



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Dosaggio turbidimetrico della calprotectina
per uso professionale

Kit di reagenti

B-KCAL-RSET
Versione A4

Per uso diagnostico *in vitro*



BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Switzerland
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

invalid

USO PREVISTO

BÜHLMANN fCAL[®] turbo è un test diagnostico *in vitro* automatico per la determinazione quantitativa della calprotectina in campioni di feci umane e viene impiegato come supporto alla valutazione dell'infiammazione della mucosa intestinale (rif. 1-3). I risultati del dosaggio possono essere impiegati come supporto alla diagnosi differenziale tra malattie infiammatorie del tratto gastrointestinale organiche (malattia infiammatoria intestinale (IBD), nello specifico la malattia di morbo di Crohn (CD) o colite ulcerosa (CU)) e funzionali (sindrome dell'intestino irritabile (IBS)) (rif. 4-10) in pazienti con dolore addominale cronico, nonché come supporto al monitoraggio della IBD (rif. 10-22).

Solo per uso di laboratorio.

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il test BÜHLMANN fCAL[®] turbo consiste in un dosaggio immunologico turbidimetrico arricchito con particelle (PETIA) che consente la quantificazione automatizzata della calprotectina in estratti fecali tramite analizzatori di chimica clinica. I campioni fecali vengono estratti con tampone di estrazione (B-CAL-EX), impiegando il dispositivo di estrazione CALEX[®] Cap (B-CALEX-Cx) o tramite estrazione manuale e analizzati a una diluizione finale di 1:500. Gli estratti vengono incubati con tampone di reazione e miscelati con nanoparticelle di polistirene rivestite di anticorpi specifici per la calprotectina (immunoparticelle). La calprotectina presente nel campione media l'agglutinazione delle immunoparticelle. La torbidità del campione, misurata come assorbanza della luce, aumenta con la formazione del complesso calprotectina-immunoparticella ed è proporzionale alla concentrazione di calprotectina. Misurando l'assorbanza della luce è possibile quantificare la concentrazione di calprotectina mediante interpolazione con una curva di calibrazione precedentemente determinata.

REAGENTI FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice	Preparazione
Tampone di reazione (R1) Tampone salino MOPS	1 provetta 35 mL	B-KCAL-R1	Pronto all'uso
Immunoparticelle (R2) Sfere di polistirene rivestite con anticorpi aviari contro la calprotectina umana	1 provetta 7 mL	B-KCAL-R2	Pronto all'uso

Tabella 1: Reagenti forniti

CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Reagenti non aperti
Conservare a 2-8 °C. Non usare il kit dopo la data di scadenza stampata sulle etichette.
Stabilità on board
Conservare a 5-12 °C per un periodo massimo di 3 mesi

Tabella 2: Conservazione e stabilità dei reagenti

I reagenti non vanno congelati!

MATERIALI OCCORRENTI MA NON FORNITI

Reagenti	Quantità	Codice
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit di calibratori Calibratori 1-6 per la determinazione di una curva di calibrazione a sei punti	1 x 6 provetta 1 mL/provetta	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit di controlli Controlli, basso e alto	3 x 2 provetta 1 mL/provetta	B-KCAL-CONSET
Dispositivo CALEX® Cap Dispositivo di estrazione riempito con tampone di estrazione	50 dispositivi 200 dispositivi 500 dispositivi	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit di estrazione Tampone di estrazione	3 flaconi 12 flaconi 125 mL/flacone	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabella 3: Materiali occorrenti ma non forniti

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo test è solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale potenzialmente infettive e devono essere maneggiate secondo le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL) adottando le precauzioni del caso.
- R2 contiene nanoparticelle di polistirene.
- I componenti contenuti in questo kit sono classificati conformemente al Regolamento (CE) N. 1272/2008: cloridrato di 2-metil-4-isotiazolin-3-one (conc. $\geq 0,0015\%$), pertanto i reagenti possono causare reazioni allergiche cutanee (H317).
- Evitare il contatto dei reagenti con gli occhi, la pelle o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare con abbondante acqua; in caso contrario può manifestarsi irritazione/ustioni.

