar ett kliniskt återfall (ref. 10-20). Höga kalprotektinnivåer bör betraktas som en varselsignal och upprepas. Bekräftelse om förhöjda nivåer bör föranleda ytterligare undersökningar.

PRESTANDAEGENSKAPER

De beskrivna prestandaegenskaperna har fastställts på Mindray BS-380 (registrerat varumärken tillhörande Mindray Medical International). Se klinisk kemianalysators specifika tillämpningsinstruktioner för annan klinisk kemianalysators prestanda.

Detekteringsgränsvärden

BÜHLMANN fCAL® turbo har en kvantifieringsgräns (Limit of Quantification, LoQ) på 19 µg/g kalprotektin på BS-380-analysatorn, där LoQ definieras som den lägsta faktiska mängden av ett ämne som kan upptäckas på ett tillförlitligt sätt och där det totala felet uppfyller kraven på precision.

Precision

Precisionen hos BÜHLMANN fCAL® turbo kalibrerad med kalibratorsetet (B-KCAL-CASET) fastställdes i en 20-dagas precisionsstudie för CLSI-protokoll EP5-A3. Fyra fekalextrakt och två kontroller (B-KCAL-CONSET) har mätts på analysatorn BS-380.

Fekalextrakt	Medelvärde (µg/g)	Variationskoefficient (CV) inom en mätning (%)	CV olika dagar (%)	CV olika mätomgångar (%)	CV totalt (%)
Låg	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Medium låg	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Medium hög	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Hög	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Kontroll låg	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Kontroll hög	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Tabell 3 : Precisionsresultat

Linjäritet

BÜHLMANN fCAL® turbo som kalibrerats med kalibratorsetet (B-KCAL-CASET) är linjär inom området 21-2058 µg/g på BS-380-analysatorn. Koncentrationer utanför detta område späds av det instrumentspecifika protokollet 1:10 och analyseras igen.

Hook effekt

För BÜHLMANN fCAL® turbo observeras ingen hook effekt för kalprotektinkoncentrationer på upp till 8000 µg/g.

Interferens

Ingen interferens upptäcks med hemoglobin (0,05 g/L), triglycerider (Intralipid®) (1 g/L) eller bilirubin (0,5 mg/L) på BS-380-analysatorn. Eftersom prover för BÜHLMANN fCAL® turbo extraheras vid hög utspädning (1:500) användes interfererande koncentrationer lägre än standard. Ingen interferens observeras med oralt givna standardmediciner och livsmedelstillskott som föreskrivs för mag-tarmbesvär. Interferensstudien utformades enligt CLSI EP-7-A2-protokollet.

Metodjämförelse

Resultaten från BÜHLMANN fCAL® turbo på BS-380-analysatorn jämfördes med dem som erhållits genom BÜHLMANN fCAL® ELISA genom Passing-Bablok-regression Studien innefattade 112 fekalextrakt i intervallet 30-1800 µg/g (Fig. 1).

LEVERANSSKADA

Meddela återförsäljaren om denna produkt mottogs i skadat skick.

REACH

Inget av materialen och reagensen i setet kräver något säkerhetsdatablad enligt CLP-förordning (EG) nr 1272/2008 och direktiv EG 1907/2006 (REACH).

BILAGA I

TABELLER OCH FIGURER

N	Linjär regression (turbo jämfört med ELISA)		Bland Altman-analys (turbo jämfört med ELISA)		
	Lutning	Analyskoefficient (R ²)	Systematiskt fel (%)	Nedre LoA*	Övre LoA*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Tabell 4 : Resultat av metodjämförelse

*LoA = avtalets gränser

Metodjämförelse

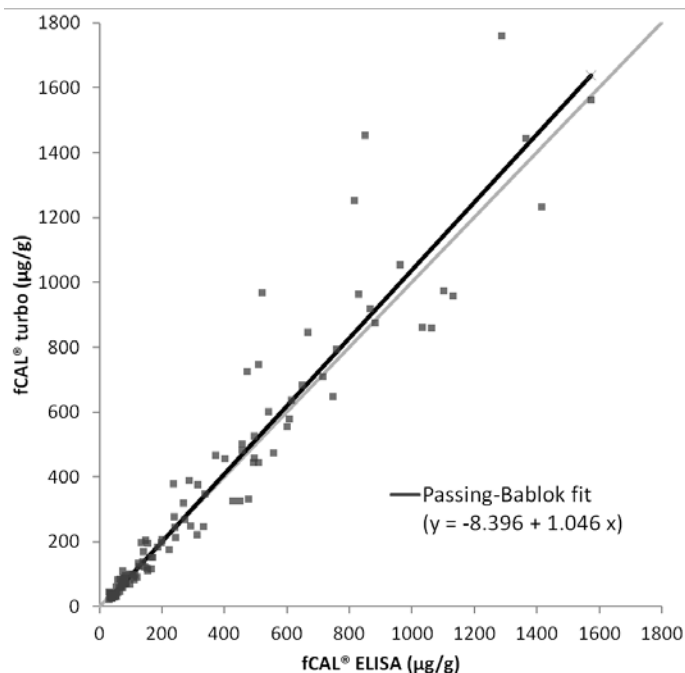


Fig. 1: Diagram över spridningen hos 112 prover som ingår i metodjämförelseanalysen.





BILAGA II




REFERENSER

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. Lason 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.

BILAGA III

SYMBOLER

Symbol	Förklaring
	Bästföre-datum
	Artikelnummer
	Satsnummer
	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik

Symbol	Förklaring
	Läs bruksanvisningen
	Tillverkare
	Temperaturgränser

CE

IVD