

BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Turbidimetrisk calprotectin-analyse
til faglig anvendelse

Reagenskit

B-KCAL-RSET

Version A4

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse



Producent

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Schweiz

Tlf.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

TILSIGTET ANVENDELSE

BÜHLMANN fCAL[®] turbo er en automatiseret *in vitro*-diagnostisk test til kvantitativ bestemmelse af calprotectin i afføringsprøver fra mennesker som et hjælpemiddel til vurdering af betændelse i tarmslimhinden (ref. 1-3). Analyseresultaterne kan anvendes som et diagnostisk hjælpemiddel til at skelne mellem organisk inflammatorisk mavetarmsygdom (tarmbetændelse, IBD, specifikt Crohns sygdom (CD) eller colitis ulcerosa (CU)) og funktionel sygdom (colon irritabile, IBS) (ref. 4-10), hos patienter med kroniske mavesmerter og som et hjælpemiddel til sygdomsmonitorering af IBD (ref. 10-22).

Kun til laboratorieanvendelse.

ANALYSEPRINCIP

BÜHLMANN fCAL[®] turbo test er et partikelforstærket turbidimetrisk immunanalyse (PETIA), som muliggør automatiseret kvantificering af calprotectin i fæcesekstrakter på klinisk kemiske analyseapparater. Fæcesprøver ekstraheres med ekstraktionsbuffer (B-CAL-EX) ved anvendelse af CALEX[®] Cap ekstraktionsenheden (B-CALEX-Cx) eller manuel ekstraktion og anvendes i en slutfortynding på 1:500. Ekstrakterne inkuberes med reaktionsbuffer og blandes med polystyrennanopartikler, der er coatet med calprotectin-specifikke antistoffer (immunopartikler). Det tilgængelige calprotectin i prøverne medierer immunopartikelagglutination. Prøvens turbiditet, målt ved lysabsorbans, stiger med dannelsen af calprotectin-immunopartikelkompleks og er proportional med calprotectinkoncentrationen. Den målte lysabsorbans muliggør kvantificering af calprotectinkoncentrationen ved interpolering på en fastlagt kalibreringskurve.

MEDFØLGENDE REAGENSER

Reagenser	Kvantitet	Kode	Fremstilling
Reaktionsbuffer (R1) MOPS-bufferet saltvand	1 hætteglas 35 ml	B-KCAL-R1	Brugsklar
Immunopartikler (R2) Polystyrenkugler, der er coatet med fugleantistoffer mod human calprotectin	1 hætteglas 7 ml	B-KCAL-R2	Brugsklar

Tabel 1: Medfølgende reagenser

REAGENSOPBEVARING OG -STABILITET

Uåbnede reagenser
Opbevares ved 2-8 °C. Kittet må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på etiketterne.
Brugsstabilitet
Opbevares i op til 3 måneder ved 5-12 °C

Tabel 2: Reagensopbevaring og -stabilitet

Reagenserne må ikke nedfryses!

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Reagenser	Kvantitet	Kode
BÜHLMANN fCAL® turbo Kalibratorkit Kalibrator 1-6 til fremstilling af en kalibreringskurve med seks punkter	1 x 6 hætteglas 1 ml/hætteglas	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kontrolkit Lav og høj kontrol	3 x 2 hætteglas 1 ml/hætteglas	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap enhed Ekstraktionsenhed fyldt med ekstraktionsbuffer	50 reagensglas 200 reagensglas 500 reagensglas	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Ekstraktionskit Ekstraktionsbuffer	3 flasker 12 flasker 125 ml/flaske	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabel 3: Nødvendige materialer, der ikke medfølger

ADVARSLER OG FORSİGTIGHEDSREGLER

- Denne test er kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.
- Immunpartiklerne indeholder potentielt infektiøse stoffer af animalsk oprindelse og skal håndteres i overensstemmelse med god laboratoriepraksis (GLP) ved anvendelse af relevante forholdsregler.
- R2 indeholder polystyren-nanopartikler.
- Dette kit indeholder komponenter, der er klassificeret i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008: 2-methyl-4-isothiazolin-3-on-hydrochlorid (konc. $\geq 0,0015$ %), reagenserne kan således forårsage allergiske hudreaktioner (H317).
- Undgå, at reagenserne kommer i kontakt med hud, øjne eller slimhinder. Hvis der opstår kontakt, skal det berørte område straks vaskes med rigelige mængder vand, da der ellers kan forekommer irritation/ætsning.

