



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Calprotectin turbidimetriai vizsgálata
professzionális használatra

Reagenskészlet

B-KCAL-RSET

Verzió A5.1

In vitro diagnosztikai használatra



Gyártó

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Svájc

Tel.:+41 61 487 1212

Fax:+41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

RENDELTETÉS

A BÜHLMANN fCAL[®] turbo egy automatizált *in vitro* diagnosztikai teszt a humán székletmintákban található calprotectin mennyiségének meghatározására, a bélnyálkahártya-gyulladás értékelésének elősegítésére (1-3. ref.). A vizsgálat eredményei segítségül szolgálhatnak a diagnózishoz a gyomor-bélrendszer organikus, gyulladásos betegségeinek (gyulladásos bélbetegség (IBD), specifikusan a Crohn-betegség (CD) vagy a fekélyes vastagbélgyulladás (UC)) megkülönböztetésében a funkcionális betegségektől (irritábilis bél szindróma, IBS) (4-10. ref.), krónikus hasi fájdalomban szenvedő páciensekben, továbbá segítségül szolgálhatnak a gyulladásos bélbetegség monitorozásához (10-22. ref.).

Kizárólag laboratóriumi használatra.

A VIZSGÁLAT ELVE

A BÜHLMANN fCAL[®] turbo teszt egy részecskékkel javított turbidimetriás immunvizsgálat (PETIA), amely lehetővé teszi a székletkivonatokban található calprotectin automatizált mennyiségi meghatározását klinikai kémiai analizátorokban. A székletminták kivonása kivonópufferrel történik a CALEX[®] Cap kivonóeszköz használatával vagy manuális kivonással, 1:500 végső hígítási arány mellett. A kivonatot reakciópufferrel inkubálják és calprotectin-specifikus antitestekkel bevont polisztirol nanorészecskékkel (immunrészecskékkel) keverik. A mintában található calprotectin elősegíti az immunrészecskék agglutinációját. A minta – fényelnyelés útján mért – turbiditása a calprotectin–immunrészecske komplex kialakulásával növekszik, és arányos a calprotectin koncentrációjával. A megfigyelt fényelnyelés lehetővé teszi a calprotectin koncentrációjának mennyiségi meghatározását a kijelölt kalibrációs görbe interpolációja révén.

MELLÉKELT REAGENSEK

Reagensek	Mennyiség	Kód	Előkészítés
Reakciópuffer (R1) MOPS-pufferolt fiziológiás sóoldat	1 fiola 35 mL	B-KCAL-R1	Felhasználásra kész
Immunrészecskék (R2) Humán calprotectin elleni madár-antitestekkel bevont polisztirol gyöngyök	1 fiola 7 mL	B-KCAL-R2	Felhasználásra kész

1. táblázat: Mellékelt reagensek

A REAGENSEK TÁROLÁSA ÉS STABILITÁSA

Felnyitatlan reagensek
2-8 °C hőmérsékleten tárolandó. A készletet nem szabad a címkéken feltüntetett lejárati idő után felhasználni.
Készülékbe töltés utáni (onboard) stabilitás
Legfeljebb 3 hónapig tárolható 5-12 °C hőmérsékleten.

2. táblázat: A reagensek tárolása és stabilitása

A reagenseket tilos lefagyasztani!

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ANYAGOK

Reagensek	Mennyiség	Kód
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibrátorkészlet 1-6. kalibrátorok a hatpontos kalibrációs görbe kijelöléséhez	1 x 6 fiola 1 mL/fiola	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrollkészlet Alacsony és magas kontrollok	3 x 2 fiola 1 mL/fiola	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap Kivonópufferrel töltött kivonóeszköz	50 cső 200 cső 500 cső	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kivonókészlet Kivonópuffer	3 üveg 12 üveg 125 mL/üveg	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

3. táblázat: Szükséges, de nem mellékelt anyagok

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- Ez a teszt kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.
- Az immunrészecskék potenciálisan fertőző, állati eredetű anyagokat tartalmazhatnak, és körültekintő kezelést igényelnek. A helyes laboratóriumi gyakorlatoknak (GLP) megfelelően kell kezelni őket, megfelelő óvintézkedésekkel.
- Az R2 polisztirol nanorészecskéket tartalmaz.
- A készlet olyan komponenseket tartalmaz, amelyeknek az 1272/2008/EK rendelet szerinti besorolása: 2-metil-4-izotiazolin-3-on-hidroklorid (koncentráció: $\geq 0,0015\%$), így a reagensek allergiás bőrreakciókat válthatnak ki (H317).
- Ügyeljen arra, hogy reagensek ne jussanak a bőrre, a szembe és a nyálkahártyákra. Ha valamelyik reagens mégis a bőrre / szembe / nyálkahártyára jutna, azonnal mossa le / ki bő vízzel, ellenkező esetben irritáció / égési sérülés jelentkezhethet.

Technikai óvintézkedések

- Hagyja, hogy a reagensek, kontrollok, kalibrátorok és minták egyensúlyi állapotba kerüljenek, az alkalmazási útmutatóban foglaltak szerint.

- A kalibrátorok és kontrollok párolgása az analizátoron helytelen eredményekhez vezethet. A vizsgálat lefuttatását közvetlenül az analizátor betöltése után végezze el.
- Ne keverje a különböző tételekhez tartozó R1 és R2 reagenseket, és ne cserélje össze a reagensek kupakjait.
- Lefagyasztása után az R2 reagens már nem használható fel.
- A vizsgálat a specifikus BÜHLMANN kivonópufferrel előkészített székletminta-kivonatokhoz szolgál.
- A teszt lefuttatása előtt győződjön meg róla, hogy a minták buborékmentesek.
- A mintaátvitel a klinikai kémiai analizátortól függ. Részletesebb tájékoztatással az analizátorspecifikus alkalmazási útmutató szolgál.

A MINTÁK LEVÉTELE ÉS TÁROLÁSA

A kivonási eljáráshoz 1 g-nál kisebb mennyiségű natív székletminta szükséges. A székletmintákat egyszerű kémcsövekbe vegye le.

Fontos: A mintákat vegyi és biológiai adalékanyagok nélkül kell levenni.

A minták szállítása

A székletmintákat a laboratóriumnak a levételüket követő 3 napon belül meg kell kapnia feldolgozás céljára. A székletminták szobahőmérsékleten vagy hűtve szállíthatók.

A minták tárolása

A székletmintákat 2-8 °C hőmérsékletre kell hűteni, és a kivonást a laboratóriumba történő beérkezést követő 3 napon belül el kell végezni. A mintákat tilos magas hőmérsékleten tárolni.

SZÉKLETMINTA KIVONATOLÁSA ÉS A KIVONAT STABILITÁSA

CALEX® Cap

Kövesse a CALEX® Cap készlethez mellékelt használati utasításban foglaltakat. A CALEX® Cap eszközzel készített székletminta-kivonatok végső hígítási aránya 1:500, és a kivonatok felhasználásra készek.

A folyékony székletminták közvetlenül a CALEX® Cap eszközbe pipettázhatók. Csavarja le a kék kupakot, és pipettázzon 10 µL székletmintát az eszközbe. Csavarja vissza a CALEX® Cap kupakját, és hajtsa végre a vortexelési lépést a CALEX® Cap eszközhöz melléklet használati utasításban ismertetett és illusztrált kivonási eljárásnak megfelelően.

Fontos: A BÜHLMANN fCAL[®] turbo eljárás lefuttatása előtt centrifugálja a CALEX[®] Cap-ot 10 percig 1000 – 3000 x g értéken.

A CALEX[®] Cap eszközzel készített kivonatokban található székletbeli calprotectin szobahőmérsékleten (23 °C) 7 napig, 2-8 °C hőmérsékleten 15 napig, -20 °C hőmérsékleten pedig max. 23 hónapig stabil.

A CALEX[®] Cap kivonatok közvetlenül lefagyaszthatók és a CALEX[®] Cap eszközben tárolhatók. A kivonatokon négy lefagyasztási-kiolvasztási ciklus hajtható végre. Mérés előtt hagyja, hogy a lefagyasztott kivonatok szobahőmérsékleten egyensúlyi állapotba kerüljenek, majd 10 másodpercen át alaposan vortexelje és centrifugálja őket a vizsgálat használati utasításában foglaltak szerint.

Kivonókészlet

A manuális kivonáshoz kövesse a kivonókészlethez mellékelt használati utasításban foglaltakat. A kivonókészlettel előkészített székletkivonatok végső hígítása 1:50. A BÜHLMANN eljárás lefuttatása előtt hígítsa a székletkivonatok 1:10 arányban a kivonókészletben található BÜHLMANN fCAL[®] turbo kivonópufferrel (pl. 50 µL kivonatot 450 µL kivonópufferrel).

A manuális kivonással kapott (1:50 arányú) kivonatokban található székletbeli calprotectin 2-8 °C hőmérsékleten 7 napig, -20 °C hőmérsékleten pedig max. 36 hónapig stabil.

ELJÁRÁS

Alkalmazási útmutató / vizsgálat telepítése

A BÜHLMANN fCAL[®] turbo vizsgálati eljárásokat több klinikai kémiai analizátoron dolgozták ki. A specifikus műszerekre történő telepítést és az azokon végzett elemzést ismertető validált alkalmazási útmutatókat a BÜHLMANN kérésre rendelkezésre bocsátja. A megfelelő műszerkézikönyv alapján kell elvégezni a műszer beállítását, karbantartását, működtetését, illetve végrehajtani az óvintézkedéseket.

A reagens előkészítése

A mellékelt reagensek felhasználásra készek. A műszerbe töltés előtt óvatosan keverje össze. Ha az alkalmazási útmutatóban másként nem szerepel, a reagensüvegek közvetlenül behelyezhetők a műszerbe.

A kalibrációs görbe kijelölése

A BÜHLMANN fCAL[®] turbo kalibrátorkészlet egy hatpontos kalibrációs görbe kijelölésére szolgál a műszer kézikönyvében foglaltak szerint. A kalibrátorértékek tételspecifikusak. Minden egyes új kalibrátor- és

reagenskészlethez új kalibrálást kell végrehajtani. Különben havonta-kéthavonta kalibrálást kell végezni a műszerspecifikus alkalmazási útmutatónak megfelelően. A kijelölt kalibrátorértékek vonatkozásában lásd a BÜHLMANN fCAL® turbo kalibrátorkészlethez mellékelt minőség-ellenőrzési adatlapot. Ha a kalibrálás nem hajtható végre hibátlanul, forduljon a BÜHLMANN támogatási osztályához.

Minőség-ellenőrző kontrollok

A BÜHLMANN fCAL® turbo kontrollkészletet minden nap be kell vizsgálni a páciens-széketmintakivonatok lefuttatása előtt a kalibrációs görbe validálása érdekében. A kontrollok kijelölt értéktartománya az egyes BÜHLMANN fCAL® turbo kontrollkészlet-tételekhez mellékelt minőség-ellenőrzési adatlapon van feltüntetve. A kontrollméréseknek a jelzett értéktartományokba kell esniük ahhoz, hogy érvényes eredményeket lehessen kapni a páciens-széketmintakivonatokra.

Ha a kontrollértékeket nem sikerül validálni, akkor ismétlje meg a mérést friss kontrollokkal. Ha a kontrollértékeket így sem sikerül validálni, akkor kalibrálja újra a vizsgálatot. Ha a validált kontrollértékek nem reprodukálhatók a fenti lépések végrehajtásával, akkor forduljon a BÜHLMANN támogatási osztályához.

A páciens-széketmintakivonatok mérése

A kalibrációs görbe kijelölése és kontrollokkal történő validálása után a páciens-széketkivonatok mérései végrehajthatók. Hajtsa végre a páciens-széketkivonatok mérését az alkalmazási útmutatóban és a műszer kézikönyvében foglaltak szerint.

Eredmények

A klinikai kémiai analízátor automatikusan kiszámítja az eredményeket, és µg/g egységben jeleníti meg őket, ha a megfelelő klinikai kémiai analízátor specifikus alkalmazási útmutatójában másként nem szerepel.

STANDARDIZÁLÁS ÉS MÉRÉSÜGYI NYOMONKÖVETHETŐSÉG

A székletmintában található calprotectin-analízishez nincs nemzetközileg vagy országosan elismert referenciaanyag vagy referenciaként szolgáló mérési eljárás. A BÜHLMANN fCAL® turbo belsőleg kijelölt referenciaanyaggal lett standardizálva, és a kontrollok, kalibrátorok referenciaanyagai és -értékei az értéktovábbítási protokoll szerint vannak kijelölve (23-24. referencia) a mérésügyi nyomonkövethetőség garantálása érdekében. Megállapították, hogy a termékhez szolgáló kalibrátorok kombinált bizonytalanságának 95%-

os konfidenciaintervalluma kisebb mint 3,7%, a kontrollok kombinált bizonytalanságának 95%-os konfidenciaintervalluma pedig kisebb mint 6,9%.

KORLÁTOZÁSOK

- A teszteredményeket a páciens klinikai értékeléséből és egyéb diagnosztikai eljárásokból rendelkezésre álló információkkal együtt kell értelmezni.
- A gyulladós bélbetegség monitorozásához a szakirodalom szerint a székletbeli calprotectin többszöri, legfeljebb 4 hetes időközönként elvégzett mérése biztosítja a legmagasabb szintű diagnosztikai pontosságot a páciensek klinikai visszaesésének megjósolásához (25-26. ref.).
- A nem-szteroid gyulladáscsökkentő gyógyszerek (NSAID) szedése magasabb székletbeli calprotectinszinthez vezethet.
- Az eredmények nem feltétlen alkalmazhatók klinikailag a 4 évesnél fiatalabb gyermekekre, akiknél a székletbeli calprotectinszint kicsit magasabb lehet (27-30. ref.).

AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

I. A gyomor-bélrendszer organikus és funkcionális betegségeinek megkülönböztetése

A székletbeli calprotectinszintek meghatározása egyszerű és megbízható segítséget kínál az organikus és funkcionális gyomor-bélrendszeri betegségek megkülönböztetéséhez (4-10. ref.). A BÜHLMANN ugyanazon levágási (cut off) értékek használatát javasolja, mint a BÜHLMANN fCAL[®] ELISA esetében:

Klinikai küszöbértékek

Calprotectinkoncentráció	Értelmezés	Utánkövetés
< 80 µg/g	Normális	Nincs
80 – 160 µg/g	Szürke zóna/határvonal	Utánkövetés 4 – 6 héten belül
> 160 µg/g	Magas	Szükség szerint megismétlendő

4. táblázat: BÜHLMANN fCAL[®] turbo diagnosztikai tartományai.

Az eredménykategóriák a BÜHLMANN eszközzel végzett klinikai vizsgálatok adatain alapulnak, és ezek a BÜHLMANN ajánlásai. Az összes

teszteredményt a páciens klinikai tüneteiből, kórtörténetéből és egyéb klinikai és laboratóriumi leletekből származó információkkal együtt kell értelmezni:

80 µg/g alatti calprotectinértékek

A <80 µg/g székletbeli calprotectinértékek nem jeleznek gyulladást a gyomor-bél traktusban. Az alacsony calprotectinszintet mutató páciensek valószínűleg nem igényelnek invazív eljárást a gyulladás okának megállapítására (4. ref.).

80 és 160 µg/g közötti calprotectinértékek

A 80 és 160 µg/g közé eső, közepes – más néven szürke zónabeli vagy határvonalra eső – székletbeli calprotectinszintek nem jeleznek közvetlenül olyan aktív gyulladást, amely invazív tesztelés útján történő, azonnali utánkövetést igényel. Ugyanakkor a gyulladás jelenlétét nem lehet kizárni. A székletbeli calprotectinszinteket 4-6 hetente ajánlott újraértékelni a gyulladás állapotának meghatározásához.

160 µg/g fölötti calprotectinértékek

A >160 µg/g székletbeli calprotectinértékek neutrofil infiltrátumot jeleznek a gyomor-bél traktusban, ami aktív gyulladással járó betegség jelenlétére utalhat. Megfelelő további vizsgálati eljárásokat kell szakemberrel végrehajtani a teljes klinikai diagnózis felállításához.

Klinikai értékelés

A BÜHLMANN fCAL® turbo képességét a gyulladással járó bélbetegségekben és más, nem gyulladással járó gyomor-bél rendszeri rendellenességekben, köztük IBS-ben szenvedő páciensek megkülönböztetésére 295 páciensből vett és a CALEX® Cap felhasználásával kivont klinikai minták felhasználásával értékelték. Százhuszonhét (127) páciens esetében állapított meg a végső diagnózis gyulladással járó bélbetegséget (Crohn-betegséget, fekélyes vastagbélgyulladást vagy meghatározatlan vastagbélgyulladást); 103 páciens szenvedett IBS-től és 65 páciensnél jelentkezett hasi fájdalom és/vagy hasmenés vagy egyéb, a gyomor-bél rendszerrel kapcsolatos, nem gyulladással járó állapot. A végső diagnózist az endoszkópos és egyéb klinikai leletek is alátámasztották.

Az optimális cut off kombináció ezekre a pácienscsoportokra 80 µg/g és 160 µg/g calprotectinszint mellett végzett ROC-elemzéssel állapítható meg (6. és 8. táblázat); ez kicsit szigorúbb, mint az érzékenyebb, de alacsonyabb specificitású 50 µg/g alsó cut off érték és az enyhén alacsonyabb specificitású 200 µg/g felső cut off érték (7. és 9. táblázat) kombinációja.

Végő diagnózis	A páciensek szám szerinti (százalékos) megoszlása a BÜHLMANN fCAL® turbo diagnosztikai tartományaiban.			
	< 80 µg/g	80 – 160 µg/g	> 160 µg/g	Összesen
IBD	11 (8,7%)	8 (6,3%)	108 (85,0%)	127 (100%)
IBS	75 (72,8%)	11 (10,7%)	17 (16,5%)	103 (100%)
Egyéb GI	42 (64,6%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	65 (100%)

5. táblázat: A páciensek eredményeinek megoszlása a BÜHLMANN fCAL® turbo diagnosztikai tartományaiban

IBD kontra nem IBD	Klinikai döntési pont	
	80 µg/g	160 µg/g
Érzékenység (95%-os KI)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifitás (95%-os KI)	69,6% (62,1%, 76,5%)	81,0% (74,2%, 86,6%)
PPÉ (95%-os KI)	69,5% (61,9%, 76,3%)	77,1% (69,3%, 83,8%)
NPÉ (95%-os KI)	91,4% (85,1%, 95,6%)	87,7% (81,5%, 92,5%)
ROC AUC (95%-os KI)	0,912 (0,878, 0,946)	

6. táblázat: A BÜHLMANN fCAL® turbo klinikai teljesítményjellemzői az IBD-ben és nem IBD-ben – IBS-ben és egyéb gyomor-bélrendszeri rendellenességekben – szenvedő páciensek megkülönböztetésére, 80 µg/g-os és 160 µg/g-os klinikai döntési pontokra

IBD kontra nem IBD	Klinikai döntési pont	
	50 µg/g	200 µg/g
Érzékenység (95%-os KI)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifitás (95%-os KI)	62,5% (54,7%, 69,8%)	85,7% (79,5%, 90,6%)
PPÉ (95%-os KI)	65,6% (58,2%, 72,4%)	81,0% (73,0%, 87,4%)
NPÉ (95%-os KI)	93,8% (87,5%, 97,5%)	85,2% (78,9%, 90,2%)

7. táblázat: A BÜHLMANN fCAL® turbo klinikai teljesítményjellemzői az IBD-ben és nem IBD-ben – IBS-ben és egyéb gyomor-bélrendszeri rendellenességekben szenvedő páciensek megkülönböztetésére, 50 µg/g-os és 200 µg/g-os klinikai döntési pontokra

IBD kontra IBS	Klinikai döntési pont	
	80 µg/g	160 µg/g
Érzékenység (95%-os KI)	91,3% (85,0%, 95,6%)	85,0% (77,6%, 90,7%)
Specifitás (95%-os KI)	72,8% (63,2%, 81,1%)	83,5% (74,9%, 90,1%)
PPÉ (95%-os KI)	80,6% (73,1%, 86,7%)	86,4% (79,1%, 91,9%)
NPÉ (95%-os KI)	87,2% (78,3%, 93,4%)	81,9% (73,2%, 88,7%)
ROC AUC (95%-os KI)	0,925 (0,892, 0,958)	

8. táblázat: A BÜHLMANN fCAL® turbo klinikai teljesítményjellemzői az IBD-ben és IBS-ben szenvedő páciensek megkülönböztetésére, 80 µg/g-os és 160 µg/g-os klinikai döntési pontokra

IBD kontra IBS	Klinikai döntési pont	
	50 µg/g	200 µg/g
Érzékenység (95%-os KI)	94,5% (89,0%, 97,8%)	80,3% (72,3%, 86,8%)
Specifitás (95%-os KI)	67,0% (57,0%, 75,9%)	88,3% (80,5%, 93,8%)
PPÉ (95%-os KI)	77,9% (70,5%, 84,2%)	89,5% (82,3%, 94,4%)
NPÉ (95%-os KI)	90,8% (81,9%, 96,2%)	78,4% (69,9%, 85,5%)

9. táblázat: A BÜHLMANN fCAL® turbo klinikai teljesítményjellemzői az IBD-ben és IBS-ben szenvedő páciensek megkülönböztetésére, 50 µg/g-os és 200 µg/g-os klinikai döntési pontokra

KI – konfidenciaintervallum

PPÉ – pozitív prediktív érték

NPÉ – negatív prediktív érték

ROC AUC – ROC-görbe (fogadó működési jelleggörbe) alatti terület

II. IBD monitorozása

Klinikai küszöbértékek és értékelés

A székletbeli calprotectinszint meghatározása egyszerű és megbízható segítséget kínál az IBD-ben szenvedő páciensek monitorozásához (10-22. ref.).

A calprotectinszint és a páciens bélnyálkahártyájának gyulladt állapota közti korrelációt endoszkópos értékelések alapján a BÜHLMANN calprotectinteszteket használó három független vizsgálatban is meghatározták (10. táblázat). A calprotectin diagnosztikai értéke a klinikai javulás és visszaesés előrejelzésében, a páciensen jelentkező tünetek, a klinikai aktivitási mutatók, valamint a magasabb szintű kezelés, a kórházi kezelés és a sürgősségi kezelés nem tervezetten jelentkező igénye alapján lett meghatározva a BÜHLMANN calprotectinteszteket használó három vizsgálatban (11. táblázat).

A calprotectin ¹ és az endoszkópos leletek alapján meghatározott IBD-aktivitás kapcsolata	1. vizsgálat Spanyolország (12. ref.)	2. vizsgálat Spanyolország (13. ref.)	3. vizsgálat Ausztrália, Új-Zéland (14. ref.)
Páciensek száma és demográfiája	89 (CD ²) Életkor: 32-58 44% férfi	123 (UC ³) Életkor: 18-85 66,4% férfi	99 (CD ² rezekció után) Életkor: 29-47 46,5% férfi
Cut off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPÉ	98%	86%	91%
PPÉ	76%	80,3%	53%

10. táblázat: A calprotectinszintek korrelációja a gyulladós bélbetegség endoszkópos értékelések alapján meghatározott fennállásával.

¹ Az 1. és 2. vizsgálat eredményei BÜHLMANN laterális áramlásos vizsgálatokból (Quantum Blue® fCAL és Quantum Blue® fCAL high range). A 3. vizsgálat eredményei BÜHLMANN fCAL® ELISA használatával adódtak.

² CD = Crohn-betegségben szenvedő páciensek

³ UC = fekélyes vastagbélgyulladásban szenvedő páciensek

A calprotectin¹ és a jövőbeli klinikai javulás/visszaesés kapcsolata	4. vizsgálat Egyesült Királyság (15. ref.)	5. vizsgálat Spanyolország (16. ref.)	6. vizsgálat Spanyolország (17. ref.)
Páciensek száma és demográfiája	92 (CD ²) 38% férfi	30 (CD ²) adalimumab terápia Életkor: 24-64 43,3% férfi	33 (CD ²) 20 (UC ³) infliximab terápia Életkor: 18-68 47,2% férfi
Utánkövetési idő a calprotectin mérése után	12 hónap	4 hónap	12 hónap
Az utánkövetés nyomán klinikai visszaesést tapasztaló páciensek	11%	30%	23%
Cut off	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPÉ	96,8%	100%	96,1%
PPÉ	27,6%	75%	68,7%

11. táblázat: A calprotectin diagnosztikai értékének meghatározása a gyulladásos bélbetegség klinikai javulásának és visszaesésének előrejelzésében

¹ A 4. vizsgálat eredményei BÜHLMANN fCAL® ELISA használatával adódtak. Az 5. és 6. vizsgálat eredményei BÜHLMANN laterális áramlásos vizsgálatokból (Quantum Blue® fCAL és Quantum Blue® fCAL high range).

² CD = Crohn-betegségben szenvedő páciensek

³ UC = fekélyes vastagbélgyulladásban szenvedő páciensek

A bemutatott eredménykategóriák ajánlások, és kijelölésük alapjául a közzétett cut off értékekről és a klinikai teljesítményvizsgálatokról szerzett ismeretek szolgáltak. Ajánlott, hogy egészségügyi szakember megállapítsa az egyedi páciens-küszöbértékeket; ehhez a páciens alapvonalai calprotectinszintjét kell meghatározni a betegség javulása során.

100 µg/g alatti calprotectinértékek

A 100 µg/g alatti székletbeli calprotectinszintek megbízhatóan tudják jelezni az olyan pácienseket, akiknél alacsony a klinikai visszaesés kockázata endoszkópos remisszió során, akik esetében az invazív endoszkópos eljárások elkerülhetők (10-22. ref.).

100 µg/g és 300 µg/g közötti calprotectinértékek

A 100 – 300 µg/g értékű széklet-calprotectinszintek a szigorúbb ellenőrzés szükségességét jelezhetik a következő időszakban a betegség fejlődési tendenciáinak értékelése céljából.

300 µg/g fölötti calprotectinértékek

A 300 µg/g-ot meghaladó széklet-calprotectinszintek esetében a vizsgálatot meg kell ismételni, és ha a megismételt vizsgálat megerősíti a magas szintet, további vizsgálati eljárásokat kell végrehajtani (10-22. ref.).

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A bemutatott teljesítményjellemzőket Roche cobas® 6000 c501 műszeren határozták meg. Más klinikai kémiai analizátorok teljesítményjellemzői tekintetében lásd az adott klinikai kémiai analizátor specifikus alkalmazási útmutatóját.

Módszerek összehasonlítása – fCAL® turbo CALEX® Cap kontra fCAL® ELISA CALEX® Cap

A módszerek összehasonlításának vizsgálatát a CLSI EP09-A3 irányelve szerint végezték. Százkilencvenkilenc (199) klinikai mintát mértek meg egy tétel BÜHLMANN fCAL® turbo-val, 18 napos időszakban, egy kalibrációs ciklusban. A referenciaértékeket – a végső calprotectinkoncentráció 30,3 – 1672,5 µg/g intervallumában – BÜHLMANN fCAL® ELISA-val állapították meg. A minták kivonása a CALEX® Cap használatával történt. A CALEX® Cap kivonatok egyszeri meghatározására került sor mindkét módszer esetében. A torzítást Passing–Bablok-féle lineáris regresszió és Bland–Altman-elemzés segítségével határozták meg.

Bland–Altman-elemzés			Passing–Bablok-féle regresszióanalízis				
Torzítás közép-értéke (95%-os KI)	Alsó egyezési határ (LoA) (95%-os KI)	Felső egyezési határ (LoA) (95%-os KI)	Meredekség (95%-os KI)	Tengely-metszet [µg/g] (95%-os KI)	Torzítás 80 µg/g értéken (95%-os KI)	Torzítás 160 µg/g értéken (95%-os KI)	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

Módszerek összehasonlítása – fCAL® turbo CALEX® Cap kontra fCAL® ELISA kézi extrakció

A módszerek összehasonlításának vizsgálatát a CLSI EP09-A3 irányelve szerint végezték. Százhatsvannyolc (168) klinikai mintát vontak ki három tétel CALEX® Cap-pal és mértek meg egy tétel BÜHLMANN fCAL® turbo-val, 18 napos időszakban, egy kalibrációs ciklusban. A referenciaértékeket – a végső

calprotectinkoncentráció 30,5 – 1573,8 µg/g intervallumban – manuális kivonási módszerrel és kivonatméréssel állapították meg a BÜHLMANN fCAL® ELISA eszközzel. A kivonatok egyszeri meghatározására került sor mindkét módszer esetében. A torzítást Passing–Bablok-féle lineáris regresszió és Bland–Altman-elemzés segítségével határozták meg.

Bland–Altman-elemzés			Passing–Bablok-féle regresszióanalízis				
Torzítás közép-értéke (95%-os KI)	Alsó egyezési határ (LoA) (95%-os KI)	Felső egyezési határ (LoA) (95%-os KI)	Meredekség (95%-os KI)	Tengely-metszet [µg/g] (95%-os KI)	Torzítás 80 µg/g értéken (95%-os KI)	Torzítás 160 µg/g értéken (95%-os KI)	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

Reprodukálhatóság (Több helyszínes pontosságértékelési vizsgálat): 3,2 – 9,1% CV

A reprodukálhatóságot a CLSI EP05-A3 irányelve szerint állapították meg 3 laboratóriumi helyszínt használó, 5 napos, 5 példányos vizsgálatban. Nyolc darab, 47,2 – 5475,6 µg/g tartományba eső calprotectinkoncentrációjú székletminta-kivonatot teszteltek összevonva.

Tételek közötti pontosság: 2,4 – 8,2% CV

A tételek közötti pontosságot a CLSI EP05-A3 irányelve szerint állapították meg 3 tételt használó, 5 napos, 5 példányos vizsgálatban. Nyolc darab, 45,2 – 5303,1 µg/g tartományba eső calprotectinkoncentrációjú székletminta-kivonatot teszteltek összevonva.

Ismételhetőség: 0,7 – 8,3% CV

Laboratóriumon belüli pontosság: 1,4 – 9,1% CV

Az ismételhetőséget és a laboratóriumon belüli pontosságot a CLSI EP05-A3 irányelve szerint állapították meg standardizált 20 napos, 2 futásos, 2 példányos vizsgálatban. Nyolc darab, 42,9 – 5405,6 µg/g tartományba eső calprotectinkoncentrációjú székletminta-kivonatot teszteltek összevonva.

Kivonás reprodukálhatósága – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% CV

A kivonás reprodukálhatóságát a CLSI EP05-A3 irányelve szerint állapították meg egy 2 napos, 2 kezelős, 3 CALEX® Cap-tételes, 2 kivonásos, 3 példányos vizsgálatban. Tizenkét darab, 42,7 – 3440,0 µg/g tartományba eső calprotectinkoncentrációjú – szilárd, félig szilárd és folyékony állagú –, klinikai székletmintát teszteltek.

Pontosság / Visszanyerés: 93,6 – 102% CV

Hét darab – klinikai mintából származó – székletminta-kivonatot, amelyek calprotectinszintje a 44,1 – 1076,3 µg/g tartományba esett, a kalibrátoranyagban lévő 56,9 µg/g vagy 227,8 µg/g calprotectinnel adalékoltak. Az adalékolást a minta kivonati mennyiségének 10%-ával végezték. Az „alapvonalis” mintákba ennek megfelelő mennyiségű analitmentes mintát juttattak. Az „alapvonalis” és az „alapvonalis + adalékolt” mintákat négy példányban mérték.

Mintaátvitel

A mintaátvitel meghatározása a CLSI EP10-A2 irányelve szerint történt. Nem észleltek statisztikailag szignifikáns mintaátvitelt a Roche cobas® 6000 c501 műszeren végzett BÜHLMANN fCAL® turbo teszt esetében.

Kimutatási határ (LoD): 23,7 µg/g

A kimutatási határ megállapítása a CLSI EP17-A2 irányelve szerint történt; az álpozitívok aránya (α) és az álnegatívok aránya (β) egyaránt 5%-nál kisebb volt 120 meghatározás alapján, 60 üres és 60 alacsony szintű példány és **16,7 µg/g értékű LoB** mellett.

Meghatározási határ (LoQ): 23,7 µg/g

A meghatározási határ megállapítása a CLSI EP17-A2 irányelve szerint történt, 90 meghatározás alapján, 20%-os CV pontossági célérték mellett. A meghatározási határ (LoQ) becslése a kimutatási határnál (LoD) alacsonyabbnak bizonyult, ezért a becsült LoD-vel egyenlő érték van feltüntetve.

Linearitási tartomány: 9,13 – 13 339 µg/g

A BÜHLMANN fCAL® turbo lineáris tartományának meghatározása a CLSI EP06-A irányelve szerint történt. A 2000 µg/g-ot meghaladó koncentrációjú mintákat automatikusan 1:10 arányban hígította az analizátor. A linearitástól való maximális megengedett eltérés 10% volt. A 75 µg/g alatti értékekre 7,5 µg/g abszolút különbség volt megengedett.

Magas dózis okozta hurokhatás

Maximum 45 715 µg/g elméleti koncentrációjú minták mérése lehetséges a vizsgálat mérési tartományának korlátozása nélkül.

Zavaró anyagok

A BÜHLMANN fCAL® turbo vizsgálat érzékenységét szájon át adott gyógyszerekre, étrend-kiegészítőkre, hemoglobinra, valamint bélbetegségeket kiváltó mikroorganizmusokra a CLSI EP07-A2 irányelve

szerint értékelték. Az értékek 10%-ot meghaladó torzítása minősült interferenciának.

Nem mutattak ki interferenciát a következő anyagokra [a koncentráció mg / 50 mg széklet egységekben van megadva]: gyno-Tardyferon (0,11), Prednizone (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), Szulfamethoxazol (1,6), Trimethoprim (0,35), Ciproxine (1,25), E vitamin (0,30), Bion 3 (1,06), Hemoglobin (1,25).

Nem mutattak ki interferenciát a következő bélbetegségeket kiváltó mikroorganizmusokra [a koncentráció kolóniaképező egység (CFU)/ mL székletkivonat egységekben van megadva]: *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* ($9,8 \times 10^7$).

HIVATKOZÁSOK

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. Ferreira-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreira-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. Lason 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. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22.
24. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9.
25. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
26. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
27. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
29. Zhu Q. et al.: PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

VÁLTOZÁSOK

Dátum	Verzió	Változás
2023-11-10	A5.1	Páciensinformációk belefoglalása A „Szimbólumok” c. fejezet felülvizsgálata

ESEMÉNYJELENTÉS AZ EU TAGÁLLAMOKBAN

Ha az eszközzel kapcsolatban bármilyen súlyos esemény történt, kérjük, haladéktalanul jelezze a tagállam gyártójának és illetékes hatóságának.

SZÁLLÍTÁSI KÁROK

Kérjük, értesítse a forgalmazót, ha ezt a terméket sérülten kapta.

SZIMBÓLUMOK

A BÜHLMANN az ISO 15223-1 szabványban felsorolt és leírt szimbólumokat és jeleket használja.

A meghatározáshoz a szimbólumokról lásd a szimbólum jegyzéket a www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/ oldalon.

A készletek és a preanalitikai eljárások részeit a következő szabadalom védi:
EP2947459(B1); US10620216(B2); AU2015261919(B2); JP6467436(B2)

