



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Kalprotektin turbidimetrijski test
za profesionalnu upotrebu

Reagent Kit

B-KCAL-RSET
Verzija A4

za *in vitro* dijagnostičku upotrebu



Proizvođač

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Switzerland

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

NAMENA

BÜHLMANN fCAL[®] turbo je automatski *in vitro* dijagnostički test za kvantitativno određivanje kalprotektina u humanim uzorcima fecesa i namenjen je kao pomoć u proceni inflamacije intestinalne sluzokože. (lit. 1-3). Rezultati testa mogu se koristiti kao pomoć u dijagnostičkoj diferencijaciji različitih organskih inflamatornih bolesti gastrointestinalnog trakta (inflamatorne intestinalne bolesti, IBD, naročito Kronova bolest (CD) ili ulcerozni kolitis (UC)) od funkcionalnih bolesti (sindrom iritabilnog kolona, IBS) (lit. 4-10), kod pacijenata sa hroničnim bolovima u stomaku i kao pomoćno sredstvo za praćenje IBD (lit. 10-22).

Samo za laboratorijsku upotrebu.

PRINCIP TESTA

BÜHLMANN fCAL[®] turbo test je "particle enhanced turbidimetric immunoassay" (PETIA) koji omogućava kvantifikaciju kalprotektina u ekstraktu fecesa, na kliničkim biohemijskim analizatorima. Uzorci fecesa se ekstrahuju ekstrakcionim puferom (B-CAL-EX) upotrebom CALEX[®] Cap extraction device (B-CALEX-Cx) ili manuelnom ekstrakcijom i koriste se u finalnom razblaženju 1:500. Ekstrakti se inkubiraju sa reakcionim puferom i mešaju sa polistirenskim nanočesticama koje su obložene kalprotektin-specifičnim antitelima (imunopartikule). Kalprotektin u uzorcima posreduje u aglutinaciji imunopartikula. Turbiditet uzorka, izmeren putem apsorbance svetlosti, raste sa formiranjem kompleksa kalprotektin-immunopartikule i proporcionalan je koncentraciji kalprotektina. Detektovana apsorbance svetlosti omogućava kvantifikaciju koncentracije kalprotektina interpolacijom sa kalibracione krive.

OBEZBEĐENI REAGENSI

Reagensi	Količina	Kod	Priprema
Reaction Buffer (R1) MOPS puferovan fiziološki rastvor	1 bočica 35 mL	B-KCAL-R1	Spreman za upotrebu
Imunopartikule (R2) Polistirenske kuglice obložene ptičijim antitelima na humani kalprotektin	1 bočica 7 mL	B-KCAL-R2	Spreman za upotrebu

Tabela 1: Obezbeđeni reagensi

ČUVANJE I STABILNOST REAGENASA

Neotvoreni reagensi
Čuvati na 2-8 °C. Ne koristiti nakon isteka roka upotrebe koji je odštampan na nalepnicama.
On-board stabilnost
Čuvati do 3 meseca na 5-12 °C

Tabela 2: Čuvanje i stabilnost reagenasa

Ne zamrzavati reagense!

MATERIJAL KOJI JE POTREBAN I NIJE OBEZBEĐEN

Reagensi	Količina	Kod
BÜHLMANN fCAL® turbo Calibrator Kit Kalibratori 1-6 za konstruisanje kalibracione krive u šest tačaka	1 x 6 bočica 1 mL/ bočici	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit Kontrole sa niskim i visokim vrednostima	3 x 2 bočice 1 mL/ bočici	B-KCAL-CONSET
CALEX® Cap device Sistem za ekstrakciju sa ekstakcionim puferom	50 tuba 200 tuba 500 tuba	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Extraction Kit Pufer za ekstrakciju	3 bočice 12 bočice 125 mL/ bočici	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabela 3: Materijal koji je potreban i nije obezbeđen