Precauzioni tecniche

- Equilibrare reagenti, controlli, calibratori e campioni come descritto nelle note applicative.
- L'evaporazione dei calibratori e dei controlli sull'analizzatore potrebbe compromettere la correttezza dei risultati. Eseguire l'analisi subito dopo aver caricato l'analizzatore.

- Non mescolare reagenti R1 e R2 di lotti di reagenti diversi né invertire i tappi dei reagenti.
- Il reagente R2, se congelato, non è più utilizzabile.
- Il dosaggio è concepito per campioni di estratti fecali preparati usando il tampone di estrazione specifico di BÜHLMANN.
- Prima di eseguire il test, accertarsi che nei campioni non vi siano bolle.
- Il trasferimento di residui di campione (carry-over) dipende dall'analizzatore di chimica clinica. Per maggiori informazioni, consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Per la procedura di estrazione è necessario meno di 1 g di campione di feci native. Raccogliere il campione di feci in provette semplici.

Importante: Il campione deve essere raccolto senza l'aggiunta di nessun additivo chimici o biologici.

Trasporto dei campioni

I campioni di feci devono essere ricevuti per il processamento da parte del laboratorio entro 3 giorni dalla raccolta. I campioni di feci possono essere spediti a temperatura ambiente o refrigerati.

Conservazione dei campioni

I campioni di feci devono essere refrigerati a 2-8 °C ed estratti entro 3 giorni dalla ricezione in laboratorio. I campioni non vanno conservati a temperature elevate.

ESTRAZIONE DEI CAMPIONI DI FECI E STABILITÀ DEGLI ESTRATTI

CALEX® Cap

Seguire le Istruzioni per l'uso fornite insieme al kit del dispositivo CALEX® Cap. Gli estratti dei campioni fecali preparati utilizzando il dispositivo CALEX® Cap hanno una diluizione finale di 1:500 e sono pronti all'uso.

I campioni di feci liquide possono essere pipettati direttamente nel dispositivo CALEX® Cap. Svitare il tappo blu e pipettare 10 µL di campione di feci nel dispositivo. Richiudere il dispositivo CALEX® Cap e vortexare secondo la procedura di estrazione descritta e illustrata nelle Istruzioni per l'uso fornite insieme al dispositivo CALEX® Cap.

Importante: Centrifugare il dispositivo CALEX® Cap per 10 minuti a 1.000-3.000 x g prima di eseguire la procedura del test BÜHLMANN fCAL® turbo.

La calprotectina fecale negli estratti ottenuti con BÜHLMANN CALEX® Cap è stabile a temperatura ambiente (23 °C) per 7 giorni, a 2-8°C per 15 giorni e a -20°C al massimo per 23 mesi.

Gli estratti ottenuti con CALEX® Cap possono essere congelati e conservati direttamente dentro il dispositivo CALEX® Cap. Gli estratti possono subire al massimo 4 cicli di congelamento/scongelo. Prima della misurazione, lasciare equilibrare gli estratti a temperatura ambiente, vortexare bene per 10 secondi e centrifugare seguendo le Istruzioni per l'uso del test.

Kit di estrazione

Per l'estrazione manuale, seguire le Istruzioni per l'uso fornite insieme al Kit di estrazione. Gli estratti dei campioni fecali preparati utilizzando il Kit di estrazione avranno una diluizione finale di 1:50. Prima di eseguire la procedura del test BÜHLMANN fCAL® turbo, diluire 1:10 gli estratti fecali con il tampone di estrazione BÜHLMANN fornito nel Kit di estrazione (per es. 50 µL di estratto e 450 µL di tampone di estrazione).