Tekniske forsigtighedsregler

- Reagenser, kontroller, kalibratorer og prøver skal ækvilibreres som beskrevet i applikationsnoten.
- Fordampning af kalibratorer og kontroller på analyseapparatet kan medføre forkerte resultater. Kør analysen umiddelbart efter, at analyseapparatet er fyldt.

- Reagens R1 og R2 fra forskellige lots må ikke blandes, og der må ikke byttes om på reagenshætte.
- Når R2 har været nedfrosset, kan det ikke længere anvendes.
- Analysen er designet til fæcesekstraktprøver, der er fremstillet ved anvendelse af den specifikke BÜHLMANN ekstraktionsbuffer.
- Kontrollér, at der ikke er bobler i prøverne, før testen køres.
- Carry-over mellem prøver afhænger af det klinisk kemiske analyseapparat. Der findes yderligere oplysninger i den analyseapparatspecifikke applikationsnote.

INDSAMLING OG OPBEVARING AF PRØVER

Til ekstraktionsproceduren kræves der mindre end 1 g nativ afføringsprøve. Afføringsprøven skal indsamles i almindelige reagensglas.

Vigtigt: Prøven skal indsamles uden nogen kemiske eller biologiske additiver.

Prøvetransport

Afføringsprøverne bør modtages til behandling på laboratoriet inden for 3 dage efter indsamling. Afføringsprøver kan transporteres ved stuetemperatur eller ved køleskabstemperatur.

Prøveopbevaring

Afføringsprøverne skal opbevares i køleskab ved 2-8°C og ekstraheres inden for 3 dage efter modtagelse på laboratoriet. Prøverne må ikke opbevares ved forhøjede temperaturer.

FÆCESPRØVEEKSTRAKTION OG EKSTRAKTETS STABILITET

CALEX® Cap

Følg den brugsanvisning, der følger med CALEX® Cap enhedskittet. Fæcesprøveekstrakter fremstillet ved anvendelse af CALEX® Cap enheden vil have en slutfortynding på 1:500 og er klar til brug.

Flydende afføringsprøver kan pipetteres direkte ind i CALEX® Cap enheden. Skru den blå hætte af, og afpipetter 10 µl afføringsprøve i enheden. Sæt hætten på CALEX® Cap enheden igen, og udfør vortex-trinnet i henhold til den ekstraktionsprocedure, der er beskrevet og illustreret i brugsanvisningen, der fulgte med CALEX® Cap enheden.

Vigtigt: CALEX® Cap enheden skal centrifugeres i 10 minutter ved 1000-3000 g før kørsel af BÜHLMANN fCAL® turbo proceduren.

Fækalt calprotectin i ekstrakter opnået med BÜHLMANN CALEX® Cap er stabilt ved stuetemperatur (23 °C) i 7 dage, ved 2-8 °C i 15 dage og ved -20 °C i mindst 23 måneder.

CALEX® Cap ekstrakter kan nedfryses direkte og opbevares i CALEX® Cap enheden. Ekstrakterne kan udsættes for fire nedfrysningsoptøningscykluser. Nedfrosne ekstrakter skal ækvilibrere til stuetemperatur før måling, vortex-mixes grundigt i 10 sekunder og centrifugeres i henhold til analysens brugsanvisning.

Ekstraktionskit

For manuel ekstraktion skal brugsanvisningen, der fulgte med ekstraktionskittet følges. Fæcesprøveekstrakter fremstillet ved anvendelse af ekstraktionskittet vil have en slutfortynding på 1:50. Fortynd fæcesekstrakterne 1:10 i BÜHLMANN ekstraktionsbuffer, som følger med ekstraktionskittet (f.eks. 50 µl ekstrakt og 450 µl ekstraktionsbuffer), før kørsel af BÜHLMANN fCAL® turbo proceduren.

Fækalt calprotectin i ekstrakter (1:50) opnået ved manuel ekstraktion er stabilt ved 2-8 °C i 7 dage eller ved -20 °C i 36 måneder.