UPOZORENJA I PREDOSTROŽNOSTI

- Ovaj test je namenjen isključivo za in vitro dijagnostičku upotrebu.
- Imunopartikule sadrže potencijalno infektivne supstance animalnog porekla i njima treba rukovati u skladu sa smernicama Dobre laboratorijske prakse (GLP) uz odgovarajuće mere predostrožnosti.
- R2 sadrži nanočestice polistirena.
- Ovaj kit sadrži komponente klasifikovane u skladu sa Uredbom (EC) br. 1272/2008: 2-metil-4-izotiazolin-3-on hidrohlorid (konc. $\geq 0.0015\%$), stoga reagensi mogu izazvati alergijske reakcije na koži (H317).
- Izbegavati kontakt reagensa sa kožom, očima ili sluzokožom. Ako dođe do kontakta, odmah isprati velikom količinom vode; u suprotnom može doći do iritacije/opekotina.

Tehničke predostrožnosti

- Neophodno je uravnotežiti reagense, kontrole, kalibratore i uzorke kako je opisano u aplikacionoj napomeni.
- Isparavanje kalibratora i kontrola na analizatoru može dovesti do netačnih rezultata. Pokrenuti test odmah nakon postavljanja u analizator.

- Ne kombinovati reagense R1 i R2 različitih lotova reagensa ili ne kombinovati čepove između reagensa.
- Jednom zamrznut Reagens R2 više se ne može koristiti.
- Test je dizajniran za uzorke ekstrahovanog fecesa pripremljenih korišćenjem specifičnog BÜHLMANN pufera za ekstrakciju.
- Proveriti da uzorci nemaju mehuriće pre pokretanja testa.
- Prenošnje uzorka zavisi od analizatora. Za više informacija pogledati napomenu o specifičnoj primeni za analizator.

SAKUPLJANJE I ČUVANJE UZORAKA

Za proceduru ekstrakcije potrebno je manje od 1 g nativnog uzorka fecesa. Sakupiti uzorak fecesa u obične epruvete.

Važno: Uzorak se mora uzeti bez ikakvih hemijskih ili bioloških aditiva.

Transport uzoraka

Uzorke fecesa za obradu treba primiti u laboratoriju u roku od 3 dana od uzorkovanja. Uzorci fecesa se mogu transportovati na sobnoj temperaturi ili na temperaturi frižidera.

Skladištenje uzoraka

Uzorke fecesa treba čuvati u frižideru na 2-8 °C i ekstrahovati u roku od 3 dana od prijema u laboratoriju. Ne čuvati uzorke na višim temperaturama.

EKSTRAKCIJA UZORAKA FECESA I STABILNOST EKSTRAKTA

CALEX® Cap

Pratiti uputstva za upotrebu koja su obezbeđena uz CALEX® Cap device kit. Ekstrakti uzoraka fecesa pripremljeni korišćenjem CALEX® Cap device će imati konačno razblaženje od 1:500 i spremni su za upotrebu.

Uzorci tečnog fecesa mogu se pipetirati direktno u CALEX® Cap. Odvrnuti plavi čep i pipetirati 10 µL uzorka fecesa direktno u sistem. Ponovo zatvoriti CALEX® Cap sistem i nastaviti sa korakom vorteksiranja u skladu sa procedurom ekstrakcije koja je opisana i ilustrovana u uputstvu za upotrebu isporučenom sa CALEX® Cap sistemom.

Važno: Centrifugirati CALEX® Cap 10 minuta na 1000 – 3000 g pre pokretanja BÜHLMANN fCAL® turbo procedure.

Fekalni kalprotektin u ekstraktima dobijenim sa BÜHLMANN CALEX® Cap sistemom je stabilan na sobnoj temperaturi (23 °C) 7 dana, na 2-8 °C 15 dana i na -20°C najmanje 23 meseca.