La calprotectina fecale negli estratti (1:50) ottenuti mediante estrazione manuale è stabile a 2-8°C per 7 giorni o a -20°C per 36 mesi.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Note applicative / Installazione dell'analisi

Le procedure analitiche per BÜHLMANN fCAL® turbo sono state determinate su diversi analizzatori di chimica clinica. Le note applicative convalidate che descrivono l'installazione e l'analisi su specifici strumenti sono disponibili richiedendole a BÜHLMANN. Si deve consultare il manuale relativo al proprio strumento per informazioni specifiche su impostazioni, manutenzione, funzionamento e precauzioni.

Preparazione dei reagenti

I reagenti forniti sono pronti all'uso. Miscelare con delicatezza prima di caricarli nello strumento. I flaconi dei reagenti possono essere inserite direttamente nello strumento, salvo diversamente specificato nella nota applicativa.

Determinazione della curva di calibrazione

Il Kit di calibratori BÜHLMANN fCAL® turbo viene utilizzato per stabilire una curva di calibrazione a sei punti secondo il manuale dello strumento. I valori dei calibratori sono lotto specifici. È necessario determinare una nuova curva di calibrazione per ogni nuovo lotto di calibratori e di reagenti. Altrimenti, la calibrazione deve essere eseguita ogni 1-2 mesi secondo quanto specificato nelle note applicative specifiche dello strumento. Consultare la scheda dati-

QC allegata al Kit di calibratori BÜHLMANN fCAL® turbo per i valori dei calibratori assegnati. Se non è possibile eseguire la calibrazione senza errori, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Controlli QC

Il Kit di controlli BÜHLMANN fCAL® turbo deve essere analizzato tutti i giorni prima di analizzare gli estratti dei campioni fecali dei pazienti per convalidare la curva di calibrazione. Ai controlli sono stati assegnati i range di valori indicati sulla scheda dati-QC allegata a ogni lotto del Kit di controlli BÜHLMANN fCAL® turbo. Le misurazioni dei controlli devono rientrare nei range dei valori indicati affinché i risultati dell'analisi degli estratti di campioni fecali dei pazienti siano considerati validi.

Se i valori dei controlli non sono validi, ripetere la misurazione utilizzando controlli freschi. Se i valori dei controlli continuano a non essere validi, ricalibrare il dosaggio. Se i valori dei controlli validi non sono riproducibili, dopo aver eseguito i passaggi descritti sopra, rivolgersi al servizio di assistenza di BÜHLMANN.

Misurazione degli estratti dei campioni fecali dei pazienti

Una volta che la curva di calibrazione è stata stabilita e convalidata con i controlli, è possibile passare alla misurazione degli estratti fecali dei pazienti. Eseguire la misurazione degli estratti dei campioni fecali dei pazienti seguendo la nota applicativa e il manuale dello strumento.

Risultati

I risultati sono calcolati automaticamente dall'analizzatore di chimica-clinica e presentati in µg/g, salvo diversamente specificato nelle corrispondenti note applicative specifiche dell'analizzatore usato.

STANDARDIZZAZIONE E TRACCIABILITÀ METROLOGICA

Per l'analita calprotectina in campioni fecali non sono disponibili materiali di riferimento riconosciuti a livello nazionale o internazionale né procedure di riferimento per la sua misurazione. Il saggio BÜHLMANN fCAL® turbo è standardizzato rispetto a un materiale di riferimento ben consolidato e i valori dei controlli e dei calibratori sono assegnati secondo un protocollo di trasferimento dei valori (rif. 23, 24) per garantire la tracciabilità metrologica. L'intervallo di confidenza al 95% dell'incertezza composta dei calibratori del prodotto è risultato inferiore al 3,7%, l'incertezza composta dei controlli inferiore al 6,9%.