PROCEDURE

Applikationsnoter/analyseinstallation

Analyseprocedurer for BÜHLMANN fCAL® turbo er blevet etableret på flere klinisk kemiske analyseapparater. Validerede applikationsnoter, der beskriver installation og analyse på specifikke instrumenter, kan rekvireres hos BÜHLMANN. De tilhørende instrumentmanualer skal følges med hensyn til instrumentopsætning, vedligeholdelse, betjening og forsigtighedsregler.

Reagensfremstilling

De medfølgende reagenser er klar til brug. Bland dem forsigtigt, inden de sættes i instrumentet. Reagensflaskerne passer muligvis direkte ind i instrumentet, medmindre andet er angivet i applikationsnoter.

Fastlæggelse af kalibreringskurven

BÜHLMANN fCAL® turbo kalibratorkittet anvendes til at fremstille en kalibreringskurve med seks punkter i henhold til instrumentmanualen. Kalibratorværdierne er lotspecifikke. Der skal foretages en ny kalibrering for hver ny kalibrator- og reagenslot. I øvrigt skal der foretages kalibreringer hver til hver anden måned i henhold til de instrumentspecifikke applikationsnoter. Se det QC-dataark, der fulgte med BÜHLMANN fCAL®

turbo kalibratorkittet, for tildelte kalibratorværdier. Kontakt BÜHLMANN support, hvis der ikke kan foretages en fejlfri kalibrering.

QC-kontroller

BÜHLMANN fCAL® turbo kontrolkittet skal analyseres hver dag, før der køres fæcesprøveekstrakter fra patienter, for at validere kalibreringskurven. Kontrollerne har tildelte værdiintervaller, der fremgår af det QC-dataark, der følger med hver lot af BÜHLMANN fCAL® turbo kontrolkittet. Kontrolmålingerne skal ligge inden for de angivne værdiintervaller, for at der kan opnås valide resultater for fæcesprøveekstrakt fra patienter.

Hvis kontrolværdierne ikke er valide, skal målingen gentages med friske kontroller. Hvis kontrolværdierne fortsat ikke er valide, skal analysen genkalibreres. Kontakt BÜHLMANN support, hvis det ikke er muligt at reproducere valide kontrolværdier, efter at ovenstående trin er udført.

Måling af fæcesprøveekstrakt fra patienter

Når der er fremstillet en kalibreringskurve, og den er blevet valideret med kontrollerne, kan der måles på fæcesekstrakt fra patienter. Udfør målingerne på fæcesekstrakt fra patienter i henhold til applikationsnoten og instrumentmanualen.

Resultater

Resultaterne beregnes automatisk på det klinisk kemiske analyseapparat og præsenteres i µg/l, medmindre andet er angivet i de tilsvarende applikationsnoter, der er specifikke for det klinisk kemiske analyseapparat.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHED

Der findes ingen internationalt eller nationalt anerkendte referencematerialer eller referencemåleprocedurer for calprotectin-analytten i afføringsprøver. BÜHLMANN fCAL® turbo er standardiseret mod internt etableret referencematerial, og kontrol- og kalibratorværdier tildeles i henhold til en værdioverførselsprotokol (ref. 23, 24) for at garantere metrologisk sporbarhed. 95 % konfidensintervallet for den kombinerede usikkerhed på produktkalibratorerne blev bestemt til at være lavere end 3,7 % og den kombinerede usikkerhed på kontrollerne lavere end 6,9 %.

BEGRÆNSNINGER

- Testresultaterne skal fortolkes i sammenhæng med tilgængelige oplysninger fra klinisk vurdering af patienten og andre diagnostiske procedurer.

- For sygdomsmonitorering af IBD synes flere målinger af fækalt calprotectin udført med op til 4 ugers mellemrum at have den bedste diagnostiske præcision til forudsigelse af klinisk tilbagefald hos patienter (ref. 25-26).
- Indtagelse af non-steroide antiinflammatoriske lægemidler (NSAID) kan medføre forhøjede calprotectin-værdier i fæces.
- Resultaterne er ikke nødvendigvis relevante for børn under 4 år, der har let forhøjede calprotectin-værdier i fæces (ref. 27-30).