CALEX® Cap ekstrakti se mogu direktno zamrznuti i čuvati u CALEX® Cap sistemu. Ekstrakti mogu biti podvrgnuti četiri ciklusa zamrzavanja-odmrzavanja. Pre merenja, ostaviti zamrznuti ekstrakte da se uravnoteže na sobnoj temperaturi, temeljno mešati na vorteksu 10 sekundi i centrifugirati u skladu sa uputstvima za upotrebu testa.

Komplet za ekstrakciju

Za manuelnu ekstrakciju slediti uputstvo za upotrebu koje je obezbeđeno u okviru kompleta za ekstrakciju. Ekstrakti uzoraka fecesa pripremljeni korišćenjem kita za ekstrakciju imaće konačno razblaženje od 1:50. Razblažiti ekstrakte fecesa 1:10 u BÜHLMANN puferu za ekstrakciju, koji se nalazi u kitu za ekstrakciju, (npr. 50 µL ekstrakta i 450 µL pufera za ekstrakciju) pre pokretanja BÜHLMANN fCAL® turbo procedure. Fekalni kalprotektin u ekstraktima (1:50) dobijen manuelnom ekstrakcijom je stabilan na 2-8 °C tokom 7 dana ili na -20 °C tokom 36 meseci.

PROCEDURA

Napomene o aplikaciji/postavljanju testa

Procedure ispitivanja za BÜHLMANN fCAL® turbo su uspostavljene na nekoliko biohemijskih analizatora. Validirane aplikacije koje opisuju postavljanje i analizu na određenim instrumentima mogu se dobiti od BÜHLMANN-a na zahtev. Za podešavanje, održavanje, rad i mere predostrožnosti moraju se uzeti u obzir odgovarajuća uputstva za upotrebu instrumenta.

Priprema reagensa

Isporučeni reagensi su spremni za upotrebu. Nežno promešati pre nego što se stave u instrument. Boce reagensa mogu direktno da se postave u instrument, osim ako nije drugačije navedeno u napomeni o primeni.

Uspostavljanje kalibracione krive

BÜHLMANN fCAL® turbo Calibrator Kit se koristi za uspostavljanje kalibracione krive u šest tačaka prema priručniku za instrument. Vrednosti kalibratora su specifične za lot. Nova kalibracija se mora izvršiti za svaki novi lot kalibratora i reagensa. U suprotnom, kalibraciju treba vršiti svkog meseca ili jednom u dva meseca, u skladu sa aplikacionim napomenama za instrument. Za dodeljene vrednosti kalibratora pogledati QC dokument koji se isporučuje uz BÜHLMANN fCAL® turbo Calibrator kit. Kontaktirati BÜHLMANN podršku ako se kalibracija ne može izvršiti bez greške.

QC kontrole

BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit mora se testirati svaki dan pre nego što se ispituju ekstrahovani uzorci fecesa pacijenta da bi se potvrdila kalibracija.

Kontrole imaju dodeljene opsege vrednosti naznačene na QC dokumentu koji se isporučuje sa svakom setom BÜHLMANN fCAL® turbo Control Kit-om. Kontrolna merenja moraju biti unutar naznačenih opsega vrednosti da bi se dobili validni rezultati za ekstrahovane uzorke fecesa pacijenata.

Ako vrednosti kontrola nisu važeće, ponoviti merenje sa novim kontrolama. Ako vrednosti kontrola ostanu nevažeće, ponovo kalibrisati test. Ako se važeće vrednosti kontrola ne mogu reprodukovati, nakon izvođenja gore opisanih koraka, kontaktirati BÜHLMANN podršku.

Merenje ekstrahovanog uzorka fecesa pacijenta

Kada se kalibraciona kriva ustanovi i validira sa kontrolama, može se pristupiti merenju ekstrakta fecesa pacijenata. Izvršiti merenje ekstrahovanih uzoraka fecesa u skladu sa aplikacionim napomenama i uputstvom za upotrebu instrumenta.

Rezultati

Rezultati se automatski izračunavaju na biohemijskom analizatoru i predstavljaju u $\mu\text{g/g}$, osim ako nije drugačije navedeno u odgovarajućim napomenama o primeni za specifični klinički biohemijski analizator.