LIMITAZIONI

- I risultati del test devono essere interpretati congiuntamente alle informazioni cliniche ottenute dalla valutazione clinica del paziente e da altre procedure diagnostiche.
- Per il monitoraggio della IBD, la migliore accuratezza diagnostica nel prevedere la recidiva clinica nei pazienti è stata ottenuta tramite più misurazioni della calprotectina fecale eseguite a intervalli di durata massima di 4 settimane (rif. 25-26).
- L'assunzione di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) può determinare livelli elevati di calprotectina fecale.
- I risultati non possono essere clinicamente applicabili a bambini di età inferiore ai 4 anni, i quali presentano livelli di calprotectina lievemente più alti (rif. 27-30).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I. Differenziazione della malattia gastrointestinale organica da quella funzionale

La determinazione dei livelli di calprotectina può essere usata come supporto semplice e affidabile per differenziare le malattie gastrointestinali organiche da quelle funzionali (rif. 4-10). BÜHLMANN raccomanda di applicare gli stessi valori soglia (cut-off) applicati dal test BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Soglie cliniche

Concentrazione di calprotectina	Interpretazione	Follow-up
< 80 µg/g	Normale	Nessuno
80 – 160 µg/g	Zona grigia/Borderline	Follow-up entro 4-6 settimane
> 160 µg/g	Elevata	Ripetere ogni qualvolta necessario

Tabella 4: Range diagnostici di BÜHLMANN fCAL® turbo.

Le categorie dei risultati sono basate su dati ottenuti in studi clinici eseguiti da BÜHLMANN e costituiscono le raccomandazioni di BÜHLMANN. Tutti i risultati dei test devono essere interpretati congiuntamente alle informazioni disponibili dai sintomi clinici del paziente, dalla anamnesi e da altri risultati clinici e di laboratorio.

Valori di calprotectina inferiori a 80 µg/g

I valori di calprotectina fecale <80 µg/g non sono indicative di infiammazione nel tratto gastrointestinale. È probabile che i pazienti con livelli bassi di

calprotectina non necessitano di procedure invasive per determinare la causa dell'infiammazione (rif. 4).

Valori di calprotectina compresi tra o uguali a 80 e 160 µg/g

I livelli intermedi di calprotectina fecale compresi tra o uguali a 80 e 160 µg/g, detti anche livelli nella zona grigia, non sono direttamente indicativi di un'infiammazione attiva che richieda un controllo immediato con l'esecuzione di test invasivi. Tuttavia, non si può escludere la presenza di infiammazione. Si raccomanda di rivalutare il livello della calprotectina dopo 4-6 settimane per determinare lo stato infiammatorio.

Valori di calprotectina maggiori di 160 µg/g

I valori di calprotectina fecale >160 µg/g sono indicativi di infiltrati di neutrofili nel tratto gastrointestinale; pertanto questo può segnalare la presenza di una malattia infiammatoria in fase attiva. Per ottenere una diagnosi clinica completa si suggerisce procedere con le appropriate procedure investigative da parte di specialisti.

Valutazione clinica

La capacità di BÜHLMANN fCAL[®] turbo di differenziare tra IBD e altre malattie gastrointestinali (GI) non infiammatorie, inclusa la IBS, è stata valutata su campioni clinici raccolti da 295 pazienti e estratti utilizzando il dispositivo CALEX[®] Cap. Di questi pazienti, 127 pazienti hanno avuto una diagnosi finale di IBD (morbo di Crohn, colite ulcerosa o colite indeterminata), 103 una diagnosi di IBS e 65 presentavano dolore addominale e/o diarrea, o altre condizioni non infiammatorie GI-correlate. La diagnosi finale è stata confermata sia endoscopicamente sia tramite altri risultati clinici.

È stato possibile definire una combinazione di cut-off ottimale mediante un'analisi ROC per questi pool di pazienti pari a 80 µg/g e a 160 µg/g di calprotectina (tabelle 6 e 8) che è leggermente più stringente rispetto a una combinazione con **cut-off minimo a 50 µg/g**, più sensibile ma con prestazioni di specificità inferiori, e **cut-off massimo a 200 µg/g** con una sensibilità leggermente minore (tabelle 7 e 9).