FORTOLKNING AF RESULTATER

I. Skelnen mellem organisk sygdom og funktionel mave-tarmsygdom

Bestemmelse af fækale calprotectin-niveauer kan være et pålideligt og enkelt hjælpemiddel til at skelne mellem organiske og funktionelle mave-tarmsygdomme (ref. 4-10). BÜHLMANN anbefaler, at der anvendes de samme cut-off-værdier som for BÜHLMANN fCAL[®] ELISA:

Kliniske grænseværdier

Calprotectin-koncentration	Fortolkning	Opfølgning
< 80 µg/g	Normal	Ingen
80-160 µg/g	Gråzone/borderline	Opfølgning inden for 4-6 uger
> 160 µg/g	Forhøjet	Gentag efter behov

Tabel 4: Diagnostiske intervaller for BÜHLMANN fCAL[®] turbo.

Resultatkategorierne er baseret på data fra kliniske studier udført af BÜHLMANN og er anbefalinger fra BÜHLMANN. Alle testresultater skal fortolkes i sammenhæng med tilgængelige oplysninger fra patientens kliniske symptomer, sygehistorie og andre kliniske resultater og laboratorieresultater:

Calprotectin-værdier under 80 µg/g

Fækale calprotectin-værdier <80 µg/g tyder ikke på inflammation i mave-tarmkanalen. Patienter med lave calprotectin-niveauer vil sandsynligvis ikke have behov for invasive procedurer med henblik på at fastslå årsagen til inflammation (ref. 4).

Calprotectin-værdier mellem og lig med 80 og 160 µg/g

Middelhøje fækale calprotectin-niveauer mellem og lig med 80 og 160 µg/g, også kaldet gråzoneniveauer, tyder ikke direkte på aktiv inflammation, der

kræver omgående opfølgning med invasiv testning. Det kan dog ikke udelukkes, at der foreligger inflammation. Genevaluering af fækale calprotectin-niveauer efter 4 til 6 uger anbefales med henblik på bestemmelse af inflammationsstatus.

Calprotectin-værdier over 160 µg/g

Fækale calprotectin-værdier >160 µg/g er en indikator for neutrofilinfiltrat i mave-tarmkanalen og kan derfor være tegn på, at der foreligger aktiv inflammatorisk sygdom. Relevante yderligere undersøgelsesprocedurer udført af specialister foreslås med henblik på at opnå en samlet klinisk diagnose.

Klinisk evaluering

BÜHLMANN fCAL[®] turbo evne til at skelne mellem patienter med IBD og andre ikke-inflammatoriske sygdomme i mave-tarmkanalen, herunder IBS, blev evalueret ved anvendelse af kliniske prøver indsamlet fra 295 patienter og ekstraheret med CALEX[®] Cap enheden. Et hundrede og syvogtyve (127) patienter fik den endelige diagnose IBD (Crohns disease, colitis ulcerosa eller ubestemt colitis), 103 patienter led af IBS, og 65 patienter præsenterede med abdominalsmerter og/eller diarré eller andre mave-tarmrelaterede ikke-inflammatoriske lidelser. Den endelige diagnose blev underbygget af endoskopi samt andre kliniske resultater.

Den optimale cut-off-kombination for disse patientpuljer kunne defineres ved ROC-analyse som 80 µg/g og 160 µg/g calprotectin (tabel 6 og 8), hvilket er lidt mere stringent end en kombination af en mere følsom lavere cut-off-værdi på 50 µg/g med lavere ydeevne med hensyn til specificitet og en øvre cut-off-værdi på 200 µg/g med lidt lavere følsomhed (tabel 7 og 9).