STANDARDIZACIJA I METROLOŠKA SLEDLJIVOST

Ne postoje međunarodno ili nacionalno priznati referentni materijali ili referentni postupci merenja za kalprotektin u uzorku fecesa. BÜHLMANN fCAL® turbo je standardizovan u odnosu na interno uspostavljen referentni materijal, a vrednosti kontrola i kalibratora su dodeljene u skladu sa protokolom za prenos vrednosti (lit. 23, 24) kako bi se garantovala metrološka sledljivost. Interval pouzdanosti od 95% kombinovane nepozdanosti kalibratora proizvoda utvrđen je kao niži od 3.7%, kombinovana nepozdanost kontrola niža od 6.9%.

OGRANIČENJA

- Rezultate testa treba tumačiti zajedno sa informacijama dostupnim na osnovu kliničke procene pacijenta i drugih dijagnostičkih procedura.
- Sugerisano je da za praćenje IBD-a višestruka merenja fekalnog kalprotektina obavljena u intervalima do 4 nedelje imaju najbolju dijagnostičku tačnost u predviđanju kliničkog relapsa pacijenata (lit. 25-26).
- Unos nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAID) može dovesti do povišenog nivoa fekalnog kalprotektina.

- Rezultati možda neće biti klinički primenljivi za decu mlađu od 4 godine koja imaju blago povećan nivo fekalnog kalprotektina (lit. 27-30).

INTERPRETACIJA REZULTATA

I. Razlikovanje organskih od funkcionalnih gastrointestinalnih oboljenja

Određivanje nivoa fekalnog kalprotektina može se koristiti kao pouzdana i jednostavna pomoć za diferencijaciju organskih i funkcionalnih gastrointestinalnih oboljenja (lit. 4-10). BÜHLMANN preporučuje upotrebu iste cut-off vrednosti kao za BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Klinički prag

Koncentracija kalprotektina	Interpretacija	Follow-up
< 80 µg/g	Normalno	Nema
80 - 160 µg/g	Siva zona/granično	Follow-up nakon 4 – 6 nedelja
> 160 µg/g	Povišeno	Ponoviti po potrebi

Table 4: BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostički opsezi

Kategorije rezultata su zasnovane na podacima kliničkih studija koje je sproveo BÜHLMANN i predstavljaju BÜHLMANN-ove preporuke. Sve rezultate testova treba tumačiti zajedno sa informacijama dostupnim na osnovu kliničkih simptoma pacijenta, istorije bolesti i drugih kliničkih i laboratorijskih nalaza:

Vrednosti kalprotektina ispod 80 mg/g

Vrednosti fekalnog kalprotektina <80 µg/g ne ukazuju na inflamaciju u gastrointestinalnom traktu. Pacijentima sa niskim nivoom kalprotektina verovatno neće biti potrebne invazivne procedure za utvrđivanje uzroka inflamacije (lit. 4).

Vrednosti kalprotektina između i jednake 80 i 160 mg/g

Srednji nivoi fekalnog kalprotektina između i jednaki 80 i 160 µg/g, koji se takođe nazivaju nivoima sive zone, ne ukazuju direktno na aktivnu inflamaciju koja zahteva hitno praćenje invazivnim testiranjem. Međutim ne može se isključiti prisustvo inflamacije. Preporučuje se ponovna procena nivoa fekalnog kalprotektina nakon 4 do 6 nedelja da bi se utvrdio inflamatorni status.

Vrednosti kalprotektina veće od 160 mg/g

Vrednosti fekalnog kalprotektina >160 µg/g ukazuju na infiltrat neutrofila u gastrointestinalnom traktu; stoga to može signalizirati prisustvo aktivne

inflamatorne bolesti. Predlažu se odgovarajuće dalje procedure ispitivanja od strane specijalista da bi se dobila ukupna klinička dijagnoza.

