Набор для количественного определения фекального кальпротектина (расширенный диапазон) QuantumBlue®

Количественный латеральный проточный иммуноанализ

Для диагностики *in vitro*

LF-CALE25 25 тестов

Дата обновления: 20.12.2019
Редакция A1

«БЮЛЬМАННЛабораторизАГ»
(BUHLMANN Laboratories AG)
Базельштрассе 55
4124 Шёненбух, Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

НАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL extended — это диагностический тест in vitro для количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначен для оценки активности воспаления слизистой оболочки кишечника. Результаты анализа могут быть использованы для помощи в дифференциальной диагностике органических, воспалительных заболевании желудочно-кишечного тракта (воспалительные заболевания кишечника, например, болезнь Крона или язвенный колит) и функциональных заболеваний (синдром раздраженного толстого кишечника) (см. 1-7) у пациентов с хронической абдоминальной болью, а также для мониторинга воспалительных заболеваний кишечника (см. 7-18).

Только для использования в лаборатории.

ЕС: только для профессионального использования.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный метод BÜHLMANN fCAL® extended ELISA позволяет проводить специфическое измерение кальпротектина методом «сэндвич» иммуноферментного анализа (ИФА). Моноклональные «захватывающие» антитела (mAb), высокоспецифичные к кальпротектину, сорбированы на тестовой мембране.

Вторые моноклональные детектирующие антитела, конъюгированные с коллоидами золота, фиксированы на подложке, выделяющей конъюгат, который высвобождается в реакционную систему после внесения экстрагированного и разведенного образца кала. Кальпротектин / антикальпротектин конъюгат с золотом связывается с антителами к кальпротектину, фиксированными на тестовой мембране (тестовая линия), а оставшиеся свободные антитела к кальпротектину, конъюгированные с золотом связывается с козьими антителами к мышиным антителам, фиксированными на тестовой мембране (контрольная линия). Интенсивность сигнала тестовой и контрольной линий измеряется количественно на ридере BÜHLMANN Quantum Blue®.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ:

Реагенты	Количество	Код	Примечания
Тест-кассета	25 штук	B-LFCALUS-TC	в запечатанном под вакуумом пакете
Экстрагирующий буфер	1 флакон 125 мл	B-CAL-EX	Готов к использованию
Низкий*/высокий* уровень контрольных мат-лов	2 флакона 0,5 мл	B-CAL-EX	Готовый к использованию
Чип-карта RFID	1 штука	B-CALE-RCC	Белая пластиковая карта
Чип-карта RFID	1 штука	B-CALE-RCC720	Зеленая пластиковая карта

Таблица 1

* Контроли содержат лот-зависимые количества нативного человеческого кальпротектина. Обратитесь к дополнительной спецификации QC для актуальных концентраций.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ РЕАГЕНТОВ

Все компоненты набора стабильны при температуре хранения 2-8 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке.

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Реагенты и материалы для экстракции образцов кала Реагенты и материалы для экстракции кала, описанные в таблице 2, не поставляются вместе с набором, и любой из них должен быть заказан вместе с набором.

Устройства для экстракции	Количество	Кат. №
CALEX® Cap	Упаковка по 50, 200 или 500 пробирок, соответственно, каждая заполнена буфером для экстракции, 5 мл, готова для использования	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Smart-Prep	50 пробирок, состоящих из шпателя для забора кала и крышек основания	B-CAL-RD
ScheBo® Quick-Prep™	50 пробирок, состоящих из пробирки, конуса и палочки-аппликатора для отбора кала. Содержат 1,3 мл экстрагирующего буфера, готовы к использованию	B-CAL-SO50

Таблица 2

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

- Вортекс для экстракции образцов кала
- Калиброванные пипетки с одноразовыми наконечниками, объемом: 10-100 мкл, 100-1000 мкл и 250-2500 мкл.
- Центрифуга.
- Полипропиленовые или полистироловые пробирки 5 мл для разведения экстрактов образцов
- Таймер (опционально)
- Экспресс-ридер QuantumBlue®, доступен по заказу у компании БЮЛЬМАНН (код для заказа: BI-POCTR-ABS)
- Мягкая ткань или фильтровальная бумага

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Контрольные материалы, используемые в данном исследовании, содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что были проведены испытания и обнаружены отрицательные антитела к поверхностному антигену гепатита Б (HBV), гепатита С (HCV) и ВИЧ (HIV1/2), с реагентами следует обращаться так, как будто они способны передавать инфекции и в соответствии с надлежащей лабораторной практикой с соблюдением надлежащих мер предосторожности.
- С образцами пациентов следует обращаться так, как будто они способны передавать инфекции и в соответствии с надлежащей лабораторной практикой с соблюдением надлежащих мер предосторожности.
- Реагенты: Избегайте попадания реагентов на кожу, в глаза или на слизистую оболочку. Если попадание все же произошло, немедленно промойте место большим количеством воды; в противном случае может возникнуть раздражение.
- Реагенты и химикаты должны перерабатываться как опасные отходы в соответствии с национальными директивами или правилами безопасности биологических опасных веществ.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Технические меры предосторожности