Endelig diagnose	Fordeling af patientresultater i tal (procent) inden for de diagnostiske intervaller for BÜHLMANN fCAL [®] turbo.			
	< 80 µg/g	80-160 µg/g	> 160 µg/g	I alt
IBD	11 (8,7 %)	8 (6,3 %)	108 (85,0 %)	127 (100 %)
IBS	75 (72,8 %)	11 (10,7 %)	17 (16,5 %)	103 (100 %)
Anden mave-tarmlidelse	42 (64,6 %)	8 (12,3 %)	15 (23,1 %)	65 (100 %)

Tabel 5: Fordeling af patientresultater inden for de diagnostiske intervaller for BÜHLMANN fCAL[®] turbo

IBD vs. ikke-IBD	Klinisk beslutningspunkt	
	80 µg/g	160 µg/g
Følsomhed (95 % CI)	91,3 % (85,0 %; 95,6 %)	85,0 % (77,6 %; 90,7 %)
Specificitet (95 % CI)	69,6 % (62,1 %; 76,5 %)	81,0 % (74,2 %; 86,6 %)
PPV (95 % CI)	69,5 % (61,9 %; 76,3 %)	77,1 % (69,3 %; 83,8 %)
NPV (95 % CI)	91,4 % (85,1 %; 95,6 %)	87,7 % (81,5 %; 92,5 %)
ROC AUC (95 % CI)	0,912 (0,878; 0,946)	

Tabel 6: Kliniske ydeevnekaraktistika for BÜHLMANN fCAL® turbo mht. at skelne IBD fra ikke-IBD, IBS og andre mave-tarmrelaterede lidelser ved de kliniske beslutningspunkter 80 µg/g og 160 µg/g

IBD vs. ikke-IBD	Klinisk beslutningspunkt	
	50 µg/g	200 µg/g
Følsomhed (95 % CI)	94,5 % (89,0 %; 97,8 %)	80,3 % (72,3 %; 86,8 %)
Specificitet (95 % CI)	62,5 % (54,7 %; 69,8 %)	85,7 % (79,5 %; 90,6 %)
PPV (95 % CI)	65,6 % (58,2 %; 72,4 %)	81,0 % (73,0 %; 87,4 %)
NPV (95 % CI)	93,8 % (87,5 %; 97,5 %)	85,2 % (78,9 %; 90,2 %)

Tabel 7: Kliniske ydeevnekaraktistika for BÜHLMANN fCAL® turbo mht. at skelne IBD fra ikke-IBD, IBS og andre mave-tarmrelaterede lidelser ved de kliniske beslutningspunkter 50 µg/g og 200 µg/g

IBD vs. IBS	Klinisk beslutningspunkt	
	80 µg/g	160 µg/g
Følsomhed (95 % CI)	91,3 % (85,0 %; 95,6 %)	85,0 % (77,6 %; 90,7 %)
Specificitet (95 % CI)	72,8 % (63,2 %; 81,1 %)	83,5 % (74,9 %; 90,1 %)
PPV (95 % CI)	80,6 % (73,1 %; 86,7 %)	86,4 % (79,1 %; 91,9 %)
NPV (95 % CI)	87,2 % (78,3 %; 93,4 %)	81,9 % (73,2 %; 88,7 %)
ROC AUC (95 % CI)	0,925 (0,892; 0,958)	

Tabel 8: Kliniske ydeevnekaraktistika for BÜHLMANN fCAL® turbo mht. at skelne mellem IBD og IBS ved de kliniske beslutningspunkter 80 µg/g og 160 µg/g

IBD vs. IBS	Klinisk beslutningspunkt	
	50 µg/g	200 µg/g
Følsomhed (95 % CI)	94,5 % (89,0 %; 97,8 %)	80,3 % (72,3 %; 86,8 %)
Specificitet (95 % CI)	67,0 % (57,0 %; 75,9 %)	88,3 % (80,5 %; 93,8 %)
PPV (95 % CI)	77,9 % (70,5 %; 84,2 %)	89,5 % (82,3 %; 94,4 %)
NPV (95 % CI)	90,8 % (81,9 %; 96,2 %)	78,4 % (69,9 %; 85,5 %)

Tabel 9: Kliniske ydeevnekaraktistika for BÜHLMANN fCAL® turbo mht. at skelne mellem IBD og IBS ved de kliniske beslutningspunkter 50 µg/g og 200 µg/g

CI – konfidensinterval

PPV – positiv prædiktiv værdi

NPV – negativ prædiktiv værdi

ROC AUC – areal under ROC-kurven

II. IBD-monitorering

Kliniske grænseværdier og evaluering

Bestemmelse af fækalt calprotectin er et pålideligt og enkelt hjælpemiddel til monitorering af IBD-patienter (ref. 10-22).