Klinička evaluacija

Mogućnost da se sa BÜHLMANN fCAL® turbo razlikuju pacijente sa IBD i drugim neinflamatornim GI poremećajima, uključujući IBS, procenjena je korišćenjem kliničkih uzoraka prikupljenih od 295 pacijenata ekstrahovanih pomoću CALEX® Cap sistema. Sto dvadeset sedam (127) pacijenata je imalo konačnu dijagnozu IBD (Kronova bolest, ulcerozni kolitis ili neodređeni kolitis), 103 pacijenta je patilo od IBS i 65 pacijenata bilo je sa bolovima u stomaku i/ili dijarejom, ili drugim GI nepovezanim inflamatornim stanjima. Konačna dijagnoza je potkrepljena endoskopskim i drugim kliničkim nalazima.

Optimalna granična kombinacija za ove grupe pacijenata mogla bi se definisati ROC analizom na 80 µg/g i 160 µg/g kalprotektina (tabele 6 i 8), što je nešto strožije od kombinacije senzitivnijeg donjeg cut-off-a od 50 µg/g sa nižim performansama u specifičnosti, i gornjim cut-off-om od 200 µg/g sa nešto nižom senzitivnošću (tabele 7 i 9).

Konačna dijagnoza	Distribucija rezultata pacijenata u brojevima (procenat) unutar BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostičkih opsega.			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Ukupno
IBD	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
IBS	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Ostalo GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tabela 5: Distribucija rezultata pacijenata unutar BÜHLMANN fCAL® turbo dijagnostičkih opsega

IBD vs. ne-IBD	Tačka kliničke odluke	
	80 µg/g	160 µg/g
Senzitivnost (95% CI)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Specifičnost (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)	

Tabela 6: Karakteristike kliničkih performansi BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju IBD od ne-IBD – IBS i drugih poremećaja povezanih sa GI, na tačkama kliničke odluke na 80 µg/g i 160 µg/g

IBD vs. ne-IBD	Tačka kliničke odluke	
	50 µg/g	200 µg/g
Senzitivnost (95% CI)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Specifičnost (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%)

Tabela 7: Karakteristike kliničkih performansi BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju IBD od ne-IBD – IBS i drugih poremećaja povezanih sa GI, na tačakama kliničke odluke od 50 µg/g i 200 µg/g

IBD vs. IBS	Tačka kliničke odluke	
	80 µg/g	160 µg/g
Senzitivnost (95% CI)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Specifičnost (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)	

Tabela 8: Karakteristike kliničkih performansi BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju IBD-a od IBS-a na tačakama kliničke odluke od 80 µg/g i 160 µg/g

IBD vs. IBS	Tačka kliničke odluke	
	50 µg/g	200 µg/g
Senzitivnost (95% CI)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Specifičnost (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%)

Tabela 9: Karakteristike kliničkih performansi BÜHLMANN fCAL® turbo u razlikovanju IBD-a od IBS-a na tačakama kliničke odluke od 50 µg/g i 200 µg/g

CI – interval pouzdanosti

PPV – pozitivna prediktivna vrednost

NPV – negativna prediktivna vrednost

ROC AUC – polje ispod ROC (receiver operating characteristic) krive

II. IBD monitoring

Klinički prag i evaluacija

Određivanje fekalnog kalprotektina je pouzdan i jednostavan način da se pomogne u praćenju pacijenata sa IBD (lit. 10-22).

Korelacija nivoa kalprotektina i inflamatornog statusa intestinalne sluzokože pacijenata, prema endoskopskim procenama, utvrđena je u tri nezavisne studije korišćenjem BÜHLMANN kalprotektin testova (tabela 10). Dijagnostička vrednost kalprotektina u predviđanju kliničke remisije i relapsa, prema simptomima pacijenta, indeksi kliničke aktivnosti, neplanirana potreba za proširenjem terapije, hospitalizacijom ili hitnoj pomoći utvrđena je u tri studije korišćenjem BÜHLMANN kalprotektin testova (tabela 11).