Компоненты набора

- Все реагенты и образцы должны достичь комнатной температуры (18-28°C) перед началом тестирования.
- С помощью Вортекса тщательно перемещайте реагенты перед использованием.
- Компоненты не должны быть использованы после истечения срока годности, указанного на этикетках.
- Не смешивайте различные лоты реагентов.
- Тест- кассеты не могут быть использованы повторно.

Процедура метода

- Внимательно ознакомьтесь с инструкцией до начала исследования. Если реактивы будут неправильно разбавлены, обработаны или сохранены в условиях, отличных от тех, которые описаны в данной инструкции по применению, это негативно скажется на результатах анализа.
- Экспресс-ридер QuantumBlue® должен быть включен и запрограммирован на выполнение расширенного теста на определение фекального кальпротектина. Выберите метод B-CALE-RCC или B-CALE-RCC720 перед началом исследования (см. Руководство по эксплуатации ридера QuantumBlue®.)
- Используйте чип-карту RFID для загрузки лот- специфических параметров исследования.
- Использование неправильно подготовленных образцов кала пациентов могут привести к получению недостоверных результатов.
- Для получения надежных количественных результатов важно гомогенизировать образец кала целиком в устройстве для экстракции.
- При использовании устройства БЮЛЬМАНН SmartPrep и ScheBo® Quick-PrepTM, важно отцентрифугировать экстракты перед хранением. Отцентрифугируйте образцы в течение 5 минут при 3000g. После центрифугирования супернатант необходимо перенести в свежую пробирку для хранения.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Для выполнения экстракции с помощью устройства для экстракции, требуется не более 1 г исходного образца кала. Образцы кала должны быть собраны в чистую пробирку.

Важно: Образец должен быть собран без добавления какого- либо химического или биологического вещества в пробирку для сбора образца.

Транспортировка образца

Образцы кала должны быть доставлены в лабораторию в течение трех дней с момента их сбора. Образцы должны транспортироваться при комнатной температуре или в холодильной установке.

Хранение образца

Полученные образцы кала должны храниться в холодильнике при температуре 2-8 °C и должны быть экстрагированны в течение трех дней после их доставки в лабораторию. Хранение образцов при температуре, выше указанной, не рекомендуется.

Хранение экстракта

Кальпротектин в экстрактах, полученных с помощью устройства БЮЛЬМАНН CALEX® Cap, стабилен при комнатной температуре в течение трех дней, при температуре хранения 2-8 °C до шести дней. Для более длительного хранения необходимо хранить экстракты при температуре - 20°C. Замороженные экстракты стабильны до 23 месяцев.

Экстракты, полученные при использовании CALEX® Cap, могут храниться и замораживаться непосредственно в данном устройстве. Четыре цикла замораживания/оттаивания не оказывают негативного влияния на экстракты. Перед началом исследования необходимо разморозить экстракты и дать им достичь комнатной температуры. Для повторного использования/повторного измерения экстрактов см. шаг 2 в разделе Методика количественного анализа.

Экстракты кальпротектина, полученные методом ручного взвешивания, с устройствами БЮЛЬМАНН Smart-Prep или ScheBo® Quick - Prep™, стабилен при температуре хранения 2-8 °C в течение ≤ 7 дней или при температуре хранения - 20 °C в течение 35 месяцев.

Методика количественного анализа

Методика количественного анализа состоит из трех этапов:

1. Экстракция образцов кала

Процедура экстракции описана в инструкции к соответствующему устройству для экстракции.

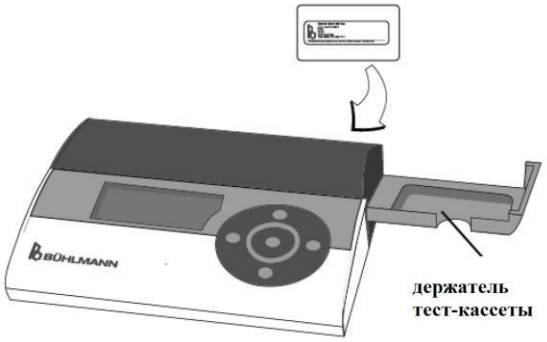
Устройство CALEX® Cap: Жидкие образцы кала могут быть пипетированы непосредственно в данном устройстве. Откройте синий колпачок и добавьте 10 мкл образца кала в устройство. Закройте устройство CALEX® Cap и приступите к этапу перемешивания с помощью Вортекса, согласно процедуре экстракции, описанной и проиллюстрированной в инструкции к устройству CALEX® Cap.