Diagnosi finale	Distribuzione dei risultati dei pazienti in numero (percentuale) all'interno dei range diagnostici di BÜHLMANN fCAL [®] turbo.			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Totale
IBD	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
IBS	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Altre patologie GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tabella 5: Distribuzione dei risultati dei pazienti all'interno dei range diagnostici di BÜHLMANN fCAL® turbo

IBD vs. non-IBD	Soglia decisionale clinica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilità (IC 95%)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Specificità (IC 95%)	69.6% (62.1%, 76.5%)	81.0% (74.2%, 86.6%)
PPV (IC 95%)	69.5% (61.9%, 76.3%)	77.1% (69.3%, 83.8%)
NPV (IC 95%)	91.4% (85.1%, 95.6%)	87.7% (81.5%, 92.5%)
AUC ROC (IC 95%)	0.912 (0.878, 0.946)	

Tabella 6: Caratteristiche prestazionali cliniche di BÜHLMANN fCAL® turbo nel differenziare la IBD da patologie non-IBD (IBS e altri disturbi GI-correlati) alle soglie decisionali cliniche di 80 µg/g e 160 µg/g

IBD vs. non-IBD	Soglia decisionale clinica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilità (IC 95%)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Specificità (IC 95%)	62.5% (54.7%, 69.8%)	85.7% (79.5%, 90.6%)
PPV (IC 95%)	65.6% (58.2%, 72.4%)	81.0% (73.0%, 87.4%)
NPV (IC 95%)	93.8% (87.5%, 97.5%)	85.2% (78.9%, 90.2%)

Tabella 7: Caratteristiche prestazionali cliniche di BÜHLMANN fCAL® turbo nel differenziare la IBD da patologie non-IBD (IBS e altri disturbi GI-correlati) alle soglie decisionali cliniche di 50 µg/g e 200 µg/g

IBD vs. IBS	Soglia decisionale clinica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilità (IC 95%)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Specificità (IC 95%)	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
PPV (IC 95%)	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
NPV (IC 95%)	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
AUC ROC (IC 95%)	0.925 (0.892, 0.958)	

Tabella 8: Caratteristiche prestazionali cliniche di BÜHLMANN fCAL® turbo nel differenziare la IBD da IBS alle soglie decisionali cliniche di 80 µg/g e 160 µg/g

IBD vs. IBS	Soglia decisionale clinica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilità (IC 95%)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Specificità (IC 95%)	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
PPV (IC 95%)	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
NPV (IC 95%)	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Tabella 9: Caratteristiche prestazionali cliniche di BÜHLMANN fCAL® turbo nel differenziare la IBD da IBS alle soglie decisionali cliniche di 50 µg/g e 200 µg/g

IC: intervallo di confidenza

PPV: valore predittivo positivo

NPV: valore predittivo negativo

AUC ROC: area sottostante la curva ROC (Receiver Operating Characteristic)

II. Monitoraggio della IBD

Soglie cliniche e valutazione

La determinazione della calprotectina fecale è una procedura affidabile e a semplice supporto del monitoraggio dei pazienti con IBD (rif. 10-22).

La correlazione tra livelli di calprotectina e stato infiammatorio della mucosa intestinale del paziente, valutato tramite endoscopia, è stata stabilita da tre studi indipendenti che si sono avvalsi di test Calprotectina BÜHLMANN per la (tabella 10). Il valore diagnostico della calprotectina nel prevedere la remissione e la recidiva clinica, in base ai sintomi del paziente, agli indici di attività clinica, alla necessità non pianificata di incrementare la terapia, al ricovero o all'emergenza, è stato determinato in tre studi utilizzando i test Calprotectina BÜHLMANN, (tabella 11).