Kalprotektin ¹ vs IBD aktivnost određena endoskopskim nalazima	Studija 1 Španija (lit. 12)	Studija 2 Španija (lit. 13)	Studija 3 Australija, Novi Zeland (lit.14)
Broj pacijenata i demografija	89 (CD ²) Godine života: 32-58 44% muškarci	123 (UC ³) Godine života: 18-85 66.4% muškarci	99 (CD ² nakon resekcije) Godine života: 29-47 46.5% muškarci
Cut-off	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Tabela 10: Korelacija nivoa kalprotektina sa aktivnošću IBD određene endoskopskom evaluacijom.

¹ Rezultati studija 1 i 2 dobijeni su sa BÜHLMANN testom lateralnog protoka (Quantum Blue® fCAL i Quantum Blue® fCAL high range). Rezultati u studiji 3 dobijeni su sa BÜHLMANN fCAL® ELISA).

² CD = pacijenti oboleli od Crohn-ove bolesti

³ UC = pacijenti oboleli od ulceroznog kolitisa

Kalprotektin ¹ vs buduća klinička remisija ili relaps	Studija 4 UK (lit. 15)	Studija 5 Španija (lit. 16)	Studija 6 Španija (lit. 17)
Broj pacijenata i demografija	92 (CD ²) 38% muškarci	30 (CD ²) terapija adalimumabom Godine života: 24-64 43.3% muškarci	33 (CD ²) 20 (UC ³) terapija infliximabom Godine života: 18-68 47.2% muškarci
Follow-up vreme nakon merenja kalprotektina	12 meseci	4 meseca	12 meseci
Pacijenti u kliničkom realpsu nakon follow-up-a	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%

Tabela 11: Određivanje dijagnostičke vrednosti kalprotektina u predviđanju kliničke remisije i relapsa IBD.

¹ Rezultati studije 4 dobijeni su sa BÜHLMANN fCAL® ELISA. Rezultati studija 5 i 6 dobijeni su sa BÜHLMANN testom lateralnog protoka (Quantum Blue® fCAL i Quantum Blue® fCAL high range).

² CD = pacijenti oboleli od Crohn-ove bolesti

³ UC = pacijenti oboleli od ulceroznog kolitisa

Prikazane kategorije rezultata su preporuke i njihovo utvrđivanje je zasnovano na sažetom znanju objavljenih graničnih vrednosti i studija kliničkog učinka. Savetuje se da zdravstveni radnici utvrde individualni prag za pacijente određivanjem osnovnog nivoa kalprotektina pacijenta tokom remisije bolesti.

Vrednosti kalprotektina ispod 100 µg/g

Nivo fekalnog kalprotektina ispod 100 µg/g može pouzdano da ukaže na pacijente sa malim rizikom od kliničkog relapsa, u endoskopskoj remisiji kod kojih se invazivne endoskopske procedure mogu izbeći (lit. 10-22).

Vrednosti kalprotektina između 100-300 µg/g

Nivo fekalnog kalprotektina između 100-300 mg/g može da ukazuje na neophodnost strože kontrole u narednom periodu kako bi se procenila tendencija razvoja bolesti.

Vrednosti kalprotektina iznad 300 µg/g

Nivo fekalnog kalprotektina iznad 300 mg/g treba ponoviti i, ako se potvrdi povišen nivo, poduzeti dalje procedure ispitivanja (lit. 10-22).

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Predstavljene karakteristike performansi ustanovljene su na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu. Za karakteristike performansi drugih analizatora biohemijskih analizatora pogledati posebne napomene o aplikaciji za analizator.