2. Пробоподготовка

- Устройство SmartPrep или ScheBo® QuickPrepTM: Дайте образцу кала отстояться в течение 10 минут после экстракции. Разбавьте супернатант экстрагирующим буфером в соотношении 1:10 (например, 50 мкл экстракта образца кала и 450 мкл экстрагирующего буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам постоять в течение как минимум 5 минут при температуре 18- 28 °C перед тем, как перейти к следующему шагу (шаг №3).
- CALEX® Cap: после экстракции, дайте образцу кала постоять в течение 10 минут, оставив его в устройстве белой насадкой вниз. Откройте синий колпачок. Для иммуноферментного анализа супернатант может быть использован без его разведения.

3. Процедура проточного латерального иммуноанализа и считывание показаний

Два альтернативных метода могут быть загружены из соответствующей чип-карты RFID: B-CALE-RCC или B-CALE- RCC720. Выберите одну из чип-карт RFID до начала исследований. Загрузите метод испытания из чип-карты RFID

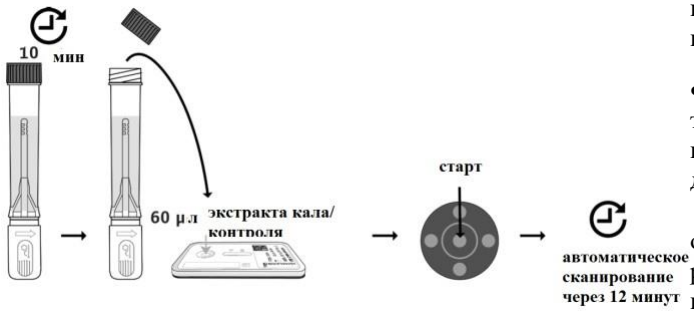


3.1. Метод <B-CALE-RCC720> со внутренним таймером

- Используйте зеленую пластиковую карту.
- Загрузите тест-кассету в держатель анализатора.
- Внесите 60 мкл разведенного образца кала в специальное отверстие для образца в тест-кассете.
- Закройте держатель с тестовой кассетой и начните измерение, нажав кнопку Старт.
- Сканирование начнется автоматически через 12 минут (720 секунд).

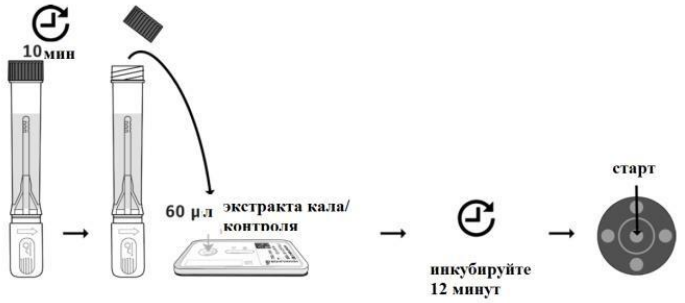
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Для низких/высоких уровней контрольных материалов: повторите шаги 3.1 с контрольными материалами 60 мкл вместо разведенного образца кала.



3.2. Метод <B-CALE-RCC> без таймера

- Используйте белую пластиковую карту.
- Внесите 60 мкл разведенного образца кала в специальное отверстие для образца в тест-кассете.
- Инкубируйте в течение 12 минут +/- 1 минута (установите таймер вручную).
- Загрузите тест-кассету в держатель анализатора.
- Начните сканирование тестовой кассеты анализатором QuantumBlue®, немедленно нажав кнопку Старт.
- Для низких/высоких уровней контрольных материалов: повторите шаги 3.2 с контрольными материалами 60 мкл вместо разведенного образца кала.



Примечание: для получения более подробной информации об основных функциях экспресс-анализатора, в особенности как выбирать методы и загружать лот специфические параметры из чип-карты RFID для измерения образцов, обратитесь к руководству по эксплуатации, приложенной к экспресс-анализатору QuantumBlue®.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Если воспроизводимость метода не коррелирует с установленными пределами и при повторном анализе исключены ошибки в выполнении процедуры метода, проверьте следующие параметры •i) контроль температуры пипетирования и таймера •ii) срок годности реагентов и •iii) условия хранения и инкубации
- Результат самопроверки экспресс-анализатора QuantumBlue®, выполненной при запуске прибора, должен быть достоверным

ВАЛИДАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Для получения достоверных результатов анализа линия контроля (C) должна быть видимой в любом случае (см. Рисунки 1A и 1B). Она используется только как функциональный контроль метода и не может использоваться для интерпретации тестовой линии (T). Если тестовая линия (T) не обнаруживается после 12 минут инкубации (рисунок 1A), концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, ниже предела обнаружения. Если тестовая линия (T) обнаруживается после 12 минут инкубации (рис. 1B), концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, вычисляется ридером Quantum Blue® Reader.