Calprotectina¹ vs attività della IBD determinata tramite endoscopia	Studio 1 Spagna (rif. 12)	Studio 2 Spagna (rif. 13)	Studio 3 Australia, Nuova Zelanda (rif.14)
Numero di pazienti e caratteristiche demografiche	89 (CD ²) Età: 32-58 44% uomini	123 (UC ³) Età: 18-85 66,4% uomini	99 (CD ² dopo resezione) Età: 29-47 46,5% uomini
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Tabella 10: Correlazione tra livelli di calprotectina e attività della IBD determinata mediante accertamenti endoscopici.

¹ I risultati degli studi 1 e 2 sono stati ottenuti con i dosaggi a flusso laterale di BÜHLMANN (Quantum Blue[®] fCAL e Quantum Blue[®] fCAL high range). I risultati dello studio 3 sono stati ottenuti con BÜHLMANN fCAL[®] ELISA.

² CD: pazienti con morbo di Crohn

³ UC: pazienti con colite ulcerosa

Calprotectina¹ vs futura remissione o recidiva clinica	Studio 4 Regno Unito (rif. 15)	Studio 5 Spagna (rif. 16)	Studio 6 Spagna (rif. 17)
Numero di pazienti e caratteristiche demografiche	92 (CD ²) 38% uomini	30 (CD ²) terapia con adalimumab Età: 24-64 43,3% uomini	33 (CD ²) 20 (UC ³) terapia con infliximab Età: 18-68 47,2% uomini
Durata del follow-up dopo misurazione della	12 mesi	4 mesi	12 mesi

calprotectina			
Pazienti in recidiva clinica dopo il follow-up	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%

Tabella 11: Determinazione del valore diagnostico della calprotectina nel prevedere la remissione e la recidiva clinica della IBD.

¹ I risultati dello studio 4 sono stati ottenuti con BÜHLMANN fCAL® ELISA. I risultati degli studi 5 e 6 sono stati ottenuti con i dosaggi a flusso laterale di BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL e Quantum Blue® fCAL high range).

² CD: pazienti con morbo di Crohn

³ UC: pazienti con colite ulcerosa

Le categorie dei risultati mostrate costituiscono soltanto delle raccomandazioni e la loro determinazione è basata sulla valutazione globale dei valori di cut-off e degli studi sulle prestazioni cliniche pubblicati. Si consiglia ai medici di stabilire le soglie individuali di ogni paziente determinando il livello basale di calprotectina del paziente durante la remissione della malattia.

Valori di calprotectina inferiori a 100 µg/g

I livelli di calprotectina fecale inferiori a 100 µg/g possono indicare in modo affidabile i pazienti, a basso rischio di recidiva clinica, in remissione endoscopica nei quali si possono evitare le procedure endoscopiche invasive (rif. 10-22).

Valori di calprotectina nel range 100-300 µg/g

I livelli di calprotectina fecale nel range 100-300 µg/g possono indicare la necessità di controlli più ravvicinati nel periodo successivo per valutare l'andamento della malattia.

Valori di calprotectina superiori a 300 µg/g

In caso di livelli di calprotectina fecale superiori a 300 µg/g l'esame va ripetuto e, se l'aumento dei livelli è confermato, è necessario eseguire altri accertamenti (rif. 10-22).

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali presentate sono state determinate utilizzando lo strumento Roche cobas® 6000 c501. Consultare le note applicative specifiche dell'analizzatore di chimica clinica utilizzato per conoscerne le caratteristiche prestazionali.

Confronto tra metodi – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

Lo studio di confronto tra metodi è stato condotto secondo le linee guida EP09-A3 del CLSI. Sono stati misurati 199 campioni clinici usando un lotto di BÜHLMANN fCAL® turbo nell'arco di 18 giorni con un ciclo di calibrazione. I valori di riferimento, con un intervallo di concentrazioni finali di calprotectina compreso tra 30,3 - 1.672,5 µg/g, sono stati determinati con BÜHLMANN fCAL® ELISA. I campioni sono stati estratti usando il dispositivo CALEX® Cap. Le singole determinazioni sugli estratti ottenuti con CALEX® Cap sono state eseguite con entrambi i metodi. Il bias è stato determinato usando le analisi di regressione lineare di Passing-Bablok e l'analisi di Bland-Altman.