Korrelationen mellem calprotectin-niveau og inflammationsstatus i patienters tarmslimhinder ifølge endoskopiske vurderinger blev bestemt i tre uafhængige forsøg ved anvendelse af BÜHLMANN calprotectin-tests (tabel 10). Den diagnostiske værdi af calprotectin til forudsigelse af klinisk remission og tilbagefald ud fra patientens symptomer, kliniske aktivitetsindekser, ikke-planlagt behov for eskalering af behandlingen, indlæggelse eller nødbehandling blev fastslået i tre forsøg ved anvendelse af BÜHLMANN calprotectin-tests (tabel 11).

Calprotectin ¹ vs. IBD-aktivitet bestemt ved endoskopieresultater	Forsøg 1 Spanien (ref. 12)	Forsøg 2 Spanien (ref. 13)	Forsøg 3 Australien, New Zealand (ref.14)
Patientantal og demografi	89 (CD ²) Alder: 32-58 44 % mænd	123 (UC ³) Alder: 18-85 66,4 % mænd	99 (CD ² efter resektion) Alder: 29-47 46,5 % mænd
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98 %	86 %	91 %
PPV	76 %	80,3 %	53 %

Tabel 10: Korrelation mellem calprotectin-niveauer og IBD-sygdomsaktivitet bestemt ved endoskopiske vurderinger.

¹Resultater for forsøg 1 og 2 blev opnået med BÜHLMANN laterale flowanalyser (Quantum Blue® fCAL og Quantum Blue® fCAL high range (højt område)). Resultaterne i forsøg 3 blev opnået med BÜHLMANN fCAL® ELISA).

² CD = patienter med Crohns sygdom

³ UC = patienter med colitis ulcerosa

Calprotectin¹ vs. fremtidig klinisk remission eller tilbagefald	Forsøg 4 Storbritannien (ref. 15)	Forsøg 5 Spanien (ref. 16)	Forsøg 6 Spanien (ref. 17)
Patientantal og demografi	92 (CD ²) 38 % mænd	30 (CD ²) behandling med adalimumab Alder: 24-64 43,3 % mænd	33 (CD ²) 20 (UC ³) behandling med infiximab Alder: 18-68 47,2 % mænd
Opfølgningstid efter måling af calprotectin	12 måneder	4 måneder	12 måneder
Patienter med klinisk tilbagefald efter opfølgning	11 %	30 %	23 %
Cut-off	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
NPV	96,8 %	100 %	96,1 %
PPV	27,6 %	75 %	68,7 %

Tabel 11: Bestemmelse af calprotectins diagnostiske værdi til forudsigelse af klinisk remission og tilbagefald af IBD-sygdom.

¹ Resultaterne i forsøg 4 blev opnået med BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Resultater for forsøg 5 og 6 blev opnået med BÜHLMANN laterale flowanalyser (Quantum Blue[®] fCAL og Quantum Blue[®] fCAL high range (højt område)).

² CD = patienter med Crohns sygdom

³ UC = patienter med colitis ulcerosa

De viste resultat kategorier er anbefalinger, og fastlæggelsen af dem er baseret på kondenseret viden om publicerede cut-off-værdier og undersøgelser af klinisk ydeevne. Det tilrådes, at behandlende læger fastlægger individuelle patientgrænseværdier ved at bestemme patientens calprotectin-niveau ved baseline under sygdomsremission.

Calprotectin-værdier under 100 µg/g

Fækale calprotectin-niveauer under 100 µg/g kan være en pålidelig indikator for patienter med lav risiko for klinisk tilbagefald, der er i endoskopisk remission, og for hvem invasive endoskopiske procedurer kan undgås (ref. 10-22).

Calprotectin- værdier mellem 100 og 300 µg/g

Fækale calprotectin-niveauer på mellem 100 og 300 µg/g kan være tegn på, at det er nødvendigt med strammere kontrol i den efterfølgende periode for at vurdere tendenserne i sygdomsudviklingen.

Calprotectin-værdier over 300 µg/g

Fækale calprotectin-niveauer over 300 µg/g bør medføre gentagelse af testen og, hvis forhøjede niveauer bekræftes, igangsættelse af yderligere undersøgelser (ref. 10-22).