- Если после 12 минут инкубации обнаруживается только тестовая линия (T) (рисунок 1C), результат теста недействителен, и анализ кальпротектина необходимо повторить с использованием другой тест-кассеты.
- Если ни контрольная линия (C), ни тестовая линия (T) не обнаруживаются после 12 минут инкубации (рисунок 1D), результат теста недействителен, и анализ кальпротектина необходимо повторить с использованием другой тест- кассеты.
- Поскольку ридер Quantum Blue® позволяет проводить количественную оценку тестовой линии (T) и линии контроля (C), проводится дополнительная проверка достоверности контрольной линии (C). Если после 12 минут инкубации интенсивность сигнала контрольной линии (C) ниже порогового значения, результат теста также недействителен, и анализ Quantum Blue® fCAL необходимо повторить с использованием другой тест-кассеты.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

- Quantum Blue® fCAL стандартизирован по BUHLMANN fCAL® ELISA (код заказа: EK-CAL).
- В ридере Quantum Blue® Reader для расчета концентрации кальпротектина используется лот- специфичная стандартная кривая. Диапазон анализа составляет от 30 до 1000 мкг/г.
- Для количественных измерений образцы, в которых концентрация кальпротектина находится в диапазоне 850-1800 мкг/г, могут быть повторно протестированы с использованием набора для измерения кальпротектина в высоком диапазоне выше 850 мкг/г BÜHLMANN Quantum Blue® high range fCAL (код для заказа: LF-CHR25).

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Реагенты, поставляемые в наборе BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL extended, предназначены для определения уровня кальпротектина только в образцах кала человека.
- Результаты определения содержания кальпротектина в кале используют для различения органических и функциональных заболеваний кишечника, а также для мониторинга пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК). Результаты анализа следует всегда интерпретировать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными.
- Было показано, что многократное определение кальпротектина при мониторинге ВЗК с интервалом до 4 недель обладает наибольшей диагностической точностью для прогноза клинического рецидива у пациентов (ссылки 19-20).
- В редких случаях, когда уровни кальпротектина чрезвычайно высоки (выше 4000 мкг/г, например, при остром язвенном колите), тест-система может быть подвержена влиянию высокодозного Хук-эффекта (hook эффект), что может привести к получению значений ниже верхнего уровня линейного диапазона (850 мкг/г). Рекомендуется уделять особое внимание результатам, превышающим 300 мкг/г, при наличии выраженных симптомов, указывающих на острое воспаление. В этом случае лаборатории, для подтверждения рекомендуется своевременно повторить анализ образца кала пациента.
- У пациентов, регулярно принимающих НПВП, концентрация кальпротектина в кале может быть повышена. Результаты не могут быть клинически применимы к детям младше 4 лет, у которых умеренно повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 21-24).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ОРГАНИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО- КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Измерение кальпротектина в кале является надежным и простым методом дифференциальной диагностики органических и функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта (ссылки 1-7).

Категории результатов основаны на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и являются рекомендациями BÜHLMANN. Все результаты анализа должны интерпретироваться в совокупности с информацией об имеющихся у пациента клинических симптомах, историей болезни и другими клиническими и лабораторными данными.

Пороги клинического решения

Следующие данные были получены с помощью BÜHLMANN fCAL®ELISA (кат.№: EK-CAL).

Результаты 58 клинических образцов от пациентов с диагнозом СРК и 131 клинического образца от пациентов с диагнозом ВЗК, полученные в международном клиническом исследовании, были проанализированы для получения значений, описанных в таблице 3.

Таблица 3.

Концентрация кальпротектина	**Интерпретация**	**Последующее исследование**
< 80 µг/г	Норма	Не требуется
80 - 160 µг/г	Пограничная/серая зона	Через 4 – 6 недель
> 160 µ/г	Повышенный результат	По необходимости

Значения кальпротектина ниже 80 мкг/г:

Показатели кальпротектина <80 мк/г указывают на отсутствие воспаления в желудочно-кишечном тракте. Пациенты, с образцами с низкими уровнями, вероятно, не нуждаются в проведении дальнейших инвазивных процедур для определения причины воспаления.