Analisi di Bland-Altman			Analisi di regressione di Passing-Bablok				
Bias medio (IC 95%)	Limite concordanza inferiore (IC 95%)	Limite concordanza superiore (IC 95%)	Pendenza (IC 95%)	Intercetta (µg/g) (IC 95%)	Bias a 80 µg/g (IC 95%)	Bias a 160 µg/g (IC 95%)	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

Confronto tra metodi – fCAL® turbo con CALEX® Cap vs fCAL® ELISA con estrazione manuale

Lo studio di confronto tra metodi è stato condotto secondo le linee guida EP09-A3 del CLSI. Sono stati estratti 168 campioni clinici usando tre lotti del dispositivo CALEX® Cap e misurati usando un lotto di BÜHLMANN fCAL® turbo nell'arco di 18 giorni con un ciclo di calibrazione. I valori di riferimento, con un intervallo di concentrazioni finali di calprotectina compreso tra 30,5 - 1.573,8 µg/g, sono stati determinati utilizzando il metodo di estrazione manuale e la misurazione dell'estratto con BÜHLMANN fCAL® ELISA. Gli estratti sono stati misurati tramite determinazioni singole eseguite con entrambi i metodi. Il bias è stato determinato usando le analisi di regressione lineare di Passing-Bablok e l'analisi di Bland-Altman.

Analisi di Bland-Altman			Analisi di regressione di Passing-Bablok				
Bias medio (IC 95%)	Limite concordanza inferiore (IC 95%)	Limite concordanza superiore (IC 95%)	Pendenza (IC 95%)	Intercetta (µg/g) (IC 95%)	Bias a 80 µg/g (IC 95%)	Bias a 160 µg/g (IC 95%)	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% (-16.4%, 7.1%)	13.8% (8.1%, 23.2%)	0.955

Riproducibilità (studio multisito per la valutazione della precisione) CV: 3,2-9,1%

La riproducibilità è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI utilizzando un design di 3 laboratori x 5 giorni x 5 replicati. Sono stati testati 8 pool di estratti di campioni fecali con concentrazioni di calprotectina comprese tra 47,2 e 5.475,6 µg/g.

Precisione tra lotti: CV 2,4-8,2%

La riproducibilità da lotto a lotto è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI utilizzando un design di 3 lotti x 5 giorni x 5 replicati. Sono stati testati 8 pool di estratti di campioni fecali con concentrazioni di calprotectina comprese tra 45,2 e 5.303,1 µg/g.

Riproducibilità: CV 0,7-8,3%

Precisione intra-laboratorio: CV 1,4-9,1%

La riproducibilità e la precisione intra-laboratorio sono state determinate secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI usando il design standardizzato di 20 giorni x 2 analisi x 2 replicati. Sono stati testati 8 pool di estratti di campioni fecali con concentrazioni di calprotectina comprese tra 42,9 e 5.405,6 µg/g.

Riproducibilità dell'estrazione – CALEX® Cap: CV 8,1-19,7%

La riproducibilità dell'estrazione è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI utilizzando il design 2 giorni x 2 operatori x 3 lotti di CALEX® Cap x 2 estrazioni x 3 replicati. Sono stati testati 12 campioni fecali, comprendenti campioni di consistenza solida, semisolida e liquida, con concentrazioni di calprotectina comprese tra 42,7 e 3.440,0 µg/g.

Accuratezza / Recupero: CV 93,6-102%

Sette estratti di campioni fecali ottenuti da campioni clinici con livelli di calprotectina variabili da 44,1 a 1.076,3 µg/g sono stati arricchiti (spiking) con 56,9 µg/g o 227,8 µg/g di calprotectina in materiale calibratore. Lo spiking è stato eseguito al 10% del volume dell'estratto del campione. I campioni "basali" sono stati arricchiti con il corrispondente volume di campione privo dell'analita. I campioni "basali" e "basali + arricchiti" sono stati misurati in quattro replicati.

Carry-over dei campioni

Il carry-over dei campioni è stato determinato secondo le linee guida EP10-A2 del CLSI. L'esecuzione del test BÜHLMANN fCAL® turbo su uno strumento Roche cobas® 6000 c501 non ha comportato un carry-over dei campioni statisticamente significativo.

Limite di rilevabilità (LoD) 23,7 µg/g

Il LoD è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI e con percentuali di falsi positivi (α) inferiori al 5% e di falsi negativi (β) inferiori al 5% basandosi su 120 determinazioni, con 60 replicati del bianco e 60 replicati con bassi livelli; e un **limite del bianco (LoB) di 16,7 µg/g**.

Limite di quantificazione (LoQ) 23,7 µg/g

Il LoQ è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI, basandosi su 90 determinazioni e un obiettivo di precisione valutato come coefficiente di variazione (CV) del 20%. Il valore di LoQ stimato è risultato inferiore a quello di LoD e pertanto è indicato come uguale al valore di LoD stimato.

Range di linearità: 9,13 – 13.339 µg/g

Il range di linearità di BÜHLMANN fCAL[®] turbo è stato determinato secondo le linee guida EP06-A del CLSI. I campioni con una concentrazione superiore a 2.000 µg/g sono stati diluiti 1:10 automaticamente dall'analizzatore. È stata accettata una deviazione massima del 10% dalla linearità. Per valori inferiori a 75 µg/g è stata accettata una differenza assoluta inferiore a 7,5 µg/g.

Effetto “hook” alle concentrazioni elevate

È possibile misurare campioni con concentrazioni teoriche fino a 45.715 µg/g senza limitare il range di misurazione del dosaggio.

Sostanze interferenti

La sensibilità del dosaggio BÜHLMANN fCAL[®] turbo a farmaci orali, integratori nutrizionali, emoglobina e microrganismi enteropatologici è stata analizzata secondo le linee guida EP07-A2 del CLSI. Nei risultati, un bias eccedente il 10% è stato considerato come interferenza.

Non sono state rilevate interferenze con le seguenti sostanze [concentrazione in mg/50 mg di feci]; gyno-Tardyferon (0,11), prednisone (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), sulfametossazolo (1,6), trimetoprim (0,35), ciproxina (1,25), vitamina E (0,30), Bion 3 (1,06), emoglobina (1,25).

Non sono state rilevate interferenze con i seguenti microrganismi enteropatologici [concentrazione in unità formanti colonie (CFU)/mL di estratto di feci]; *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* ($9,8 \times 10^7$).

RIFERIMENTI

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. Lasson 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.

REGISTRO DELLE MODIFICHE

Data	Versione	Modifica
2022-02-28	A4	Aggiornamento del capitolo "Avvertenze e precauzioni", revisione del capitolo "simboli", introduzione del capitolo "Standardizzazione e tracciabilità metrologica", aggiunta del numero di ente notificato al marchio CE – procedura di valutazione della conformità conformemente al Regolamento sui dispositivi diagnostici in vitro (IVDR) 2017/746

SEGNALAZIONE DI INCIDENTI NEGLI STATI MEMBRI UE

Si prega di segnalare immediatamente al produttore e alle autorità competenti del proprio paese eventuali incidenti gravi avvenuti in relazione all'uso di questo dispositivo.

DANNI DOVUTI ALLA SPEDIZIONE

Informare il proprio distributore se il prodotto è stato ricevuto danneggiato.

LEGENDA DEI SIMBOLI

BÜHLMANN utilizza i simboli e i segni elencati e descritti nella norma ISO 15223-1.