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

De viste ydeevnekaraktistika er fastlagt på et Roche cobas® 6000 c501 instrument. Ydeevnekaraktistika for andre klinisk kemiske analyseapparater kan findes i applikationsnoterne, der er specifikke for de pågældende klinisk kemiske analyseapparater.

Metodesammenligning – fCAL® turbo CALEX® Cap vs. fCAL® ELISA CALEX® Cap

Metodesammenligningsforsøget blev udført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3. Et hundrede og nioghalvfems (199) kliniske prøver blev målt ved anvendelse af ét lot af BÜHLMANN fCAL® turbo over 18 dage i én kalibreringscyklus. Referenceværdier, med et endeligt calprotectin-koncentrationsinterval på 30,3-1672,5 µg/g, blev fastlagt med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Prøverne blev ekstraheret ved anvendelse af CALEX® Cap enheden. Der blev i begge metoder udført enkeltbestemmelser fra CALEX® Cap ekstrakter. Bias blev bestemt ved anvendelse af Passing-Bablok lineær regression og Bland-Altman analyse.

Bland-Altman analyse			Passing-Bablok regressionsanalyse				
Gennemsnitlig bias (95 % CI)	Nedre LoA (95 % CI)	Øvre LoA (95 % CI)	Hældning g (95 % CI)	Skæring spunkt [µg/g] (95 % CI)	Bias ved 80 µg/g (95 % CI)	Bias ved 160 µg/g (95 % CI)	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

Metodesammenligning – fCAL® turbo CALEX® Cap vs. fCAL® ELISA manuel ekstraktion

Metodesammenligningsforsøget blev udført i henhold til CLSI-retningslinje EP09-A3. Et hundrede og otteogtres (168) kliniske prøver blev ekstraheret ved anvendelse af tre lots af CALEX® Cap enheden og målt ved anvendelse af ét lot af BÜHLMANN fCAL® turbo over 18 dage i én kalibreringscyklus. Referenceværdier, med et endeligt calprotectin-koncentrationsinterval på 30,5-1573,8 µg/g, blev fastlagt ved anvendelse af den manuelle ekstraktionsmetode, og ekstraktet blev målt med BÜHLMANN fCAL® ELISA. Der blev i begge metoder udført enkeltbestemmelser på ekstrakterne. Bias

blev bestemt ved anvendelse af Passing-Bablok lineær regression og Bland-Altman analyse.

Bland-Altman analyse			Passing-Bablok regressionsanalyse				r
Gennemsnitlig bias (95 % CI)	Nedre LoA (95 % CI)	Øvre LoA (95 % CI)	Hældning (95 % CI)	Skæring spunkt [$\mu\text{g/g}$] (95 % CI)	Bias ved 80 $\mu\text{g/g}$ (95 % CI)	Bias ved 160 $\mu\text{g/g}$ (95 % CI)	
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

Reproducerbarhed (multicenterforsøg til præcisionsevaluering): 3,2-9,1 % CV

Reproducerbarheden blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 3 laboratorier x 5 dage x 5 replikater. Otte puljede fæcesprøveekstrakter med calprotectin-koncentrationer i intervallet 47,2-5475,6 $\mu\text{g/g}$ blev testet.

Præcision mellem lots: 2,4-8,2 % CV

Præcisionen mellem lots blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 3 lots x 5 dage x 5 replikater. Otte puljede fæcesprøveekstrakter med calprotectin-koncentrationer i intervallet 45,2-5303,1 $\mu\text{g/g}$ blev testet.

Repeterbarhed: 0,7-8,3 % CV

Præcision inden for laboratoriet: 1,4-9,1 % CV

Repeterbarheden og præcisionen inden for laboratoriet blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af det standardiserede forsøgsdesign med 20 dage x 2 kørsler x 2 replikater. Otte puljede fæcesprøveekstrakter med calprotectin-koncentrationer i intervallet 42,9-5405,6 $\mu\text{g/g}$ blev testet.

Ekstraktionsreproducerbarhed – CALEX® Cap: 8,1-19,7 % CV

Ekstraktionsreproducerbarheden blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved anvendelse af et forsøgsdesign med 2 dage x 2 operatører x 3 CALEX® Cap lots x 2 ekstraktioner x 3 replikater. Tolv kliniske afføringsprøver, herunder prøver med fast, halvfast og flydende konsistens, med calprotectin-koncentrationer i intervallet 42,7 - 3440,0 $\mu\text{g/g}$ blev testet.