Повышенные уровни кальпротектина от 80 до 160 мкг/г:

Значения кальпротектина от 80 до 160 мкг/г в так называемой «серой зоне» могут непрямо указывать на активное воспаление, требующее немедленных врачебного вмешательства с инвазивным обследованием. В этом случае нельзя исключить воспаление. Рекомендуется повторный анализ для определения уровня кальпротектина через 4-6 недель для определения воспалительного статуса.

Повышенные значения выше 160 мкг/г:

Уровни кальпротектина > 160 мкг/г указывают на нейтрофильную инфильтрацию желудочно-кишечного тракта, т.е. могут сигнализировать о наличии активного воспалительного заболевания. Предлагается проведение соответствующих исследовательских процедур специалистами для установления клинического диагноза.

Клиническая оценка

Способность BÜHLMANN fCAL® ELISA различать пациентов с ВЗК и другими невоспалительными нарушениями ЖКТ, включая СРК, была протестирована в клиническом исследовании с участием в общей сложности 337 взрослых и детей. Сто тридцать пять (135) пациентов имели окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или неопределенный колит), 130 пациентов страдали от ВЗК и 72 пациента имели боли в животе и (или) диарею, или другие, связанные с ЖКТ воспалительные состояния (см. таблицу 4). Окончательный диагноз был подтвержден как эндоскопическими, так и другими клиническими данными.

Клиническая чувствительность 93,3% при пороге 80 мкг/г и клиническая специфичность 83,7% при пороге 160 мкг/г могут быть достигнуты в дифференциации между ВЗК и невоспалительными состояниями ЖКТ, включая ВЗК. ROC- анализ имел AUC 0,923 (см. Таблицу 5).

Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 85,4% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации ВЗК и СРК. В ROC-анализе получен AUC 0,933 (см. Таблицу 6).

Оптимальная комбинация значений cut-off для этих групп пациентов определена с помощью ROC-анализа для значений кальпротектина 80 мкг/г и 160 мкг/г, и она немного точнее **комбинации более чувствительного нижнего cut-off 50 мкг/г** с более низкими показателями специфичности и **верхнего cut-off 200 мкг/г** при несколько меньшей чувствительности (таблицы 7 и 8).

II. МОНИТОРИНГ ПАЦИЕНТОВ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Пороги клинического решения и их оценка

Измерение концентрации кальпротектина в образцах кала – это достоверный и простой путь мониторинга пациентов с ВЗК (ссылки 7-18).

Корреляция уровня кальпротектина с воспалительным статусом слизистой кишечника пациентов по данным эндоскопического исследования была оценена в трех независимых исследованиях с использованием наборов BÜHLMANN для определения кальпротектина (таблица 9). Диагностическое значение кальпротектина как предиктора клинической ремиссии или обострения, в соответствии с симптомами у пациентов, показателями клинической активности, незапланированного усиления терапии, госпитализации или проведения неотложных мероприятий было оценено в трех исследованиях с использованием наборов BÜHLMANN для определения кальпротектина (таблица 10).

Показанные категории результатов являются рекомендациями, и их создание основано на обобщенных опубликованных данных о значениях cut-off и параметрах клинических исследований. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина у пациента во время ремиссии заболевания.

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г:

Уровень кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г достоверно указывает на то, что у пациента риск клинического обострения заболевания низкий, эндоскопические признаки ремиссии, и нет необходимости проведения инвазивного эндоскопического исследования (см. 7-18).

Уровни кальпротектина между 100-300 мкг/г:

Значения кальпротектина в кале в диапазоне 100 – 300 мкг/г могут указывать на необходимость более тщательного контроля в последующем периоде для оценки развития заболевания.

Уровни кальпротектина выше 300 мкг/г:

Если уровень кальпротектина в кале выше 300 мкг/мл, анализ необходимо повторить, если повышенные уровни подтвердятся, следует провести необходимые диагностические процедуры (см. 7-18).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИЛОЖЕНИЕ I
ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Рисунок 1. Результаты на тест-кассете

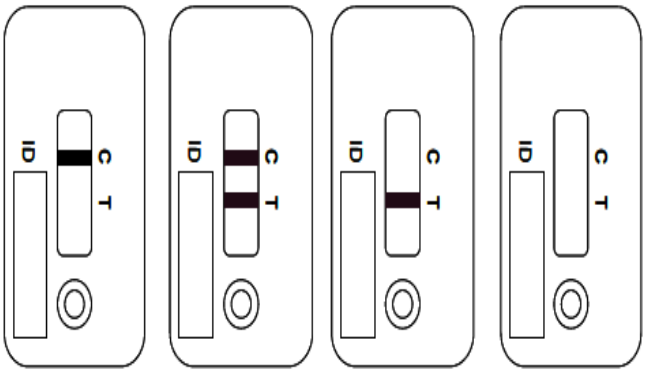


Figure 1A Figure 1B Figure 1C Figure 1D

Клинические исследования – дифференциальная диагностика органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта

Таблица. 4

Окончательный диагноз	**Распределение результатов пациентов в цифрах (%) в диагностических диапазонах BÜHLMANN fCAL ELISA.**			
	< 80 мкг/г	80 - 160 мкг/г	> 160 мкг/г	Всего
ВЗК	9 (6.7%)	12 (8.9%)	114 (84.4%)	135 (100%)
СРК	94 (72.3%)	17 (13.1%)	19 (14.6%)	130 (100%)
Другие болезни ЖКТ	48 (66.7%)	10 (13.9%)	14 (19.4%)	72 (100%)

Таблица 5.

ВЗК и не-ВЗК	**Порог клинического решения**	
	80 мкг/г	**160 мкг/г**
Чувствительность (95% ДИ)	93.3% (87.7%, 96.9%)	84.4% (77.2%, 90.1%)
Специфичность (95% ДИ)	70.3% (63.5%, 76.5%)	83.7% (77.8%, 88.5%)
PPV (95% ДИ)	67.7% (60.5%, 74.4%)	77.6% (69.9%, 84.0%)
NPV (95% ДИ)	94.0% (89.0%, 97.2%)	88.9% (83.6%, 93.0%)
ROC AUC (95% ДИ)	0.923 (0.893, 0.953)	

Таблица 6

ВЗК и СРК	**Порог клинического решения**	
	80 мкг/г	**160 мкг/г**
Чувствительность (95% ДИ)	93.3% (87.7%, 96.9%)	84.4% (77.2%, 90.1%)
Специфичность (95% ДИ)	72.3% (63.8%, 79.8%)	85.4% (78.1%, 91.0%)
PPV (95% ДИ)	77.8% (70.6%, 83.9%)	85.7% (78.6%, 91.2%)
NPV (95% ДИ)	91.3% (84.1%, 95.9%)	84.1% (76.7%, 89.9%)
ROC AUC (95% ДИ)	0.933 (0.902, 0.963)	

Таблица 7

ВЗК и не-ВЗК	**Порог клинического решения**	
	50 мкг/г	**200 мкг/г**
Чувствительность (95% ДИ)	96.3% (91.6%, 98.8%)	80.7% (73.1%, 87.0%)
Специфичность (95% ДИ)	59.9% (52.8%, 66.7%)	87.1% (81.7%, 91.4%)
PPV (95% ДИ)	61.6% (54.7%, 68.2%)	80.7% (73.1%, 87.0%)
NPV (95% ДИ)	96.0% (91.0%, 98.7%)	87.1% (81.7%, 91.4%)

Таблица 8

ВЗК vs.СРК	Порог клинического решения	
	50 мкг/г	200 мкг/г
Чувствительность (95% ДИ)	96.3% (91.6%, 98.8%)	80.7% (73.1%, 87.0%)
Специфичность (95% ДИ)	59.2% (50.3% ,67.8%)	90.0% (83.5%, 94.6%)
PPV (95% ДИ)	71.0% (63.9%, 77.5%)	89.3% (82.5%, 94.2%)
NPV (95% ДИ)	93.9% (86.3%, 98.0%)	81.8% (74.5%, 87.8%)

Не-ВЗК - СРК + другие заболевания ЖКТ
ДИ - доверительный интервал
PPV - положительная прогностическая ценность
NPV - отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC - площадь под ROC-кривой

Клинические исследования – мониторинг ВЗК

Таблица 9

Кальпротектин [1] vs ВЗК, активность оценена по эндоскопическим признакам	**Исследование 1 Испания (ссылка 9)**	**Исследование 2 Испания (ссылка 10)**	**Исследование 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка**
Количество пациентов и демографические данные	89 (БК[2]) Возраст: 32-58 44% мужчин	123 (ЯК[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчин	99 (БК[2] после резекции) Возраст: 29-47[3] 46.5% мужчин
Cut-off	272 мкг/мл	280 мкг/мл	100 мкг/мл
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

1 Результаты исследований 1 и 2 получены с использованием наборов BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range (высокий диапазон).
Результаты исследования 3 получены с использованием набора BÜHLMANN fCAL® ELISA.
2 БК = пациенты с болезнью Крона
3 ЯК = пациенты с язвенным колитом

Таблица 10

Кальпротектин[1] И клиническая ремиссия или обострение в дальнейшем	**Исследование 4 Соединенное королевство (ссылка. 12)**	**Исследование 5 Испания (ссылка 13)**	**Исследование 6 Испания (ссылка 14)**
Число пациентов и демографические данные	92 (БК[2]) 38% мужчины	30 (БК[3]) Терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (БК[2]) 20 (ЯК[3]) Терапия инфликсимабом Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время после анализа кальпротектин	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим обострением в дальнейшем	11%	30%	23%
Cut-off	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8 %	100 %	96.1 %
PPV	27.6 %	75 %	68.7 %

1 Результаты исследования 4 получены с использованием набора BÜHLMANN fCAL® ELISA
Результаты исследований 5 и 6 получены с использованием наборов BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL high range (высокий диапазон).
2 БК = пациенты с болезнью Крона
3 ЯК = пациенты с язвенным колитом

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИЛОЖЕНИЕ I
ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблица 11. Извлечение.