Metod poređenja – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

Studija poređenja metoda je sprovedena prema CLSI smernici EP09-A3. Sto devedeset devet (199) kliničkih uzoraka je izmereno korišćenjem jednog lota BUHLMANN fCAL® turbo tokom 18 dana u jednom ciklusu kalibracije. Referentne vrednosti, sa konačnim intervalom koncentracije kalprotektina od 30.3 – 1672.5 µg/g, utvrđene su pomoću BUHLMANN fCAL® ELISA. Uzorci su ekstrahovani korišćenjem CALEX® Cap sistema. Pojedinačna određivanja iz CALEX® Cap ekstrakta su obavljena u obe metode. Bias je određen korišćenjem Passing-Bablokove linearne regresije i Bland-Altman analize.

Bland-Altman analiza			Passing-Bablok Regression analiza				
Sred. bias (95% CI)	Donji LoA (95% CI)	Gornji LoA (95% CI)	Nagib (95% CI)	Intercept [µg/g] (95% CI)	Bias na 80 µg/g (95% CI)	Bias na 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

Metod poređenja – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA manelna ekstrakcija

Studija poređenja metoda je sprovedena prema CLSI smernici EP09-A3. Sto šezdeset osam (168) kliničkih uzoraka je izmereno korišćenjem jednog lota CALEX® Cap device tokom 18 dana u jednom ciklusu kalibracije. Referentne vrednosti, sa konačnim intervalom koncentracije kalprotektina od 30.5 – 1573.8 µg/g, utvrđene su pomoću BÜHLMANN fCAL® ELISA. Uzorci su izmereni u pojedinačnim merenjima za obe metode. Bias je određen korišćenjem Passing-Bablokove linearne regresije i Bland-Altman analize.

Bland-Altman analiza			Passing-Bablok Regression analiza				
Sred. bias (95% CI)	Donji LoA (95% CI)	Gornji LoA (95% CI)	Nagib (95% CI)	Intercept [µg/g] (95% CI)	Bias na 80 µg/g (95% CI)	Bias na 160 µg/g (95% CI)	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

Reproducibilnost (Studija procene preciznosti na više lokacija): 3.2 - 9.1% CV

Reproducibilnost je utvrđena prema CLSI smernici EP05-A3 korišćenjem 3 laboratorijske lokacije x 5 dana x 5 ponavljanja dizajna studije. Testirano je osam skupljenih ekstrakata fecesa sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 47.2 – 5475.6 µg/g.

Preciznost između lotova: 2.4 – 8.2% CV

Preciznost između lotova je utvrđena u skladu sa CLSI smernicom EP05-A3 korišćenjem dizajna studije 3 serije x 5 dana x 5 ponavljanja. Testirano je osam skupljenih ekstrakata fecesa sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 45.2 – 5303.1 µg/g.

Ponovljivost: 0.7 – 8.3% CV

Preciznost unutar laboratorije: 1.4 - 9.1% CV

Ponovljivost i preciznost unutar laboratorije utvrđene su prema CLSI smernici EP05-A3 korišćenjem standardizovanog dizajna studije 20 dana x 2 ciklusa x 2 ponavljanja. Testirano je osam skupljenih ekstrakata fecesa sa koncentracijama kalprotektina u rasponu od 42.9 – 5405.6 µg/g.

Reproducibilnost ekstrakcije – CALEX® Cap: 8.1 – 19.7% CV

Reproducibilnost ekstrakcije je utvrđena u skladu sa CLSI smernicom EP05-A3 korišćenjem dizajna studije 2 dana x 2 operatera x 3 CALEX® Cap lotova x 2 ekstrakcije x 3 ponavljanja. Testirano je dvanaest kliničkih uzoraka

fecesa, uključujući uzorke čvrste, polučvrste i tečne konzistencije, sa koncentracijama kalprotektina u opsegu od 42.7 - 3440.0 µg/g.

Tačnost/recovery: 93.6 – 102% CV

Sedam ekstrakata uzoraka fecesa iz kliničkih uzoraka sa nivoima kalprotektina u rasponu od 44.1-1076.3 µg/g dodato je 56.9 µg/g ili 227.8 µg/g kalprotektina u materijalu za kalibraciju. Spajkovanje je izvršeno na 10% zapremine ekstrakta fecesa. „Osnovni“ uzorci su dodati u odgovarajuću zapreminu uzorka bez analita. Uzorci „Baseline“ i and “baseline + spike” izmereni su u četiri ponavljanja.

Carry-over uzorka

Carry-over uzorka je utvrđen u skladu sa CLSI smernicama EP10-A2. Nije bilo statistički značajnog carry-over efekta sa BÜHLMANN fCAL® turbo testom na Roche cobas® 6000 c501 instrumentu.

Limit detekcije (LoD): 23.7 µg/g

LoD je utvrđen u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2 i sa proporcijom lažno pozitivnih (α) manjim od 5% i lažno negativnih (β) manjim od 5% na osnovu 120 određivanja, sa 60 slepih proba i 60 ponavljanja u niskom nivou; i **LoB od 16.7 µg/g**.

Limit kvantifikacije (LoQ): 23.7 µg/g

LoQ je utvrđen u skladu sa CLSI smernicama EP17-A2, na osnovu 90 određivanja i ciljnoj preciznosti od 20% CV. Utvrđeno je da je procenjen LoQ bio niži od LoD i stoga je naznačen kao jednak procenjenom LoD.

Opseg linearnosti: 9.13 – 13'339 µg/g

Opseg linearnosti BÜHLMANN fCAL[®] turbo je određen u skladu sa CLSI smernicama EP06-A. Uzorci sa koncentracijama iznad 2000 µg/g analizator je automatski razblažio u odnosu 1:10. Dozvoljena je maksimalna devijacija linearnosti iznosila je 10%. Za vrednosti ispod 75 µg/g dozvoljena je apsolutna razlika manja od 7.5 µg/g.

Visokodozni Hook efekat

Uzorci sa teorijskim koncentracijama do 45'715 µg/g mogu se izmeriti bez limitirajućeg mernog opsega testa.

Interferirajuće supstance

Osetljivost BUHLMANN fCAL[®] turbo testa na oralne lekove, dodatke ishrani, hemoglobin i enteropatogene mikroorganizme procenjena je prema CLSI smernici EP07-A2. Bias rezultata koji je veći od 10% smatrao se interferencijom.

Nije detektovana interferenca sa sledećim supstancama [Koncentracija u mg/50 mg fecesa]; gyno-Tardyferon (0.11), Prednisone (0.31), Imurek (0.19); Salofalk (5.21), Asacol (2.50), Agopton (0.18), Vancocin (2.00), Sulfamethoxazole (1.6), Trimethoprim (0.35), Ciproxine (1.25), Vitamin E (0.30), Bion 3 (1.06), Hemoglobin (1.25).

Nije detektovana interferenca sa sledećim enteropatogenim mikroorganizmima [Koncentracija u colony forming units (CFU)/mL ekstrakta fecesa]; *Escherichia coli* (3.3×10^7), *Salmonella enterica subsp. Enterica* (9.0×10^7), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* (5.3×10^7), *Citrobacter freundii* (12.9×10^7), *Shigella flexneri* (5.0×10^7), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* (9.8×10^7).

LITERATURA

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.

LOG IZMENA

Datum	Verzija	Izmena
2022-02-28	A4	Ažuriranje odeljka "Upozorenja i predostrožnosti", revizija poglavlja "simboli" dodavanje broja notifikovanog tela CE znaku – postupak ocenjivanja usaglašenosti sa IVDR 2017/746

INCIDENTI KOJI SE PRIJAVLJUJU U DRŽAVAMA ČLANICAMA EU

Ako se desio bilo kakav ozbiljan incident u vezi sa ovim medicinskim sredstvom, molimo da to bez odlaganja prijavite proizvođaču i nadležnom organu vaše države članice.

OŠTEĆENJE TOKOM TRANSPORTA

Ako ste primili oštećen proizvod molimo da o tome obavestite svog distributera.

SIMBOLI

BÜHLMANN koristi simbole i znakove navedene i opisane u ISO 15223-1.