Nøjagtighed / genfindning: 93,6-102 % CV

Syv afføringsprøveekstrakter fra kliniske prøver med calprotectin-niveauer i intervallet 44,1 - 1076,3 $\mu\text{g/g}$ fik tilsat 56,9 $\mu\text{g/g}$ eller 227,8 $\mu\text{g/g}$ calprotectin i

kalibratormateriale. Tilsætning blev udført med 10 % af prøveekstraktvolumenet. "Baseline"-prøver fik tilsat et tilsvarende volumen af analytfri prøve. "Baseline"- og "baseline + tilsætning"-prøver blev målt i fire replikater.

Carry-over mellem prøver

Carry-over mellem prøver blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP10-A2. Der blev ikke påvist nogen statistisk signifikant carry-over med BÜHLMANN fCAL[®] turbo test på Roche cobas[®] 6000 c501 instrumentet.

Detektionsgrænse (LoD): 23,7 µg/g

LoD blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 og med andele af falsk positive (α) mindre end 5 % og falsk negative (β) mindre end 5 % baseret på 120 bestemmelser med 60 blindprøver og 60 lavniveau-replikater; og en **LoB på 16,7 µg/g**.

Kvantifikationsgrænse (LoQ): 23,7 µg/g

LoQ blev fastlagt i henhold til CLSI-retningslinje EP17-A2 baseret på 90 bestemmelser og et præcisionsmål på 20 % CV. Det blev påvist, at LoQ var lavere end LoD, og den er derfor angivet som værende lig med den beregnede LoD.

Linearitetsområde: 9,13-13,339 µg/g

Det lineære område for BÜHLMANN fCAL[®] turbo blev bestemt i henhold til CLSI-retningslinje EP06-A. Prøver med en koncentration over 2000 µg/g blev automatisk fortyndet 1:10 af analyseapparatet. En maksimal afvigelse fra linearitet på 10 % var tilladt. For værdier under 75 µg/g var en absolut forskel på mindre end 7,5 µg/g tilladt.

Højddosis-hook-effekt

Prøver med teoretiske koncentrationer på op til 45,715 µg/g kan måles uden at begrænse analysens måleområde.

Interfererende stoffer

BÜHLMANN fCAL[®] turbo analysens følsomhed over for perorale lægemidler, kosttilskud, hæmoglobin samt enteropatogene mikroorganismer blev vurderet i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A2. Bias i resultaterne på over 10 % blev betragtet som interferens.

Der blev ikke påvist nogen interferens med følgende stoffer [koncentration i mg/50 mg afføringl]; gyno-Tardyferon (0,11), Prednison (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00),

Sulfamethoxazol (1,6), Trimethoprim (0,35), Ciproxin (1,25), E-vitamin (0,30), Bion 3 (1,06), Hæmoglobin (1,25).

Der blev ikke påvist nogen interferens med følgende enteropatogene mikroorganismer [koncentration i kolonidannende enheder (CFU)/ml fæcesekstrakt]; *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* ($9,8 \times 10^7$).

invalid

REFERENCER

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. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
17. Ferreiro-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.

ÆNDRINGSLOG

Dato	Version	Ændring
2022-02-28	A4	Opdatering af kapitlet "Advarsler og forsigtighedsregler", tilføjelse af kapitlet "Standardisering og metrologisk sporbarhed", revision af kapitlet "symboler", tilføjelse af nummer på bemyndiget organ til CE-mærke – overensstemmelsesvurderingsprocedure i henhold til IVDR 2017/746

HÆNDELSESINDBERETNING I EU-MEDLEMSLANDE

En hvilken som helst hændelse, der har forekommet med denne anordning, skal omgående indberettes til producenten og den kompetente myndighed i dit medlemsland.

TRANSPORTSKADER

Underret din forhandler, hvis produktet modtages i beskadiget stand.

SYMBOLFORKLARING

BÜHLMANN anvender de symboler og tegn, der er anført og beskrevet i ISO 15223-1.