Образец	1	2	3	4	5	6
Базовое значение [мкг/г]	77	111	141	240	232	349
Добавленное [мкг/г]	150	150	150	150	150	150
Ожидаемое (базовое+добавка) [мкг/г]	227	261	291	390	382	499
Измеренное (базовое+добавка) [мкг/г]	260	267	345	409	441	605
% Извлечения (измеренное/ожидаемое)	115	102	118	105	115	121

Таблица 12. Воспроизводимость внутри лаборатории.

Средняя концентрация [мкг/г]	Воспроизводимость CV [%]	Воспроизводимость между постановками анализов CV [%]	Воспроизводимость изо дня в день CV [%]	Воспроизводимость внутри лаборатории CV [%]
51.7	19.1	10.2	7.6	23.0
118.6	18.3	0.0	3.3	18.6
295.0	15.3	5.3	7.9	18.0
647.8	16.8	11.1	5.9	21.0

Таблица 13. Воспроизводимость между лотами

Средняя концентрация [мкг/г]	Воспроизводимость между лотами, CV [%]
49.2	16.5
112.2	17.0
278.4	20.1
682.1	20.6

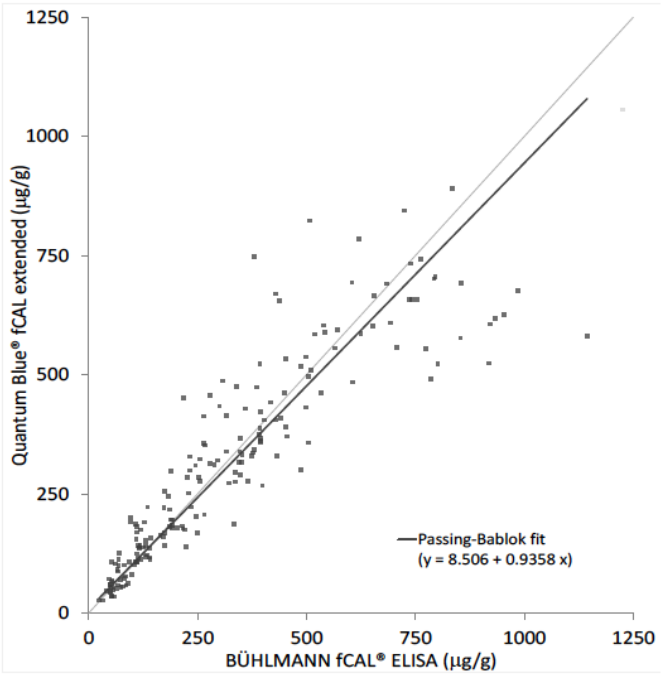
Таблица 14. Предел количественного определения – нижний LoQ.

Нижний LoQ	Референс-значение (R), мкг/г	Среднее полученное значение (O), мкг/г	Смещение, мкг/г (R-O)	Точность, %CV	Общая ошибка, %
Лот **M0527**	37.3	29.2	-8.1	17.5	25.7
	28.2	21.3	-6.9	16.7	27.8
	23.6	17.6	-6.0	25.6	31.9
	19.1	13.6	-5.5	20.6	32.2
Лот **M2128**	37.3	37.4	0.2	24.1	24.2
	28.2	25.1	-3.1	15.8	17.8
	23.6	21.0	-2.6	29.1	28.2
	19.1	18.5	-0.6	20.7	20.3

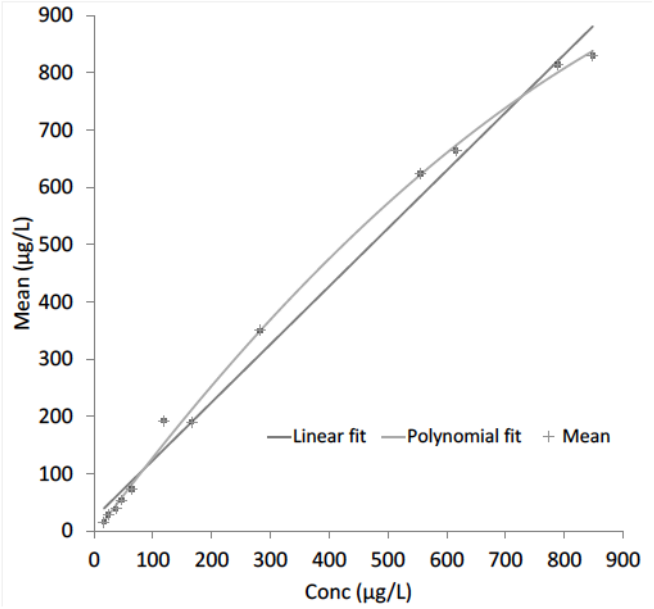
Таблица 15. Предел количественного определения – верхний LoQ.

Верхний LoQ	Референс-значение (R), мкг/г	Среднее полученное значение (O), мкг/г	Смещение, мкг/г (R-O)	Точность, %CV	Общая ошибка, %
Лот M0527	1001.7	752.6	-249.1	18.4	28.4
	746.0	706.9	-39.1	16.2	16.2
	678.6	704.2	25.6	14.0	15.1
	628.0	668.4	40.4	21.3	23.5
Лот M2128	1001.7	783.0	-218.7	22.6	28.1
	746.0	670.4	-75.6	13.9	16.1
	678.6	629.9	-48.7	17.2	17.5
	628.0	636.8	8.8	20.9	21.1

Рисунок 2. Сравнение методов.



Линейность



Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Приложение II
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1.Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organicgastrointestinal abnormality.* Lancet 356, 1783-4(2000)
2.Tibble JA *et al*.: *A simple method for assessingintestinal inflammation in Crohn's disease.* Gut47,506-513 (2000).
3.Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers ofinflammation and Rome criteria to distinguish organicfrom nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123,450-460 (2002)
4.Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E.*: Measurement ofcalprotectin in faeces*. Tidsskr Nor Legeforen 128,743–5 (2008)
5.Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in theevaluation of patients with abdominal discomfort: anobservational study*. BMC Gastroenterology 12, 5(2012)
6.Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinicalapplication of faecal calprotectin in adult patientspresenting with gastrointestinal symptoms in primarycare*. Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7.Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotec-tin as a biomarker of intestinal inflammation in inflam-matory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8.Lin JF et al.: *Meta-analysis: fecal calprotectin forassessment of inflammatory bowel disease activity*.Inflamm Bowel Dis. Aug;20(8), 1407-15 (2014)
9.Lobatón T et al.: *A new rapid test for fecal calprotectinpredicts endoscopic remission and postoperativerecurrence in Crohn's disease.* J Crohns Coliti, 7(12),641-51 (2013)
10. Lobatón T et al.: *A new rapid quantitative test for fecalcalprotectin predicts endoscopic activity in ulcerativecolitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectinimproves monitoring and detection of recurrence ofCrohn's disease after surgery.* Gastroenterology.148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of thepredictive value of faecal calprotectin in quiescentCrohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecalcalprotectin test to predict relapse in Crohn's diseasepatients on maintenance treatment with adalimumab*.Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: *Fecal calprotectin asPredictor of Relapse in Patients with InflammatoryBowel Disease Under Maintenance InfliximabTherapy.* J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectinIdentifies Histologic Inflammation in Patients withUlcerative Colitis In Clinical And EndoscopicRemission.* Clinical Gastroenterology and Hepatology.12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasson A et al.: *Pharmacological intervention basedon fecal calprotectin levels in patients with ulcerativecolitis at high risk of a relapse: A prospective,randomized, controlled study.* United EuropeanGastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecalcalprotectin to identify and monitor disease activity ininflammatory bowel disease.* Can J GastroenterolHepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets inInflammatory Bowel Disease (STRIDE): DeterminingTherapeutic Goals for Treat-to-Target.* Am JGastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin PredictShort-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-BlockingAgents In Inflammatory Bowel Disease Patients InDeep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al. *Consecutive fecal calprotectinmeasurements to predict relapse in patients withulcerative colitis receiving infliximab maintenancetherapy.* Inflamm Bowel Dis. 19, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is wellpredicted by fecal calprotectin in children withgastrointestinal symptoms.* J Pediatr GastroenterolNutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations inHealthy Children Aged 1-18 Months.* PLoS ONE 10(3)(2015)
23. Zhu Q. et al.: Fecal Calprotectin in Healthy ChildrenAged 1-4 Years. PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stoolsamples of infants from the population-basedlongitudinal born into life study.* Scandinavian Journalof Clinical and Laboratory Investigation 78(1-2), 120-124 (2018)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru