Набор для количественного определения фекального кальпротектина (высокий диапазон) Quantum Blue® fCAL high range

Количественный латеральный проточный иммуноанализ

Для диагностики *In Vitro*

LF-CHR25 25 тестов

Дата выпуска:2020-10-30
Версия A2

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Русский страница 2
English page 3
Deutsch Seite 9
Français page 15
Italiano pagina 21
Español página 27
Português página 33

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

РУССКИЙ

НАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL высокий диапазон представляет собой диагностический тест in vitro для количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначенный для оценки воспаления слизистой оболочки кишечника. Результаты анализа могут быть использованы в качестве вспомогательного критерия для дифференциальной диагностики органических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), в частности болезнь Крона или язвенный колит (ЯК), от функциональных заболеваний (синдром раздраженного кишечника (СРК) (ссылки 1–7), у пациентов с хроническими болями в животе и в качестве вспомогательного средства для мониторинга заболеваний ВЗК (ссылки 7–18).
Для лабораторного использования.
Европа: для профессионального использования.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Исследование предназначено для селективного измерения антигена кальпротектина методом сэндвич-иммуноанализа. На аналитическую мембрану наносится моноклональное захватное антитело (mAb), высокоспецифичное для кальпротектина. Второе моноклональное обнаруживающее антитело, конъюгированное с коллоидами золота, осаждается на конъюгатную разделительную прокладку и высвобождается в реакционную систему после добавления экстрагированного и разбавленного образца кала. Конъюгат золота кальпротектина/антикальпротектина связывается с антителом против кальпротектина, нанесенным на аналитическую мембрану (тестовая линия), а оставшийся свободный конъюгат золота против кальпротектина связывается с козьим антимышиным антителом, нанесенным на аналитическую мембрану (контрольная линия). Интенсивность сигнала тестовой линии (T) и контрольной линии (C) измеряется количественно с помощью считывателя BÜHLMANN Quantum Blue®.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ И ИХ ПОДГОТОВКА

Реагенты	Количество	Код	Комментарии
Аналитическая кассета	25 штук	B-CAL-TC	Вакуумная упаковка-пакет из фольги
Экстракционный буфер	1 флакон 125 мл	B-CAL-EX	Готов к использованию
Контроли низкий* / высокий*	2 виалы 0.5 мл	B-CHR-CONSET	Готов к использованию
RFID чип-карта	1 штука	B-CHR-RCC	Пластиковая карта **красного** цвета
Карта штрих-кода	1 штука	B-CHR-BCC	2D пластиковая карта штрих-кода

Таблица 1

* Контроли содержат большое количество нативного человеческого кальпротектина. Фактические концентрации приведены в дополнительном листе данных по контролю качества.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ РЕАГЕНТОВ

Все компоненты комплекта стабильны при температуре 2–8°C до истечения срока годности, указанного на этикетках.

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Устройства для извлечения фекалий
Устройства для извлечения фекалий, описанные ниже, не поставляются вместе с комплектом, и любое из них должно быть заказано дополнительно к комплекту.

Устройство для извлечения Наборы	Количество	Код
Устройство CALEX® Cap	Доступны упаковки по 50, 200 или 500 пробирок, заполненные 5 мл экстракционного буфера. Готов к использованию.	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Smart-Prep	50 пробирок, состоящих из шпателей и колпачков-оснований	B-CAL-RD
ScheBo® Quick-Prep™	50 пробирок, состоящих из трубки, конуса и дозирующего наконечника, каждая из которых заполнена 1,3 мл экстракционного буфера. Готов к использованию.	B-CAL-SO50

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

• Вихревой смеситель для извлечения кала.
• Прецизионные пипетки с одноразовыми наконечниками: 10–100 мкл, 100–1000 мкл и 250–2500 мкл.
• Центрифуга.
• 5 мл полипропиленовых или полистирольных трубок для разбавления экстрактов.
• Таймер (опционально).
• Считыватель Quantum Blue® от BÜHLMANN (код заказа: BI-POCTR-ABS).
• Мягкая тканевая салфетка или впитывающая бумага.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Меры безопасности

•Материалы для контроля качества данного теста содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что было проведено исследование и материал был признан отрицательным на наличие поверхностного антигена HBV, антител к HCV и HIV1/2, реагенты должны обрабатываться так, будто они способны передавать инфекции, и должны обрабатываться в соответствии с правилами Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
•С образцами пациентов следует обращаться таким образом, будто они способны передавать инфекции. При работе с образами следует придерживаться правил Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) и соблюдать соответствующие меры предосторожности.
•Реагенты: избегайте контакта реагентов с кожей, глазами

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

или слизистыми оболочками. Если контакт все же произойдет, немедленно промойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть раздражение.
• Реагенты и химические вещества должны рассматриваться как опасные отходы в соответствии с национальным руководством по биологической безопасности или регулирующими правилами.

Технические меры предосторожности

Компоненты набора

•Перед началом исследования все реагенты и образцы должны достичь температуры окружающей среды (18–28°C).
•Компоненты набора не должны использоваться по истечении срока годности, указанного на этикетке.
•Не смешивайте между собой реагенты из различных партий.
•Аналитические кассеты нельзя использовать повторно.

Процедура исследования

•Перед проведением исследования внимательно прочитайте инструкцию. Если реагенты неправильно разбавлены, обработаны или хранятся в условиях, отличных от условий, описанных в данной инструкции по применению, это негативно скажется на результатах испытаний.
•Обратите внимание, что существует два поколения считывателей: Считыватель Quantum Blue® 2-го поколения с серийными номерами от 1000 до 3000 (QB2) и считыватель Quantum Blue® 3-го поколения с серийными номерами выше 3000 (QB3G).
•QB2 должен быть включен и запрограммирован для анализа высокого диапазона Quantum Blue® fCAL (<CHR_0> или <CHR_900>) перед началом теста (см. Руководство по считыванию Quantum Blue®).
•QB3G должен быть включен и запрограммирован для анализа высокого диапазона Quantum Blue® fCAL либо с помощью карты штрих-кода (B-CHR-BCC), либо путем выбора из меню теста (только в режиме быстрого отслеживания). Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к руководству по считыванию Quantum Blue®.
•Используйте RFID чип-карту (QB2) / карту штрих-кода (QB3G) для изменения параметров тестирования для конкретной партии.
•Неправильное обращение с образцами пациентов может привести к неточным результатам.
•Для получения надежных и количественных результатов важно полностью гомогенизировать образец кала в экстракционном устройстве.
•Если не использовать непосредственно, разбавленные образцы следует хранить при температуре 2-8°C и использовать в течение двенадцати часов.
•С помощью BÜHLMANN Smart-Prep и ScheBo® Quick-PrepTM важно центрифугировать экстракты перед хранением. Центрифугируйте пробирки в течение 5 минут при 3000 x g. После центрифугирования супернатант должен быть перенесен в свежую пробирку для хранения.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ, СТАБИЛЬНОСТЬ

Для процедуры экстракции требуется менее 1 г нативного образца кала. Соберите образец кала в обычные пробирки.
Важно: образец должен быть собран без каких-либо химических или биологических добавок.

Транспортировка образцов
Образцы кала должны быть получены для обработки в лаборатории в течение 3 дней после сбора. Образцы могут перевозиться при комнатной температуре или в холодильнике.

Хранение образцов
Образцы кала должны быть охлаждены при температуре 2-8°C и извлечены в течение 3 дней с момента поступления в лабораторию. Не храните образцы при повышенных температурах.

Стабильность экстракта
Экстрагированные образцы кала для анализа на кальпротектин, полученные с помощью устройства CALEX® Cap стабильны при комнатной температуре (23 °C) в течение 7 дней и при температуре 2-8°C в течение 15 дней. Для более длительного хранения замораживайте экстракты при температуре -20°C. Замороженные экстракты стабильны в течение периода до 23 месяцев.
Экстракты в CALEX® Cap можно хранить и замораживать непосредственно в устройстве CALEX® Cap. Экстракты могут подвергаться четырем циклам замораживания-оттаивания. Перед измерением дайте замороженным экстрактам уравновеситься до комнатной температуры. Для повторного использования / повторного исследования экстрактов см. шаг 2, описанные в главе «Процедура исследования».
Образцы кала для анализа на кальпротектин, полученные методом ручного взвешивания с помощью BÜHLMANN Smart-Prep или ScheBo® Quick-Prep™, стабильны при температуре 2-8°C в течение ≤ 7 дней или при температуре -20°C в течение 36 месяцев.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Процедура анализа состоит из трех этапов:

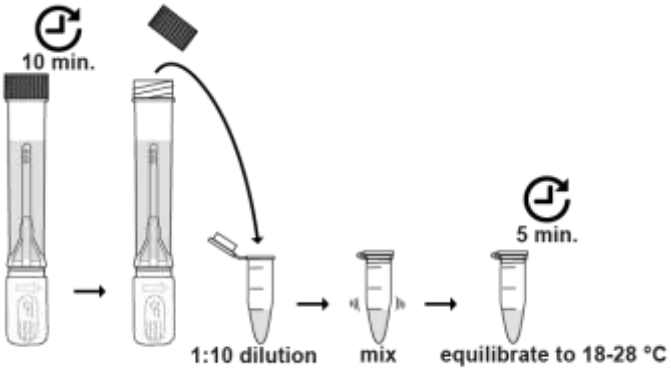
1.Извлечение образцов кала
Извлечение описано в инструкции по использованию, поставляемой с соответствующими устройствами для извлечения.
Устройство CALEX® Cap: образцы жидкого стула можно пипетировать непосредственно в устройство CALEX® Cap. Отвинтите синий колпачок и капните в устройство 10 мкл образца кала. Покройте крышкой устройство CALEX® Cap и переходите к этапу вихревого перемешивания в соответствии с процедурой экстракции, описанной и проиллюстрированной в инструкции по использованию, поставляемой вместе с устройством CALEX® Cap.

2.Обработка образцов
•Smart-Prep или ScheBo® Quick PrepTM: дайте экстракту кала осесть в течение 10 минут после экстракции. Разбавьте супернатант в пропорции 1:100 с помощью экстракционного буфера (например, 20 мкл экстракта кала и 1980 мкл экстракционного буфера) и тщательно перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28 °C, прежде чем переходить к следующему шагу (шаг № 3).

•Устройство CALEX® Cap: после экстракции дайте экстракту кала отстояться в течение 10 минут, опустив белую головку устройства. Отвинтите синюю крышку и разбавьте супернатант в пропорции 1:10 с помощью экстракционного буфера (например, 50 мкл экстракта и

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

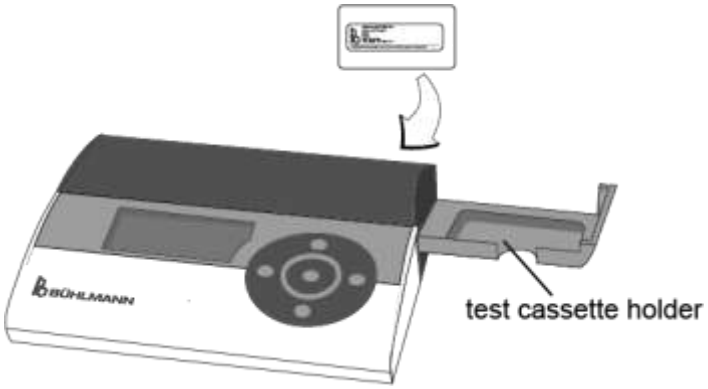
450 мкл экстракционного буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18-28°C, прежде чем переходить к следующему шагу (шаг 3).



3.Процедура анализа бокового потока и считывания на QB2

На считывателе Quantum Blue® доступны два альтернативных метода: <CHR_900> (с внутренним таймером) и <CHR_0> (без внутреннего таймера). Выберите один из этих методов перед началом исследований.

Загрузите конкретные параметры партии с помощью красной чип-карты RFID.



QB3G

Для анализа образца с помощью QB3G от BÜHLMANN доступны два различных режима: режим быстрого отслеживания или отказоустойчивый режим. Перед началом анализа, пожалуйста, укажите, в каком режиме работает Ваш считыватель.

Метод исследования может быть загружен с карты штрих-кода (режим быстрого отслеживания и отказоустойчивости) или, если он использовался ранее, выбран из меню исследования (исключительно режим быстрого отслеживания). Измерения могут выполняться как с внутренним таймером, так и без него в режиме быстрого отслеживания. Измерения в отказоустойчивом режиме могут выполняться исключительно с помощью внутреннего таймера.

Следуйте инструкциям, приведенным на экране QB3G. Вы также можете обратиться к кратким руководствам QB3G для работы в режимах быстрого отслеживания и отказоустойчивости.



3.1. Методика с использованием внутреннего таймера

QB2: выберите метод < CHR_900> и загрузите параметры для конкретного лота с красной чип-карты RFID.

QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите «НЕТ».

QB3G (отказоустойчивый режим): настройки по умолчанию.

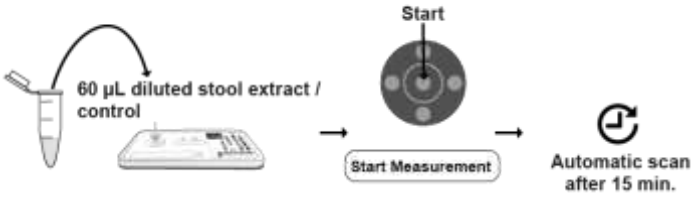
•Распакуйте аналитическую кассету. Добавьте 60 мкл экстракта кала в порт загрузки образца аналитической кассеты.

•Разместите аналитическую кассету в держателе для аналитической кассеты Quantum Blue® Reader.

•Закройте держатель аналитической кассеты и начните измерение, нажав кнопку «Пуск» на QB2 или опцию «Начать измерение» на QB3G.

•Сканирование начнется автоматически через 15 минут (900 секунд).

•Для контролей низкого / высокого уровней: повторите шаг 3.1 с контролем в объеме 60 мкл вместо экстракта кала.



3.2. Методика без использования внутреннего таймера

QB2: выберите метод < CHR_0> и загрузите параметры для конкретного лота с красной чиповой карты RFID.

QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите «ДА».

QB3G (отказоустойчивый режим): опция недоступна.

•Распакуйте аналитическую кассету. Добавьте 60 мкл экстракта кала в порт загрузки образца аналитической кассеты.

•Инкубируйте в течение 15 минут +/- 1 минуты (установите таймер вручную).

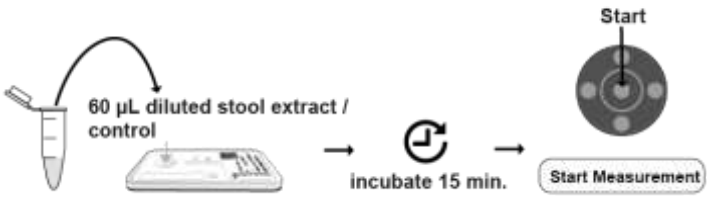
•Загрузите аналитическую кассету в держатель аналитических кассет считывателя Quantum Blue® Reader.

•Незамедлительно произведите сканирование аналитической кассеты с помощью считывателя Quantum Blue®, нажав кнопку «Пуск» на QB2 или выбрав опцию «Начать измерение» на QB3G.

• Для контролей низкого / высокого уровней: повторите шаг

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

3.2 с контролем в объеме 60 мкл вместо экстракта кала.



Примечание: пожалуйста, обратитесь к руководству по эксплуатации считывателя Quantum Blue®, чтобы узнать об основных функциях, а также о том, как инициализировать и управлять считывателем Quantum Blue®, особенно о том, как выбрать методы исследования и как загрузить конкретные параметры партии с чип-карты RFID (QB2) / карты штрих-кода (QB3G) на считыватель Quantum Blue®. Убедитесь, что аналитическая кассета правильно вставлена в считыватель Quantum Blue®, предварительно открыв окно считывания (рис. 1D).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

•Если результаты исследования не соответствуют установленным пределам и повторное исследование исключает ошибки в технике, проверьте следующие аспекты: 1) пипетирование, контроль температуры и сроки; 2) сроки годности реагентов и 3) условия хранения и инкубации.
•Результат самопроверки считывателя Quantum Blue®, выполненной при запуске, должен быть действительным.

ПРОВЕРКА РЕЗУЛЬТАТОВ

•Для получения достоверного результата исследования контрольная линия (C) должна быть видна в любом случае (см. рисунки 1A и 1B). Данный аспект используется исключительно в качестве функционального тестового контроля и не может быть использован для интерпретации тестовой линии (T). Если тестовая линия (T) не обнаруживается после 15 минут инкубации (рисунок 1A), то концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, ниже предела обнаружения. Если тестовая линия (T) обнаруживается через 15 минут инкубации (рисунок 1B), то концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, рассчитывается с помощью считывателя Quantum Blue®.
•Если только тестовая линия (T) обнаруживается после 12 минут инкубации (рисунок 1C), то результат теста недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.
•Если ни контрольная линия (C), ни тестовая линия (T) не обнаруживаются после 15 минут инкубации (рисунок 1D), то результат теста недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.
•Поскольку считыватель Quantum Blue® позволяет проводить количественную оценку тестовых (T) и контрольных (C) линий, проводится дополнительная проверка достоверности контрольной линии (C). Если интенсивность сигнала контрольной линии (C) ниже порогового значения после 15 минут инкубации, то результат теста также недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

•Quantum Blue® final высокий стандартизирован с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL® (код продукта: EK-CAL).
•Считыватель Quantum Blue® использует стандартную кривую для расчета концентрации кальпротектина. Эта стандартная кривая для конкретной партии генерируется со средними значениями (n ≥ 20 измерений каждое) из 13 калибровочных точек, полученных из различных образцов кала с известными концентрациями кальпротектина. Диапазон составляет от 100 до 1800 мкг/г.
•Для количественных измерений неизвестные образцы с показателями, превышающими 1800 мкг/г, могут быть дополнительно разбавлены в пропорции 1:10 с помощью экстракционного буфера и повторно проанализированы в соответствии с процедурой. Полученный коэффициент разбавления должен быть умножен на измеренную концентрацию для получения окончательных результатов.
•Для количественных измерений неизвестные образцы с показателями менее 100 мкг/г могут быть повторно протестированы в Quantum Blue® fCAL (код заказа: LF-CAL25).

ОГРАНИЧЕНИЯ

•Реагенты, поставляемые с расширенным набором BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL, предназначены исключительно для определения уровня кальпротектина в образцах кала человека.
•Показатели кальпротектина служат для дифференциальной диагностики органического заболевания от функционального и для мониторинга ВЗК. Результаты всегда следует интерпретировать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными.
•Для мониторинга заболевания ВЗК было предложено проводить многократные измерения кальпротектина в кале с интервалом до 4 недель, чтобы обеспечить наилучшую диагностическую точность в прогнозировании клинического рецидива у пациентов (ссылки 19–20).
•У пациентов, регулярно принимающих нестероидные противовоспалительные препараты, может наблюдаться повышенный уровень кальпротектина в кале.
•Результаты могут быть клинически неприменимы к детям в возрасте до 4 лет, у которых слегка повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 21–24).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. Дифференциальная диагностика органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта

Определение уровня кальпротектина в кале может быть использовано в качестве надежного и простого средства для дифференциальной диагностики органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ссылки 1–7).
Подходы к систематизации результатов базируются на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и рекомендованными BÜHLMANN. Все результаты анализов должны интерпретироваться в сочетании с информацией о клинических симптомах, истории болезни пациента и других клинических и лабораторных данных.

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

Клинические пороговые значения
Клинические пороговые значения 80 мкг/г и 160 мкг/г были установлены с помощью ИФА BÜHLMANN fCAL® (код заказа: EK-CAL) с использованием результатов 58 клинических образцов от пациентов с диагнозом СРК и 131 клинических образцов от пациентов с диагнозом ВЗК. BÜHLMANN рекомендует следующую интерпретацию результатов для теста высокого диапазона Quantum Blue® fCAL:

Концентрация кальпротектина	Интерпретация	Контроль
< 100 мкг/г	Норма / Пограничное значение	Повторное тестирование с помощью EK-CAL/ LF-CAL25
100–160 мкг/г	Пограничное значение	Последующее наблюдение в течение 4–6 недель
> 160 мкг/г	Повышен	Повтор при необходимости

Таблица 3

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г
Значения калпротектина в кале ниже 100 мкг/г указывают либо на невоспалительную ситуацию, либо на легкое воспаление в кишечнике. Можно принять во внимание повторное тестирование образца с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL® (код заказа: EK-CAL) или Quantum Blue® fCAL (код заказа: LF-CAL25).

Значения кальпротектина от 100 до 160 мкг/г и равные им
Средние уровни кальпротектина в кале от 100 до 160 мкг/г, также называемые уровнями серой зоны, не являются прямым показателем активного воспаления, требующего немедленного наблюдения с инвазивным исследованием. Однако наличие воспаления исключать нельзя. Для определения степени воспалительного процесса рекомендуется провести повторную оценку уровня кальпротектина в кале через 4–6 недель.

Значения кальпротектина выше 160 мкг/г
Значения кальпротектина в кале >160 мкг/г указывают на инфильтрацию нейтрофилов в желудочно-кишечном тракте; следовательно, это может сигнализировать о наличии активного воспалительного процесса. Для постановки общего клинического диагноза специалистами должны проводиться соответствующие дальнейшие диагностические процедуры.

Клиническая оценка

Эффективность иммуноферментного анализа BÜHLMANN fCAL® для дифференциальной диагностики ВЗК и других не воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая СРК, была проверена в результате клинических исследований с участием в общей сложности 337 взрослых пациентов и пациентов детского возраста. У ста тридцати пяти (135) пациентов был установлен окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или колит неопределенной этиологии), у 130 пациентов – СРК, 72 пациента предъявляли жалобы на боли в животе и/или диарею или другие состояния не воспалительной природы, связанные с желудочно-кишечным трактом (см. таблицу 4). Окончательный диагноз был подтвержден эндоскопическими и другими клиническими данными.
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 83,7% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и не воспалительными состояниями, связанными с ЖКТ, включая СРК. ROC-анализ кривой позволил выявить 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 между ВЗК и СРК. ROC-анализ кривой позволил выявить 0,933 (см. таблицу 6).
Оптимальная комбинация отсечения для этих пулов пациентов может быть определена с помощью ROC-анализа при 80 мкг/г и 160 мкг/г кальпротектина, что несколько более строго, чем комбинация **более чувствительного нижнего отсечения 50 мкг/г с более низкой специфичностью и верхнего отсечения 200 мкг/г** с несколько более низкой чувствительностью (таблицы 7 и 8).

II. Мониторинг ВЗК

Клинические пороговые значения и оценка

Определение фекального кальпротектина также является надежным и простым способом мониторинга состояния пациентов с ВЗК (ссылки 7–18).
Корреляция уровней кальпротектина и воспалительного статуса слизистой оболочки кишечника у пациентов, согласно эндоскопическим оценкам, была определена в трех независимых исследованиях с использованием тестов на кальпротектин от BÜHLMANN (таблица 9). Диагностическая ценность кальпротектина в прогнозировании клинической ремиссии и рецидива в соответствии с симптомами пациента, показателями клинической активности, незапланированной потребностью в усилении проводимой терапии, госпитализации или неотложной помощи была определена в трех исследованиях с использованием тестов на кальпротектин от BÜHLMANN (таблица 10).
Подходы к систематизации результатов носят рекомендационный характер, и основаны на данных клинических исследований эффективности. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения для пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина пациента в момент ремиссии заболевания.

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г
Уровень кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г может достоверно указывать на низкий риск клинического рецидива у пациентов в ремиссии, у которых можно избежать проведения инвазивных эндоскопических процедур (ссылки 7–18).

Значения кальпротектина от 100 до 300 мкг/г
Уровни кальпротектина в кале в пределах 100-300 мкг/г могут указывать на необходимость более строгого контроля в последующий период для оценки тенденций развития заболевания.

Значения кальпротектина выше 300 мкг/г
Уровни кальпротектина в кале выше 300 мкг/г указывают на необходимость последующего мониторинга, и, если повышенные уровни кальпротектина обнаруживаются повторно, то необходимо проводить дальнейшие диагностические мероприятия (ссылки 7–18).

ПОКАЗАТЕЛИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ

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

Следующие эксплуатационные характеристики были установлены с помощью считывателя Quantum Blue ® 1-го и 2-го поколений и были проверены на считывателе Quantum Blue ® 3-го поколения.
Указанные эксплуатационные характеристики применимы ко всем трем поколениям считывателей.

Сравнение методов
Смещение в точках принятия клинических решений:
Смещение при 160 мкг/г: -1,4% (95% ДИ: -8,1–9,3%)
Смещение при 300 мкг/г: -0,0% (95% ДИ: -3,9–6,3%)

Сравнительное исследование метода проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Сто три (103) клинических образца были измерены в соответствии с инструкцией по применению с помощью теста высокого диапазона Quantum Blue ® fCAL и с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL ®. Измерения проводились в течение трех дней с использованием двух партий аналитических кассет высокого диапазона Quantum Blue ® fCAL. Данные корреляции проиллюстрированы на рис. 2.

Воспроизводимость: 20,0–22,7% CV
Внутрилабораторная точность: 22,4–28,1% CV
Повторяемость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A3. Пять извлеченных образцов кала с концентрацией кальпротектина в диапазоне от 180 до 1224 мкг/г были оценены одним оператором в течение 20 дней в двух независимых пробегах в день с двумя повторениями за пробег. Результаты испытаний приведены в таблице 11.

Воспроизводимость: 19,2–28,9% CV
Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 путем проведения измерений на трех различных приборах считывания Quantum Blue ® с тремя различными партиями тестовых кассет. Пять извлеченных образцов кала с концентрацией кальпротектина в диапазоне от 202 до 1328 мкг/г были протестированы в течение 5 дней в одном цикле с пятью повторениями за один цикл. Каждое устройство считывания Quantum Blue® управлялся разными операторами в трех разных местах. Результаты обобщены в таблице 12.

Предел бланка (LoB): 60 мкг/г кальпротектина
LoB был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с четырьмя образцами кала, разбавленными до целевой концентрации ниже 10 мкг/г кальпротектина. Образцы измерялись в течение трех дней в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 60 значений бланка. Исследование проводилось на двух различных партиях аналитических кассет. LoB оценивался с помощью непараметрического анализа.

Предел обнаружения (LoD): 100 мкг/г кальпротектина
LoD был создан в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с пятью клиническими образцами с концентрациями 59, 70, 82, 117 и 148 мкг/г кальпротектина. Образцы измерялись в течение трех дней в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 75 показателей. Исследование проводилось с использованием двух различных партий аналитических кассет. LoD был рассчитан с использованием параметрического анализа.

Предел количественной оценки (LoQ): 100 мкг/г кальпротектина
LoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с шестью клиническими образцами с референтными концентрациями 59, 70, 82, 117, 148 и 166 мкг/г кальпротектина, установленными с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL®. Образцы измерялись в течение трех дней в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 90 показателей. Исследование проводилось с использованием двух различных партий аналитических кассет. Относительная общая погрешность была рассчитана с использованием среднеквадратичной модели на основе оценок точности и смещения для каждой выборки. Относительные значения суммарной ошибки были преобразованы в логарифм и нанесены на график относительно эталонной концентрации кальпротектина в образцах. LoQ был определен как пересечение модели линейной регрессии, полученной для графика, и критерия приемлемости 30% относительной общей ошибки. Результаты обобщены в таблице 13.

Линейный диапазон: 67–2153 мкг/г кальпротектина
Линейный диапазон теста Quantum Blue ® fCAL высокий диапазон был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Два пула образцов, низкий и высокий, были смешаны, чтобы получить 17 уровней концентрации, охватывающих и превышающих ожидаемый диапазон измерений. Смеси были проанализированы в 10 повторениях на двух партиях аналитических кассет. Линейный диапазон определялся как интервал уровней концентрации, в котором коэффициенты соответствия второго и третьего порядка были определены как незначимые. Результаты для одной партии тестовых кассет представлены на рис. 3.

Линейность разбавления: 1:10-1:100
Клинический образец с предполагаемой концентрацией 18 000 мкг/г кальпротектина разбавляли в экстракционном буфере для получения целевых концентраций 12’500, 10’000, 7500, 5000, 2500 и 1700 мкг/г кальпротектина. Образцы дополнительно разбавляли в пропорции 1:10 для получения концентраций кальпротектина, охватывающих диапазон измерения анализа. Разведения были измерены в пяти повторениях в тесте высокого диапазона Quantum Blue ® fCAL на двух партиях аналитических кассет. Линейность полученных разведений оценивали в соответствии с руководством CLSI EP6-A. В тех случаях, когда коэффициенты соответствия второго или третьего порядка были определены как значимые, допускалось максимальное отклонение от линейности в 20%, при этом отклонение не превышало 10%. Результаты для одной партии тестовых кассет представлены на рис. 4.

Эффект крючка высокой дозы
Для образцов с концентрацией кальпротектина до 18’931 мкг/г не наблюдалось эффекта крючка высокой дозы.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE /TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Результаты теста

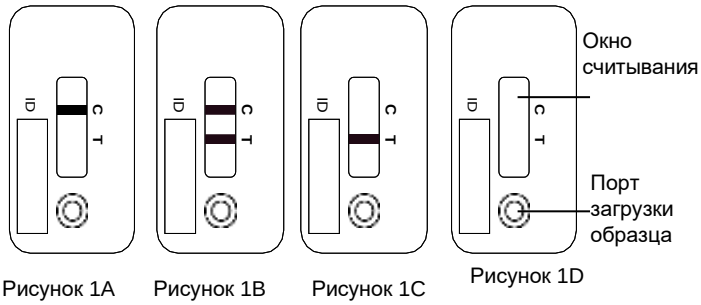


Рисунок 1A Рисунок 1B Рисунок 1C Рисунок 1D

Рис. 1

Клиническое исследование – отличие органического от функционального желудочно-кишечного заболевания

Окончат. диагноз	Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® ELISA			
	< 80 мкг/г	80 - 160 мкг/г	> 160 мкг/г	Общее
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	48 (66.7%)	10 (13.9%)	14 (19.4%)	72 (100%)

Таблица 4

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 5

ВЗК против СРК	Точка принятия 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 6

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 7

ВЗК против СРК	Точка принятия 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%)

Таблица 8

Не-ВЗК – ВЗК + другие инфекции ЖКТ
ДИ – доверительный интервал
PPV – положительная прогностическая ценность
NPV – отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC – область под кривой приема рабочих характеристик

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против активности ВЗК по эндоскопическим данным	Исследов. 1 Испания (ссылка 9)	Исследов. 2 Испания (ссылка 10)	Исследов. 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка 11)
Количество пациентов и демография	89 (CD[2]) Возраст: 32-58 44% мужчин	123 (UC[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчин	99 (CD[2] после резекции) Возраст: 29-47 46.5% мужчин
Отрезок	272 мкг/г	280 мкг/г	100 мкг/г
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 9

[1] Исследования 1 и 2 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон. Исследование 3 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против клинической ремиссии или рецидива	Исследов. 4 Великобритания (ссылка 12)	Исследов. 5 Испания (ссылка 13)	Исследов. 6 Испания (ссылка 14)
Количество пациентов и демография	92 (CD[2]) 38% мужчины	30 (CD[3]) терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия инфликсимабом Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время наблюдения после измерения кальпротектина	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим рецидивом после наблюдения	11%	30%	23%
Отрезок	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8%	100%	96.1%
PPV	27.6%	75%	68.7%

Таблица 10

[1] Исследование 4 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
Исследования 5 и 6 – Quantum Blue® fCAL and Quantum Blue® fCAL высокий диапазон
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES /TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Сравнение методов

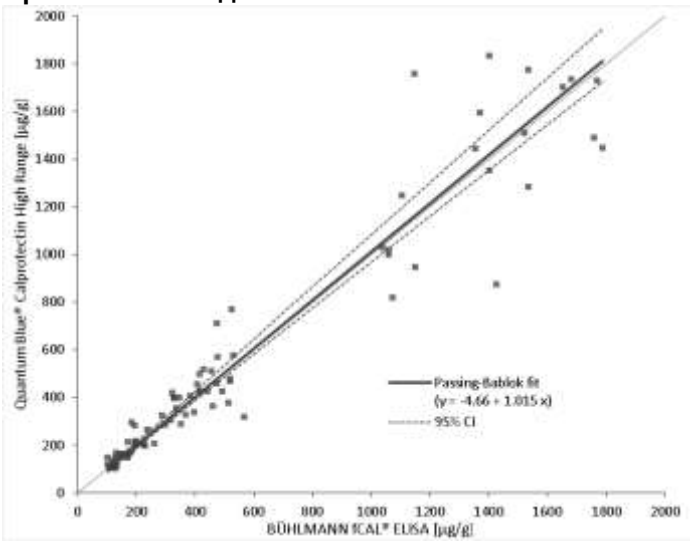


Рисунок 2

Линейность

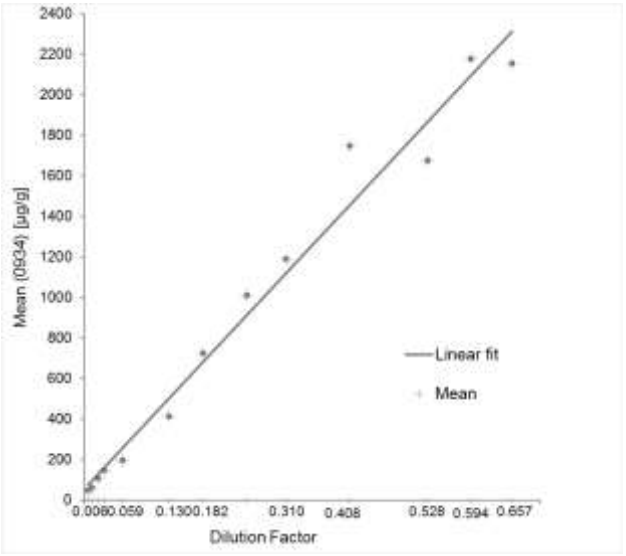


Рисунок 3

Воспроизводимость внутри лаборатории

Значение конц. [мкг/г]	Воспроизводимость CV [%]	Точность между пробегами CV [%]	Точность между днями CV [%]	Внутрилабораторная точность CV [%]
180	21.0	0.0	12.6	24.5
219	21.5	5.1	17.5	28.1
330	20.6	15.5	0	25.8
582	22.7	6.4	13.1	27.0
1224	20.0	6.4	6.0	22.4

Таблица 11

Линейность разбавления

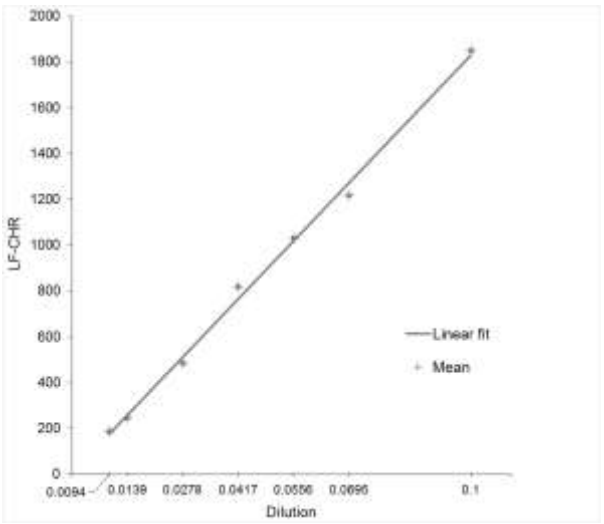


Рисунок 4

Воспроизводимость

Значение конц. [мкг/г]	Воспроизводимость CV [%]	Точность между днями CV [%]	Точность между Lot/Op/In[1] CV [%]	Воспроизводимость CV [%]
202	21.5	2.8	8.7	23.3
243	23.3	11.3	12.7	28.9
347	19.7	3.2	0	19.9
629	20.8	10.0	4.0	23.4
1328	16.9	9.0	0	19.2

Таблица 12

Предел количественной оценки

Образец	1	2	3	4	5	6
Эталонное значение [мкг/г]	99.72	132.75	148.49	165.47	82.65	80.45
Смещение [мкг/г] (полученное среднее значение – эталонное значение)	17.29	16.07	0.84	-0.03	12.50	21.26
Точность[% CV]	28	23	19	18	27	19
Общая ошибка %	33	26	19	18	31	32
Пересечение линейной регрессии с критерием приемлемости 30% относительной общей погрешности[2] [мкг/г]						**97.2**

Таблица 13

[1] Lot/Op/In. = Партия, оператор и устройство

[2] Относительная общая ошибка и критерий приемлемости были преобразованы

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

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРУ / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS

1. Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality.* Lancet 356, 1783-4 (2000)
2. Tibble JA et al.: *A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease.* Gut 47, 506-513 (2000)
3. Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123, 450-460 (2002)
4. Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E*.: Measurement of calprotectin in faeces*.. Tidsskr Nor Legeforen 128, 743–5 (2008)
5. Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study.* BMC Gastroenterology 12, 5 (2012)
6. Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care.* Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7. Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8. Lin JF et al.: *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity.* Inflamm Bowel Dis. 20,1407-15 (2014)
9. Lobatón T et al.: *A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease.* J Crohns Coliti, 7(12), 641-51 (2013)
10. Lobatón Ortega T et al.: *A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery.* Gastroenterology. 148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecal calprotectin test to predict relapse in Crohn's disease patients on maintenance treatment with adalimumab.* Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Fecal calprotectin as Predictor of Relapse in Patients with Inflammatory Bowel Disease Under Maintenance Infliximab Therapy.* J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectin Identifies Histologic Inflammation in Patients with Ulcerative Colitis In Clinical And Endoscopic Remission.* Clinical Gastroenterology and Hepatology. 12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasson A et al.: *Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study.* United European Gastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease.* Can J Gastroenterol Hepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target.* Am J Gastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin Predict Short-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-Blocking Agents In Inflammatory Bowel Disease Patients In Deep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al.: *Consecutive fecal calprotectin measurements to predict relapse in patients with ulcerative colitis receiving infliximab maintenance therapy.* Inflamm Bowel Dis. 9, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months*. PLoS ONE 10(3) (2015)
23. Zhu Q. et al.: *Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years.* PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation78(1-2), 120-124 (2018)

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

ПРИЛОЖЕНИЕ III

ПРИМЕЧАНИЯ

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

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу Вашего государства-члена ЕС.

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

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.

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ V

СИМВОЛЫ / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Символ	Интерпретация
	Использовать до Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração
REF	Каталожный номер Bestellnummer Code Codice Código Código
LOT	Номер партии Chargenbezeichnung Code du lot Codice del lotto Codigo de lote Código lote
IVD	Медицинское устройство для *in vitro* диагностики *In Vitro* Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* Producto sánitario para diagnóstico *in vitro*
	Содержимое для проведения <n> тестов Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n" tests Contenuto sufficiente per „n" saggi Contenudo sufficiente para <n> ensayos Contenudo sufficiente para <n> tests
	Обратитесь к инструкции по применениюGebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções

Символ	Интерпретация
	Температурные ограничения Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
TC	Аналитическая кассета Testkassette Cassette test Cassetta di rilevazione Casetes de prueba Cassete do teste
BUF EX	Экстракционный буфер Extraktionspuffer Tampon d'extraction Tampone di estrazioneTampón de extracción Tampão de extração
CONTROL L	Низкий контроль Kontrolle tief Contrôle bas Controllo basso Control bajo Controle baixo
CONTROL H	Высокий контроль Kontrolle hoch Contrôle elevé Controllo alto Control alto Controle alto
RCC	RFID чип-карта RFID Chipkarte Carte à puce RFID Carta chip RFID Tarjeta chip RFID Cartão chip RFID
BCC	Штрих-код карта Barcodekarte Carte à code-barres Carta con codice a barre Tarjeta con código de barras Cartão de código de barras

CE

IVD

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

Набор для количественного определения фекального кальпротектина (расширенный диапазон) Quantum Blue®

Количественный латеральный проточный иммуноанализ

Для диагностики *In Vitro*

LF-CALE25 25 тестов

Дата выпуска: 2020-10-30
Версия A2

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Русский страница 2
Deutsch Seite 8
Français page 14
Italiano pagina 20
Español página 26
Português página 32

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

РУССКИЙ

НАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL расширенный представляет собой тест для диагностики *in vitro* и количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначенный для оценки воспаления слизистой оболочки кишечника. Результаты анализа могут быть использованы в качестве вспомогательного средства для дифференциальной диагностики органических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (воспалительных заболеваний кишечника, (ВЗК), в частности болезни Крона или язвенного колита) и функциональных заболеваний (синдром раздраженного кишечника (СРК) (ссылки 1–7) у пациентов с хроническими болями в животе и в качестве вспомогательного средства для мониторинга заболеваний ВЗК (ссылки 7–18).
Исключительно для лабораторного использования. ЕС: для профессионального использования.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование предназначено для селективного определения антигена кальпротектина методом сэндвич-иммуноанализа. На аналитическую мембрану наносится моноклональное захватное антитело (mAb), высокоспецифичное для кальпротектина. Второе моноклональное обнаруживающее антитело, конъюгированное с коллоидами золота, осаждается на конъюгатной площадке и высвобождается в реакционную систему после добавления экстрагированного и разбавленного образца кала. Конъюгат золота кальпротектина / антикальпротектина связывается с антителом против кальпротектина, находящимся на аналитической мембране (тестовая линия), а оставшийся свободный конъюгат золота против кальпротектина связывается с козьим антителом, находящимся на аналитической мембране (контрольная линия). Интенсивность сигнала тестовой линии (T) и контрольной линии (C) измеряется с помощью считывателя BÜHLMANN Quantum Blue® количественным методом.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Реагенты	Количество	Код	Комментарии
Аналитическая кассета	25 штук	B-LFCALUS-TC	вакуумная упаковка-пакет из фольги
Экстракционный буфер	1 флакон 125 мл	B-CAL-EX	Готов к использованию
Карта штрих-кода	1 штука	B-CALE-BCC	2D пластиковая карта штрих-кода
Контроли Низкий* / Высокий*	2 виалы 0.5 мл	B-CALE-CONSET	Готов к использованию
RFID чип-карта	1 штука	B-CALE-RCC	**Белая** пластиковая карта
RFID чип-карта	1 штука	B-CALE-RCC720	**Зеленая** пластиковая карта

Таблица 1

* Контроли содержат большое количество нативного человеческого кальпротектина. Фактические концентрации приведены в дополнительном вкладыше к материалу для контроля качества.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ РЕАГЕНТОВ

Все компоненты набора стабильны при температуре 2–8°C на протяжении всего срока годности, указанного на этикетке.

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Устройства для экстракции кала

Устройства для экстракции кала, описанные ниже, не поставляются вместе с комплектом, и любое из них следует заказывать дополнительно.

Экстракционное устройство Наборы	Количество	Код
CALEX® Cap устройство	Доступны упаковки по 50, 200 или 500 пробирок, заполненные 5 мл экстракционного буфера. Готовы к использованию.	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Smart-Prep	50 пробирок, состоящих из шпателей и колпачков-оснований	B-CAL-RD
ScheBo® Quick-Prep™	50 пробирок, состоящих из пробирки, конусовидного и дозирующего наконечника, каждая из которых заполнена 1,3 мл экстракционного буфера Готовы к использованию.	B-CAL-SO50

Таблица 2

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Вихревой смеситель для экстракции кала.
- Прецизионные пипетки с одноразовыми наконечниками: 10–100 мкл, 100–000 мкл и 250–2500 мкл.
- Центрифуга.
- 5 мл полипропиленовых или полистирольных пробирок

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

для разбавления экстрактов.
•Таймер (опционально).
•*Считыватель Quantum Blue® от BÜHLMANN (код продукта: BI-POLAR-ABS).
•Мягкая тканевая салфетка или впитывающая бумага.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Меры безопасности

•Материалы для контроля качества содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что было проведено тестирование, в результате которого материал признан отрицательным на наличие поверхностного антигена HBV, антител к HCV и HIV1/2, обращаться с реагентами следует так, будто они способны передавать инфекции. Работа с реагентами должна проводиться с соблюдением принципов Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
•Образцы пациентов должны обрабатываться так, будто они способны передавать инфекции. Работа с реагентами должна проводиться с соблюдением принципов Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
•Реагенты: избегайте контакта реагентов с кожей, глазами или слизистыми оболочками. Если контакт все же произойдет, немедленно промойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть раздражение.
•Реагенты и химические вещества должны рассматриваться как опасные отходы и утилизироваться в соответствии с национальными руководящими принципами или правилами по биологической безопасности.

Технические меры предосторожности

Компоненты комплекта
•Перед использованием все реагенты и тестовые образцы должны достичь комнатной температуры (18–28 °C).
•Перед использованием хорошо перемешайте (вихревое смешивание) реагенты.
•Компоненты не должны использоваться после истечения их срока годности, указанного на этикетках.
•Не смешивайте между собой реагенты из различных партий.
•Аналитические кассеты нельзя использовать повторно.

Процедура исследования
•Перед проведением исследования внимательно прочитайте инструкцию. Производительность анализа будет снижаться, если реагенты неправильно разбавлены, обработаны или хранятся в условиях, отличных от тех, которые описаны в данной инструкции по применению.
•Обратите внимание, что существует два поколения считывателей: считыватель Quantum Blue® 2-го поколения с серийными номерами от 1000 до 3000 (QB2) и считыватель Quantum Blue® 3-го поколения с серийными номерами выше 3000 (QB3G).
•QB2 должен быть включен и запрограммирован для расширенного анализа Quantum Blue® fCAL. Загрузите метод анализа с помощью чип-карты RFID (B-CALE-RCC или B-CALE-RCC720) перед началом исследования (см. Руководство по эксплуатации считывателя Quantum Blue®).
•QB3G должен быть включен и запрограммирован для расширенного анализа Quantum Blue® fCAL либо с помощью карты штрих-кода (B-CALE-BCC), либо путем выбора из меню исследований (исключительно в режиме быстрого отслеживания). Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к Руководству по эксплуатации считывателя Quantum Blue®.
•Используйте чип-карту RFID (QB2) / карту штрих-кода (QB3G) для изменения параметров конкретной партии.
•Неправильное обращение с образцами пациентов может привести к получению неточных результатов.
•Для получения надежных количественных результатов важно полностью гомогенизировать образец кала в экстракционном устройстве.
•С помощью BÜHLMANN Smart-Prep и ScheBo® Quick-PrepTM важно центрифугировать экстракты перед хранением. Центрифугируйте пробирки в течение 5 минут при 3000 оборотах x г. После центрифугирования супернатант должен быть перенесен в свежую пробирку для хранения.

СБОР ОБРАЗЦОВ, ХРАНЕНИЕ, СТАБИЛЬНОСТЬ

Для процедуры экстракции требуется менее 1 г нативного образца кала. Соберите образец кала в обычные пробирки.
Важно: образец должен быть собран без каких-либо химических или биологических добавок.

Транспортировка образцов
Образцы кала должны быть переданы для обработки в лабораторию в течение 3 дней после сбора. Образцы могут перевозиться при комнатной температуре или в холодильнике.

Хранение образцов
Образцы кала должны быть охлаждены до температуры 2–8 °C и извлечены в течение 3 суток с

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

момента поступления в лабораторию. Не храните образцы при повышенных температурах.

Стабильность экстракта
Экстракты кала для анализа на кальпротектин, полученные с помощью устройства CALEX® Cap стабильны при комнатной температуре (23°C) в течение 7 дней и при температуре 2–8 °C в течение 15 дней. Для более длительного хранения замораживайте экстракты при температуре -20 °C. Замороженные экстракты стабильны в течение периода до 23 месяцев.
Экстракты кала, полученные с помощью устройства CALEX® Cap можно хранить и замораживать непосредственно в CALEX® Cap. Экстракты могут подвергаться четырем циклам замораживания-оттаивания. Перед измерением дайте замороженным экстрактам достичь комнатной температуры. Для повторного использования / повторного измерения экстрактов выполните шаг 2, представленный в главе, описывающей процедуру исследования.
Фекальные экстракты для анализа на кальпротектин, полученные методом ручного взвешивания, BÜHLMANN Smart-Prep или ScheBo® Quick-Prep™, стабильны при температуре 2–8 °C в течение ≤ 7 дней или при температуре -20 °C в течение 36 месяцев.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

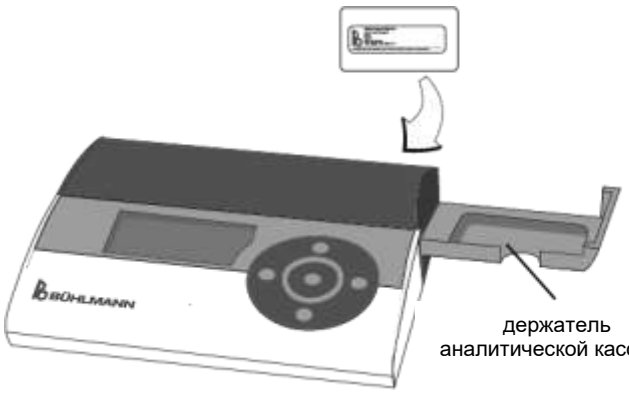
Процедура анализа состоит из трех этапов:

1.Извлечение образцов кала
Извлечение описано в инструкции по использованию, поставляемой с соответствующими устройствами для извлечения.
Устройство CALEX® Cap: образцы жидкого стула можно пипетировать непосредственно в устройство CALEX® Cap. Отвинтите синий колпачок и капните в устройство 10 мкл образца кала. Покройте крышкой устройство CALEX® Cap и переходите к этапу вихревого перемешивания в соответствии с процедурой экстракции, описанной и проиллюстрированной в инструкции по использованию, поставляемой вместе с устройством CALEX® Cap.

2.Обработка образцов
•Smart-Prep или ScheBo® Quick PrepTM: дайте экстракту кала осесть в течение 10 минут после экстракции. Разбавьте супернатант в пропорции 1:10 с помощью экстракционного буфера (например, 50 мкл экстракта кала и 450 мкл экстракционного буфера) и тщательно перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28 °C, прежде чем переходить к следующему шагу (шаг № 3).

•Устройство CALEX® Cap: после экстракции дайте экстракту кала отстояться в течение 10 минут, опустив белую головку устройства. Отвинтите синюю крышку. Супернатант можно использовать без дальнейшего разбавления для анализа бокового потока.

3.Процедура анализа бокового потока и считывания на QB2
С соответствующей чип-карты RFID можно загрузить два альтернативных метода: B-CALE-RCC720 (с внутренним таймером) или B-CALE-RCC (без внутреннего таймера). Перед началом исследования выберите одну из чип-карт RFID. Загрузите методику исследования с чип-карты RFID на считыватель Quantum Blue®.



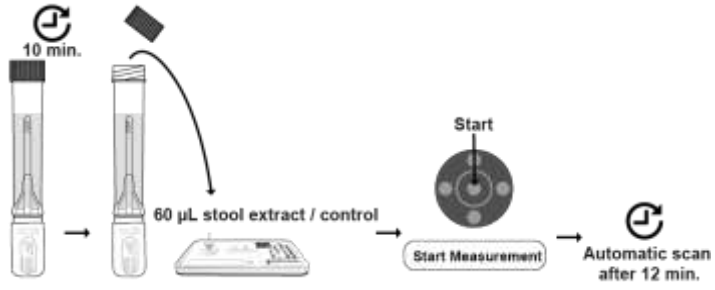
QB3G
Для анализа образца с помощью QB3G от BÜHLMANN доступны два различных режима: режим быстрого отслеживания или отказоустойчивый режим. Перед началом анализа, пожалуйста, укажите, в каком режиме работает Ваш считыватель.
Метод исследования может быть загружен с карты штрих-кода (режим быстрого отслеживания и отказоустойчивости) или, если он использовался ранее, выбран из меню исследования (исключительно режим быстрого отслеживания). Измерения могут выполняться как с внутренним таймером, так и без него в режиме быстрого отслеживания. Измерения в отказоустойчивом режиме могут выполняться исключительно с помощью внутреннего таймера.
Следуйте инструкциям, приведенным на экране QB3G. Вы также можете обратиться к кратким руководствам QB3G для работы в режимах быстрого отслеживания и отказоустойчивости.

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



3.1. Методика с использованием внутреннего таймера

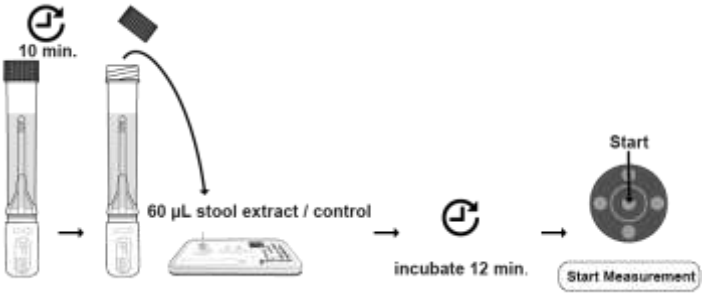
QB2: используйте зеленую чип-карту RFID B-CALE-RCC720.
QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите «НЕТ».
QB3G (отказоустойчивый режим): настройки по умолчанию.
•Распакуйте аналитическую кассету. Добавьте 60 мкл экстракта кала в порт загрузки образца аналитической кассеты.
•Разместите аналитическую кассету в держателе для аналитической кассеты считывателя.
•Закройте держатель аналитической кассеты и начните измерение, нажав кнопку «Пуск» на QB2 или опцию «Начать измерение» на QB3G.
•Сканирование начнется автоматически через 12 минут (720 секунд).
•Для контролей низкого / высокого уровней: повторите шаг 3.1 с контролем в объеме 60 мкл вместо экстракта кала.



3.2. Методика без использования внутреннего таймера

QB2: используйте белую чип-карту RFID B-CALE-RCC.
QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите «ДА».
QB3G (отказоустойчивый режим): опция недоступна.

•Распакуйте аналитическую кассету. Добавьте 60 мкл экстракта кала в порт загрузки образца аналитической кассеты.
•Инкубируйте в течение 12 минут +/- 1 минуты (установите таймер вручную).
•Загрузите аналитическую кассету в держатель аналитических кассет считывателя.
•Незамедлительно произведите сканирование аналитической кассеты с помощью считывателя Quantum Blue®, нажав кнопку «Пуск» на QB2 или выбрав опцию «Начать измерение» на QB3G.
• Для контролей низкого / высокого уровней: повторите шаг 3.2 с контролем в объеме 60 мкл вместо экстракта кала.



Примечание: пожалуйста, обратитесь к руководству по эксплуатации считывателя Quantum Blue®, чтобы узнать об основных функциях, а также о том, как инициализировать и управлять считывателем Quantum Blue®, особенно о том, как выбрать методы исследования и как загрузить конкретные параметры партии с чип-карты RFID (QB2) / карты штрих-кода (QB3G) на считыватель Quantum Blue®. Убедитесь, что аналитическая кассета правильно вставлена в считыватель Quantum Blue®, предварительно открыв окно считывания (рис. 1D).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

•Если результаты исследования не соответствуют установленным пределам и повторное исследование исключает ошибки в технике, проверьте следующие аспекты: 1) пипетирование, контроль температуры и сроки; 2) сроки годности реагентов и 3) условия хранения и инкубации.
•Результат самопроверки считывателя Quantum Blue®, выполненной при запуске, должен быть действительным.

ПРОВЕРКА РЕЗУЛЬТАТОВ

•Для получения достоверного результата исследования контрольная линия (C) должна быть видна в любом

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

случае (см. рисунки 1A и 1B). Данный аспект используется исключительно в качестве функционального тестового контроля и не может быть использован для интерпретации тестовой линии (T). Если тестовая линия (T) не обнаруживается после 12 минут инкубации (рисунок 1A), то концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, ниже предела обнаружения. Если тестовая линия (T) обнаруживается через 12 минут инкубации (рисунок 1B), то концентрация кальпротектина, присутствующего в образце кала, рассчитывается с помощью считывателя Quantum Blue®.

•Если только тестовая линия (T) обнаруживается после 12 минут инкубации (рисунок 1C), то результат теста недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.

•Если ни контрольная линия (C), ни тестовая линия (T) не обнаруживаются после 12 минут инкубации (рисунок 1D), то результат теста недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.

•Поскольку считыватель Quantum Blue® позволяет проводить количественную оценку тестовых (T) и контрольных (C) линий, проводится дополнительная проверка достоверности контрольной линии (C). Если интенсивность сигнала контрольной линии (C) ниже порогового значения после 12 минут инкубации, то результат теста также недействителен, и анализ должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

•*Quantum Blue® final расширенный стандартизирован с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL® (код продукта: EK-CAL).

•Считыватель Quantum Blue® использует стандартную кривую для расчета концентрации кальпротектина. Диапазон анализа составляет от 30 до 1000 мкг/г.

•Для получения результатов количественного определения концентрации кальпротектина в диапазоне 850–1800 мкг/г показатели образцов выше 850 мкг/г могут быть повторно протестированы с помощью анализа высокого диапазона BÜHLMANN Quantum Blue® (код продукта: LF-CHR25).

ОГРАНИЧЕНИЯ

•Реагенты, поставляемые с расширенным набором BÜHLMANN Quantum Blue® fCAL, предназначены исключительно для определения уровня кальпротектина в образцах кала человека.

•Показатели кальпротектина служат для дифференциальной диагностики органического заболевания от функционального и для мониторинга ВЗК. Результаты всегда следует интерпретировать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными.

•Для мониторинга заболевания ВЗК было предложено проводить многократные измерения кальпротектина в кале с интервалом до 4 недель, чтобы обеспечить наилучшую диагностическую точность в прогнозировании клинического рецидива у пациентов (ссылки 19–20).

•В редких случаях, когда уровень кальпротектина чрезвычайно высок (выше 4000 мкг/г, т. е. при остром язвенном колите) тест-система может быть склонна к появлению эффекта крючка высокой дозы, что может привести к получению показателей ниже ожидаемого верхнего предела линейного диапазона – 850 мкг/г. Рекомендуется уделять особое внимание результатам, превышающим 300 мкг/г, сопровождающимися у пациента выраженными симптомами заболевания, указывающими на острое воспаление. В этом случае для подтверждения рекомендуется своевременно провести повторное исследование образца кала пациента в лаборатории.

•У пациентов, регулярно принимающих нестероидные противовоспалительные препараты, может наблюдаться повышенный уровень кальпротектина в кале.

•Результаты могут быть клинически неприменимы к детям в возрасте до 4 лет, у которых слегка повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 21–24).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I.Дифференциальная диагностика органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта

Определение уровня кальпротектина в кале может быть использовано в качестве надежного и простого средства для дифференциальной диагностики органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ссылки 1–7).

Подходы к систематизации результатов базируются на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и рекомендованными BÜHLMANN. Все результаты анализов должны интерпретироваться в сочетании с информацией о клинических симптомах, истории болезни пациента и других клинических и лабораторных данных.

Клинические пороговые значения

Представленные ниже данные были получены с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL® (код продукта: EK-CAL).

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

Результаты исследования 58 клинических образцов от пациентов с диагнозом СРК и 131 клинических образцов от пациентов с диагнозом ВЗК, полученных в ходе международного клинического исследования, представлены в таблице 3.

Концентрация кальпротектина	Интерпретация	Контроль
< 80 мкг/г	Норма	Не требуется
80 - 160 мкг/г	Серая зона / Пограничное значение	Последующее наблюдение в течение 4-6 недель
> 160 мкг/г	Повышен	Повтор при необходимости

Значения кальпротектина ниже 80 мкг/г
Значения кальпротектина в кале <80 мкг/г не указывают на воспаление в желудочно-кишечном тракте. Пациенты с низким уровнем кальпротектина вряд ли нуждаются в инвазивных процедурах для определения причины воспаления.

Значения кальпротектина от 80 до 160 мкг/г и равные им
Средние уровни кальпротектина в кале от 80 до 160 мкг/г, также называемые уровнями серой зоны, не являются прямым показателем активного воспаления, требующего немедленного наблюдения с инвазивным исследованием. Однако наличие воспаления исключать нельзя. Для определения степени воспалительного процесса рекомендуется провести повторную оценку уровня кальпротектина в кале через 4–6 недель.

Значения кальпротектина выше 160 мкг/г
Значения кальпротектина в кале >160 мкг/г указывают на инфильтрацию нейтрофилов в желудочно-кишечном тракте; следовательно, это может сигнализировать о наличии активного воспалительного процесса. Для постановки общего клинического диагноза специалистами должны проводиться соответствующие дальнейшие диагностические процедуры.

Клиническая оценка

Эффективность иммуноферментного анализа BÜHLMANN fCAL® для дифференциальной диагностики ВЗК и других не воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая СРК, была проверена в результате клинических исследований с участием в общей сложности 337 взрослых пациентов и пациентов детского возраста. У ста тридцати пяти (135) пациентов был установлен окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или колит неопределенной этиологии), у 130 пациентов – СРК, 72 пациента предъявляли жалобы на боли в животе и/или диарею или другие состояния не воспалительной природы, связанные с желудочно-кишечным трактом (см. таблицу 4). Окончательный диагноз был подтвержден эндоскопическими и другими клиническими данными.
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 83,7% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и не воспалительными состояниями, связанными с ЖКТ, включая СРК. ROC-анализ кривой позволил выявить 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 между ВЗК и СРК. ROC-анализ кривой позволил выявить 0,933 (см. таблицу 6).
Оптимальная комбинация отсечения для этих пулов пациентов может быть определена с помощью ROC-анализа при 80 мкг/г и 160 мкг/г кальпротектина, что несколько более строго, чем комбинация более чувствительного нижнего отсечения 50 мкг/г с более низкой специфичностью и верхнего отсечения 200 мкг/г с несколько более низкой чувствительностью (таблицы 7 и 8).

II. Мониторинг ВЗК

Клинические пороговые значения и оценка

Определение фекального кальпротектина также является надежным и простым способом мониторинга состояния пациентов с ВЗК (ссылки 7–18).
Корреляция уровней кальпротектина и воспалительного статуса слизистой оболочки кишечника у пациентов, согласно эндоскопическим оценкам, была определена в трех независимых исследованиях с использованием тестов на кальпротектин от BÜHLMANN (таблица 9). Диагностическая ценность кальпротектина в прогнозировании клинической ремиссии и рецидива в соответствии с симптомами пациента, показателями клинической активности, незапланированной потребностью в усилении проводимой терапии, госпитализации или неотложной помощи была определена в трех исследованиях с использованием тестов на кальпротектин от BÜHLMANN (таблица 10).
Подходы к систематизации результатов носят рекомендационный характер, и основаны на данных клинических исследований эффективности. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения для пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина пациента в момент ремиссии заболевания.

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г
Уровень кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г может достоверно указывать на низкий риск клинического рецидива у пациентов в ремиссии, у которых можно

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

избежать проведения инвазивных эндоскопических процедур (ссылки 7–18).

Значения кальпротектина от 100 до 300 мкг/г
Уровни кальпротектина в кале в пределах 100-300 мкг/г могут указывать на необходимость более строгого контроля в последующий период для оценки тенденций развития заболевания.

Значения кальпротектина выше 300 мкг/г
Уровни кальпротектина в кале выше 300 мкг/г указывают на необходимость последующего мониторинга, и, если повышенные уровни кальпротектина обнаруживаются повторно, то необходимо проводить дальнейшие диагностические мероприятия (ссылки 7–18).

ПОКАЗАТЕЛИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ

С помощью считывателя Quantum Blue® 2-го поколения были установлены представленные ниже эксплуатационные характеристики, которые были проверены на считывателе Quantum Blue® 3-го поколения.
Указанные эксплуатационные характеристики применимы для обоих поколений считывателей.

Сравнение методов
Отклонения в точках принятия клинических решений:
80 мкг/г: 4,2% (95% ДИ: -2,0 - 19,3%)
100 мкг/г: 2,1% (95% ДИ: -2,7 - 14%)
160 мкг/г: -1,1% (95% ДИ: -4,1 - 6,6%)
300 мкг/г: -3,6% (95% ДИ: -7,0 - 2,3%)

Сравнительное исследование метода проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Сто восемьдесят шесть (186) экстракционных образцов кала было исследовано в соответствии с инструкцией по применению расширенного теста Quantum Blue® fCAL и ИФА BÜHMANN fCAL®. Измерения проводились в течение трех дней с использованием трех партий расширенных аналитических кассет Quantum Blue® fCAL (рисунок 2).

Восстановление: 102%-121%
Шесть экстракционных образцов кала внесены в калибровочный материал с показателями кальпротектина 150 мкг/г. Исходный экстракт был внесен с использованием соответствующего количества экстракционного буфера. Исходные и пиковые образцы были исследованы в восьми повторениях. Использовалась одна партия аналитических кассет. Результаты обобщены и представлены в таблице 11.

Воспроизводимость: 15,3-19,1% CV
Точность внутри лаборатории: воспроизводимость CV 18,0-23,0% и внутрилабораторная точность были определены в соответствии с руководством CLSI EP05-A2. Четыре извлеченных образца кала, включая экстракты с уровнем кальпротектина, близким к точкам принятия клинических решений, были измерены в течение десяти дней, в двух независимых пробегах каждый день, с двумя повторениями на пробег. Использовалась одна партия реагентов (таблица 12).

Воспроизводимость между лотами: 16,5-20,6% CV
Точность между партиями определялась в соответствии с руководством CLSI EP05-A2. Четыре извлеченных образца кала, включая экстракты с уровнем кальпротектина, близким к точкам принятия клинических решений, были измерены с использованием трех различных партий реагентов. Измерения проводились в течение пяти дней, в течение одного прогона каждый день, с двумя повторениями за прогон (таблица 13).

Предел бланка (LoB):
QB2: 6,7 мкг/г кальпротектина.
QB3G: 12,5 мкг/г кальпротектина.
LoB был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A с использованием экстракционного буфера для получения 60 значений бланка. Исследование проводилось с использованием двух различных партий аналитических кассет.

Предел обнаружения (LoD):
QB2: 18 мкг/г кальпротектина.
QB3G: 20,2 мкг/г кальпротектина.
LoD был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A. Два образца кала с концентрациями кальпротектина 58 мкг/г и 62 мкг/г были разбавлены в экстракционном буфере, чтобы получить в общей сложности шесть образцов с концентрациями в диапазоне от 1 x LoB (6,3 мкг/г) до 4 x LoB (25,1 мкг/г). Образцы были измерены в десяти повторениях таким образом, чтобы получить 60 значений. Исследование проводилось с использованием двух различных партий аналитических кассет.

Предел количественной оценки (LoQ):
Нижний LoQ: ≤30 (28,2) мкг/г кальпротектина.
Верхний LoQ: ≥1000 (1002) мкг/г кальпротектина.
LoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A. Чтобы определить более низкий LoQ, четыре образца кала с концентрациями кальпротектина в диапазоне от 19,1 до 37,3 мкг/г были измерены в десяти повторениях таким образом, чтобы получить 40 значений (таблица 14). Для определения верхнего LoQ были измерены четыре образца кала с концентрациями кальпротектина в диапазоне от 628 до 1001,7 мкг/г в десяти повторениях таким образом, чтобы получить 40 значений (таблица 15). Исследование проводилось с

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

использованием двух различных партий аналитических кассет. Контрольные значения кальпротектина в извлеченных образцах кала определяли с помощью ИФА BÜHLMANN fCAL®. Относительная общая погрешность была рассчитана с использованием среднеквадратичной модели из оценок точности и смещения к эталонным значениям для каждой выборки. LoQ был определен как самая низкая и самая высокая концентрация образца для нижнего LoQ и верхнего LoQ, соответственно, которые удовлетворяли критерию приемлемости относительной общей ошибки 30%.

Линейность: 30-850 мкг/г

Линейный диапазон расширенного анализа Quantum Blue® fCAL был установлен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Два образца кала с низкой и высокой концентрациями кальпротектина были смешаны, чтобы получить в общей сложности 14 уровней концентрации, охватывающих и превышающих ожидаемый диапазон измерений. Смеси были проанализированы в десяти повторениях на двух партиях аналитических кассет. Средние значения концентрации кальпротектина в каждой смеси были определены в зависимости от коэффициента разбавления, используемого для получения смеси. Применялась линейная, а также полиномиальная подгонка второго и третьего порядка. В тех случаях, когда коэффициенты полиномиальной подгонки второго и третьего порядка были определены как значимые, линейный диапазон определялся как интервал концентрации кальпротектина, в котором отклонение от линейной подгонки не превышало 20% относительного значения концентрации или 20 мкг/г (рис.3).

Эффект крючка высокой дозы

При концентрациях кальпротектина до 1500 мкг/г не наблюдалось эффекта высокой дозы. Снижение среднего сигнала ниже верхнего предела линейного диапазона 850 мкг/г было установлено для концентраций кальпротектина выше 4000 мкг/г. Ни для одного из единичных результатов репликации для всех протестированных образцов с высоким содержанием белка не наблюдалось значения ниже самой высокой точки принятия клинического решения в 300 мкг/г. Семь – восемь образцов кала с концентрацией кальпротектина в диапазоне от 1361 мкг/г до 13`817 мкг/г были измерены в пяти повторениях на трех различных партиях тестовых кассет.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Результаты теста

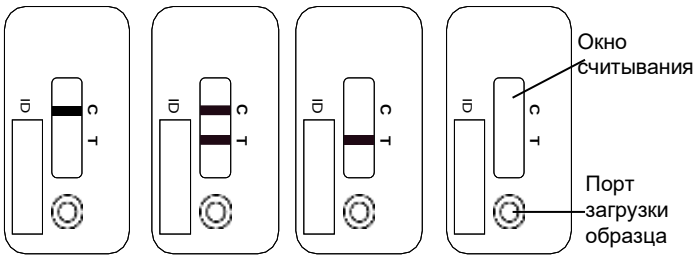


Рисунок 1A Рисунок 1B Рисунок 1C Рисунок 1D

Рис. 1

Клиническое исследование – отличие органического от функционального желудочно-кишечного заболевания

Окончат. диагноз	Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® ELISA			
	< 80 мкг/г	80 - 160 мкг/г	> 160 мкг/г	Общее
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	48 (66.7%)	10 (13.9%)	14 (19.4%)	72 (100%)

Таблица 4

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 5

ВЗК против СРК	Точка принятия 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 6

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 7

ВЗК против СРК	Точка принятия 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%)

Таблица 8

Не-ВЗК – ВЗК + другие инфекции ЖКТ
ДИ – доверительный интервал
PPV – положительная прогностическая ценность
NPV – отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC – область под кривой приема рабочих характеристик

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против активности ВЗК по эндоскопическим данным	Исследов. 1 Испания (ссылка 9)	Исследов. 2 Испания (ссылка 10)	Исследов. 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка 11)
Количество пациентов и демография	89 (CD[2]) Возраст: 32-58 44% мужчин	123 (UC[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчин	99 (CD[2] после резекции) Возраст: 29-47 46.5% мужчин
Отрезок	272 мкг/г	280 мкг/г	100 мкг/г
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 9

[1] Исследования 1 и 2 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон. Исследование 3 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против клинической ремиссии или рецидива	Исследов. 4 Великобритания (ссылка 12)	Исследов. 5 Испания (ссылка 13)	Исследов. 6 Испания (ссылка 14)
Количество пациентов и демография	92 (CD[2]) 38% мужчины	30 (CD[3]) терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия инфликсимабом Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время наблюдения после измерения кальпротектина	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим рецидивом после наблюдения	11%	30%	23%
Отрезок	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8%	100%	96.1%
PPV	27.6%	75%	68.7%

Таблица 10

[1] Исследование 4 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
Исследования 5 и 6 – Quantum Blue® fCAL and Quantum Blue® fCAL высокий диапазон
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ВОССТАНОВЛЕНИЕ

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

Таблица 11

Воспроизводимость внутри лаборатории

Значение конц.[мкг/г]	Воспроизводимость CV [%]	Точность между пробегами CV [%]	Точность между днями CV [%]	Внутрилабораторная точность 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 12

Воспроизводимость внутри партии

Значение концентрации [мкг/г]	Точность внутри партий CV [%]
49.2	16.5
112.2	17.0
278.4	20.1
682.1	20.6

Таблица 13

Предел количественной оценки – Нижний LoQ

Нижний LoQ	Эталонное значение (R) [мкг/г]	Среднее полученное значение (O) [мкг/г]	Сдвиг [мкг/г] (R-O)	Точность [% CV]	Общая ошибка [%]
Партия 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
Партия 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 14

Предел количественной оценки – Верхний LoQ

Верхний LoQ	Эталонное значение (R) [мкг/г]	Среднее полученное значение (O) [мкг/г]	Сдвиг [мкг/г] (R-O)	Точность [% CV]	Общая ошибка [%]
Партия 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
Партия 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

Таблица 15

Сравнение методов

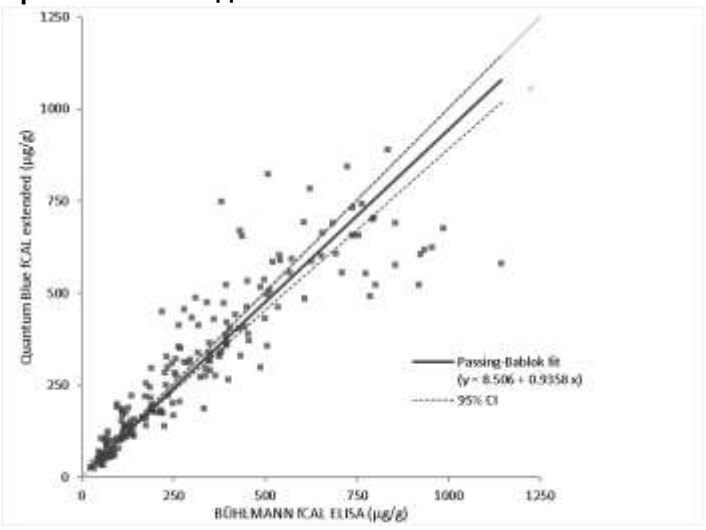


Рисунок 2

Линейность

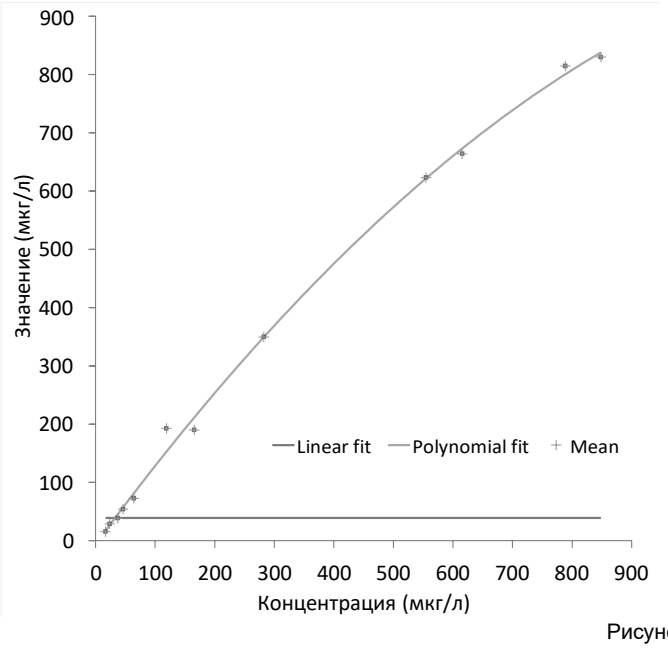


Рисунок 3

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

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРУ / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS

1. Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality.* Lancet 356, 1783-4 (2000)
2. Tibble JA *et al*.: *A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease.* Gut 47,506-513 (2000).
3. Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123, 450-460 (2002)
4. Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E.*: Measurement of calprotectin in faeces*. Tidsskr Nor Legeforen 128, 743–5 (2008)
5. Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study*. BMC Gastroenterology 12, 5 (2012)
6. Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care*. Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7. Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8. Lin JF et al.: *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment 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 calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease.* J Crohns Coliti, 7(12), 641-51 (2013)
10. Lobatón T et al.: *A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery.* Gastroenterology. 148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecal calprotectin test to predict relapse in Crohn's disease patients on maintenance treatment with adalimumab.* Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: *Fecal calprotectin as Predictor of Relapse in Patients with Inflammatory Bowel Disease Under Maintenance Infliximab Therapy.* J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectin Identifies Histologic Inflammation in Patients with Ulcerative Colitis In Clinical And Endoscopic Remission.* Clinical Gastroenterology and Hepatology. 12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasson A et al.: *Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study.* United European Gastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease.* Can J Gastroenterol Hepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target.* Am J Gastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin Predict Short-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-Blocking Agents In Inflammatory Bowel Disease Patients In Deep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al. *Consecutive fecal calprotectin measurements to predict relapse in patients with ulcerative colitis receiving infliximab maintenance therapy.* Inflamm Bowel Dis. 19, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months.* PLoS ONE 10(3) (2015)
23. Zhu Q. et al.: Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years. PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study.* Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 78(1-2), 120-124 (2018)

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

ПРИЛОЖЕНИЕ III

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу Вашего государства-члена ЕС.

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

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.

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

ЗАМЕТКИ / NOTIZEN / NOTES / NOTE / NOTAS

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

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

ЗАМЕТКИ / NOTIZEN / NOTES / NOTE / NOTAS

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

ПРИЛОЖЕНИЕ V

СИМВОЛЫ / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Символ	Интерпретация
	Использовать до Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad Validade até
REF	Каталожный номер Bestellnummer Référence du catalogue Numero di catalogo Número de catálogo Número de catálogo
LOT	Номер партии Chargenbezeichnung No. du lot No. del lotto No. de lote No. do lote
IVD	медицинское устройство для *in vitro* диагностики *In Vitro* Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* Produto para diagnóstico *in vitro*
	Содержимое для проведения <n> тестов Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n" tests Contenuto sufficiente per „n" saggi Contenudo sufficiente para <n> ensayos Conteúdo suficiente para <n> testes
	Обратитесь к инструкции по применению Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Consultar as intruções de uso

Символ	Интерпретация
	Температурные ограничения Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
TC	Аналитическая кассета Test Kassette Cassette de test Cassetta di rilevazione Casetes de prueba Cassete do teste e
BUF EX	Экстракционный буфер Extraktionspuffer Tampon d'extraction Tampone di estrazioneTampón de extracción Tampão de extração
CONTROL L	Низкий контроль Kontrolle tief Contrôle bas Controllo basso Control bajo Controle baixo
CONTROL H	Высокий контроль Kontrolle hoch Contrôle elevé Controllo alto Control alto Controle alto
RCC	RFID чип-карта RFID Chipkarte RFID carte à puce RFID carta chip RFID tarjeta chip RFDI tartão Chip
BCC	Штрих-код карта Barcodekarte Carte à code-barres Carta con codice a barre Tarjeta con código de barras Cartão de código de barras

CE

IVD

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

Quantum Blue®

Инфликсимаб

Количественный латеральный проточный иммуноанализ

Предназначен для диагностики *In Vitro*

LF- TLIF25 25 тестов

LF- TLIF10 10 тестов

Дата выпуска: 2020-10-30
Версия A2

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

Русский страница 2
Deutsch Seite 7
Français page 12
Italiano pagina 17
Español página 22
Português página 27

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

РУССКИЙ

НАЗНАЧЕНИЕ

Quantum Blue® Инфликсимаб представляет собой диагностический иммуноанализ бокового потока in vitro для количественного определения уровней инфликсимаба (Remicade®) и биоаналогов инфликсимаба, CT-P13 (Remsima™; Inflectra™) и SB2 (FLIXABI®) в образцах сыворотки крови. Данный анализ служит вспомогательным средством для мониторинга терапевтических препаратов у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), получающих терапию инфликсимабом, в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными. Инфликсимаб Quantum Blue® комбинируется со считывателем Quantum Blue®.
Для лабораторного использования.
Европа: для профессионального использования.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Исследование предназначено для селективного измерения инфликсимаба методом сэндвич-иммуноанализа. Рекомбинантный фактор некроза опухоли альфа (TNFα) конъюгируется с коллоидным золотом. По мере нанесения образца конъюгат золота высвобождается из подкладки аналитической кассеты в реакционную систему. инфликсимаб, присутствующий в образце, будет связываться с конъюгатом золота. Моноклональное антитело, высокоспецифичное для аналита, иммобилизуется на аналитической мембране и захватывает комплекс конъюгата золота и аналита инфликсимаба, что приводит к окрашиванию тестовой линии (T). Оставшийся свободный конъюгат TNFα-золота будет связываться с контрольной линией (C). Интенсивности сигналов тестовой линии (T) и контрольной линии (C) измеряются количественно с помощью считывателя Quantum Blue®.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ И ИХ ПОДГОТОВКА

Реагенты	Количество		Код	Комментарий
	LF- TLIF25	LF- TLIF10		
Аналит. кассета	25 штук	10 штук	B-LFTLIF-TC	В вакуумной упаковке-пакете из фольги
Буфер	1 флакон 10 мл	1 флакон 10 мл	B-LFTLIF-CB	Готов к использованию
Контроли: нижний* / верхний*	2 виалы 0.5 мл	2 виалы 0.5 мл	B-LFTLIF-CONSET	Готов к использованию
RFID чип-карта	1 штука	1 штука	B-LFTLIF-RCC	**Белая** пластиковая карта
RFID чип-карта	1 штука	1 штука	B-LFTLIF-RCC15	**Зеленая** пластиковая карта
Штрих-код карта	1 штука	1 штука	B-LFTLIF-BCC	2D пластиковая штрих-код карта

Таблица 1

* Контроли содержат определенное количество инфликсимаба. Фактические концентрации приведены в дополнительном листе данных по контролю качества.

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

ПРОВЕРКА КОМПЛЕКТАЦИИ

Продукция BÜHLMANN изготовлена с высокой тщательностью. При этом предприняты все возможные усилия для обеспечения производительности всех устройств для анализа, а также полноты комплектации. Тем не менее, мы рекомендуем Вам проверять свой тестовый набор на состояние аналитической кассеты и ее упаковки, обращая внимание на следующие аспекты:
•срок годности;
•безупречное состояние упаковки (например, отсутствие какой-либо перфорации, которая может быть вызвана неправильным обращением);
•безупречное состояние аналитической кассеты (например, отсутствие царапин на аналитической мембране).
Если одна из аналитических кассет не соответствует указанным выше критериям, пожалуйста, используйте другую аналитическую кассету.

ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ РЕАГЕНТОВ

Невскрытые реагенты	
Хранить при температуре 2-8°C. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетках.	
Вскрытые реагенты	
Аналитическая кассета	Аналитические кассеты, извлеченные из упаковки, должны быть использованы в течение 4 часов.
Буфер	После вскрытия хранить не более 6 месяцев при температуре 2–8°C.
Контроли нижний / верхний	После вскрытия хранить не более 6 месяцев при температуре 2–8°C.

Таблица 2

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

• Вихревой смеситель.
• Таймер (опционально).
• Прецизионные пипетки с одноразовыми наконечниками: 10–100 мкл и 100–1000 мкл.
• Пробирки Эппендорфа (или эквивалент) для разбавления образцов сыворотки.
• Считыватель Quantum Blue® от BÜHLMANN (код заказа: BI-POCTR-ABS)
• Перчатки и лабораторный халат.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Меры безопасности

• Ни один из реагентов данного теста не содержит компонентов человеческого происхождения.
• Образцы пациентов должны обрабатываться так, как будто они способны передавать инфекции, и должны использоваться в соответствии с принципами

надлежащей лабораторной практики (GLP) с соблюдением соответствующих мер предосторожности.
• Реагенты: избегайте контакта реагентов с кожей, глазами или слизистыми оболочками. Если контакт все же произойдет, немедленно промойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть раздражение.
• Неиспользованный раствор следует утилизировать в соответствии с местными государственными и федеральными правилами.

Технические меры предосторожности

Компоненты набора

•Исследование должно проводиться при комнатной температуре (20-26°C).
•Перед началом анализа все реагенты, включая аналитические кассеты в упаковках из фольги и исследуемые образцы должны достичь комнатной температуры (20-26°C).
•Перед проведением исследования извлеките аналитическую кассету из упаковки. Дайте аналитическое кассете достичь комнатной температуры (20-26°C) не менее 2 минут. Аналитические кассеты, извлеченные из упаковки, должны быть использованы в течение 4 часов.
•Тщательно перемешивайте реагенты перед использованием (например, вихревым способом).
•Компоненты не должны использоваться после истечения срока годности, указанного на этикетках.
•Не смешивайте различные партии реагентов.
•Не разбирайте аналитические кассеты.
•Аналитические кассеты нельзя использовать повторно.
•Осторожно обращайтесь с аналитическими кассетами. Не загрязняйте порт загрузки образца или окно считывания путем прикосновения пальцами рук или попадания каких-либо жидкостей и т.д. (рис. 1D).
•При проведении анализа обеспечьте ровное горизонтальное положение аналитической кассеты.

Процедура исследования

•Перед проведением исследования внимательно прочитайте инструкции. Если реагенты неправильно разбавлены, обработаны или хранятся в условиях, отличных от условий, описанных в данной инструкции, то полученные результаты исследований могут быть сомнительными.
•Обратите внимание, что существует два поколения считывателей: считыватель Quantum Blue® 2-го поколения с серийными номерами от 1000 до 3000 (QB2) и считыватель Quantum Blue® 3-го поколения с серийными номерами выше 3000 (QB3G).
•QB2 должен быть включен и запрограммирован для анализа Quantum Blue® Инфликсимаб. Загрузите метод анализа с помощью чиповой карты RFID (B-LFTLIF-RCC или B-LFTLIF-RCC15) перед началом анализа (см. Руководство по считыванию Quantum Blue®).
•QB3G должен быть включен и запрограммирован для анализа Quantum Blue® Инфликсимаб либо с помощью карты штрих-кода (B-LFTLIF-BCC), либо путем выбора из меню теста (только в режиме быстрого отслеживания). Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к руководству по считыванию Quantum Blue®.

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

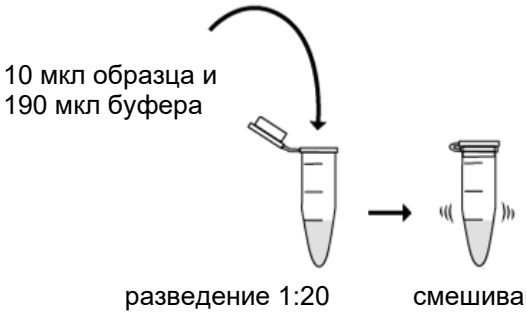
•Используйте карту RFID-чипа (QB2) / карту штрих-кода (QB3G) для изменения параметров исследования для конкретной партии.
•Неправильное обращение с образцами пациентов может привести к получению неточных результатов.
•Разбавленные образцы следует хранить при температуре 2–8°C и исследовать в течение 24 часов. Разбавленные образцы не могут храниться в течение более длительного периода.
•Образцы с показателями, превышающими 20 мкг/мл (до 183,6 мкг/мл), могут быть дополнительно разбавлены в пропорции 1:10 в буфере (всего 1:200) для получения результатов в пределах допустимого диапазона.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Соберите кровь в простые венопункционные пробирки, не содержащие каких-либо добавок, избегая гемолиза, и дайте сыворотке сгуститься при комнатной температуре не менее 20 и не более 60 минут. Центрифугируйте при комнатной температуре при ~2000 x г в течение 15 минут. Декантируйте сыворотку.
Неразбавленные образцы сыворотки можно хранить в холодильнике при температуре 2–8°C в течение 10 дней. Для более длительного хранения поместите неразбавленные образцы сыворотки в условия с температурой ≤-20ºC. Такие образцы при температуре ≤-20ºC остаются стабильными не менее 21 месяца.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

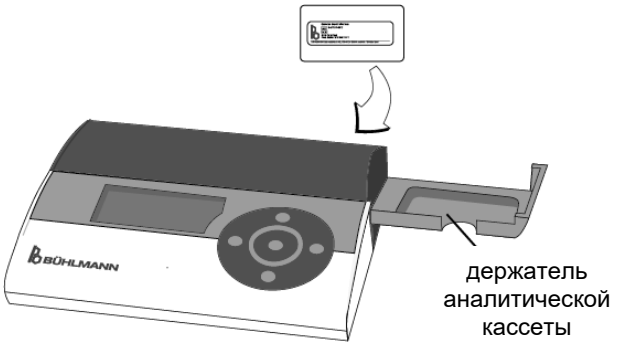
Для анализа используют исключительно реагенты, которые достигли комнатной температуры (20–26°C). Аналитическая кассета должна быть извлечена из упаковки до начала анализа.
Процедура анализа состоит из двух этапов:
1. Разбавление образцов сыворотки буфером.
Перед проведением исследования разбавьте образец сыворотки буфером в пропорции 1:20 (B-LFTLIF-CB) (например, смешайте 10 мкл образца сыворотки с 190 мкл буфера) в пробирке, затем перемешайте его вихревым методом, путем перемешивания пипетирования или встряхивания.



2. Анализ бокового потока и считывание результатов

QB2
С помощью чип-карты RFID можно загрузить два альтернативных метода: B-LFTLIF-RCC15 (с внутренним таймером) или B-LFTLIF-RCC (без внутреннего таймера).

Перед началом экспериментов выберите одну чип-карт RFID. Загрузите метод исследования с чип-карты RFID на считыватель Quantum Blue®.



QB3G

Для проведения исследования образцов с помощью устройства QB3G BÜHLMANN предлагает два различных режима работы: режим быстрого отслеживания или отказоустойчивый режим. Перед началом анализа, пожалуйста, информируйте, в каком режиме работает Ваш считыватель.

Метод исследования может быть загружен с карты штрих-кода (режим быстрого отслеживания и отказоустойчивости) или, если он использовался ранее, выбран из меню исследования (исключительно режим быстрого отслеживания). Измерения могут выполняться как с внутренним таймером, так и без него в режиме быстрого отслеживания. Измерения в отказоустойчивом режиме могут выполняться исключительно с помощью внутреннего таймера.

Следуйте инструкциям, приведенным на экране QB3G. Вы также можете обратиться к кратким руководствам QB3G для режима быстрого отслеживания и отказоустойчивого режима.



2.1. Метод с внутренним таймером

QB2: используйте зеленую RFID чип-карту B-LFTLIF-RCC15.

QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите “НЕТ”.

QB3G (отказоустойчивый режим): настройки по умолчанию.

•Распакуйте аналитическую кассету. Дайте аналитической кассете достичь температуры окружающей среды в течение 2 часов.

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

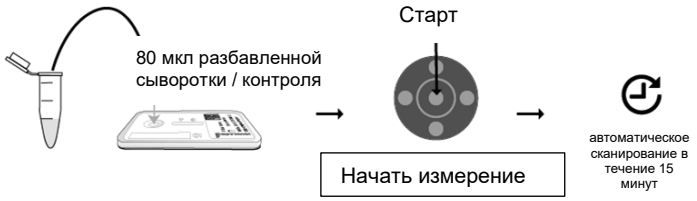
•Добавьте 80 мкл разбавленного образца сыворотки в порт загрузки образца аналитической кассеты (рис. 1D).

•Вставьте аналитическую кассету в держатель для аналитической кассеты считывателя Quantum Blue®.

•Закройте держатель разбавленного кассеты и начните измерение, нажав кнопку “Пуск” на QB2 или опцию "Начать измерение" на QB3G.

•Сканирование начнется автоматически через 15 минут.

•Для низкого / высокого контроля: повторите шаг 2.1, используя 80 мкл контроля вместо разбавленной сыворотки.



2.2. Способ без внутреннего таймера

QB2: используйте белую RFID-чиповую карту B-LFTLIF-RCC.

QB3G (режим быстрого отслеживания): когда QB3G предложит пропустить время инкубации, выберите “ДА”.

QB3G (отказоустойчивый режим): опция недоступна.

•Распакуйте аналитическую кассету. Дайте аналитической кассете уравновеситься в лабораторной среде не менее 2 минут.

•Добавьте 80 мкл разбавленного образца сыворотки в порт загрузки образца аналитической кассеты (рис. 1D).

•Инкубируйте в течение 15±1 минуты (установите таймер вручную).

•Вставьте аналитическую кассету в держатель аналитических кассет считывателя Quantum Blue®.

•Немедленно отсканируйте аналитическую кассету с помощью считывателя Quantum Blue®, нажав на кнопку “Пуск” на QB2 или опцию “Начать измерение” на QB3G.

•Для низкого / высокого контроля: повторите шаг 2.2, используя 80 мкл контроля вместо разбавленной сыворотки.



Примечание: пожалуйста, обратитесь к руководству пользователя считывателя Quantum Blue®, чтобы узнать об основных функциях и о том, как инициализировать и управлять считывателями Quantum Blue®, особенно о том, как выбрать методы исследования и как загрузить параметры для конкретной партии с RFID чип-карты (QB2) / карты штрих-кода (QB3G) на считывателе Quantum Blue®. Убедитесь, что аналитическая кассета правильно вставлена в считыватель Quantum Blue®, предварительно открыв окно считывателя (рис. 1D).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

•Если результаты анализа не соответствуют установленным пределам и повторение исключает ошибки в технике, уточните следующие аспекты: 1) пипетирование, контроль температуры и сроки; 2) сроки годности реагентов и 3) условия хранения и инкубации.
•Результат самопроверки считывателя Quantum Blue®, выполненной при запуске устройства, должен быть действительным.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

•Значения калибратора стандартной кривой назначаются в соответствии с протоколом передачи значений (ссылка 1). Стандартные параметры кривой указаны в прилагаемом листе данных контроля качества. Материал калибратора содержит инфликсимаб в матрице сыворотки крови человека и стандартизирован по отношению к внутреннему эталонному материалу.
•Считыватель Quantum Blue® использует специальную калибровочную кривую для расчета концентрации инфликсимаба. Диапазон измерения составляет от 0,4 до 20,0 мкг/мл.

ПРОВЕРКА РЕЗУЛЬТАТОВ

•Для получения достоверного результата исследования линия контроля (C) должна быть видна во всех случаях (см. рис. 1A и рис. 1B). Она используется исключительно в качестве функционального тестового контроля и не может использоваться для интерпретации тестовой линии (T). Если тестовая линия (T) не обнаруживается после 15 минут инкубации (рис. 1A), то концентрация инфликсимаба, присутствующего в образце сыворотки, ниже предела обнаружения. Если тестовая линия (T) обнаруживается через 15 минут инкубации (рис. 1B), концентрация инфликсимаба, присутствующего в образце сыворотки, рассчитывается с помощью считывателя Quantum Blue®.
•Если после 15 минут инкубации обнаруживается исключительно тестовая линия (T) (рис. 1C), то результат исследования признается недействительным, и анализ Quantum Blue® на инфликсимаб должен быть проведен повторно с использованием другой аналитической кассеты.
•Если ни контрольная линия (C), ни тестовая линия (T) не обнаруживаются после 15 минут инкубации (рис. 1D), то результат теста признается недействительным, и анализ Quantum Blue® на инфликсимаб должен быть проведен повторно с использованием другой аналитической кассеты.
•Поскольку считыватель Quantum Blue® позволяет количественно оценить тестовую (T) и контрольную (C) линии, то проводится дополнительная проверка достоверности контрольной линии (C). Если интенсивность сигнала контрольной линии (C) ниже определенного предварительно настроенного порога после 15 минут инкубации, то результат исследования признается недействительным, и анализ Quantum Blue® на инфликсимаб должен быть повторен с использованием другой аналитической кассеты.

ОГРАНИЧЕНИЯ

•Реагенты, поставляемые в данном наборе, оптимизированы для измерения уровней инфликсимаба в разбавленных образцах сыворотки.
•Образцы пациентов, переходящих с терапии Сертолизумабом (Cimzia®), не следует исследовать непосредственно на Quantum Blue® на инфликсимаб, так как может возникнуть перекрестная реактивность. Позвольте уровням Сертолизумаба (Cimzia®) упасть по крайней мере ниже 1,7 мкг/мл.
•Результаты исследования Quantum Blue® на инфликсимаб следует интерпретировать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными. Они могут включать определение активности заболевания ВЗК, наличие антипрепаратных антител, а также информацию о соблюдении пациента правил терапии (ссылка 2).
•Уровни инфликсимаба в диапазоне от 3 до 7 мкг/мл считаются консенсусным терапевтическим окном для достижения наилучшей эффективности лечения (ссылки 2, 6). Однако оптимальные уровни могут быть индивидуальными и могут отличаться в зависимости от цели лечения, а также фенотипа заболевания (ссылка 2).

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Определение уровней инфликсимаба в образцах сыворотки крови пациентов может способствовать мониторингу эффективности терапии пациентов с ВЗК. Как правило, уровни в сыворотке крови, достигающие значения 3 мкг/мл и выше, хорошо коррелируют с ремиссией, эндоскопическим заживлением слизистой оболочки кишечника и низкими значениями СРБ (ссылки 3, 4), а также прогнозом устойчивого ответа на терапию инфликсимабом (ссылка 5).

Показатели ниже 3 мкг/мл
Субтерапевтические уровни инфликсимаба в сыворотке крови свидетельствуют о фармакокинетической недостаточности. Следует рассмотреть возможность корректировки терапии с учетом имеющихся клинических и лабораторных данных (ссылки 2, 6).

Показатели в пределах 3–7 мкг/мл
Терапевтические уровни инфликсимаба могут служить показанием для продолжения терапии в текущей дозировке у пациентов с ремиссией заболевания ВЗК (ссылка 2, 3, 6).

Показатели выше 7 мкг/мл
Супратерапевтические уровни инфликсимаба могут служить показанием для снижения дозы в сочетании с клинической картиной у пациентов с ремиссией заболевания ВЗК (ссылка 2). Было показано, что деэскалация дозы для достижения оптимального терапевтического окна (3–7 мкг/мл) не влияет ни на значения СРБ, ни на показатели Харви Брэдшоу или Майо у пациентов с болезнью Крона или язвенным колитом соответственно (ссылка 6).

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Клиническая оценка
Сто десять (110) пациентов с язвенным колитом (ЯК) в возрасте 18 лет и старше (55% женщин), получавших поддерживающую терапию инфликсимабом, были набраны в десяти различных университетских и общественных больницах Португальской исследовательской группой по ВЗК (GEDII) (ссылка 7). Для каждого из пациентов было проведено определение уровней инфликсимаба, а также клиническая, эндоскопическая и оценка уровня кальпротектина. В этом исследовании уровни инфликсимаба выше 3 мкг/мл были определены как отрицательный результат. Отрицательное прогностическое значение (NPV) указывало на процент пациентов с уровнем инфликсимаба выше порогового значения с положительным клиническим исходом, которые не выиграют от корректировки препарата. Положительный клинический исход определялся как клиническая ремиссия (глобальный балл Майо ≤2, без индивидуального балла выше 1), эндоскопическая ремиссия (для неглубокой ремиссии эндоскопический субскор Майо ≤1) и/или уровни кальпротектина в кале ниже 250 мкг/г. Значения NPV, полученные для теста Quantum Blue® на Инфликсимаб и коммерчески доступного набора ИФА, приведены в таблице 3.

Клинический исход	Клиническая ремиссия	Эндоскопическая ремиссия	Фекальный кальпротектин ≤250 мкг/г
Quantum Blue® Инфликсимаб	74%	88%	88%
ELISA	74%	83%	86%

Таблица 3

Следующие эксплуатационные характеристики были установлены с помощью считывателя Quantum Blue® 2-го поколения и были проверены на считывателе Quantum Blue® 3-го поколения.
Указанные эксплуатационные характеристики применимы для обоих поколений считывателей.

Сравнение методов

Смещение при 3 мкг/мл: -0,7% (95% ДИ: -6,9 – 3,1%)
Смещение при 7 мкг/мл: -3,8% (95% ДИ: -8,3 – -0,7%)

Сравнение методов проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Сто десять (110) клинических образцов были измерены в трех экземплярах с помощью теста Quantum Blue® на инфликсимаб, в результате чего было получено 330 значений, и с помощью коммерчески доступного теста на инфликсимаб ELISA (ссылка 8). Измерения проводились в течение трех дней с использованием двух партий тестовых кассет Quantum Blue® с инфликсимабом. Результаты представлены на рисунке 2.

Восстановление: 83-100%

Шесть образцов пациентов, имеющих уровни инфликсимаба, близкие к точкам принятия клинических решений, были обогащены 3,24 мкг/мл инфликсимаба в материале калибратора на основе сыворотки. “Базовые” образцы были Обогащены соответствующим количеством отфильтрованной, объединенной нормальной человеческой сыворотки. Образцы “Основание” и “Основание + Спайк” были измерены в десяти повторах с одной партией реагентов. Результаты представлены в таблице 4.

Воспроизводимость: 16,3–25,0% CV
Внутрилабораторная точность: 18,5–25,3%CV

Воспроизводимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A3. Семь объединенных образцов сыворотки крови пациентов с концентрациями инфликсимаба, охватывающими диапазон измерения и точки принятия клинических решений, были протестированы в течение 20 дней в двух независимых исследованиях с двумя повторениями на каждое. Результаты обобщены и представлены в таблице 5.

Воспроизводимость: 22,6–29,3% CV

Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 путем проведения измерений на трех различных приборах для считывания Quantum Blue® с тремя различными партиями аналитических кассет. Семь объединенных образцов сыворотки крови пациентов с концентрациями инфликсимаба, охватывающими диапазон измерения и точки принятия клинических решений, были протестированы в течение пяти дней в одном независимом цикле с пятью повторениями за цикл. Каждый считыватель Quantum Blue® управлялся разными операторами, использующими разные партии аналитических кассет. Результаты обобщены и представлены в таблице 6.

Предел бланка (LoB): <0,10 мкг/мл инфликсимаба
LoB был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с четырьмя отрицательными образцами сыворотки. Образцы измерялись в течение трех дней в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 60 пустых значений. Исследование проводилось с использованием двух партий тестовых кассет. LoB был рассчитан с использованием непараметрического анализа.

Предел обнаружения (LoD): <0,21 мкг/мл инфликсимаба
LoD был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с четырьмя клиническими или объединенными образцами с концентрациями инфликсимаба 0,63; 0,40; 0,26 и 0,15 мкг/мл. Образцы измерялись в течение трех дней в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 60 значений. Исследование проводилось с использованием двух различных партий тестовых кассет. LoD был рассчитан с использованием параметрического анализа.

Нижний предел количественного определения (LLoQ): 0,32 мкг/мл
Верхний предел количественного определения (ULoQ): 22,7 мкг/мл
LLoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2 с четырьмя образцами, полученными путем разбавления материала калибратора в отрицательной сыворотке до концентраций 0,5, 0,4, 0,3 и 0,2 мкг/мл; ULoQ с разбавленным материалом калибратора с концентрациями 29,9, 24,9, 20,5 и 15,0 мкг/мл. Образцы

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

измерялись в течение трех дней, в пяти повторениях каждый день, чтобы получить 60 значений. Относительная общая погрешность (ОП) была рассчитана с использованием среднеквадратичной модели на основе оценок смещения и точности для каждой выборки и логарифмического преобразования. По результатам был сгенерирован общий профиль ошибок, и LoQ был определен как пересечение профиля с критерием приемлемости, соответствующим 30% ОП.

Линейный диапазон: 0,14–20,37 мкг/мл инфликсимаба

Линейный диапазон теста Quantum Blue® на инфликсимаб был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Два пула образцов, низкий и высокий, были смешаны для получения образцов, охватывающих и превышающих ожидаемый диапазон измерений. Смеси были проанализированы в десяти повторениях на двух партиях тестовых кассет. Линейный диапазон был определен как интервал уровней концентрации, в котором коэффициенты соответствия второго и третьего порядка были определены как незначимые. Результаты для одной партии тестовых кассет показаны на рисунке 3.
Образцы с повышенным уровнем инфликсимаба (до 183,6 мкг/мл) могут быть дополнительно разбавлены 1:10 в буфере (всего 1:200) для получения линейных результатов в диапазоне измерений анализа. Серия образцов с концентрациями инфликсимаба в диапазоне от 2,4 до 379 мкг/мл была получена путем смешивания высокого, надуманного образца с отрицательной сывороткой. Образцы разбавляли 1:10, а затем 1:20 в буфере и измеряли в пяти повторах с помощью теста Quantum Blue® инфликсимаб. Линейный диапазон был определен для уровней инфликсимаба между 2,6 и 183,6 мкг/мл.

Эффект крючка для высоких показателей

Для образцов с концентрацией инфликсимаба до 787 мкг/мл не наблюдалось эффекта высокой дозы.

Специфичность / перекрестная реактивность
Исследование Quantum Blue® на инфликсимаб позволяет распознавать препарат-инициатор инфликсимаба (Remicade®), а также биоаналоги инфликсимаба CT-P13 (Remsima™; Inflectra™) (ссылка 9) и SB2 (FLIXABI®) в сыворотке крови. Для FLIXABI® результаты исследования восстановления, проведенного в департаменте биомедицины – Unidade de Farmacologia e Terapêutica, Порту, соответствовали критерию приемлемости ±30% восстановления от ожидаемой концентрации базового образца + спайка FLIXABI®. В отличие от этого сыворотка с добавлением блокаторов TNFa, таких как адалимумаб (Humira®), этанерцепт (Enbrel®), голилумаб (Simponi®) и сертолизумаб (Cimzia®) до 100 мкг/мл приводили к считыванию ниже предела бланка.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Чувствительность теста Quantum Blue® Adalimumab к интерферирующим веществам оценивалась в соответствии с одобренным CLSI руководством EP7-A2. Проводилась оценка интерферирующих веществ в концентрациях, в три раза превышающих те, о которых сообщалось или ожидалось в клинических образцах, или на уровнях концентрации, рекомендованных руководством CLSI EP07-A2. Смещение, превышающее 30%, считалось помехой.

Переключатель внутри класса
Блокаторы TNF-α исследовались в концентрациях, превышающих самые низкие, рекомендуемые уровни препарата в три раза. Не было обнаружено никаких помех до 10 мкг/мл для адалимумаба (Humira®), этанерцепта (Enbrel®) и голилумаба (Simponi®). Интерференция была обнаружена с помощью цертолизумаба (Cimzia®) с критериями смещения, не превышенными при концентрации 1,7 мкг/мл. Образцы, взятые у пациентов, перешедших с сертолизумаба (Cimzia®), не следует непосредственно исследовать с помощью Quantum Blue® на Инфликсимаб. Позвольте уровню сертолизумаба (Cimzia®) упасть по крайней мере ниже 1,7 мкг/мл.

Показатели сыворотки крови
Не было обнаружено интерференции со следующими веществами в перечисленных концентрациях: триглицериды (Интралипид® 1320 мг/дл), конъюгированный билирубин (342 мкмоль/л; 28,8 мг/дл), неконъюгированный билирубин (342 мкмоль/л; 20,0 мг/дл), гемоглобин (50 мкмоль/л; 322 мг/дл), TNFa (0,15 нмоль/л; 2,6 нг/мл) и ревматоидные факторы (497,3 МЕ/мл).

Иммуносупрессивное совместное лечение
Не было обнаружено никаких помех со следующими веществами в перечисленных концентрациях: азатиопропин (216 мкмоль/л; 6,0 мг/дл), 6-меркаптопурин (216 мкмоль/л; 3,7 мг/дл) и метотрексат (3000 мкмоль/л; 136,3 мг/дл).

Все эксплуатационные характеристики, если не указано иное, оценивались с помощью инфликсимаба (Remicade®, MSD).

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS E FIGURAS/ TABELAS E FIGURAS

Результаты исследования

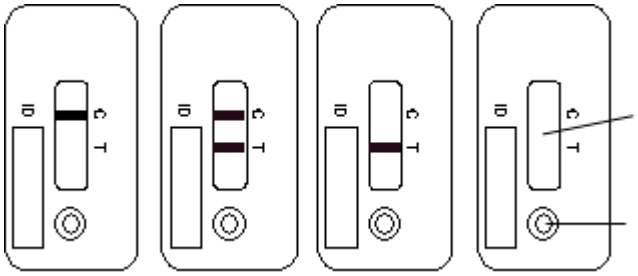


Рисунок 1A Рисунок 1B Рисунок 1C Рисунок 1D

Сравнение методов

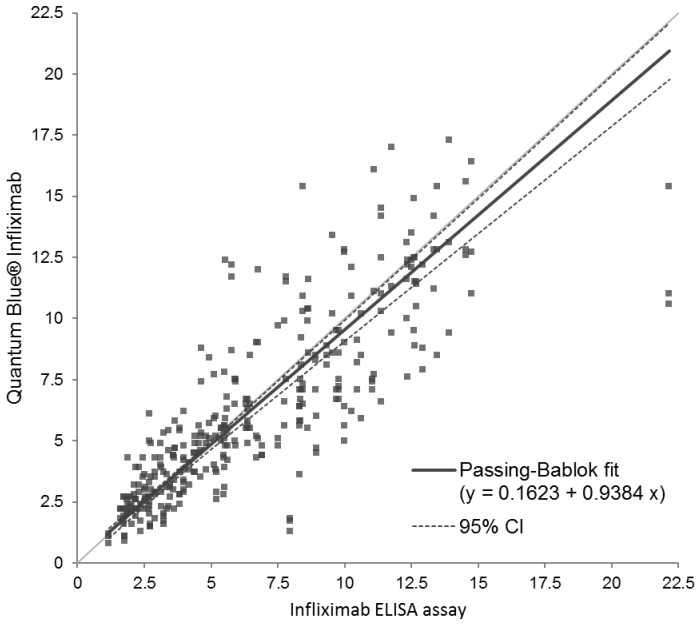


Рисунок 2

Восстановление

Образец	База [мкг/мл]	Спайк [мкг/мл]	Ожидаемый база + спайк [мкг/мл]	Наблюдаемый база + спайк [мкг/мл]	Восстановление [%]
S1	1.5	3.2	4.7	3.9	83
S2	2.0	3.2	5.3	5.1	98
S3	2.9	3.2	6.1	6.1	100
S4	4.3	3.2	7.6	7.2	95
S5	6.5	3.2	9.7	9.3	96
S6	9.9	3.2	13.2	11.8	89

Таблица 3

Воспроизводимость / Внутрилабораторная точность

Значения конц. ADA [мкг/мл]	Воспроизводимость CV [%]	Точность между исследованиями CV [%]	Точность между днями CV [%]	Точность между лабораториями CV [%]
0.42	16.3	3.7	7.9	18.5
1.44	25.0	0.0	3.6	25.2
3.02	20.3	5.1	5.1	21.5
4.78	21.0	0.0	0.0	21.0
7.26	17.0	7.5	4.5	19.2
9.37	20.4	0.0	2.7	20.6
11.71	23.5	9.5	0.0	25.3

Значения конц. ADA [мкг/мл]	Воспроизводимость CV [%]	Точность между исследованиями CV [%]	Точность между днями CV [%]	Точность между лабораториями CV [%]
0.42	21.1	3.0	15.4	26.3
1.43	21.7	5.5	15.9	27.4
2.86	21.9	16.4	10.5	29.3
4.73	24.5	10.1	4.2	26.8
7.13	25.0	9.8	10.1	28.7
9.71	18.5	9.7	8.9	22.6
12.33	27.5	0.0	5.1	28.0

Таблица 5

Линейность

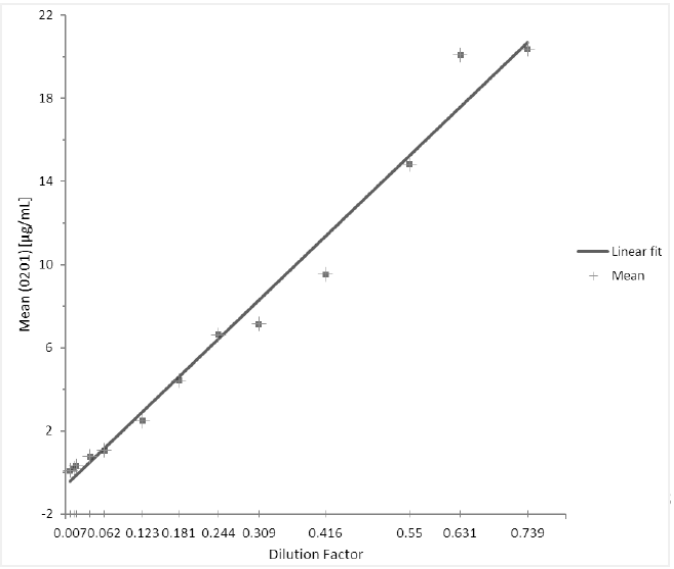


Рисунок 3

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

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS / REFERÊNCIAS

1. Blirup-Jensen et al.: *Protein standardization V: value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material.* Clin Chem Lab Med; 46, 1470 – 9 (2008)

2. Mitrev N et al. : *Review article : consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti- tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease.* Aliment Pharmacol Ther. 46(11-12):1037- 1053 (2017)

3. Imadea, H. et al.: *Clinical utility of newly developedimmunoassays for serum concentrations of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with Crohn's disease.* Journal of Gastroenterology, 49(1), 100–109 (2014)

4. Maser, E.A. et al.: *Association of Trough Serum Infliximab to Clinical Outcome After Scheduled Maintenance Treatment for Crohn's Disease.* Clinical Gastroenterology and Hepatology, 4(10), 1248–1254 (2006)

5. Cornillie, F. et al.: *Postinduction serum infliximabtrough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: a retrospective analysis of the ACCENT I trial*. Gut, 63(11), 1721–1727 (2014)

6. Vande Casteele, N.: *Trough Concentration of Infliximab Guide Dosing for Patients With Inflammatory Bowel Disease.* Journal of Gastroenterology, 148, 1320–1329 (2015)

7. Magro F. et al. : *Clinical performance of an infliximab rapid quantification assay.* Therap Adv Gastroenterol. 10(9):651-660 (2017)

8. Vande Casteele N. et al.: *Detection of infliximablevels and anti-infliximab antibodies: a comparisonof three different assays.* Aliment Pharmacol Ther. 36, 765-771 (2012)

9. Afonso J. et al.; *Therapeutic drug monitoring of CT- P13: a comparison of four different immunoassays.* Therap Adv Gastroenterol. 10(9):661-671 (2017)

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

ПРИЛОЖЕНИЕ III

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с ДАННЫМ устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу Вашего государства-члена ЕС.

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

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.

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

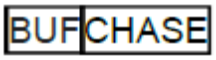
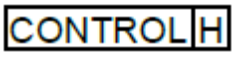
NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Символ	Значение	Символ	Значение
	Использовать до Verwendbar bis Utiliser jusqu'auUtilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração		Температурные ограничения Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
REF	Номер в каталоге Bestellnummer Code CodiceCódigo Código		Аналитическая кассета Testkassette Cassette test Cassette di rilevazione tCasete de prueba Cassete de teste
LOT	Номер партии ChargenbezeichnungCode du lot Codice del lotto Código de loteCódigo lote		БуферLaufpuffer Tampon de dilution Tampone di diluzione Tampón de incubación Tampão de diluição
	Для проведения <n> исследований Ausreichend für <n> Ansätze Contenu suffisant pour <n> tests Contenuto sufficiente per <n> saggi Contenudo sufficiente para <n> ensayos Contenudo sufficiente para <n> tests		Низкий контроль Kontrolle Tief Contrôle Bas Controllo Basso Control Bajo Controle Baixo
IVD	Устройство медицинского назначения для диагностики *In Vitro* *In Vitro* Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* Producto sánitario para diagnóstico *in vitro*		Высокий контроль Kontrolle Hoch Contrôle ÉlevéControllo Alto Control Alto Controle Alto
	Руководство по эксплуатации Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções		RFID чип-карта RFID Chipkarte Carte à puce RFIDCarta chip RFID Tarjeta chip RFID Cartão Chip RFID
			Карта штрих-кодаBarcodekarte Carte à code-barres Carta con codice a barre Tarjeta con código de barras Cartão de código de barras





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

BÜHLMANN fCAL® turbo

Турбидиметрический анализ на кальпротектин
для профессионального использования

Набор реагентов

B-KCAL-RSET
Версия A2

Для диагностики *In Vitro*

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

DE: Die vollständige Gebrauchsanweisung kann heruntergeladen werden unter **FR:** La notice d'utilisation complète peut être téléchargée sur le site **IT:** Le istruzioni per l'uso complete possono essere scaricate dal sito **ES:** Las instrucciones de uso completas pueden descargarse en **PT:** A Instrução de uso completa pode ser baixada pelo site **www.buhlmannlabs.ch**

НАЗНАЧЕНИЕ

BÜHLMANN fCAL® turbo представляет собой автоматизированный диагностический тест *in vitro* для количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначенный для оценки воспаления слизистой оболочки кишечника (ссылки 1-3). Результаты анализа могут быть использованы в качестве вспомогательного средства для диагностики при дифференциальной диагностики органического воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта (воспалительное заболевание кишечника, ВЗК, в частности болезнь Крона (БК) или язвенный колит (ЯК)) и функционального заболевания (синдром раздраженного кишечника, СРК) (ссылки 4-10), у пациентов с хронической болью в животе и в

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

качестве вспомогательного средства для мониторинга заболевания ВЗК (ссылки 10-22).

Исключительно для лабораторного использования.

ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ

BÜHLMANN fCAL® turbo представляет собой усовершенствованный турбидиметрический иммуноанализ (PETIA), который позволяет автоматизировать количественное определение кальпротектина в экстрактах кала с помощью анализаторов. Образцы кала экстрагируются с помощью экстракционного буфера (B-CAL-EX) при помощи устройства CALEX® Cap (B-CALEX-Cx) или ручной экстракции при окончательном разведении в пропорции 1:500. Экстракты инкубируют с реакционным буфером и смешивают с наночастицами полистирола, покрытыми специфическими к кальпротектину антителами (иммуночастицами). Кальпротектин, присутствующий в образце, опосредует агглютинацию иммуночастиц. Мутность образца, измеряемая по поглощению света, увеличивается с образованием комплекса кальпротектин-иммуночастицы и пропорциональна концентрации кальпротектина. Обнаруженное поглощение света позволяет количественно определить концентрацию кальпротектина с помощью интерполяции на установленной калибровочной кривой.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

Реагенты	Кол-во	Код	Подготовка
Реакционный буфер (R1) MOPS забуференный физиологический раствор	1 виала 35 мл	B-KCAL-R1	Готов к использованию
Иммуночастицы (R2) Полистирольные шарики, покрытые птичьими антителами против человеческого кальпротектина	1 виала 7 мл	B-KCAL-R2	Готов к использованию

Таблица 1: Поставляемые реагенты

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

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Невскрытые реагенты
Хранить при температуре 2-8°C. Не используйте комплект с истекшим сроком годности, указанным на этикетках.
Стабильность на борту
Хранить до 3 месяцев при температуре 5-12°C

Таблица 2: Хранение и стабильность реагентов

Не замораживайте реагенты!

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Реагенты	**Кол-во**	**Код**
BÜHLMANN fCAL® turbo Набор калибраторов Калибраторы 1–6 для построения шеститочечной калибровочной кривой	1 x 6 виал 1 мл/виала	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Набор контролей Низкий и высокий контроли	3 x 2 виал 1 мл/виала	B-KCAL-CONSET
Устройство CALEX® Cap Экстракционное устройство, заполненное экстракционным буфером	50 пробирок 200 пробирок 500 пробирок	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Экстракционный набор Экстракционный буфер	3 флаконов 12 флаконов 125 мл/флакон	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Таблица 3: Необходимые, но не предоставленные материалы

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- This test is for *in vitro* diagnostic use only.
- The immunoparticles contain potentially infectious substances of animal origin and should be handled in accordance with Good Laboratory Practice (GLP) using appropriate precautions.
- R1 contains MOPS (3-(*N*-morpholino)propanesulfonic acid) (< 1%), that can be irritating to eye and skin. Handle with due caution.

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

- R2 contains polystyrene nanoparticles.
- Данный анализ предназначен исключительно для диагностики in vitro.
- Иммуночастицы содержат потенциально инфекционные вещества животного происхождения и должны обрабатываться в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
- R1 содержит MOPS (3-(N-морфолино) пропансульфоновая кислота) (<1%), которые могут раздражать глаза и кожу. Обращайтесь с ним с должной осторожностью.
- R2 содержит наночастицы полистирола.

Технические меры предосторожности

- Пожалуйста, уравновесьте реагенты, контроли, калибраторы и образцы, как описано в приложении.
- Испарение калибраторов и контролей может привести к получению некорректных результатов. Запустите анализ сразу после запуска анализатора.
- Не смешивайте реагенты R1 и R2 из разных партий и не меняйте колпачки между реагентами.
- Реагент R2 после замораживания не может использоваться повторно.
- Анализ предназначен для образцов кала, приготовленных с использованием специального экстракционного буфера BÜHLMANN.
- Перед проведением исследования убедитесь, что в образцах нет пузырьков.
- Перенос образца зависит от анализатора. Дополнительные сведения см. в приложении к конкретному анализатору.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Для процедуры экстракции требуется менее 1 г нативного образца кала. Соберите образец кала в простые пробирки.
Важно: образец должен быть собран без каких-либо химических или биологических добавок.

Транспортировка образцов

Образцы кала должны быть доставлены для обработки в лабораторию в течение 3 дней после сбора. Образцы кала могут быть транспортированы при комнатной температуре или в холодильнике.

Хранение образцов

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

Образцы кала должны быть охлаждены при температуре 2–8°C и извлечены в течение 3 дней с момента поступления в лабораторию. Не храните образцы при повышенных температурах.

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ КАЛА И СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСТРАКТА

Устройство CALEX® Cap

Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к устройству CALEX® Cap. Экстракты образцов кала, приготовленные с использованием устройства CALEX® Cap должно иметь окончательное разведение 1:500 и готово к использованию.

Образцы жидкого кала можно пипетировать непосредственно в устройство CALEX® Cap. Отвинтите синий колпачок и внесите в устройство 10 мкл образца кала. Закройте устройство CALEX® Cap и приступайте к этапу перемешивания (методом вихревого смешивания) в соответствии с процедурой, описанной и проиллюстрированной в инструкции по применению, поставляемой вместе с устройством CALEX® Cap.

Важно: центрифугируйте устройство CALEX® Cap в течение 10 минут при 1000-3000 g перед запуском процедуры BÜHLMANN fCAL® turbo.
Фекальный кальпротектин в экстрактах, полученных с помощью устройства CALEX® Cap от BÜHLMANN стабилен при комнатной температуре (23 °C) в течение 7 дней, при 2-8°C в течение 15 дней и при-20°C в течение не менее 23 месяцев.

Экстракты можно непосредственно замораживать и хранить в устройстве CALEX® Cap. Экстракты могут подвергаться четырем циклам замораживания-оттаивания. Перед измерением дайте замороженным экстрактам уравновеситься до комнатной температуры, тщательно перемешайте в течение 10 секунд и центрифугируйте в соответствии с инструкцией к анализу.

Набор для экстракции

Для ручного метода экстракции следуйте инструкции по использованию, прилагаемой к набору для экстракции. Экстракты образцов кала, приготовленные с использованием экстракционного набора, будут иметь окончательное разведение 1:50. Перед выполнением процедуры BÜHLMANN fCAL® turbo разбавьте экстракты кала в пропорции 1:10 в экстракционном буфере BÜHLMANN, входящем в комплект для экстракции (например, 50 мкл экстракта и 450 мкл экстракционного буфера).

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

Фекальный кальпротектин в экстрактах (1:50), полученных путем ручной экстракции, стабилен при температуре 2–8°C в течение 7 суток или при температуре -20 °C в течение 36 месяцев.

ПРОЦЕДУРА

Примечания по применению / настройки анализа

Процедуры анализа для BÜHLMANN fCAL® turbo установлены на нескольких анализаторах. Инструкции по применению, описывающие настройку устройств, предоставляются компанией BÜHLMANN по запросу. Информацию о настройках, техническом обслуживании, эксплуатации и мерах предосторожности можно получить, изучив соответствующие руководства по эксплуатации.

Подготовка реагентов

Поставляемые реагенты готовы к использованию. Аккуратно перемешайте их перед установкой в устройство. Флаконы с реагентами могут помещаться непосредственно в устройство, если в примечании к применению не указано иное.

Построение калибровочной кривой

Набор калибраторов BÜHLMANN fCAL® turbo используется для построения шеститочечной калибровочной кривой в соответствии с руководством по эксплуатации устройства. Показатели калибратора зависят от партии. Для каждой новой партии калибраторов и реагентов необходимо проводить новую калибровку. В противном случае калибровку следует проводить каждые один-два месяца в соответствии с инструкциями по применению устройства. Для получения назначенных показателей калибратора обратитесь к паспорту контроля качества, прилагаемому к комплекту калибратора BÜHLMANN fCAL® turbo. Если калибровка не может быть выполнена без ошибок, обратитесь в службу поддержки BÜHLMANN.

Контроли качества

Набор контролей BÜHLMANN fCAL® turbo должен анализироваться каждый день перед проведением экстракции кала пациента для проверки калибровочной кривой. Контроли имеют заданные диапазоны значений, указанные в паспорте контроля качества, прилагаемом к каждой партии набора контролей BÜHLMANN fCAL® turbo. Контрольные измерения должны находиться в пределах указанных диапазонов значений, что позволяет получать достоверные результаты для экстрактов кала пациента.

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

Если контрольные значения неверны, повторите измерение со свежими контрольными значениями. Если контрольные значения остаются недопустимыми, повторите калибровку анализа. Если допустимые контрольные значения не могут быть воспроизведены, после выполнения описанных выше действий обратитесь в службу поддержки BUHLMANN.

Анализ экстракта кала пациента

После того, как калибровочная кривая установлена и проверена с помощью средств контроля, могут быть исследованы экстракты кала пациента. Выполните исследование экстракта кала пациента в соответствии с инструкцией по применению и руководством по эксплуатации прибора.

Результаты

Результаты рассчитываются с помощью анализатора автоматически и представляются в мкг/г, если иное не указано в соответствующих примечаниях к инструкции по применению анализатора.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Результаты исследований должны интерпретироваться в совокупности с информацией, полученной в результате клинического обследования пациента и других диагностических процедур.
- В случае мониторинга ВЗК было высказано предположение, что многократные измерения кальпротектина в кале, выполняемые с интервалом до 4 недель, обеспечивают наилучшую диагностическую точность в прогнозировании клинического рецидива у пациентов (ссылки 23–24).
- Прием нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) может привести к повышению уровня кальпротектина в кале.
- Результаты могут быть клинически неприменимы к детям в возрасте до 4 лет, у которых слегка повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 25–28).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. Отличие органического заболевания от функционального желудочно-кишечного заболевания

Определение уровня кальпротектина в кале может быть использовано в качестве надежного и простого средства для дифференциальной

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

диагностики органических и функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ссылки 4–10). BÜHLMANN рекомендует применять те же значения отсечения, что и для ELISA BÜHLMANN fCAL®:

Клинические пороги

Концентрация кальпротектина	Интерпретация	Последующее наблюдение
< 80 мкг/г	Норма	Не требуется
80 - 160 мкг/г	Серая зона / Пограничные значения	Последующее наблюдение в течение 4–6 недель
> 160 мкг/г	Повышен	Повторное исследование по мере необходимости

Таблица 4: Диагностические диапазоны BÜHLMANN fCAL® turbo

Категории результатов основаны на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и являются рекомендованными BÜHLMANN. Все результаты исследований должны интерпретироваться в сочетании с информацией, основанной на клинических симптомах пациента, истории его болезни и других клинических и лабораторных данных:

Значения кальпротектина ниже 80 мкг/г

Значения кальпротектина в кале <80 мкг/г не указывают на воспаление в желудочно-кишечном тракте. Пациенты с низким уровнем кальпротектина не нуждаются в инвазивных процедурах для определения причины воспаления (ссылка 4).

Значения кальпротектина от 80 до 160 мкг/г и равны им

Средние уровни кальпротектина в кале от 80 до 160 мкг/г, также называемые уровнями серой зоны, не являются прямым показателем активного воспаления, требующего проведения незамедлительного инвазивного исследования. Однако наличие воспаления исключать нельзя. Для определения воспалительного статуса рекомендуется провести повторную оценку уровня кальпротектина в кале через 4–6 недель.

Значения кальпротектина более 160 мкг/г

Значения кальпротектина в кале >160 мкг/г указывают на присутствие инфильтрата нейтрофилов в желудочно-кишечном тракте; следовательно, это может сигнализировать о наличии активного воспалительного процесса. Для постановки общего клинического диагноза специалистам рекомендуется провести соответствующие

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

диагностические мероприятия.

Клиническая оценка

Способность BÜHLMANN fCAL® turbo дифференцировать данные пациентов с ВЗК и другими невоспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, включая СРК, была оценена с использованием клинических образцов, собранных у 295 пациентов и извлеченных с помощью устройства CALEX® Cap. Ста двадцати семи (127) пациентам выставлен окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или неопределенный колит), 103 пациентов страдали СРК и 65 пациентов страдали от боли в животе и/или диареи или других невоспалительных состояний, связанных с желудочно-кишечным трактом. Окончательный диагноз был подтвержден эндоскопическими и другими клиническими данными.

Оптимальная комбинация отсечения для этих пулов пациентов может быть определена с помощью ROC-анализа при 80 мкг/г и 160 мкг/г кальпротектина, что несколько более строго, чем комбинация более чувствительного нижнего отсечения 50 мкг/г с более низкой специфичностью и верхнего отсечения 200 мкг/г с несколько более низкой чувствительностью (таблицы 7 и 9).

Окончательный диагноз	**Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® ELISA**			
	< 80 мкг/г	**80 - 160 мкг/г**	**> 160 мкг/г**	**Общее**
ВЗК	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
СРК	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Другие	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Таблица 5: Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® turbo

ВЗК против не-ВЗК	**Точка принятия клинического решения**	
	80 мкг/г	**160 мкг/г**
Чувствительность (95% ДИ)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Специфичность (95% ДИ)	69.6% (62.1%, 76.5%)	81.0% (74.2%, 86.6%)
PPV (95% ДИ)	69.5% (61.9%, 76.3%)	77.1% (69.3%, 83.8%)
NPV (95% ДИ)	91.4% (85.1%, 95.6%)	87.7% (81.5%, 92.5%)
ROC AUC (95% ДИ)	0.912 (0.878, 0.946)	

Таблица 6: Клинические характеристики эффективности BÜHLMANN fCAL® turbo при дифференциации ВЗК от не-ВЗК – СРК и других расстройств, связанных с желудочно-кишечным трактом, в точках принятия клинических решений 80 мкг/г и 160 мкг/г

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

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия клинического решения	
	50 мкг/г	200 мкг/г
Чувствительность (95% ДИ)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Специфичность (95% ДИ)	62.5% (54.7%, 69.8%)	85.7% (79.5%, 90.6%)
PPV (95% ДИ)	65.6% (58.2%, 72.4%)	81.0% (73.0%, 87.4%)
NPV (95% ДИ)	93.8% (87.5%, 97.5%)	85.2% (78.9%, 90.2%)

Таблица 7: Клинические характеристики эффективности BÜHLMANN fCAL® turbo при дифференциации ВЗК от не-ВЗК – СРК и других расстройств, связанных с желудочно-кишечным трактом, в точках принятия клинических решений 50 мкг/г и 200 мкг/г

ВЗК против СРК	Точка принятия клинического решения	
	80 мкг/г	160 мкг/г
Чувствительность (95% ДИ)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Специфичность (95% ДИ)	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
PPV (95% ДИ)	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
NPV (95% ДИ)	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
ROC AUC (95% ДИ)	0.925 (0.892, 0.958)	

Таблица 8: Клинические характеристики эффективности BÜHLMANN fCAL® turbo при дифференциации ВЗК и СРК в точках принятия клинических решений 80 мкг/г и 160 мкг/г

ВЗК против СРК	Точка принятия клинического решения	
	50 мкг/г	200 мкг/г
Чувствительность (95% ДИ)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Специфичность (95% ДИ)	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
PPV (95% ДИ)	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
NPV (95% ДИ)	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Таблица 9: Клинические характеристики эффективности BÜHLMANN fCAL® turbo при дифференциации ВЗК и СРК в точках принятия клинических решений 50 мкг/г и 200 мкг/г

CI – доверительный интервал
PPV – положительная прогностическая ценность
NPV – отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC – область под кривой приема рабочих характеристик

II. Мониторинг ВЗК

Клинические пороги и оценка

Определение фекального кальпротектина является надежным и простым способом мониторинга состояния пациентов с ВЗК (ссылки 10–22).

Корреляция уровней кальпротектина и воспалительного статуса слизистой оболочки кишечника пациента, согласно эндоскопическим оценкам, была определена в трех независимых исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 10). Диагностическая ценность кальпротектина в прогнозировании

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

клинической ремиссии и рецидива в соответствии с симптомами пациента, показателями клинической активности, незапланированной потребностью в усилении терапии, госпитализации или неотложной помощи была определена в трех исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 11).

Кальпротектин[1] против активности ВЗК по эндоскопическим данным	**Исследование 1 Испания (ссылка 12)**	**Исследование 2 Испания (ссылка 13)**	**Исследование 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка 14)**
Количество пациентов и демография	89 (CD[2]) Возраст: 32-58 44% мужчины	123 (UC[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчины	99 (CD[2] после резекции) Возраст: 29-47 46.5% мужчины
Отрезок	272 мкг/г	280 мкг/г	100 мкг/г
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 10: Корреляция уровней кальпротектина с активностью ВЗК, определенная с помощью эндоскопического исследования.

[1] Результаты исследований 1 и 2 были получены с помощью анализа бокового потока BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон). Результаты исследования 3 были получены с помощью ИФА BÜHLMANN fCAL®).

[2] CD = пациенты с болезнью Крона

[3] ЯК = пациенты с язвенным колитом

Кальпротектин[1] против клинической ремиссии или рецидива	**Исследование 4 Великобритания (ссылка 15)**	**Исследование 5 Испания (ссылка 16)**	**Исследование 6 Испания (ссылка 17)**
Количество пациентов и демография	92 (CD[2]) 38% мужчины	30 (CD[3]) терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время наблюдения после измерения кальпротектина	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим рецидивом после наблюдения	11%	30%	23%
Отрезок	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8%	100%	96.1%
PPV	27.6%	75%	68.7%

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

Таблица 11: Определение диагностической ценности кальпротектина в прогнозировании клинической ремиссии и рецидива заболевания ВЗК.
[1] Результаты исследования 4 были получены с помощью ИФА BÜHLMANN fCAL®. Результаты исследований 5 и 6 были получены с помощью анализа бокового потока BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон).
2 CD = пациенты с болезнью Крона
3 ЯК = пациенты с язвенным колитом

Приведенные категории результатов являются рекомендациями, и их установление основано на сведениях о опубликованных ограничениях и клинических исследованиях эффективности. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения для пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина у пациента во время ремиссии заболевания.

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г

Уровни кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г могут достоверно указывать на низкий риск клинического рецидива у пациентов в ремиссии, у которых можно избежать инвазивных эндоскопических мероприятий (ссылки 10–22).

Значения кальпротектина в диапазоне 100–300 мкг/г

Уровни кальпротектина в кале в пределах 100–300 мкг/г могут указывать на необходимость более строгого контроля в последующий период для оценки тенденций развития заболевания.

Значения кальпротектина выше 300 мкг/г

Уровни кальпротектина в кале выше 300 мкг/г должны быть перепроверены повторно, и, если повышенные уровни подтверждаются, то необходимо провести дальнейшие диагностические мероприятия (ссылки 10–22).

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Представленные эксплуатационные характеристики были установлены на устройстве Roche cobas® 6000 c501. Характеристики других анализаторов представлены в приложении к инструкциям других анализаторов.

Сравнение методов – fCAL® turbo CALEX® Cap и fCAL® ELISA CALEX® Cap

Сравнительное исследование методик проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Сто девяносто девять (199) клинических образцов были измерены с использованием одной партии BÜHLMANN fCAL® turbo в течение 18 дней в одном цикле калибровки. Контрольные значения с конечным интервалом концентрации кальпротектина 30,3–

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

1672,5 мкг/г были установлены с помощью ИФА BÜHLMANN fCAL®. Образцы были извлечены с помощью устройства CALEX® Cap. Исследования проводили обоими методами. Смещение определялось с помощью линейной регрессии Пассинга-Баблока и анализа Бланда-Альтмана.

Анализ Бланда-Альтмана			Регрессионный анализ Пассинга-Баблока				
Знач. смещ. (95% CI)	**Нижний LoA (95% CI)**	**Верхний LoA (95% CI)**	**Уклон (95% CI)**	**Интерцепция [мкг/г] (95% CI)**	**Смещение при 80 мкг/г (95% CI)**	**Смещение при 160 мкг/г (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

Сравнение методов – fCAL® turbo CALEX® Cap и fCAL® ELISA с ручной экстракцией

Сравнительное исследование методик проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Сто шестьдесят восемь (168) клинических образцов были извлечены с использованием трех партий устройства CALEX® Cap и исследовано с использованием одной партии BÜHLMANN fCAL® turbo в течение 18 дней в одном цикле калибровки. Эталонные значения, с конечным интервалом концентрации кальпротектина, равным 30,5–1573,8 мкг/г, были установлены с использованием ручного метода экстракции и измерения экстракта с помощью ELISA BÜHLMANN fCAL®. Экстракты измерялись в единичных определениях в обоих методах. Смещение определялось с помощью линейной регрессии Пассинга-Баблока и анализа Бланда-Альтмана.

Анализ Бланда-Альтмана			Регрессионный анализ Пассинга-Баблока				
Знач. смещ. (95% CI)	**Нижний LoA (95% CI)**	**Верхний LoA (95% CI)**	**Уклон (95% CI)**	**Интерцепция [мкг/г] (95% CI)**	**Смещение при 80 мкг/г (95% CI)**	**Смещение при 160 мкг/г (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

Воспроизводимость (многосайтовое исследование по оценке точности): 3,2–9,1% CV

Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководством

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

CLSI EP05-A3 с использованием 3 лабораторных площадок x 5 дней x 5 повторений дизайна исследования. Были протестированы восемь объединенных экстрактов образцов кала с концентрациями кальпротектина в диапазоне от 47,2 до 5475,6 мкг/г.

Точность между партиями: 2,4–8,2% CV
Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 при использовании дизайна исследования: 3 партии x 5 дней x 5 повторов. Было исследовано восемь объединенных экстрактов образцов кала с концентрациями кальпротектина в диапазоне от 45,2–5303,1 мкг/г.

Воспроизводимость: 0,7–8,3% CV

Внутрилабораторная точность: 1.4–9.1% CV
Воспроизодимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием стандартизированного дизайна исследования: 20 дней x 2 прогона x 2 повтора. Были протестированы восемь объединенных экстрактов образцов кала с концентрациями кальпротектина в диапазоне от 42,9 до 5405,6 мкг/г.

Воспроизводимость экстракции – CALEX® Cap: 8.1%–19.7% CV
Воспроизводимость экстракции была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием протокола: 2 дня x 2 оператора x 3 партии устройств CALEX® Cap x 2 экстракции x 3 повтора дизайна исследования. Были протестированы двенадцать образцов кала, включая образцы с твердой, полутвердой и жидкой консистенцией, с концентрациями кальпротектина в диапазоне 42,7–3440,0 мкг/г.

Точность / Восстановление: 93.6–102% CV
Семь экстрактов образцов кала с уровнем кальпротектина в диапазоне от 44,1 до 1076,3 мкг/г были обогащены в материале калибратора 56,9 мкг/г или 227,8 мкг/г кальпротектина. Обогащение проводили в количестве 10% от объема экстракта образца. “Исходные” образцы были обогащены соответствующим объемом образца, не содержащего аналита. Образцы “Базовый уровень” и “Базовый уровень + Спайк” были измерены в четырех повторах.

Перенос образцов
Перенос образца осуществляется в соответствии с руководством CLSI EP10-A2. Статистически значимого переноса с помощью теста BÜHLMANN fCAL® turbo на устройстве Roche cobas® 6000 c501

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

обнаружено не было.

Предел обнаружения (LoD): 23.7 мкг/г
LoD был установлен в соответствии с руководящим принципом CLSI EP17-A2 и с пропорциями ложных срабатываний (α) менее 5% и ложных отрицаний (β) менее 5% на основе 120 определений, с 60 бланками и 60 низкоуровневыми повторами; и **LoB 16,7 мкг/г.**

Предел количественной оценки (LoQ): 23.7 мкг/г
LoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2, основанным на 90 определениях и цели точности 20% CV. Оценка LoQ была ниже оценки LoD и поэтому указана как равная расчетной LoD.

Диапазон линейности: 9,13–13’339 мкг/г
Линейный диапазон BÜHLMANN fCAL® turbo был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Образцы с концентрацией более 2000 мкг/г автоматически разбавлялись в пропорции 1:10. Допускалось максимальное отклонение от линейности в 10%. Для значений ниже 75 мкг/г допускалась абсолютная разница менее 7,5 мкг/г.

Эффект крючка высокой дозы
Образцы с теоретическими концентрациями до 45’715 мкг/г могут быть измерены без ограничения диапазона измерения анализа.

Интерферирующие вещества
Чувствительность анализа BÜHLMANN fCAL® turbo к пероральным фармацевтическим препаратам, пищевым добавкам, гемоглобину, а также энтеропатогенным микроорганизмам оценивалась в соответствии с руководством CLSI EP07-A2. Смещение результатов, превышающее 10%, считалось помехой.

Не было обнаружено интерференции со следующими веществами [Концентрация в мг/ 50 мг кала]: гино-Тардиферон (0,11), Преднизон (0,31), Имурек (0,19); Салофальк (5,21), Асакол (2,50), Агоптон (0,18), Ванкоцин (2,00), Сульфаметоксазол (1,6), Триметоприм (0,35), Ципроксин (1,25), Витамин Е (0,30), Бион 3 (1,06), Гемоглобин (1,25).

Не было обнаружено интерференции со следующими энтеропатогенным микроорганизмами [Концентрация в колониеобразующих единицах (КОЕ)/ мл экстракта кала]; *Escherichia coli (3,3 x 107), Salmonella enterica subsp. Enterica (9,0 x 107), Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae (5,3 x 107), Citrobacter freundii (12,9 x 107), Shigella flexneri (5,0 x 107), Yersinia*

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

enterocolitica subsp. Энтероколитика (9,8 x 107).

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

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ

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. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
24. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
25. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
26. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
27. Zhu Q. et al. PLoS ONE 11 (3) (2016).
28. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

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

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу вашего государства-члена ЕС.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ПРИ ТРАНСПОРТИРОВКЕ

Пожалуйста, сообщите своему дистрибьютору, если данный продукт был получен поврежденным.

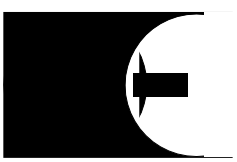
REACH

Ни один из материалов и реагентов в наборе не требует Паспорта безопасности материалов (MSDS) в соответствии с CLP-Регламентом (ЕС) № 1272/2008 и директивой ЕС 1907/2006 (REACH).

СИМВОЛЫ

	Срок годности
	Обратитесь к инструкции по применению
	Производитель
	Каталожный номер
	Медицинское устройство для диагностики *in vitro*
	Номер партии
	Температурные ограничения


Производитель
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария



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

BÜHLMANN fCAL® ELISA

ИФА анализ на кальпротектин

Для диагностики *In Vitro*

EK-CAL	96 тестов
EK-CAL2	192 тестов

Дата выпуска: 2020-10-30
Версия A2

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Русский	Страница	2
Deutsch	Seite	9
Français	Page	17
Italiano	Pagina	25
Español	Página	33
Português	Página	41

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

РУССКИЙ

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный анализ (ИФА) BÜHLMANN fCAL® представляет собой диагностический тест *in vitro* для количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначенный для оценки воспаления слизистой оболочки кишечника. Результаты анализа могут быть использованы в качестве вспомогательного средства для дифференциальной диагностики органических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), в частности, болезни Крона или язвенного колита (ЯК)) и функциональных заболеваний (синдрома раздраженного кишечника (СРК)) (ссылки 1–7), у пациентов с хроническими болями в животе и в качестве вспомогательного средства для мониторинга заболеваний ВЗК (ссылки 7–18).

Исключительно для лабораторной диагностики.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Иммуноферментный анализ BÜHLMANN fCAL® позволяет селективно измерять показатели кальпротектина в экстрактах кала методом сэндвич-ИФА. Микротитровый планшет BÜHLMANN fCAL® ELISA покрыт моноклональным антителом захвата (mAb), высокоспецифичным к гетеродимерным и полимерным комплексам кальпротектина. Экстракты образцов кала пациента, средства контроля для определения приемлемости ИФА и калибраторы загружаются в лунки микротитрового планшета. После 30-минутной инкубации при комнатной температуре и стадий промывки обнаруживающее антитело (Ab), конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP), обнаруживаются молекулы кальпротектина, связанные с антителом захвата на пластине. После инкубации и дальнейших стадий промывки добавляют хромогенный субстрат HRP, тетраметилбензидин (TMB) (образование синего цвета) с последующей реакцией остановки (изменение на желтый цвет). Поглощение измеряется при 450 нм. Конечная концентрация кальпротектина в мкг/г кала в образцах пациента определяется с помощью калибровочной кривой, полученной на основе измеренных значений калибратора.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Реагенты	Количество		Код	Приготовление
	EK-CAL	EK-CAL2		
Экстракц-ый буфер	3 флакона x 125 мл	6 флаконов x 125 мл	B-CAL-EX	Готов к использованию
Микротитров. планшет	12 x 8 полосок с лунками в рамке	2 x 12 x 8 полосок с лунками в рамке	B-CAL-MP	Готов к использованию
Упаковка планшета	3 штуки	6 штук	-	Готов к использованию
Промывочн. буфер (10x) с консервторами	1 флакон x 100 мл	2 флакона x 100 мл	B-CAL-WB	Разбавьте каждый из них 900 мл деионизиров-ой H_2O
Инкубационный буфер с консервторами	2 флакон x 125 мл	3 флакона x 125 мл	B-CAL-IB	Готов к использованию
Калибраторы A-E[1) 2)] Кальпротектин сывороточного происхождения в буферной матрице с консервантами	5 виал x 1 мл	5 виал x 1 мл	B-CAL-CASET	Готов к использованию
Контроль Низкий / Высокий [3)] Кальпротектин сывороточного происхождения в буферной матрице с консервантами	2 виалы x 1 мл	2 виалы x 1 мл	B-CAL-CONSET	Готов к использованию
Ферментная этикетка Антикальпротектин Ab, конъюгированн. с HRP	1 виала x 12 мл	2 виалы x 12 мл	B-CAL-EL	Готов к использованию
Субстрат TMB TMB в цитратном буфере	1 виала x 12 мл	2 виалы x 12 мл	B-TMB12	Готов к использованию
Стоп-раствор 0,25 M серной кислоты	1 виалы x 12 мл	2 виалы x 12 мл	B-STS12	Готов к использованию **Коррозионный агент**

Таблица 1

[1)] Фактическая концентрация кальпротектина в калибраторах A-E составляет 4, 12, 40, 120 и 240 нг/мл соответственно. Для нижнего диапазона ИФА значения калибратора должны быть следующими: 10, 30, 100, 300 и 600 мкг/г кальпротектина. Это назначение соответствует окончательному разбавлению образца в пропорции 1:2500.

[2)] Если Вы выберете процедуру ИФА с расширенным диапазоном, то номинальные значения калибратора должны быть следующими: 30, 90, 300, 900 и 1800 мкг/г кальпротектина. Это назначение соответствует окончательному разбавлению образца в пропорции 1:7500.

[3)] Контроли содержат определенное количество нативного человеческого кальпротектина. Фактические концентрации представлены в дополнительном листе данных по контролю качества.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ И РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

Запечатанные / неоткрытые реагенты	
Хранить при температуре 2-8°C. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетках.	
Открытые / восстановленные реагенты	
Экстракционный буфер	Хранить до 6 месяцев при температуре 2-8°C.
Микротитровый планшет	Незамедлительно верните неиспользованные полоски в упаковку из фольги, содержащую осушитель, и плотно закройте по всему краю застежки-молнии. Хранить до 6 месяцев при температуре 2-8°C.
Разбавленный промывочный буфер	
Инкубационный буфер	

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

Калибраторы	Хранить до 6 месяцев при температуре 2-8°C.
Контроли	
Энзимная метка	
ТМВ субстрат	
Стоп-раствор	

Таблица 2

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Устройства для извлечения кала
Устройства для извлечения кала, описанные в таблице 3, не поставляются вместе с комплектом и должны заказываться отдельно.

Комплект экстракционных устройств	Количество	Код
CALEX® Cap	Доступны упаковки по 50, 200 или 500 пробирок, каждая из которых заполнена 5 мл экстракционного буфера. Готов к использованию	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Smart-Prep	50 пробирок, шпателей и колпачков-оснований	B-CAL-RD
ScheBo® Quick-Prep™	50 пробирок, состоящих из пробирки, конуса и дозирующего наконечника, каждая из которых заполнена 1,3 мл экстракционного буфера. Готов к использованию.	B-CAL-SO50

Таблица 3

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Процедура извлечения
•100 мкл и 1000 мкл прецизионных пипеток с одноразовыми наконечниками.
•Одноразовые полистирольные или полипропиленовые пробирки для переноса экстрактов (опционально).
•Рабочая станция с ламинарным потоком.
•Многопробирочный вихревой смеситель / Вихревой смеситель.
• Микроцентрифуга (≥3000 x g).
• Центрифуга (≥500 x г).
• Устройства для экстракции (см. таблицу 3) или для процедуры извлечения вручную:
–10 мкл одноразовых петель для инокуляции;
–полипропиленовые пробирки объемом 15 мл с завинчивающимися крышками;
–точный противовес (10–200 мг).

Процедура ИФА
•10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл прецизионных пипеток с одноразовыми наконечниками.
•Одноразовые полистирольные или полипропиленовые пробирки для приготовления разведений образцов.
•Цилиндр объемом 1000 мл для разбавления промывочного буфера.
•Мойка для микротитровых планшетов (см. технические меры предосторожности) или выжимная бутылка для промывочного буфера.
•Шейкер для микротитровых планшетов (см. технические меры предосторожности).
•Впитывающая бумага.
•Считыватель микротитровых планшетов для измерения поглощения при длине волны 450 нм.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Меры предосторожности
•Калибраторы и реагенты для контроля качества содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что тесты показали отрицательный результат к наличию поверхностного антигена HBV, антител к HCV и HIV1/2, реагенты должны обрабатываться так, как будто они способны передавать инфекции, и должны обрабатываться в соответствии с правилами Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
•Стоп-раствор содержит серную кислоту (0,25 М). Реагент раздражает глаза, кожу и слизистые оболочки. Избегайте контакта с глазами, кожей и одеждой. При контакте с глазами или кожей незамедлительно промойте большим количеством воды.
•Избегайте контакта реагентов с кожей, глазами или слизистыми оболочками. В случае контакта незамедлительно промойте большим количеством воды; в противном случае могут возникнуть раздражение / ожоги.
•Реагенты и химические вещества должны рассматриваться как опасные отходы в соответствии с национальными руководящими принципами или правилами по биологической безопасности.

Технические меры предосторожности

Компоненты набора

•Остатки в лунках микропланшета образуются в результате производственного процесса. Они удаляются на этапе промывки (этап 3 процедуры анализа) и не влияют на результаты.
•Компоненты не должны использоваться по истечении срока годности, указанного на этикетках.
•Не смешивайте и не используйте компоненты из наборов с разными номерами партий.
•Следует приложить все усилия для обеспечения того, чтобы не происходило перекрестного загрязнения между реагентами, образцами или между скважинами.
•Дайте реагентам уравновеситься до комнатной температуры. Хорошо перемешайте (вихревое смешивание) реагенты перед использованием.
•Микропланшет нельзя использовать повторно.

Процедура ручной экстракции

• Для получения достоверных количественных результатов важно полностью гомогенизировать добавленный образец кала в экстракционном буфере. Следует избегать загрязнений в верхней части экстракционной пробирки. После смешивания может остаться небольшое количество нерастворимых частиц.

Процедура ИФА

•В процедуре ИФА этапы промывки необходимы для

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

обеспечения воспроизводимых результатов. Перед экстракцией дайте промывочному буферу инкубироваться в лунках не менее 20 секунд.
•Если используется автоматическая мойка, настоятельно рекомендуется использовать “режим планшета”, при котором каждый этап процесса (дозирование / аспирация) выполняется на всех полосках последовательно, прежде чем прибор перейдет к следующему циклу мойки. Таким образом, гарантируется минимальное время инкубации.
•Указанное количество циклов промывки является обязательным для обеспечения воспроизводимых результатов.
•Шейкер для планшетов должен быть отрегулирован примерно на 450 об / мин (7,5 Гц). Более высокая частота вращения может привести к плохой линейности разбавления при значениях от 300/900 до 600/1800 мкг/г. Вместо горизонтального движения следует использовать вращательное движение.
•Для обеспечения завершения реакции антиген/антитело время инкубации на этапе 5 должно составлять не менее 30 минут. Более длительное время инкубации (превышающее не более, чем на 5 минут) не влияет на конечный результат.
•Ферментная метка инактивируется кислородом и очень чувствительна к азиду натрия, тимеросалу, хлорной кислоте и ароматическим хлоргидроуглеродам, часто встречающимся в лабораторных источниках воды. Поэтому необходимо использовать только деионизированную воду высокого качества.
•При каждом анализе должна создаваться новая стандартная кривая (каждый планшет или частичный планшет).
•Если начальная концентрация неизвестного образца превышает концентрацию самого высокого калибратора, калибратора E, образец может быть дополнительно разбавлен инкубационным буфером и снова проанализирован в соответствии с процедурой анализа. При расчете результатов необходимо учитывать результирующий общий коэффициент разбавления.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Для процедуры экстракции требуется менее 1 г нативного образца кала. Соберите образец кала в обычные пробирки.
Важно: образец должен быть собран без добавления каких-либо химических или биологических добавок.

Транспортировка образцов
Образцы кала должны быть получены для обработки в лаборатории в течение 3 дней после сбора. Образцы могут транспортироваться при комнатной температуре или в холодильнике.

Хранение образцов
Образцы кала должны быть охлаждены при температуре 2–8°C и экстракция должна быть произведена в течение 3 дней с момента поступления в лабораторию. Не храните образцы при повышенных температурах.

ЭКСТРАКЦИЯ ОБРАЗЦОВ КАЛА И СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСТРАКТА

1. CALEX® Cap
1.1 Процедура экстракции
Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к устройству CALEX® Cap (код B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500).
Устройство CALEX® Cap: образцы жидкого кала можно пипетировать непосредственно в устройство CALEX® Cap. Отвинтите синий колпачок и капните в устройство 10 мкл образца кала. Закройте устройство CALEX® Cap и приступайте к этапу вихревого смешивания в соответствии с процедурой экстракции, описанной и проиллюстрированной в инструкции по применению, поставляемой вместе с устройством CALEX® Cap.

Важно: после экстракции центрифугируйте устройство CALEX® Cap в течение 5 минут при 500–3000 x г и продолжайте процедуру анализа.

1.2 Стабильность экстракта
Экстракты кала для анализа на кальпротектин, полученные с помощью устройства CALEX® Cap, стабильны при комнатной температуре (23°C) в течение 7 дней и при температуре 2–8°C в течение 15 суток. Для более длительного хранения замораживайте экстракты при температуре –20°C. Замороженные экстракты стабильны в течение периода до 23 месяцев.
Экстракты можно замораживать и хранить непосредственно в устройстве CALEX® Cap. Экстракты могут подвергаться четырем циклам замораживания-оттаивания. Перед измерением дайте замороженным экстрактам уравновеситься до комнатной температуры, тщательно перемешайте в течение 10 секунд и центрифугируйте в течение 5 минут при 500–3000 x г.

2. Другие экстракционные устройства
2.1 Процедура экстракции

Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к соответствующему устройству для экстракции:
• Устройство для экстракции кала Roche (код 10745804322) или BÜHLMANN Smart-Prep (код: B-CAL-RD).
• ScheBo® Quick-Prep™ (код B-CAL-SO50).

Важно: после экстракции с помощью BÜHLMANN Smart Prep и ScheBo® Quick-Prep™ центрифугируйте пробирки в течение 5 минут при 3000 x г. В качестве альтернативы, перенесите гомогенат в пробирку Эппендорфа объемом 2 мл и центрифугируйте в микроцентрифуге в течение 5 минут при 3000 x г. Перелейте супернатант в свежую, маркированную пробирку и продолжите процедуру анализа.

2.2 Стабильность экстракта
Экстракты кальпротектина, полученные с помощью Smart-Prep или ScheBo® Quick-Prep™, стабильны при температуре 2–8°C в течение ≤7 дней или при температуре –20°C в течение 36 месяцев.

3. Ручной метод экстракции
3.1 Процедура экстракции

1. Наклейте этикетку и взвесьте пустую полипропиленовую пробирку, включая петлю для инокуляции. Обратите внимание на вес (тара).
2. Извлеките от 50 до 100 мг образца кала с помощью петли для инокуляции, поместите его в предварительно взвешенную пробирку и снова взвесьте (вес брутто). Избегайте поглощения пищевых волокон, присутствующих

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

в образце во время процесса отбора образца.
3. Рассчитайте чистое количество образца, вычитая тару из веса брутто, разорвите петлю для инокуляции и оставьте нижнюю часть петли в пробирке.
4. Добавьте экстракционный буфер в соответствии с формулой
x мг кала x 49 = y мкл экстракционного буфера (например, 50 мг кала + 2450 мкл буфера) в пробирку и закройте пробирку.
5. Извлеките образец:
• Энергично встряхните экстракционную пробирку, содержащую буфер и образец кала с помощью вихревого смесителя (мультипробирочного) в течение 30 секунд (с максимальной скоростью).
• Затем инкубируйте экстракционную пробирку около 25 +/- 5 минут на шейкере для планшета со скоростью около 400 об / мин. Петля для инокуляции внутри трубки служит для усиления перемешивания.
• Снова энергично закрутите вытяжную трубку в течение 30 секунд.
6. Перенесите 1,5 мл гомогената в пробирку Эппендорфа объемом 2 мл и центрифугируйте в микроцентрифуге в течение 5 минут при 3000 x г.
7. Перелейте супернатант в свежую пробирку с этикеткой и продолжите процедуру анализа или сохраните экстракты (см. раздел «Хранение экстрактов»).

3.2 Стабильность экстракта
Экстракты кальпротектина, полученные путем ручной экстракции, могут храниться при температуре 2–8 °C в течение ≤7 дней или при –20 °C в течение 36 месяцев.

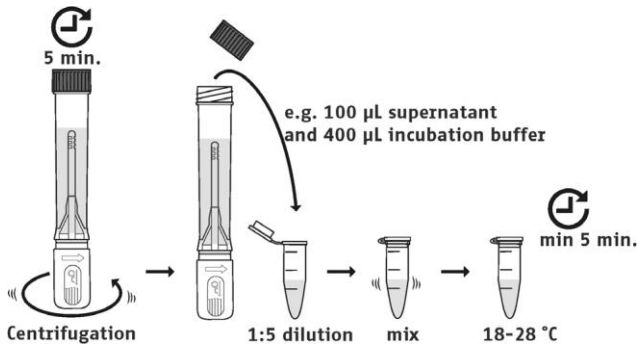
РАБОЧИЙ ДИАПАЗОН

Анализ может быть выполнен в соответствии со следующими процедурами: процедура ИФА нижнего или расширенного диапазона. Соответствующая процедура должна быть выбрана в зависимости от ожидаемой концентрации кальпротектина:
•Для образцов до 600 мкг/г кальпротектина выберите процедуру нижнего диапазона (рабочий диапазон 10–600 мкг/г).
•Если образцы имеют тенденцию превышать 600 мкг/г, выберите процедуру расширенного диапазона (рабочий диапазон 30–1800 мкг/г).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Важно: перед использованием дайте всем реагентам уравновеситься в течение не менее 30 минут при температуре 18–28°C. Используйте исключительно разбавленные экстракты кала. Калибраторы и элементы управления готовы к использованию.

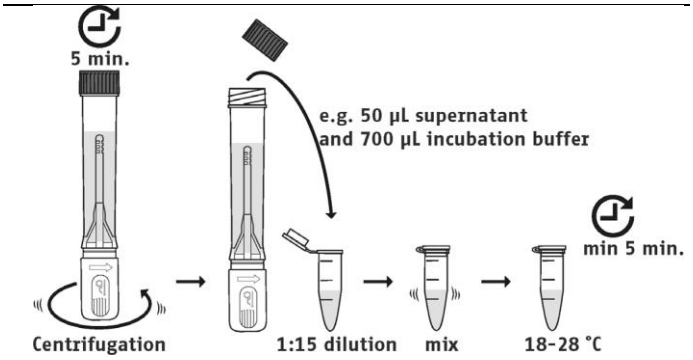
1. Вариант разбавления образца 1:
Рабочий диапазон 10–600 мкг/г
1.1. После экстракции с помощью устройства CALEX® Cap, разбавьте экстракты кала в пропорции 1:5 инкубационным буфером (например, 100 мкл экстракта и 400 мкл инкубационного буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28°C, прежде чем переходить к этапу 4c.



1.2 Ручная экстракция, Smart-Prep или ScheBo® Quick - Prep™: Разбавьте экстракты кала 1:50 инкубационным буфером (например, 20 мкл экстракта и 980 мкл инкубационного буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28°C, прежде чем переходить к этапу 4c.

1. ` Вариант разбавления образца 2:
Рабочий диапазон 30–1800 мкг/г
Рабочий диапазон может быть расширен в 3 раза, если разбавить образцы в пропорции 1:7500 вместо 1:2500. Эта процедура рекомендуется, если прогнозируется высокая концентрация кальпротектина.

1.1` Устройство CALEX® Cap: разбавьте экстракты кала в пропорции 1:15 с помощью инкубационного буфера (например, 50 мкл экстракта и 700 мкл инкубационного буфера) и тщательно перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28°C, прежде чем переходить к этапу 4c.



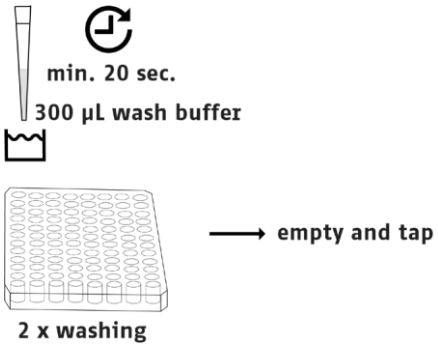
1.2 ` Ручная экстракция, Smart-Prep или ScheBo® Quick Prep™: Разбавьте экстракты кала 1:150 инкубационным буфером (например, 20 мкл экстракта и 2980 мкл инкубационного буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28 °C, прежде чем переходить к этапу 4c.

2. Подготовьте рамку для планшетов с достаточным количеством полосок для тестирования необходимого количества калибраторов, контрольных и разбавленных образцов. Удалите лишние полоски из рамки и незамедлительно снова запечатайте их в пакет из фольги вместе с упаковками осушителя. Хранить в холодильнике.

3. Дважды промойте лунки с покрытием, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку. Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.

Важно: оставьте промывочный буфер в лунках минимум на 20 секунд во время каждого этапа промывки.

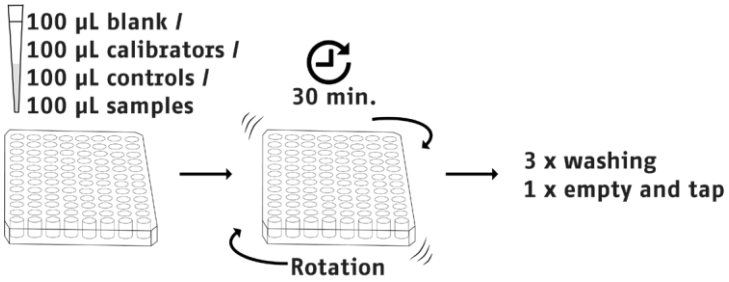
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru



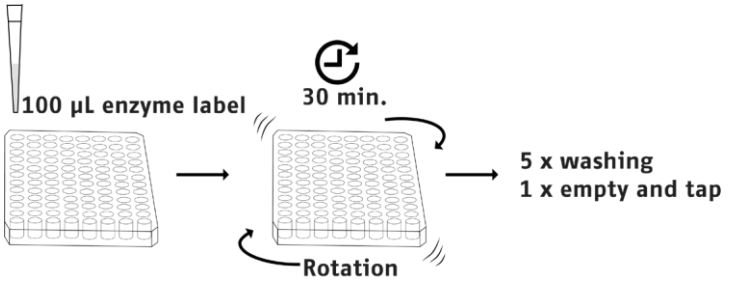
4a. Пипетируйте 100 мкл инкубационного буфера (бланк) и пипетируйте 100 мкл калибратора A-E в соответствующие лунки.
4b. Пипетируйте 100 мкл контролей низких и высоких уровней в соответствующие лунки.
4c. Пипетируйте по 100 мкл каждого разбавленного образца в последующие лунки.

5. Накройте планшет герметиком и инкубируйте в течение 30 + макс. 5 мин на шейкере для планшетов, установленном на ~450 об / мин при температуре 18–28°C (см. технические меры предосторожности – процедура ИФА).

6. Извлеките планшет из герметичной упаковки. Опорожните лунки и промойте три раза, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку (см. технические меры предосторожности – процедура ИФА). Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.

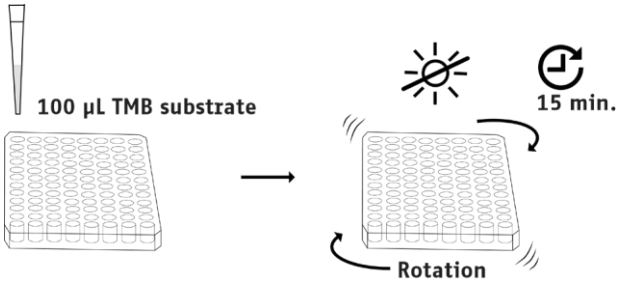


7. Пипетируйте 100 мкл ферментной метки во все лунки.
8. Накройте планшет герметичной упаковкой и инкубируйте в течение 30 ± 5 мин на шейкере пластин, установленном на ~450 об / мин при температуре 18–28°C.
9. Извлеките планшет из герметичной упаковки. Опорожните лунки и промойте пять раз, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку. Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.

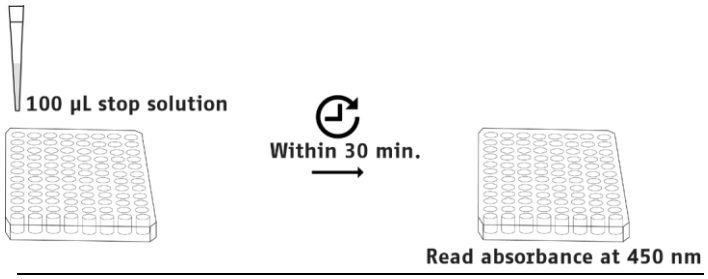


Важно: дайте раствору субстрата TMB уравновеситься до 18–28°C.

10. Пипетируйте 100 мкл раствора субстрата TMB во все лунки.
11. Накройте планшет герметиком, защитив планшет от воздействия прямого света и инкубируйте в течение 15 ±2 мин на шейкере при~450 об / мин при температуре 18–28°C.



12. Пипетируйте 100 мкл стоп-раствора во все лунки. Удалите пузырьки воздуха с помощью наконечника пипетки. Перейдите к шагу 13 в течение 30 минут.
13. Произведите считывание при 450 нм в считывателе для микропланшета.



КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Тщательное соблюдение данной инструкции по применению необходимо для успешного использования продукта. Надежные результаты могут быть получены исключительно с помощью точных лабораторных методов и точного соблюдения данной инструкции по применению.

Комплект BÜHLMANN fCAL® ELISA поставляется с двумя контролями: низким и высоким. Соответствующие референтные значения контролей указаны в паспорте контроля качества, прилагаемом к каждому комплекту. Значения и диапазоны, указанные в паспорте реагентов для контроля качества, всегда относятся к текущей партии комплекта и должны использоваться для прямого сравнения результатов. Если результаты для низкого и/или высокого контроля выходят за пределы диапазона, указанного в паспорте контроля качества, рекомендуется считать весь прогон недействительным.

Рекомендуется использовать образцы внутреннего контроля в дополнение к контрольным наборам в соответствии с местными и национальными правилами. Рекомендуется использовать образцы внутреннего контроля для обеспечения повседневной достоверности результатов. Поскольку в продаже нет контроля для кальпротектина, мы рекомендуем использовать пул экстрактов кала с нормальным и патологическим уровнем для внутреннего контроля качества.

Воспроизводимость стандартных параметров кривой и контрольных значений должна находиться в установленных пределах лабораторной приемлемости. Если результаты анализа не соответствуют установленным пределам и повторное исследование исключает ошибки в технике, проверьте следующие

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

аспекты: i) устройства для пипетирования, контроля температуры и синхронизации; ii) настройки считывателя ИФА; iii) сроки годности реагентов; iv) условия хранения и инкубации; v) раствор субстрата TMB должен быть бесцветным; vi) чистота воды; vii) методы аспирации и промывки.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Значения калибратора BÜHLMANN fCAL® ELISA присваиваются при многократных измерениях с использованием внутреннего эталонного материала на основе сыворотки крови человека и процедуры измерения BÜHLMANN fCAL® ELISA. Концентрацию кальпротектина во внутреннем эталонном материале определяли с использованием очищенного MRP8/14 из гранулоцитов человека в качестве основного эталонного материала.

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Стандартная кривая
Рекомендуется использовать программное обеспечение, способное выполнять следующие вычисления; вычтите значение оптической плотности (ОП) бланка из каждой лунки калибратора, чтобы вычислить показатели калибратора. Получите стандартную кривую, используя 4-параметрическую логистическую (4 PL) подгонку.

Контроли и образцы

Рекомендуется использовать программное обеспечение, способное выполнять следующие вычисления; вычтите значение бланка ОП из каждой лунки с контролем / с образом. Рассчитайте концентрацию кальпротектина в контроле / образце в каждой лунке в мкг/г, используя установленную стандартную кривую.

Рабочий диапазон 10–600 мкг/г

Если вы выберете процедуру ИФА в нижнем диапазоне, то концентрации калибратора должны быть установлены как: 10, 30, 100, 300 и 600 мкг/г кальпротектина. Дополнительные коэффициенты разбавления (при использовании другого конечного разбавления, чем 1:2500) должны быть умножены на результаты для получения окончательных показателей.

Типичные данные (результаты и стандартная кривая) приведены в таблице 12 и на рисунке 1. Эти результаты и стандартная кривая приведены только в демонстрационных целях. Для каждого набора анализируемых образцов должна быть сгенерирована стандартная кривая.

Рабочий диапазон 30–1800 мкг/г

При выборе процедуры ИФА с расширенным диапазоном необходимо установить следующие номинальные значения калибратора: 30, 90, 300, 900 и 1800 мкг/г кальпротектина. Дополнительные коэффициенты разбавления (при использовании другого конечного разбавления, чем 1:7500) должны быть умножены на результаты для получения окончательных показателей.

Типичные данные (результаты и стандартная кривая) приведены в таблице 15 и на рисунке 4. Эти результаты и стандартная кривая приведены только в демонстрационных целях. Для каждого набора анализируемых образцов должна быть сгенерирована стандартная кривая.

ОГРАНИЧЕНИЯ

•Реагенты, поставляемые с набором BÜHLMANN fCAL® ELISA, предназначены исключительно для определения уровня кальпротектина в образцах кала человека.
•Результаты исследований должны интерпретироваться в сочетании с информацией, полученной в результате клинического обследования пациента и других диагностических процедур.
•Для мониторинга заболевания ВЗК было высказано предположение, что многократные измерения кальпротектина в кале, выполняемые с интервалом до 4 недель, обеспечивают наилучшую диагностическую точность в прогнозировании клинического рецидива у пациентов (ссылки 19–20).
•У некоторых пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), уровень кальпротектина в кале повышается.
•Результаты могут быть клинически неприменимы к детям в возрасте до 4 лет, у которых слегка повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 21–24).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. Дифференциальная диагностика органического заболевания и функционального заболевания желудочно-кишечного тракта

Категории результатов основаны на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и являются рекомендациями BÜHLMANN. Все результаты анализов должны интерпретироваться в сочетании с информацией, полученной из клинических симптомов пациента, истории болезни и других клинических и лабораторных данных.

Клинические пределы
Результаты 58 клинических образцов пациентов с диагнозом СРК и 131 клинических образцов пациентов с диагнозом ВЗК, полученных в ходе международного клинического исследования, были проанализированы для получения показателей, представленных в таблице 4.

Концентрация кальпротектина	Интерпретация	Отслеживание
< 80 мкг/г	Нормальное значение	Не требуется
80 – 160 мкг/г	Серая зона / Пограничный показатель	Отслеживание а пределах 4–6 недель
> 160 мкг/г	Повышенные значения	Повтор при необходимости

Таблица 4

Значения кальпротектина ниже 80 мкг/г

Значения кальпротектина в кале <80 мкг/г не указывают на воспаление в желудочно-кишечном тракте. Пациенты с низким уровнем кальпротектина не нуждаются в инвазивных процедурах для определения причины воспаления.

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

Значения кальпротектина составляют от 80 до 160 мкг/г и равны им.

Средние уровни кальпротектина в кале от 80 до 160 мкг/г, также называемые уровнями серой зоны, не являются прямым показателем активного воспаления, требующего немедленного наблюдения с инвазивным исследованием. Однако наличие воспаления исключать нельзя. Для определения воспалительного статуса рекомендуется провести повторную оценку уровня кальпротектина в кале через 4–6 недель.

Значения кальпротектина выше 160 мкг/г

Значения кальпротектина в кале >160 мкг/г указывают на инфильтрат нейтрофилов в желудочно-кишечном тракте; следовательно, это может сигнализировать о наличии активного воспалительного заболевания. Для выставления общего клинического диагноза специалистами предлагаются соответствующие дальнейшие диагностические мероприятия.

Клиническая оценка

Способность ИФА BÜHLMANN fCAL® различать пациентов с ВЗК и другими невоспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, включая СРК, была проверена в клиническом исследовании с участием в общей сложности 337 взрослых пациентов и пациентов детского возраста. У ста тридцати пяти (135) пациентов выставлен окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или неопределенный колит), 130 пациентов страдали СРК и 72 пациента страдали болями в животе и/или диареей или другими невоспалительными заболеваниями, связанными с желудочно-кишечным трактом (см. таблицу 5). Окончательный диагноз был подтвержден эндоскопическими и другими клиническими данными.
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 83,7% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и невоспалительными состояниями, связанными с ЖКТ, включая СРК. Анализ кривой ROC привел к AUC 0,923 (см. таблицу 6).
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 85,4% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и СРК. Анализ кривой ROC привел к AUC 0,933 (см. таблицу 8).
Оптимальная комбинация отсечения для этих пулов пациентов может быть определена с помощью ROC-анализа при 80 мкг/г и 160 мкг/г кальпротектина, что несколько более строго, чем **комбинация более чувствительного нижнего отсечения 50 мкг/г** с более низкой специфичностью и **верхнего отсечения 200 мкг/г** с несколько более низкой чувствительностью (таблицы 7 и 9).

II. Мониторинг ВЗК

Клинические показатели и их оценка
Определение фекального кальпротектина также является надежным и простым способом помочь в мониторинге пациентов с ВЗК (ссылки 7–18).
Корреляция уровней кальпротектина и воспалительного статуса слизистой оболочки кишечника пациентов, согласно эндоскопическим оценкам, была определена в трех независимых исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 10). Диагностическая ценность кальпротектина в прогнозировании клинической ремиссии и рецидива в соответствии с симптомами пациента, показателями клинической активности, незапланированной потребностью в усилении терапии, госпитализации или неотложной помощи была определена в трех исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 11).
Приведенные категории результатов являются рекомендациями, и их установление основано на сведениях об опубликованных ограничениях и клинических исследованиях эффективности. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения для пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина пациента во время ремиссии заболевания.

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г могут достоверно указывать на низкий риск клинического рецидива в эндоскопической ремиссии, поэтому у пациентов можно избежать проведения инвазивных эндоскопических процедур (ссылки 7–18).

Значения кальпротектина от 100 до 300 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале в пределах 100–300 мкг/г могут указывать на необходимость более строгого контроля в последующий период для оценки тенденций развития заболевания.

Значения кальпротектина выше 300 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале выше 300 мкг/г должны быть исследованы повторно, и, если подтверждаются повышенные уровни, необходимо провести дальнейшие следственные процедуры (ссылки 7–18).

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Эксплуатационные характеристики ИФА BÜHLMANN fCAL® были установлены с использованием метода ручной экстракции, если не указано иное.

Рабочий диапазон: 10–600 мкг/г
Повторяемость (внутрианалитическая точность): 1,9–8,0% CV
Внутрилабораторная точность: 5,5–14,0% CV

Воспроизводимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A2 с использованием схемы исследования: 22 дня x 2 повтора. Были протестированы десять образцов кала. Значения представлены в таблице 13.

Предел обнаружения (LoD): 4,2 мкг/г
LoD был установлен в соответствии с руководящим принципом CLSI EP17-A и с пропорциями ложных срабатываний (α) менее 5% и ложных отрицаний (β) менее 5% на основе 240 исследования, с 80 бланками (буфер извлечения) и 160 низкоуровневыми повторами; и **LoB 0,29 мкг/г**. Функция кубического сплайна использовалась для экстраполяции значений OD пустых образцов на концентрацию кальпротектина в мкг/г.

Предел количественного определения (LoQ): 9,8 мкг/г
Сорок определений десяти образцов кала со значениями от 5,2 до 1254 мкг/г были выполнены для получения нелинейного прецизионного профиля и установления LoQ на основе цели точности 20% CV. Точные измерения <15% CV были получены во всем стандартном диапазоне

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

от 10 до 600 мкг/г. Результаты представлены на рисунке 2.

Линейность: 10–600 мкг/г
Линейный диапазон ИФА BÜHLMANN fCAL® был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Допускалось максимальное отклонение от линейности ±20 %. Для значений ниже 75 мкг/г допускалась абсолютная разница менее ±15 мкг/г (таблица 14).

Точность / Восстановление
Общее смещение: -1,1%;
Нижний предел соглашения: -17,5%,
Верхний предел соглашения: 15,4%
Четыре отрицательных экстрагированных образца кала были изменены увеличивающимся количеством кальпротектина из образцов сыворотки. Результаты представлены на рисунке 3.

Эффект крючка высокой дозы
Образцы с теоретическими концентрациями до 60 000 мкг/г могут быть проанализированы без ограничения диапазона измерения анализа.

Рабочий диапазон: 30–1800 мкг/г
Повторяемость (внутрианалитическая точность): 1,7–5,8% CV
Внутрилабораторная точность: 3,1–9,4% CV

Воспроизводимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием схемы исследования: 10 дней x 2 прогона x 4 повтора. Было исследовано семь объединенных экстрактов образцов кала (таблица 16).

Точность между партиями: 4,2–9,7% CV

Воспроизводимость от партии к партии была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием дизайна исследования 3 лота x 5 дней x 5 повторов. Было проанализировано шесть извлеченных образцов кала. Для анализа данных использовалась модель компонентов дисперсии случайных эффектов. Значения представлены в таблице 17.

Воспроизводимость (многосайтовое исследование оценки точности): 6,4–19,0% CV

Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководящим принципом CLSI EP05-A3, используя 3 сайта x 2 оператора x 5 дней x 2 прогона x 4 повторения проекта исследования. Для двух запусков, выполняемых каждый день, операторы чередовали два разных считывателя ИФА и две разные партии реагентов. Всего на исследуемых участках было использовано три партии реагентов. Были протестированы пять объединенных экстрактов образцов кала (таблицы 18 и 19).

Предел обнаружения (LoD): 12,6 мкг/г

LoD был установлен в соответствии с руководящим принципом CLSI EP17-A2 и с пропорциями ложных срабатываний (α) менее 5% и ложных отрицаний (β) менее 5% на основе 120 определений, с 60 бланками (буфер извлечения) и 60 низкоуровневыми повторами; и LoB 8,3 мкг/г.

Предел количественного определения (LoQ): 21,3 мкг/г

LoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2, основанным на 60 определениях и целевой точности 20% CV.

Линейность: 30–1800 мкг/г

Линейный диапазон ИФА BÜHLMANN fCAL® был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Допускалось максимальное отклонение от линейности ±20%. Для значений ниже 75 мкг/г допускалась абсолютная разница менее ±15 мкг/г (таблица 20).

Точность / Восстановление: 96,4–102,2%

Семь экстрактов образцов кала с уровнями кальпротектина, охватывающими диапазон измерения теста, были обогащены 180 мкг/г кальпротектина в материале калибратора. Добавление проводили при 10% объеме экстракта образца. “Исходные” образцы заливали соответствующим количеством инкубационного буфера. Образцы “Базовый уровень” и “Базовый уровень + спайк” были измерены в трех повторах с одной партией реагентов. Результаты представлены в таблице 21.

Преаналитика
Рабочие характеристики ИФА BÜHLMANN fCAL® в отношении преданалитических процедур были установлены с использованием рабочего диапазона 30–1800 мкг/г.

Воспроизводимость экстракции – ручная экстракция: 9,5–20,5%

Воспроизводимость экстракции была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием схемы исследования 10 экстракций x 2 повтора. Было протестировано девять клинических образцов кала, включая твердую, полутвердую и жидкую консистенцию образцов. Значения представлены в таблице 22.

Воспроизводимость экстракции – CALEX® Cap: 7,9–16,9%

Воспроизводимость экстракции была установлена в соответствии с руководящими принципами CLSI EP05-A3 с использованием 3 партий CALEX® Cap x 4 извлечения x 4 повторения дизайна исследования. Было протестировано пять клинических образцов кала, включая твердую, полутвердую и жидкую консистенцию образцов. Значения представлены в таблице 23.

Сравнение метода CALEX® Cap и метода ручной экстракции

Смещение при 80 мкг/г: 5,9% (95% ДИ: 1,4–12,2%)
Смещение при 160 мкг/г: 12,0% (95% ДИ: 7,8–17,0%)
Среднее смещение: 10,1% (95% ДИ: 5,7–14,5%)

Сравнительное исследование метода проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Двести сорок один (241) клинический образец был извлечен с помощью устройств CALEX® Cap из одной партии. Эталонные значения были установлены в экстрактах, полученных методом ручной экстракции. В общей сложности было оценено 172 образца в диапазоне измерений ELISA

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

BÜHLMANN fCAL® и контрольном интервале концентрации кальпротектина 30,5–1496,6 мкг/г. Для обоих методов были проведены однократные экстракции и исследования. Смещение определяли с помощью линейной регрессии Пассинга-Баблока и анализа Бланда-Альтмана (таблицы 24 и 25).

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Чувствительность анализа BÜHLMANN fCAL® ELISA к пероральным фармацевтическим препаратам, пищевым добавкам, гемоглобину, а также энтеропатологическим микроорганизмам оценивали в соответствии с руководством CLSI EP07-A2, используя расширенный рабочий диапазон. Смещение результатов, превышающее 10%, рассматривалось как помеха. Не было обнаружено никаких помех для веществ, перечисленных в таблице 26, вплоть до указанных концентраций. Не было обнаружено никаких помех от воздействия энтеропатологических микроорганизмов, перечисленных в таблице 27, вплоть до указанных количеств колониеобразующих единиц (КОЕ) на мл экстракта образца кала.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Клинические исследования

Клиническое исследование – отличие органического заболевания от функционального желудочно-кишечного заболевания

Окончат. диагноз	Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® ELISA			
	< 80 мкг/г	80 - 160 мкг/г	> 160 мкг/г	Общее
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	48 (66.7%)	10 (13.9%)	14 (19.4%)	72 (100%)

Таблица 5

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 против не-ВЗК	Точка принятия 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 7

ВЗК против СРК	Точка принятия 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 8

ВЗК против СРК	Точка принятия 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%)

Таблица 9

Не-ВЗК – ВЗК + другие инфекции ЖКТ
ДИ – доверительный интервал
PPV – положительная прогностическая ценность
NPV – отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC – область под кривой приема рабочих характеристик

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против активности ВЗК по эндоскопическим данным	Исследов. 1 Испания (ссылка 9)	Исследов. 2 Испания (ссылка 10)	Исследов. 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка 11)
Количество пациентов и демография	89 (CD[2]) Возраст: 32-58 44% мужчин	123 (UC[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчин	99 (CD[2] после резекции) Возраст: 29-47 46.5% мужчин
Отрезок	272 мкг/г	280 мкг/г	100 мкг/г
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 10

[1] Исследования 1 и 2 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон. Исследование 3 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против клинической ремиссии или рецидива	Исследов. 4 Великобритания (ссылка 12)	Исследов. 5 Испания (ссылка 13)	Исследов. 6 Испания (ссылка 14)
Количество пациентов и демография	92 (CD[2]) 38% мужчины	30 (CD[3]) терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия инфликсимабом Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время наблюдения после измерения кальпротектина	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим рецидивом после наблюдения	11%	30%	23%
Отрезок	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8%	100%	96.1%
PPV	27.6%	75%	68.7%

Таблица 11

[1] Исследование 4 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
Исследования 5 и 6 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ПРОЦЕДУРА НИЖНЕГО ДИАПАЗОНА 10–600 мкг/г

Пример результатов

	Конц. [мкг/г]	Поглощение [ОП]	Подсчет конц.[мкг/г]	CV конц. [%]
Средний бланк		**0.096**		
Кал. A	10	0.073		
Кал. A	10	0.066		
Кал. A среднее	**10**	**0.069**		**7.2**
Кал. B	30	0.143		
Кал. B	30	0.153		
Кал. B среднее	**30**	**0.148**		**4.8**
Кал. C	100	0.465		
Кал. C	100	0.456		
Кал. C среднее	**100**	**0.460**		**1.4**
Кал. D	300	1.121		
Кал. D	300	1.135		
Кал. D среднее	**300**	**1.128**		**0.9**
Кал. E	600	1.658		
Кал. E	600	1.671		
Кал. E среднее	**600**	**1.664**		**0.6**
Контр. низк.		0.201	41	
Контр. низк.		0.189	39	
Контр.низк.ср.		**0.195**	**40**	**4.4**
Контр. выс.		0.598	134	
Контр. выс.		0.583	130	
Контр. выс.ср.		**0.590**	**132**	**1.8**

Таблица 12

Пример стандартной кривой

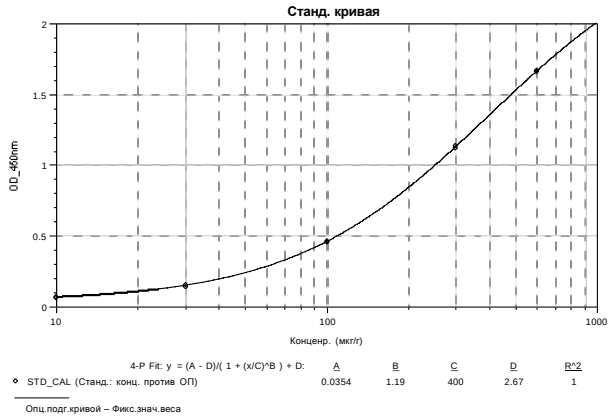


Рисунок 1

Внутрилабораторная точность

№ образца	n	Значение [мкг/г]	Воспр-сть		Между днями		Общая точность	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
#1957	44	13.2	1.0	8.0%	1.5	11.6%	1.8	14.0%
#1933	42	20.5	0.9	4.2%	1.6	7.7%	1.8	8.8%
#1934	44	19.7	1.2	6.0%	1.6	8.4%	2.0	10.3%
#1935	44	37.1	1.2	3.2%	2.1	5.8%	2.4	6.7%
#1936	44	35.4	0.9	2.7%	2.5	7.4%	2.7	7.8%
#1937	44	58.6	1.6	2.9%	3.6	6.4%	3.9	7.0%
#1938	44	83.9	2.6	3.1%	4.3	5.2%	5.0	6.0%
#1939	44	141.4	2.6	1.9%	7.1	5.2%	7.5	5.5%
#1956	44	294.1	14.0	4.8%	18.0	6.2%	22.8	7.8%
#1940	44	501.4	27.7	5.7%	20.9	4.3%	34.7	7.1%

Таблица 13

Профиль точности

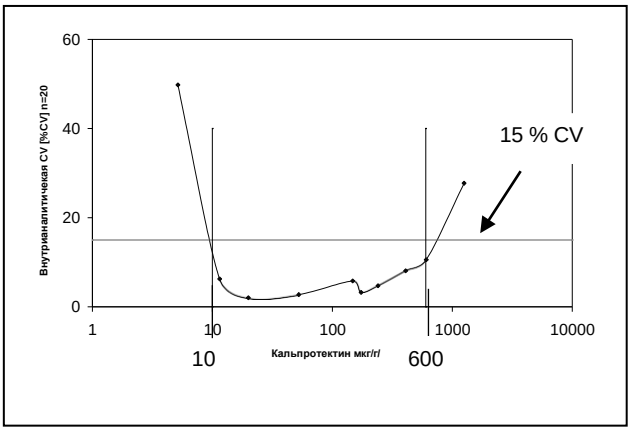


Рисунок 2

Линейность

ID	Испытанный диапазон измерений	R^2	значения p для нелинейного коэффициента	Предел линейности
S1	2.3 - 740.0	0.972	p >0.05	3.1 - 602.8
S2	5.1 - 999.5	0.988	p <0.05	5.1 – 654.0
S3	1.3 – 690.2	0.994	p <0.05	3.9 – 690.2
S4	9.6 – 827	0.940	p <0.05	9.6 – 658.7

Таблица 14

Восстановление спайка

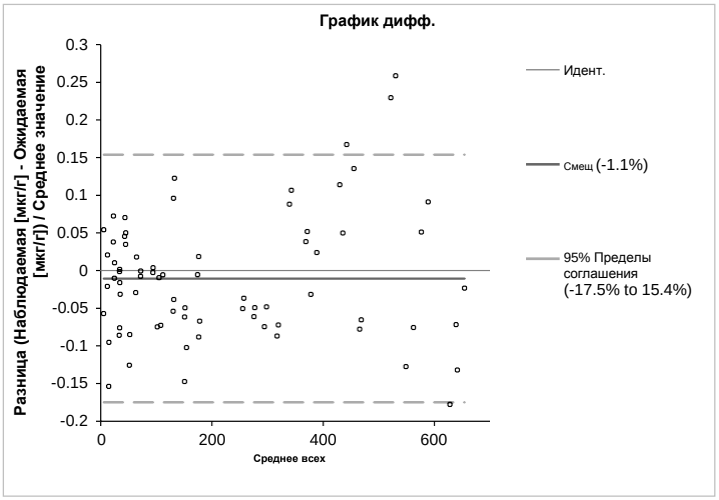


Рисунок 3

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ПРОЦЕДУРА РАСШИРЕННОГО ДИАПАЗОНА 30–1800 мкг/г

Пример результатов

	Концентрация [мкг/г]	Поглощение [ОП]
Калибратор A	30 30	0.047 0.046
Калибратор B	90 90	0.138 0.140
Калибратор C	300 300	0.464 0.452
Калибратор D	900 900	1.207 1.192
Калибратор E	1800 1800	1.627 1.630
Среднее бланка		0.057
Низкий контроль		0.147 0.162
Высокий контроль		0.618 0.618

Таблица 15

Пример стандартной кривой

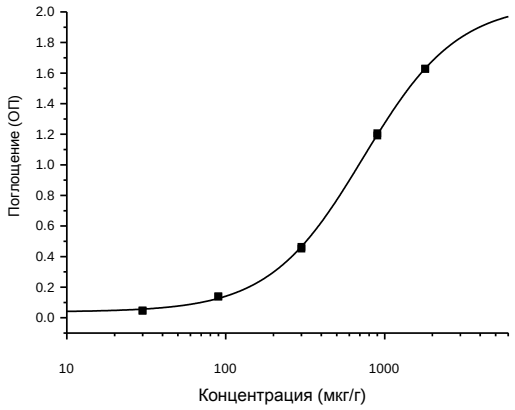


Рисунок 4

Внутрилабораторная точность

ID	Знач. [мкг/г]	n	Воспр-ть		Между прогонами		Между днями		Внутри лаборатории	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
P1	38.5	80	2.3	5.8%	1.8	4.8%	2.2	5.6%	3.6	9.4%
P2	67.0	80	2.0	3.0%	3.5	5.2%	1.6	2.4%	4.3	6.4%
P3	135.7	80	2.3	1.7%	5.6	4.1%	0.0	0.0%	6.0	4.4%
P4	207.1	80	4.1	2.0%	12.5	6.0%	0.0	0.0%	13.2	6.4%
P5	337.1	80	5.9	1.8%	18.3	5.4%	0.0	0.0%	19.3	5.7%
P6	562.6	80	11.0	2.0%	13.6	2.4%	2.5	0.4%	17.7	3.1%
P7	918.0	80	18.6	2.0%	62.1	6.8%	20.8	2.3%	68.1	7.4%

Таблица 16

Точность между партиями

ID	Знач. [мкг/г]	n	Внутри прогона		Между днями		Между партиями		Итог	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
2	46.4	74	2.5	5.5%	0.5	1.1%	2.4	5.3%	4.5	9.7%
3	105.5	75	2.5	2.4%	1.4	1.4%	2.1	2.0%	4.5	4.2%
4	133.6	75	5.0	3.8%	1.9	1.4%	4.2	3.2%	7.2	5.4%
5	178.5	75	6.3	3.5%	0.0	0.0%	6.3	3.5%	9.2	5.2%
6	435.2	75	12.4	2.9%	7.5	1.7%	18.1	4.2%	23.2	5.3%
7	1476.1	75	48.4	3.3%	88.6	6.0%	31.4	2.1%	110.6	7.5%

Таблица 17

Воспроизводимость – многосайтовое исследование точности

ID	Знач. [мкг/г]	n	Внутри прогона		Между прогонами		Между днями	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S01	42.1	236	3.1	7.3%	5.9	13.9%	1.0	2.3%
S02	67.4	238	3.0	4.4%	6.8	10.1%	0.0	0.0%
S03	142.3	238	5.6	3.9%	15.2	10.7%	0.0	0.0%
S04	379.8	240	10.8	2.9%	16.4	4.3%	3.2	0.9%
S05	1053.3	238	37.7	3.6%	48.3	4.6%	0.0	0.0%

Таблица 18

Воспроизводимость – мультисайтовое исследование точности

ID	Знач. [мкг/г]	n	Между операторами		Между сайтами		Итог (воспр-ть)	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S01	42.1	236	0.0	0.0%	4.4	10.4%	8.0	19.0%
S02	67.4	238	1.7	2.6%	3.9	5.7%	8.6	12.7%
S03	142.3	238	2.4	1.7%	4.0	2.8%	16.8	11.8%
S04	379.8	240	0.0	0.0%	13.7	3.6%	24.2	6.4%
S05	1053.3	238	39.5	3.8%	64.4	6.1%	97.3	9.2%

Таблица 19

Линейность

ID	Диапазон измерений [мкг/г]	R^2	Значения p для нелинейного коэффициента	Предел линейности [мкг/г]
FRB	22.8 – 1932.0	0.998	$p < 0.05$	24.6 – 1932.0
FRC	26.2 – 2096.2	0.997	$p < 0.05$	26.2 – 2096.2

Таблица 20

Точность / Восстановление

ID	Средний базовый уровень [мкг/г]	Ожидаемый базовый уровень + спайк [мкг/г]	Наблюдаемый базовый уровень + всплеск [мкг/г]	Скорость восстановления [%]
#1	46.5	226.5	224.5	99.1%
#2	63.7	243.7	247.7	101.6%
#3	89.0	269.0	274.9	102.2%
#4	111.6	291.6	292.0	100.1%
#5	163.5	343.5	331.1	96.4%
#6	304.0	484.0	475.0	98.1%
#7	990.2	1170.2	1166.6	99.7%

Таблица 21

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ – ПРЕАНАЛИТИКА

Воспроизводимость экстракции – экстракция с ручным взвешиванием

ID	Значение [мкг/г]	n	Внутри экстракции		Между экстракциями		Общая точность	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S01	51.2	20	4.5	8.9%	7.8	15.2%	9.0	17.6%
S03	88.3	20	6.6	7.5%	13.3	15.0%	14.8	16.8%
S05	66.8	20	10.6	15.8%	3.7	5.5%	11.2	16.7%
S06	179.3	20	16.8	9.4%	32.8	18.3%	36.8	20.5%
S07	366.1	20	22.4	6.1%	32.3	8.8%	39.3	10.7%
S08	327.4	20	15.4	4.7%	26.9	8.2%	31.0	9.5%
S09	1783.7	20	198.3	11.1%	262.0	14.7%	328.6	18.4%

Таблица 22

Воспроизводимость экстракции – CALEX® Cap

ID	Значение [мкг/г]	Внутри экстракции		Между экстракциями		Между партиями		Общая точность	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
A	42.5	1.6	3.9%	5.2	12.1%	0.0	0.0%	5.4	12.7%
B	126.5	3.2	2.5%	9.6	7.6%	9.3	7.4%	13.8	10.9%
C	207.4	5.1	2.4%	34.8	16.8%	0.0	0.0%	35.1	16.9%
D	515.5	13.9	2.7%	38.2	7.4%	0.0	0.0%	40.7	7.9%
E	2949.9	93.0	3.2%	214.6	7.3%	47.0	1.6%	238.6	8.1%

Таблица 23

Сравнение методов – извлечение с CALEX® Cap и ручное извлечение

Анализ Блэнда-Альтмана		
Среднее смещение (95%)	**Нижний LoA (95% CI)**	**Верхний LoA (95% CI)**
10.1% (5.7%, 14.5%)	-47.4% (-54.9%, -39.8%)	67.5% (60.1%, 75,1%)

Таблица 24

Регрессионный анализ Пассинга-Баблока				
Уклон (95% CI)	**Интерцепция (мкг/г) (95% CI)**	**Смещение при 80 мкг/г (95% CI)**	**Смещение при 160 мкг/г (95% CI)**	**r**
1.181 (1.120, 1.235)	-9.7 (-16.0, -2.4)	5.9% (1.4%, 12.2%)	12.0% (7.8%,16.9%)	0.948

Таблица 25

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Пероральные фармацевтические препараты, пищевые добавки и гемоглобин

Торговое наименование	Активное вещество	Концентрация мг/50 мг кала
гино-Тардиферон	Сульфат железа (II) (содержит 0,35 мг фолиевой кислоты)	0.11
Преднизон	Преднизон	0.31
Имурек	Азатиоприн	0.19
Салофальк	Мезаламин; 5-АСА	5.21
Агоптон	Лансопразол	0.18
Асакол	Мезаламин; 5-АСА	2.50
Ванкоцин	Ванкомицин	2.00
Сульфаметоксазол	Сульфаметоксазол	1.60
Триметоприм	Триметоприм лактат	0.35
Ципроксин	Ципрофлоксацин	1.25
Витамин Е	DL-α-Токоферола ацетат	0.30
Бион 3	3 пробиотика (107 КОЕ): lactobacillus gasseri PA16 / 8, bifidobacterium bifidum MF 20/5, bifidobacterium long SP07 / 3, 12 витаминов: A (800 мкг), B1 (1,4 мг), B2 (1,6 мг), B6 (2 мг), B12 (1 мкг), C (60 мг), D (5 мкг), E (10 мг), биотин (150 мкг), фолиевая кислота (200 мкг), ниацин (18 мг), пантотеновая кислота (6 мг) и 7 минералы: йод (100 мкг), железо (5 мг), цинк (5 мг), селен (30 мкг), хром (25 мкг), марганец (1,2 мг), молибден (25 мкг)	1.06
Гемоглобин	Гемоглобин	1.25

Таблица 26

Энтеропатогенные микроорганизмы

Название	Конечная концентрация (КОЕ/мл экстракта кала)
Escherichia coli	9.5×10^7
Salmonella enterica subsp. enterica	1×10^9
Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia	5.4×10^7
Citrobacter freundii	9.7×10^7
Shigella flexneri	1.5×10^8
Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica	1.6×10^8

Таблица 27

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

ПРИЛОЖЕНИЕ II

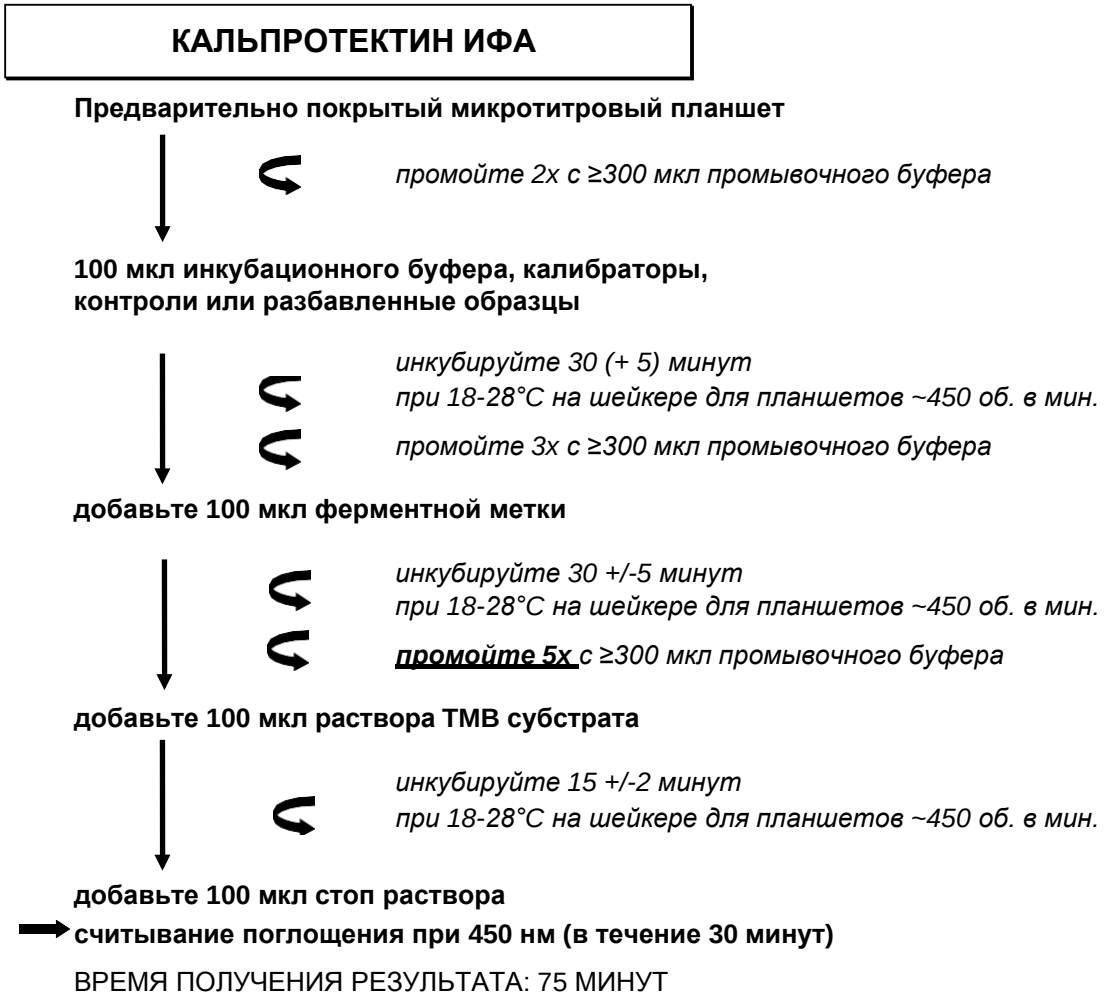
ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS

1. Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality.* Lancet 356, 1783-4 (2000)
2. Tibble JA et al.: *A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease.* Gut 47, 506-513 (2000)
3. Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123, 450-460 (2002)
4. Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E.: *Measurement of calprotectin in faeces*.. Tidsskr Nor Legeforen 128, 743–5 (2008)
5. Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study.* BMC Gastroenterology 12, 5 (2012)
6. Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care.* Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7. Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8. Lin JF et al. *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment 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 calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease.* J Crohns Coliti, 7(12), 641-51 (2013)
10. Lobatón T et al.: *A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery.* Gastroenterology. 148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecal calprotectin test to predict relapse in Crohn's disease patients on maintenance treatment with adalimumab.* Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: *Fecal calprotectin as Predictor of Relapse in Patients with Inflammatory Bowel Disease Under Maintenance Infliximab Therapy.* J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectin Identifies Histologic Inflammation in Patients with Ulcerative Colitis In Clinical And Endoscopic Remission.* Clinical Gastroenterology and Hepatology. 12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasson A et al.: *Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study.* United European Gastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease.* Can J Gastroenterol Hepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target.* Am J Gastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin Predict Short-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-Blocking Agents In Inflammatory Bowel Disease Patients In Deep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al.: *Consecutive fecal calprotectin measurements to predict relapse in patients with ulcerative colitis receiving infliximab maintenance therapy.* Inflamm Bowel Dis. 19, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months.* PLoS ONE 10(3)(2015)
23. Zhu Q et al.: *Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years.* PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation78(1-2), 120-124 (2018)

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

ПРИЛОЖЕНИЕ III

КРАТКИЙ ПРОТОКОЛ



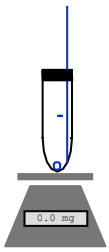
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

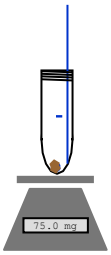
КРАТКИЙ ПРОТОКОЛ

ЭКСТРАКЦИЯ КАЛЬПРОТЕКТИНА

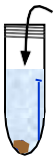
Процедура ручной экстракции



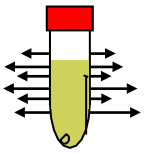
Предварительно взвесьте пустую пробирку + петлю для инокуляции



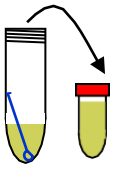
Взвесьте от 50 до 100 мг кала



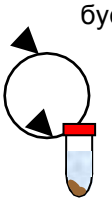
Добавьте 49 единиц экстракционного буфера B-CAL-EX



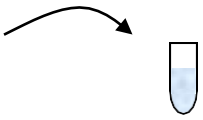
Закройте пробирку
Перемешайте в течение 30 сек
25±5 мин на шейкере при 400 об / мин Вихрь 30 сек.
Инкубируйте 25±5 мин в шейкере при 400 об / мин.
Перемешайте в течение 30 сек.



Перенесите ~1.5 мл в чистую пробирку



Центрифугируйте в течение 5 минут при 3000 x г



Перелейте надосадочную жидкость в свежую пробирку и продолжите процедуру ИФА

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

ПРИЛОЖЕНИЕ V

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу вашего государства-члена ЕС.

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

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.

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ VI

ЗАМЕТКИ / NOTIZEN / NOTES / NOTE / NOTAS

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

ПРИЛОЖЕНИЕ VII

СИМВОЛЫ / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Символ	Обозначение
	Использовать до Verwendbar bisUtiliser jusqu'auUtilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração
REF	Код заказа Bestellnummer Référence du catalogue Numero di catalogo Número de catálogo Código de encomenda
LOT	Код партии LotbezeichnungCode du lot Codice del lotto Código de lote Código lote
IVD	Медицинское устройство для диагностики *in vitro* *In Vitro* Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* Producto sánitario para diagnóstico *in vitro*
	Набор для проведения <n> тестов Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n" tests Contenuto sufficiente per „n" saggi Contenudo sufficiente para <n> ensayos Contenudo sufficiente para <n> tests
	Обратитесь к инструкции по применению Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções
	Температурные ограничения Zulässiger TemperaturbereichLimites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
MP	Микропланшет MikrotiterplatteMicroplaque Micropiastra Microplaca Placa de microtitulação

Символ	Обозначение
BUF WASH 10X	Концентрат водного буфера (10x) Waschpuffer-Konzentrat (10x) Tampon de lavage concentré (10x) Tampone di lavaggio concentrato (10x) Tampón de lavado concentrado (10x) Tampão de lavagem concentrado (10x)
BUF INC	Инкубационный буфер Inkubationspuffer Tampon d'incubation Tampone di incubazione Tampón de incubación Tampão de incubação
CAL A - CAL E	Калибратор A -E Kalibrator A -E Calibrateur A -E Calibratore A - E Calibrador A – E Calibrador A – E
CONTROL L	Низкий контроль Kontrolle tief Contrôle bas Controllo basso Control bajo Controle baixo
CONTROL H	Control high Kontrolle hoch Contrôle élevé Controllo alto Control alto Controle alto
EL	Ферментная метка Enzymmarker Marqueur enzymatique Marcatore enzimatico Marcador enzimático Marcador enzimático
SUBS TMB	TMB субстрат TMB-Substrat Substrat TMB Substrato di TMB Substrato de TMB Substrato de TMB
SOLN STOP	Стоп-раствор Stopp-Lösung Solution stop Soluzione di stop Solución de parada Solução de parada

CE

IVD

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

BÜHLMANN fCAL® ELISA

ИФА анализ на кальпротектин

Для диагностики *In Vitro*

EK-CAL2-WEX 192 тестов

Дата выпуска: 2020-10-30
Версия A2

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

Русский Страница 2
Deutsch Seite 9
Français Page 17
Italiano Pagina 25
Español Página 33
Português Página 41

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

НАЗНАЧЕНИЕ

Иммуноферментный анализ (ИФА) BÜHLMANN fCAL® представляет собой диагностический тест in vitro для количественного определения кальпротектина в образцах кала человека, предназначенный для оценки воспаления слизистой оболочки кишечника. Результаты анализа могут быть использованы в качестве вспомогательного средства для дифференциальной диагностики органических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта (воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), в частности болезнь Крона или язвенный колит (ЯК)) и функциональных заболеваний (синдром раздраженного кишечника (СРК)) (ссылки 1–7), у пациентов с хроническими болями в животе и в качестве вспомогательного средства для мониторинга заболеваний ВЗК (ссылки 7–18).

Исключительно для лабораторной диагностики.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Иммуноферментный анализ BÜHLMANN fCAL® позволяет селективно измерять показатели кальпротектина в экстрактах кала методом сэндвич-ИФА. Микротитровый планшет BÜHLMANN fCAL® ELISA покрыта моноклональным антителом захвата (mAb), высокоспецифичным к гетеродимерным и полимерным комплексам кальпротектина. Экстракты образцов кала пациента, средства контроля для определения приемлемости ИФА и калибраторы загружаются в лунки микротитрового планшета. После 30-минутной инкубации при комнатной температуре и стадий промывки обнаруживающее антитело (Ab), конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP), обнаруживаются молекулы кальпротектина, связанные с антителом захвата на пластине. После инкубации и дальнейших стадий промывки добавляют хромогенный субстрат HRP, тетраметилбензидин (TMB) (образование синего цвета) с последующей реакцией остановки (изменение на желтый цвет). Поглощение измеряется при 450 нм. Конечная концентрация кальпротектина в мкг/г кала в образцах пациента определяется с помощью калибровочной кривой, полученной на основе измеренных значений калибратора.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ И ИХ ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Реагенты	Количество	Код	Приготовление
Контроль низкий / высокий[3] Кальпротектин сывороточного происхождения в буферной матрице с консервантами	2 виалы x 1 мл	B-CAL-CONSET	Готов к использованию
Энзимная метка Антикальпротектин Ab, конъюгированный с HRP	2 виалы x 12 мл	B-CAL-EL	Готов к использованию
ТМВ субстрат ТМВ в цитратном буфере	2 виалы x 12 мл	B-TMB12	Готов к использованию
Стоп-раствор 0.25 M серной кислоты	2 виалы x 12 мл	B-STS12	Готов к использованию **Коррозионный агент**

Реагенты	Количество	Код	Приготовление
Контроль низкий / высокий[3] Кальпротектин сывороточного происхождения в буферной матрице с консервантами	2 виалы x 1 мл	B-CAL-CONSET	Готов к использованию
Энзимная метка Антикальпротектин Ab, конъюгированный с HRP	2 виалы x 12 мл	B-CAL-EL	Готов к использованию
ТМВ субстрат ТМВ в цитратном буфере	2 виалы x 12 мл	B-TMB12	Готов к использованию
Стоп-раствор 0.25 M серной кислоты	2 виалы x 12 мл	B-STS12	Готов к использованию **Коррозионный агент**

Таблица 1

1) Фактическая концентрация кальпротектина в калибраторах A-E составляет 4, 12, 40, 120 и 240 нг/мл соответственно. Для нижнего диапазона ИФА значения калибратора должны быть следующими: 10, 30, 100, 300 и 600 мкг/г кальпротектина. Это назначение соответствует окончательному разбавлению образца в пропорции 1:2500.

2) Если Вы выберете процедуру ИФА с расширенным диапазоном, то номинальные значения калибратора должны быть следующими: 30, 90, 300, 900 и 1800 мкг/г кальпротектина. Это назначение соответствует окончательному разбавлению образца в пропорции 1:7500.

3) Контроли содержат определенное количество нативного человеческого кальпротектина. Фактические концентрации представлены в дополнительном листе данных по контролю качества.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ И РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

Запечатанные / неоткрытые реагенты	
Хранить при температуре 2-8°C. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетках.	
Открытые / восстановленные реагенты	
Микротитровый планшет	Незамедлительно верните неиспользованные полоски в упаковку из фольги, содержащую осушитель, и плотно закройте по всему краю застежки-молнии. Хранить до 6 месяцев при температуре 2-8°C.
Разбавленный промывочный буфер	
Инкубационный	

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

буфер	Хранить до 6 месяцев при температуре 2-8°C.
Калибраторы	
Контроли	
Энзимная метка	
ТМВ субстрат	
Стоп-раствор	

Таблица 2

РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, ПОСТАВЛЯЕМЫЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Устройство для извлечения кала
Устройство для извлечения кала, описанное в таблице 3, не поставляется вместе с комплектом и должно заказываться отдельно.

Комплект экстракционных устройств	Количество	Код
CALEX® Cap	Доступны упаковки по 50, 200 или 500 пробирок, каждая из которых заполнена 5 мл экстракционного буфера Готов к использованию	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200B-CALEX-C500

Таблица 3

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Процедура извлечения
•100 мкл и 1000 мкл прецизионных пипеток с одноразовыми наконечниками
•Одноразовые полистирольные или полипропиленовые пробирки для переноса экстрактов (опционально)
•Рабочая станция с ламинарным потоком
•Многопробирочный вихревой смеситель / Вихревой смеситель
• Микроцентрифуга (≥3000 x g)
• Центрифуга (≥500 x г)

Процедура ИФА
•10 мкл, 100 мкл и 1000 мкл прецизионных пипеток с одноразовыми наконечниками
•Одноразовые полистирольные или полипропиленовые пробирки для приготовления разведений образцов
•Цилиндр объемом 1000 мл для разбавления промывочного буфера
•Мойка для микротитровых планшетов (см. технические меры предосторожности) или выжимная бутылка для промывочного буфера
•Шейкер для микротитровых планшетов (см. технические меры предосторожности)
•Впитывающая бумага
•Считыватель микротитровых планшетов для измерения поглощения при длине волны 450 нм

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Меры предосторожности
•Калибраторы и реагенты для контроля качества содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что тесты показали отрицательный результат к наличию поверхностного антигена HBV, антител к HCV и HIV1/2, реагенты должны обрабатываться так, как будто они способны передавать инфекции, и должны обрабатываться в соответствии с правилами Надлежащей Лабораторной Практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности.
•Стоп-раствор содержит серную кислоту (0,25 М). Реагент раздражает глаза, кожу и слизистые оболочки. Избегайте контакта с глазами, кожей и одеждой. При контакте с глазами или кожей незамедлительно промойте большим количеством воды.
•Избегайте контакта реагентов с кожей, глазами или слизистыми оболочками. В случае контакта незамедлительно промойте большим количеством воды; в противном случае могут возникнуть раздражение / ожоги.
•Реагенты и химические вещества должны рассматриваться как опасные отходы в соответствии с национальными руководящими принципами или правилами по биологической безопасности.

Технические меры предосторожности

Компоненты набора

•Остатки в лунках микропланшета образуются в результате производственного процесса. Они удаляются на этапе промывки (этап 3 процедуры анализа) и не влияют на результаты.
•Компоненты не должны использоваться по истечении срока годности, указанного на этикетках.
•Не смешивайте и не используйте компоненты из наборов с разными номерами партий.
•Следует приложить все усилия для обеспечения того, чтобы не происходило перекрестного загрязнения между реагентами, образцами или между скважинами.
•Дайте реагентам уравновеситься до комнатной температуры. Хорошо перемешайте (вихревое смешивание) реагенты перед использованием.
•Микропланшет нельзя использовать повторно.

Экстракция

Для получения достоверных количественных результатов важно полностью гомогенизировать образец кала в устройстве для экстракции. Нерастворимые (непереваренные) компоненты могут все еще присутствовать после экстракции.

Процедура ИФА

•В процедуре ИФА этапы промывки необходимы для обеспечения воспроизводимых результатов. Перед экстракцией дайте промывочному буферу инкубироваться в лунках не менее 20 секунд.
•Если используется автоматическая мойка, настоятельно рекомендуется использовать “режим планшета”, при котором каждый этап процесса (дозирование / аспирация) выполняется на всех полосках последовательно, прежде чем прибор перейдет к следующему циклу мойки. Таким образом, гарантируется минимальное время инкубации.
•Указанное количество циклов промывки является обязательным для обеспечения воспроизводимых результатов.
•Шейкер для планшетов должен быть отрегулирован примерно на 450 об / мин (7,5 Гц). Более высокая частота вращения может привести к плохой линейности

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

разбавления при значениях от 300/900 до 600/1800 мкг/г. Вместо горизонтального движения следует использовать вращательное движение.
•Для обеспечения завершения реакции антиген/антитело время инкубации на этапе 5 должно составлять не менее 30 минут. Более длительное время инкубации (превышающее не более, чем на 5 минут) не влияет на конечный результат.
•Ферментная метка инактивируется кислородом и очень чувствительна к азиду натрия, тимеросалу, хлорной кислоте и ароматическим хлоргидроуглеродам, часто встречающимся в лабораторных источниках воды. Поэтому необходимо использовать только деионизированную воду высокого качества.
•При каждом анализе должна создаваться новая стандартная кривая (каждый планшет или частичный планшет).
•Если начальная концентрация неизвестного образца превышает концентрацию самого высокого калибратора, калибратора E, образец может быть дополнительно разбавлен инкубационным буфером и снова проанализирован в соответствии с процедурой анализа. При расчете результатов необходимо учитывать результирующий общий коэффициент разбавления.

СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Для процедуры экстракции требуется менее 1 г нативного образца кала. Соберите образец кала в обычные пробирки.
Важно: образец должен быть собран без добавления каких-либо химических или биологических добавок.

Транспортировка образцов
Образцы кала должны быть получены для обработки в лаборатории в течение 3 дней после сбора. Образцы могут транспортироваться при комнатной температуре или в холодильнике.

Хранение образцов
Образцы кала должны быть охлаждены при температуре 2–8°C и экстракция должна быть произведена в течение 3 дней с момента поступления в лабораторию. Не храните образцы при повышенных температурах.

ЭКСТРАКЦИЯ ОБРАЗЦОВ КАЛА И СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСТРАКТА

1.1 Процедура экстракции
Следуйте инструкции по применению, прилагаемой к устройству CALEX® Cap (код B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500).
Образцы жидкого кала можно пипетировать непосредственно в устройство CALEX® Cap. Отвинтите синий колпачок и капните в устройство 10 мкл образца кала. Закройте устройство CALEX® Cap и приступайте к этапу вихревого смешивания в соответствии с процедурой экстракции, описанной и проиллюстрированной в инструкции по применению, поставляемой вместе с устройством CALEX® Cap.
Важно: после экстракции центрифугируйте устройство CALEX® Cap в течение 5 минут при 500–3000 x g и продолжайте процедуру анализа.

1.2 Стабильность экстракта
Фекальные экстракты для анализа на кальпротектин, полученные с помощью устройства CALEX® Cap, стабильны при комнатной температуре (23°C) в течение 7 дней и при температуре 2–8°C в течение 15 суток. Для более длительного хранения замораживайте экстракты при температуре –20°C. Замороженные экстракты стабильны в течение периода до 23 месяцев.
Экстракты можно замораживать и хранить непосредственно в устройстве CALEX® Cap. Экстракты могут подвергаться четырем циклам замораживания-оттаивания. Перед измерением дайте замороженным экстрактам уравновеситься до комнатной температуры, тщательно перемешайте в течение 10 секунд и центрифугируйте в течение 5 минут при 500–3000 x g.

РАБОЧИЙ ДИАПАЗОН

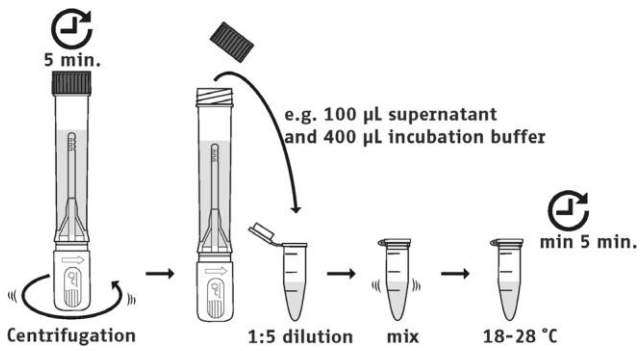
Анализ может быть выполнен в соответствии со следующими процедурами: процедура ИФА нижнего или расширенного диапазона. Соответствующая процедура должна быть выбрана в зависимости от ожидаемой концентрации кальпротектина:
•Для образцов до 600 мкг/г кальпротектина выберите процедуру нижнего диапазона (рабочий диапазон 10–600 мкг/г).
•Если образцы имеют тенденцию превышать 600 мкг/г, выберите процедуру расширенного диапазона (рабочий диапазон 30–1800 мкг/г).

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Важно: перед использованием дайте всем реагентам уравновеситься в течение не менее 30 минут при температуре 18–28°C. Используйте исключительно разбавленные экстракты кала. Калибраторы и элементы управления готовы к использованию.

1. Вариант разбавления образца 1:
Рабочий диапазон 10–600 мкг/г

1.1. После экстракции с помощью устройства CALEX® Cap, разбавьте экстракты кала в пропорции 1:5 инкубационным буфером (например, 100 мкл экстракта и 400 мкл инкубационного буфера) и хорошо перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28°C, прежде чем переходить к этапу 4c.

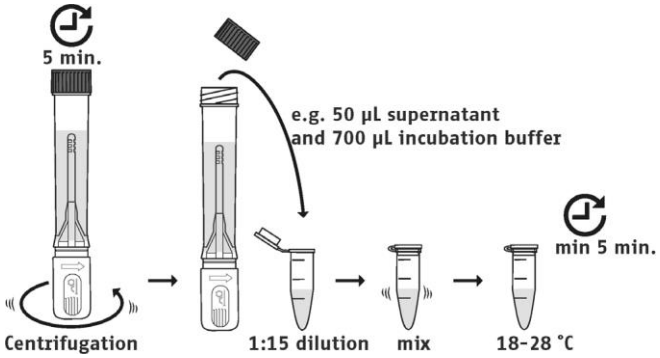


1. ` Вариант разбавления образца 2:
Рабочий диапазон 30–1800 мкг/г

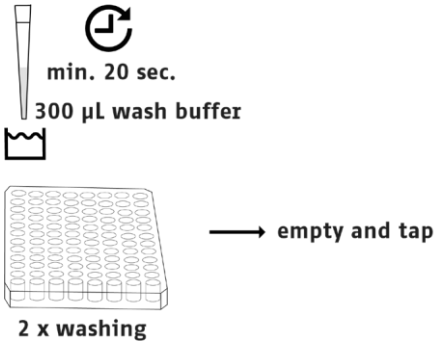
Рабочий диапазон может быть расширен в 3 раза, если разбавить образцы в пропорции 1:7500 вместо 1:2500. Эта процедура рекомендуется, если прогнозируется высокая концентрация кальпротектина.

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

1.1` После экстракции с помощью устройства CALEX® Cap, разбавьте экстракты кала в пропорции 1:15 с помощью инкубационным буфера (например, 50 мкл экстракта и 700 мкл инкубационного буфера) и тщательно перемешайте. Дайте образцам уравновеситься в течение не менее 5 минут при температуре 18–28°C, прежде чем переходить к этапу 4c.

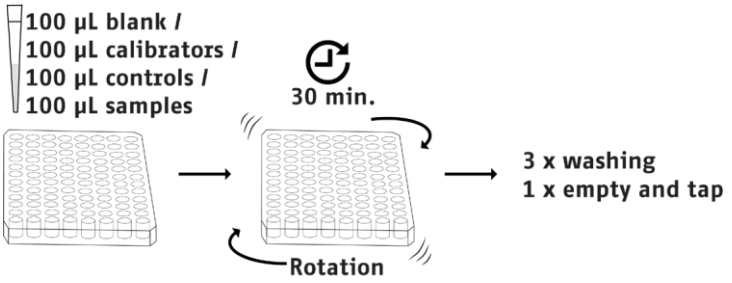


2. Подготовьте рамку для планшетов с достаточным количеством полосок для тестирования необходимого количества калибраторов, контрольных и разбавленных образцов. Удалите лишние полоски из рамки и незамедлительно снова запечатайте их в пакет из фольги вместе с упаковками осушителя. Хранить в холодильнике.
3. Дважды промойте лунки с покрытием, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку. Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.
Важно: оставьте промывочный буфер в лунках минимум на 20 секунд во время каждого этапа промывки.

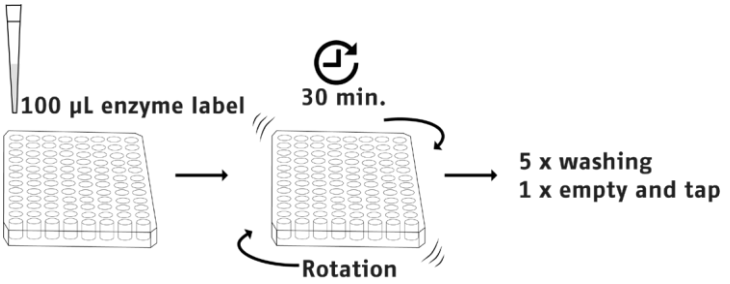


4a. Пипетируйте 100 мкл инкубационного буфера (бланк) и пипетируйте 100 мкл калибратора A-E в соответствующие лунки.
4b. Пипетируйте 100 мкл контролей низких и высоких уровней в соответствующие лунки.
4c. Пипетируйте по 100 мкл каждого разбавленного образца в последующие лунки.

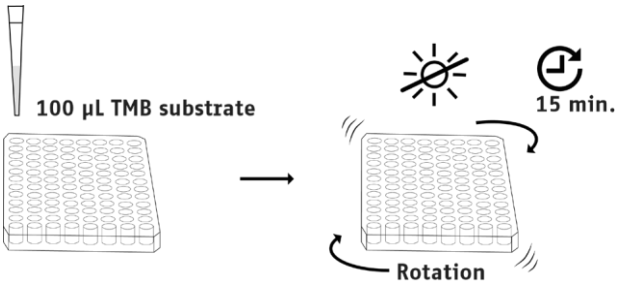
5. Накройте планшет герметиком и инкубируйте в течение 30 + макс. 5 мин на шейкере для планшетов, установленном на ~450 об / мин при температуре 18–28°C (см. технические меры предосторожности – процедура ИФА).
6. Снимите и уплотнитель для планшетов. Опорожните лунки и промойте три раза, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку (см. технические меры предосторожности – процедура ИФА). Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.



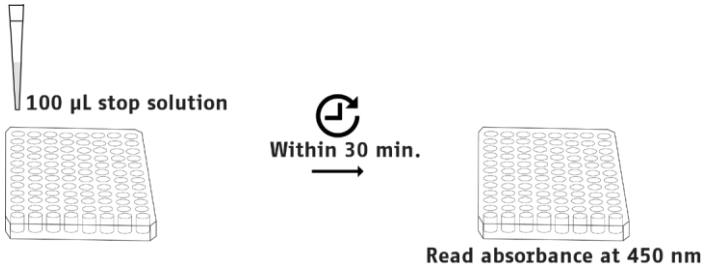
7. Пипетируйте 100 мкл ферментной метки во все лунки.
8. Накройте планшет герметиком и инкубируйте в течение 30 ± 5 мин на шейкере пластин, установленном на ~450 об / мин при температуре 18–28°C.
9. Снимите и выбросьте уплотнитель для планшетов. Опорожните лунки и промойте пять раз, используя не менее 300 мкл промывочного буфера на лунку. Опорожните лунки и плотно постучите пластиной по впитывающей бумаге.



Важно: дайте раствору субстрата TMB уравновеситься до 18–28°C.
10. Пипетируйте 100 мкл раствора субстрата TMB во все лунки.
11. Накройте планшет герметиком, защитив планшет от воздействия прямого света и инкубируйте в течение 15 ±2 мин на шейкере при~450 об / мин при температуре 18–28°C.



12. Пипетируйте 100 мкл стоп-раствора во все лунки. Удалите пузырьки воздуха с помощью наконечника пипетки. Перейдите к шагу 13 в течение 30 минут.
13. Произведите считывание при 450 нм в считывателе для микропланшета.



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

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Тщательное соблюдение данной инструкции по применению необходимо для успешного использования продукта. Надежные результаты могут быть получены исключительно с помощью точных лабораторных методов и точного соблюдения данной инструкции по применению.
Комплект BÜHLMANN fCAL® ELISA поставляется с двумя контролями: низким и высоким. Соответствующие референтные значения контролей указаны в паспорте контроля качества, прилагаемом к каждому комплекту. Значения и диапазоны, указанные в паспорте реагентов для контроля качества, всегда относятся к текущей партии комплекта и должны использоваться для прямого сравнения результатов. Если результаты для низкого и/или высокого контроля выходят за пределы диапазона, указанного в паспорте контроля качества, рекомендуется считать весь прогон недействительным.
Рекомендуется использовать образцы внутреннего контроля в дополнение к контрольным наборам в соответствии с местными и национальными правилами. Рекомендуется использовать образцы внутреннего контроля для обеспечения повседневной достоверности результатов. Поскольку в продаже нет контроля для кальпротектина, мы рекомендуем использовать пул экстрактов кала с нормальным и патологическим уровнем для внутреннего контроля качества.
Воспроизводимость стандартных параметров кривой и контрольных значений должна находиться в установленных пределах лабораторной приемлемости. Если результаты анализа не соответствуют установленным пределам и повторное исследование исключает ошибки в технике, проверьте следующие аспекты: i) устройства для пипетирования, контроля температуры и синхронизации; ii) настройки считывателя ИФА; iii) сроки годности реагентов; iv) условия хранения и инкубации; v) раствор субстрата TMB должен быть бесцветным; vi) чистота воды; vii) методы аспирации и промывки.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Значения калибратора BÜHLMANN fCAL® ELISA присваиваются при многократных измерениях с использованием внутреннего эталонного материала на основе сыворотки крови человека и процедуры измерения BÜHLMANN fCAL® ELISA. Концентрацию кальпротектина во внутреннем эталонном материале определяли с использованием очищенного MRP8/14 из гранулоцитов человека в качестве основного эталонного материала.

ПОДСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Рекомендуется использовать программное обеспечение, способное выполнять следующие вычисления; вычтите значение оптической плотности (ОП) бланка из каждой лунки калибратора, чтобы вычислить показатели калибратора. Получите стандартную кривую, используя 4-параметрическую логистическую (4 PL) подгонку.

Контроли и образцы

Рекомендуется использовать программное обеспечение, способное выполнять следующие вычисления; вычтите значение бланка ОП из каждой лунки с контролем / с образом. Рассчитайте концентрацию кальпротектина в контроле / образце в каждой лунке в мкг/г, используя установленную стандартную кривую.

Рабочий диапазон 10–600 мкг/г

Если вы выберете процедуру ИФА в нижнем диапазоне, то концентрации калибратора должны быть установлены как: 10, 30, 100, 300 и 600 мкг/г кальпротектина. Дополнительные коэффициенты разбавления (при использовании другого конечного разбавления, чем 1:2500) должны быть умножены на результаты для получения окончательных показателей.
Типичные данные (результаты и стандартная кривая) приведены в таблице 12 и на рисунке 1. Эти результаты и стандартная кривая приведены только в демонстрационных целях. Для каждого набора анализируемых образцов должна быть сгенерирована стандартная кривая.

Рабочий диапазон 30–1800 мкг/г

При выборе процедуры ИФА с расширенным диапазоном необходимо установить следующие номинальные значения калибратора: 30, 90, 300, 900 и 1800 мкг/г кальпротектина. Дополнительные коэффициенты разбавления (при использовании другого конечного разбавления, чем 1:7500) должны быть умножены на результаты для получения окончательных показателей.
Типичные данные (результаты и стандартная кривая) приведены в таблице 15 и на рисунке 4. Эти результаты и стандартная кривая приведены только в демонстрационных целях. Для каждого набора анализируемых образцов должна быть сгенерирована стандартная кривая.

ОГРАНИЧЕНИЯ

•Реагенты, поставляемые с набором BÜHLMANN fCAL® ELISA, предназначены исключительно для определения уровня кальпротектина в образцах кала человека.
•Результаты исследований должны интерпретироваться в сочетании с информацией, полученной в результате клинического обследования пациента и других диагностических процедур.
•Для мониторинга заболевания ВЗК было высказано предположение, что многократные измерения кальпротектина в кале, выполняемые с интервалом до 4 недель, обеспечивают наилучшую диагностическую точность в прогнозировании клинического рецидива у пациентов (ссылки 19–20).
•У некоторых пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), уровень кальпротектина в кале повышается.
•Результаты могут быть клинически неприменимы к детям в возрасте до 4 лет, у которых слегка повышен уровень кальпротектина в кале (ссылки 21–24).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. Дифференциальная диагностика органического

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

заболевания и функционального заболевания желудочно-кишечного тракта

Категории результатов основаны на данных клинических исследований, проведенных BÜHLMANN, и являются рекомендациями BÜHLMANN. Все результаты анализов должны интерпретироваться в сочетании с информацией, полученной из клинических симптомов пациента, истории болезни и других клинических и лабораторных данных.

Клинические пределы

Результаты 58 клинических образцов пациентов с диагнозом СРК и 131 клинических образцов пациентов с диагнозом ВЗК, полученных в ходе международного клинического исследования, были проанализированы для получения показателей, представленных в таблице 4.

Концентрация кальпротектина	Интерпретация	Отслеживание
< 80 мкг/г	Нормальное значение	Не требуется
80 – 160 мкг/г	Серая зона / Пограничный показатель	Отслеживание а пределах 4–6 недель
> 160 мкг/г	Повышенные значения	Повтор при необходимости

Таблица 4

Значения кальпротектина ниже 80 мкг/г

Значения кальпротектина в кале <80 мкг/г не указывают на воспаление в желудочно-кишечном тракте. Пациенты с низким уровнем кальпротектина не нуждаются в инвазивных процедурах для определения причины воспаления.

Значения кальпротектина составляют от 80 до 160 мкг/г и равны им.

Средние уровни кальпротектина в кале от 80 до 160 мкг/г, также называемые уровнями серой зоны, не являются прямым показателем активного воспаления, требующего немедленного наблюдения с инвазивным исследованием. Однако наличие воспаления исключать нельзя. Для определения воспалительного статуса рекомендуется провести повторную оценку уровня кальпротектина в кале через 4–6 недель.

Значения кальпротектина выше 160 мкг/г

Значения кальпротектина в кале >160 мкг/г указывают на инфильтрат нейтрофилов в желудочно-кишечном тракте; следовательно, это может сигнализировать о наличии активного воспалительного заболевания. Для выставления общего клинического диагноза специалистами предлагаются соответствующие дальнейшие диагностические мероприятия.

Клиническая оценка

Способность ИФА BÜHLMANN fCAL® различать пациентов с ВЗК и другими невоспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, включая СРК, была проверена в клиническом исследовании с участием в общей сложности 337 взрослых пациентов и пациентов детского возраста. У ста тридцати пяти (135) пациентов выставлен окончательный диагноз ВЗК (болезнь Крона, язвенный колит или неопределенный колит), 130 пациентов страдали СРК и 72 пациента страдали болями в животе и/или диареей или другими невоспалительными заболеваниями, связанными с желудочно-кишечным трактом (см. таблицу 5). Окончательный диагноз был подтвержден эндоскопическими и другими клиническими данными.
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 83,7% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и невоспалительными состояниями, связанными с ЖКТ, включая СРК. Анализ кривой ROC привел к AUC 0,923 (см. таблицу 6).
Клиническая чувствительность 93,3% при 80 мкг/г и клиническая специфичность 85,4% при 160 мкг/г могут быть достигнуты при дифференциации между ВЗК и СРК. Анализ кривой ROC привел к AUC 0,933 (см. таблицу 8).
Оптимальная комбинация отсечения для этих пулов пациентов может быть определена с помощью ROC-анализа при 80 мкг/г и 160 мкг/г кальпротектина, что несколько более строго, чем комбинация более чувствительного нижнего отсечения 50 мкг/г с более низкой специфичностью и верхнего отсечения 200 мкг/г с несколько более низкой чувствительностью (таблицы 7 и 9).

II. Мониторинг ВЗК

Клинические показатели и их оценка

Определение фекального кальпротектина также является надежным и простым способом помочь в мониторинге пациентов с ВЗК (ссылки 7–18).
Корреляция уровней кальпротектина и воспалительного статуса слизистой оболочки кишечника пациентов, согласно эндоскопическим оценкам, была определена в трех независимых исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 10). Диагностическая ценность кальпротектина в прогнозировании клинической ремиссии и рецидива в соответствии с симптомами пациента, показателями клинической активности, незапланированной потребностью в усилении терапии, госпитализации или неотложной помощи была определена в трех исследованиях с использованием тестов на кальпротектин BÜHLMANN (таблица 11).
Приведенные категории результатов являются рекомендациями, и их установление основано на сведениях об опубликованных ограничениях и клинических исследованиях эффективности. Рекомендуется, чтобы практикующие врачи устанавливали индивидуальные пороговые значения для пациентов, определяя базовый уровень кальпротектина пациента во время ремиссии заболевания:

Значения кальпротектина ниже 100 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале ниже 100 мкг/г могут достоверно указывать на низкий риск клинического рецидива в эндоскопической ремиссии, поэтому у пациентов можно избежать проведения инвазивных эндоскопических процедур (ссылки 7–18).

Значения кальпротектина от 100 до 300 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале в пределах 100–300 мкг/г могут указывать на необходимость более строгого контроля в последующий период для оценки тенденций развития заболевания.

Значения кальпротектина выше 300 мкг/г:
Уровни кальпротектина в кале выше 300 мкг/г должны быть исследованы повторно, и, если подтверждаются

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

повышенные уровни, необходимо провести дальнейшие следственные процедуры (ссылки 7–18).

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
Эксплуатационные характеристики ИФА BÜHLMANN fCAL® были установлены с использованием метода ручной экстракции, если не указано иное.

Рабочий диапазон: 10–600 мкг/г
Повторяемость (внутрианалитическая точность): 1,9–8,0% CV
Внутрилабораторная точность: 5,5–14,0% CV

Воспроизводимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A2 с использованием схемы исследования: 22 дня x 2 повтора. Были протестированы десять образцов кала. Значения представлены в таблице 13.

Предел обнаружения (LoD): 4,2 мкг/г
LoD был установлен в соответствии с руководящим принципом CLSI EP17-A и с пропорциями ложных срабатываний (α) менее 5% и ложных отрицаний (β) менее 5% на основе 240 исследования, с 80 бланками (буфер извлечения) и 160 низкоуровневыми повторами; и LoB 0,29 мкг/г. Функция кубического сплайна использовалась для экстраполяции значений OD пустых образцов на концентрацию кальпротектина в мкг/г.

Предел количественного определения (LoQ): 9,8 мкг/г
Сорок определений десяти образцов кала со значениями от 5,2 до 1254 мкг/г были выполнены для получения нелинейного прецизионного профиля и установления LoQ на основе цели точности 20% CV. Точные измерения <15% CV были получены во всем стандартном диапазоне от 10 до 600 мкг/г. Результаты представлены на рисунке 2.

Линейность: 10–600 мкг/г
Линейный диапазон ИФА BÜHLMANN fCAL® был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Допускалось максимальное отклонение от линейности ±20 %. Для значений ниже 75 мкг/г допускалась абсолютная разница менее ±15 мкг/г (таблица 14).

Точность / Восстановление
Общее смещение: -1,1%;
Нижний предел соглашения: -17,5%,
Верхний предел соглашения: 15,4%
Четыре отрицательных экстрагированных образца кала были изменены увеличивающимся количеством кальпротектина из образцов сыворотки. Результаты представлены на рисунке 3.

Эффект крючка высокой дозы
Образцы с теоретическими концентрациями до 60 000 мкг/г могут быть проанализированы без ограничения диапазона измерения анализа.

Рабочий диапазон: 30–1800 мкг/г
Повторяемость (внутрианалитическая точность): 1,7–5,8% CV
Внутрилабораторная точность: 3,1–9,4% CV
Воспроизводимость и внутрилабораторная точность были установлены в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием схемы исследования: 10 дней x 2 прогона x 4 повтора. Было исследовано семь объединенных экстрактов образцов кала (таблица 16).

Точность между партиями: 4,2–9,7% CV
Воспроизводимость от партии к партии была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием дизайна исследования 3 лота x 5 дней x 5 повторов. Было проанализировано шесть извлеченных образцов кала. Для анализа данных использовалась модель компонентов дисперсии случайных эффектов. Значения представлены в таблице 17.

Воспроизводимость (многосайтовое исследование оценки точности): 6,4–19,0% CV
Воспроизводимость была установлена в соответствии с руководящим принципом CLSI EP05-A3, используя 3 сайта x 2 оператора x 5 дней x 2 прогона x 4 повторения проекта исследования. Для двух запусков, выполняемых каждый день, операторы чередовали два разных считывателя ИФА и две разные партии реагентов. Всего на исследуемых участках было использовано три партии реагентов. Были протестированы пять объединенных экстрактов образцов кала (таблицы 18 и 19).

Предел обнаружения (LoD): 12,6 мкг/г
LoD был установлен в соответствии с руководящим принципом CLSI EP17-A2 и с пропорциями ложных срабатываний (α) менее 5% и ложных отрицаний (β) менее 5% на основе 120 определений, с 60 бланками (буфер извлечения) и 60 низкоуровневыми повторами; и LoB 8,3 мкг/г.

Предел количественного определения (LoQ): 21,3 мкг/г
LoQ был установлен в соответствии с руководством CLSI EP17-A2, основанным на 60 определениях и целевой точности 20% CV.

Линейность: 30–1800 мкг/г
Линейный диапазон ИФА BÜHLMANN fCAL® был определен в соответствии с руководством CLSI EP06-A. Допускалось максимальное отклонение от линейности ±20%. Для значений ниже 75 мкг/г допускалась абсолютная разница менее ±15 мкг/г (таблица 20).

Точность / Восстановление: 96,4–102,2%
Семь экстрактов образцов кала с уровнями кальпротектина, охватывающими диапазон измерения теста, были обогащены 180 мкг/г кальпротектина в материале калибратора. Добавление проводили при 10% объеме экстракта образца. “Исходные” образцы заливали соответствующим количеством инкубационного буфера. Образцы “Базовый уровень” и “Базовый уровень + спайк” были измерены в трех повторах с одной партией реагентов. Результаты представлены в таблице 21.

<u>Преаналитика</u>
Рабочие характеристики ИФА BÜHLMANN fCAL® в отношении преаналитических процедур были установлены с использованием рабочего диапазона 30–1800 мкг/г.

Воспроизводимость экстракции – устройство CALEX® Cap: 7,9–16,9%
Воспроизводимость экстракции была установлена в соответствии с руководством CLSI EP05-A3 с использованием партии 3 CALEX® Cap x 4 извлечения x 4

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

повтора дизайна исследования. Были исследованы пять клинических образцов кала, включая образцы твердой, полутвердой и жидкой консистенции. Значения представлены в таблице 22.

Сравнение метода CALEX® Cap и метода ручного извлечения
Смещение при 80 мкг/г: 5,9% (95% ДИ: 1,4–12,2%)
Смещение при 160 мкг/г: 12,0% (95% ДИ: 7,8–17,0%)
Среднее смещение: 10,1% (95% ДИ: 5,7–14,5%)
Сравнительное исследование метода проводилось в соответствии с руководством CLSI EP09-A3. Двести сорок один (241) клинический образец был извлечен с помощью устройств CALEX® Cap из одной партии. Эталонные значения были установлены в экстрактах, полученных методом ручной экстракции. В общей сложности было оценено 172 образца в диапазоне измерений ELISA BÜHLMANN fCAL® и контрольном интервале концентрации кальпротектина 30,5–1496,6 мкг/г. Для обоих методов были проведены однократные экстракции и исследования. Смещение определяли с помощью линейной регрессии Пассинга-Баблока и анализа Бланда-Альтмана (таблицы 23 и 24).

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА
Чувствительность анализа BÜHLMANN fCAL® ELISA к пероральным фармацевтическим препаратам, пищевым добавкам, гемоглобину, а также энтеропатологическим микроорганизмам оценивали в соответствии с руководством CLSI EP07-A2, используя расширенный рабочий диапазон. Смещение результатов, превышающее 10%, рассматривалось как помеха. Не было обнаружено никаких помех для веществ, перечисленных в таблице 25, вплоть до указанных концентраций. Не было обнаружено никаких помех от воздействия энтеропатологических микроорганизмов, перечисленных в таблице 26, вплоть до указанных количеств колониеобразующих единиц (КОЕ) на мл экстракта образца кала.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Клинические исследования

Клиническое исследование – отличие органического заболевания от функционального желудочно-кишечного заболевания

Окончат. диагноз	Распределение результатов в процентах в пределах диагностических диапазонов BÜHLMANN fCAL® ELISA			
	< 80 мкг/г	80 - 160 мкг/г	> 160 мкг/г	Общее
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	48 (66.7%)	10 (13.9%)	14 (19.4%)	72 (100%)

Таблица 5

ВЗК против не-ВЗК	Точка принятия 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 против не-ВЗК	Точка принятия 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 7

ВЗК против СРК	Точка принятия 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 8

ВЗК против СРК	Точка принятия 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%)

Таблица 9

Не-ВЗК – ВЗК + другие инфекции ЖКТ
ДИ – доверительный интервал
PPV – положительная прогностическая ценность
NPV – отрицательная прогностическая ценность
ROC AUC – область под кривой приема рабочих характеристик

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против активности ВЗК по эндоскопическим данным	Исследов. 1 Испания (ссылка 9)	Исследов. 2 Испания (ссылка 10)	Исследов. 3 Австралия, Новая Зеландия (ссылка 11)
Количество пациентов и демография	89 (CD[2]) Возраст: 32-58 44% мужчин	123 (UC[3]) Возраст: 18-85 66.4% мужчин	99 (CD[2] после резекции) Возраст: 29-47 46.5% мужчин
Отрезок	272 мкг/г	280 мкг/г	100 мкг/г
NPV	98%	86%	91%
PPV	76%	80.3%	53%

Таблица 10

[1] Исследования 1 и 2 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон. Исследование 3 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

Клиническое исследование – мониторинг ВЗК

Кальпротектин[1] против клинической ремиссии или рецидива	Исследов. 4 Великобритания (ссылка 12)	Исследов. 5 Испания (ссылка 13)	Исследов. 6 Испания (ссылка 14)
Количество пациентов и демография	92 (CD[2]) 38% мужчины	30 (CD[3]) терапия адалимумабом Возраст: 24-64 43.3% мужчины	33 (CD[2]) 20 (UC[3]) терапия инфликсимабом Возраст: 18-68 47.2% мужчины
Время наблюдения после измерения кальпротектина	12 месяцев	4 месяца	12 месяцев
Пациенты с клиническим рецидивом после наблюдения	11%	30%	23%
Отрезок	240 мкг/г	204 мкг/г	160 мкг/г
NPV	96.8%	100%	96.1%
PPV	27.6%	75%	68.7%

Таблица 11

[1] Исследование 4 – ИФА BÜHLMANN fCAL®
Исследования 5 и 6 – Quantum Blue® fCAL и Quantum Blue® fCAL высокий диапазон
[2] CD = пациенты с болезнью Крона
[3] UC = пациенты с язвенным колитом

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ПРОЦЕДУРА НИЖНЕГО ДИАПАЗОНА 10–600 мкг/г

Пример результатов

	Конц. [мкг/г]	Поглощение [ОП]	Подсчет конц.[мкг/г]	CV конц. [%]
Средний бланк		**0.096**		
Кал. A	10	0.073		
Кал. A	10	0.066		
Кал. A среднее	**10**	**0.069**		**7.2**
Кал. B	30	0.143		
Кал. B	30	0.153		
Кал. B среднее	**30**	**0.148**		**4.8**
Кал. C	100	0.465		
Кал. C	100	0.456		
Кал. C среднее	**100**	**0.460**		**1.4**
Кал. D	300	1.121		
Кал. D	300	1.135		
Кал. D среднее	**300**	**1.128**		**0.9**
Кал. E	600	1.658		
Кал. E	600	1.671		
Кал. E среднее	**600**	**1.664**		**0.6**
Контр. низк.		0.201	41	
Контр. низк.		0.189	39	
Контр.низк.ср.		**0.195**	**40**	**4.4**
Контр. выс.		0.598	134	
Контр. выс.		0.583	130	
Контр. выс.ср.		**0.590**	**132**	**1.8**

Таблица 12

Пример стандартной кривой

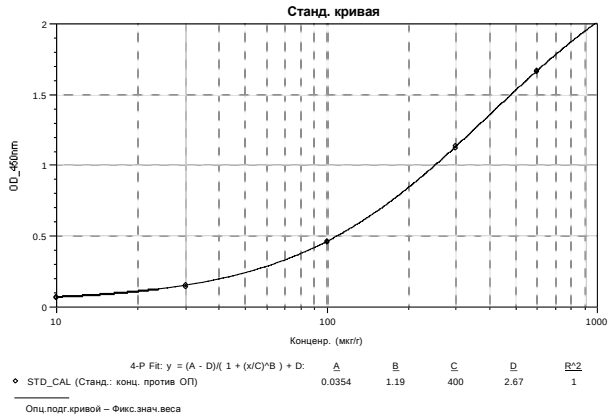


Рисунок 1

Внутрилабораторная точность

№ образца	n	Значение [мкг/г]	Воспр-сть		Между днями		Общая точность	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
#1957	44	13.2	1.0	8.0%	1.5	11.6%	1.8	14.0%
#1933	42	20.5	0.9	4.2%	1.6	7.7%	1.8	8.8%
#1934	44	19.7	1.2	6.0%	1.6	8.4%	2.0	10.3%
#1935	44	37.1	1.2	3.2%	2.1	5.8%	2.4	6.7%
#1936	44	35.4	0.9	2.7%	2.5	7.4%	2.7	7.8%
#1937	44	58.6	1.6	2.9%	3.6	6.4%	3.9	7.0%
#1938	44	83.9	2.6	3.1%	4.3	5.2%	5.0	6.0%
#1939	44	141.4	2.6	1.9%	7.1	5.2%	7.5	5.5%
#1956	44	294.1	14.0	4.8%	18.0	6.2%	22.8	7.8%
#1940	44	501.4	27.7	5.7%	20.9	4.3%	34.7	7.1%

Таблица 13

Профиль точности

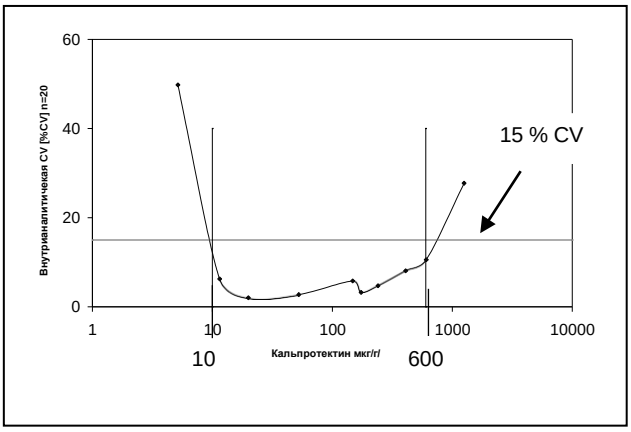


Рисунок 2

Линейность

ID	Испытанный диапазон измерений	R^2	значения p для нелинейного коэффициента	Предел линейности
S1	2.3 - 740.0	0.972	p >0.05	3.1 - 602.8
S2	5.1 - 999.5	0.988	p <0.05	5.1 – 654.0
S3	1.3 – 690.2	0.994	p <0.05	3.9 – 690.2
S4	9.6 – 827	0.940	p <0.05	9.6 – 658.7

Таблица 14

Восстановление спайка

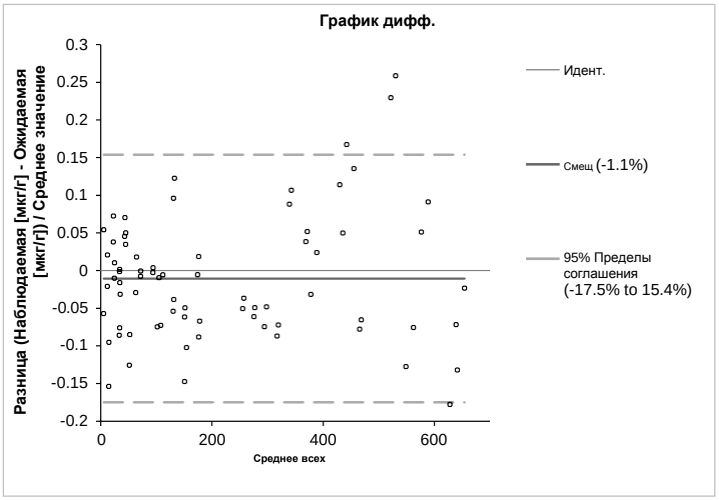


Рисунок 3

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ПРОЦЕДУРА РАСШИРЕННОГО ДИАПАЗОНА 30–1800 мкг/г

Пример результатов

	Концентрация [мкг/г]	Поглощение [ОП]
Калибратор A	30 30	0.047 0.046
Калибратор B	90 90	0.138 0.140
Калибратор C	300 300	0.464 0.452
Калибратор D	900 900	1.207 1.192
Калибратор E	1800 1800	1.627 1.630
Среднее бланка		0.057
Низкий контроль		0.147 0.162
Высокий контроль		0.618 0.618

Таблица 15

Пример стандартной кривой

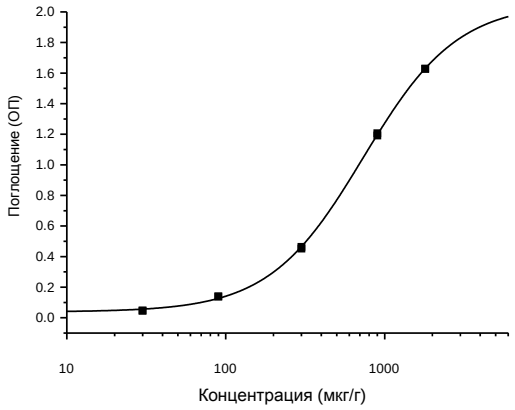


Рисунок 4

Внутрилабораторная точность

ID	Знач. [мкг/г]	n	Воспр-ть		Между прогонами		Между днями		Внутри лаборатории	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
P1	38.5	80	2.3	5.8%	1.8	4.8%	2.2	5.6%	3.6	9.4%
P2	67.0	80	2.0	3.0%	3.5	5.2%	1.6	2.4%	4.3	6.4%
P3	135.7	80	2.3	1.7%	5.6	4.1%	0.0	0.0%	6.0	4.4%
P4	207.1	80	4.1	2.0%	12.5	6.0%	0.0	0.0%	13.2	6.4%
P5	337.1	80	5.9	1.8%	18.3	5.4%	0.0	0.0%	19.3	5.7%
P6	562.6	80	11.0	2.0%	13.6	2.4%	2.5	0.4%	17.7	3.1%
P7	918.0	80	18.6	2.0%	62.1	6.8%	20.8	2.3%	68.1	7.4%

Таблица 16

Точность между партиями

ID	Знач. [мкг/г]	n	Внутри прогона		Между днями		Между партиями		Итог	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
2	46.4	74	2.5	5.5%	0.5	1.1%	2.4	5.3%	4.5	9.7%
3	105.5	75	2.5	2.4%	1.4	1.4%	2.1	2.0%	4.5	4.2%
4	133.6	75	5.0	3.8%	1.9	1.4%	4.2	3.2%	7.2	5.4%
5	178.5	75	6.3	3.5%	0.0	0.0%	6.3	3.5%	9.2	5.2%
6	435.2	75	12.4	2.9%	7.5	1.7%	18.1	4.2%	23.2	5.3%
7	1476.1	75	48.4	3.3%	88.6	6.0%	31.4	2.1%	110.6	7.5%

Таблица 17

Воспроизводимость – многосайтовое исследование точности

ID	Знач. [мкг/г]	n	Внутри прогона		Между прогонами		Между днями	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S01	42.1	236	3.1	7.3%	5.9	13.9%	1.0	2.3%
S02	67.4	238	3.0	4.4%	6.8	10.1%	0.0	0.0%
S03	142.3	238	5.6	3.9%	15.2	10.7%	0.0	0.0%
S04	379.8	240	10.8	2.9%	16.4	4.3%	3.2	0.9%
S05	1053.3	238	37.7	3.6%	48.3	4.6%	0.0	0.0%

Таблица 18

Воспроизводимость – мультисайтовое исследование точности

ID	Знач. [мкг/г]	n	Между операторами		Между сайтами		Итог (воспр-ть)	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
S01	42.1	236	0.0	0.0%	4.4	10.4%	8.0	19.0%
S02	67.4	238	1.7	2.6%	3.9	5.7%	8.6	12.7%
S03	142.3	238	2.4	1.7%	4.0	2.8%	16.8	11.8%
S04	379.8	240	0.0	0.0%	13.7	3.6%	24.2	6.4%
S05	1053.3	238	39.5	3.8%	64.4	6.1%	97.3	9.2%

Таблица 19

Линейность

ID	Диапазон измерений [мкг/г]	R^2	Значения p для нелинейного коэффициента	Предел линейности [мкг/г]
FRB	22.8 – 1932.0	0.998	$p < 0.05$	24.6 – 1932.0
FRC	26.2 – 2096.2	0.997	$p < 0.05$	26.2 – 2096.2

Таблица 20

Точность / Восстановление

ID	Средний базовый уровень [мкг/г]	Ожидаемый базовый уровень + спайк [мкг/г]	Наблюдаемый базовый уровень + всплеск [мкг/г]	Скорость восстановления [%]
#1	46.5	226.5	224.5	99.1%
#2	63.7	243.7	247.7	101.6%
#3	89.0	269.0	274.9	102.2%
#4	111.6	291.6	292.0	100.1%
#5	163.5	343.5	331.1	96.4%
#6	304.0	484.0	475.0	98.1%
#7	990.2	1170.2	1166.6	99.7%

Таблица 21

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

ПРИЛОЖЕНИЕ I

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ / TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE / TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ – ПРЕАНАЛИТИКА

Воспроизводимость экстракции – CALEX® Cap

ID	Mean [µg/g]	Within-extraction		Between-extraction		Between -Lot		Total precision	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
A	42.5	1.6	3.9%	5.2	12.1%	0.0	0.0%	5.4	12.7%
B	126.5	3.2	2.5%	9.6	7.6%	9.3	7.4%	13.8	10.9%
C	207.4	5.1	2.4%	34.8	16.8%	0.0	0.0%	35.1	16.9%
D	515.5	13.9	2.7%	38.2	7.4%	0.0	0.0%	40.7	7.9%
E	2949.9	93.0	3.2%	214.6	7.3%	47.0	1.6%	238.6	8.1%

Таблица 22

Сравнение методов – извлечение с CALEX® Cap и ручное извлечение

Анализ Блэнда-Альтмана		
Среднее смещение (95%)	**Нижний LoA (95% CI)**	**Верхний LoA (95% CI)**
10.1% (5.7%, 14.5%)	-47.4% (-54.9%, -39.8%)	67.5% (60.1%, 75,1%)

Таблица 23

Регрессионный анализ Пассинга-Баблока				
Уклон (95% CI)	**Интерцепция (мкг/г) (95% CI)**	**Смещение при 80 мкг/г (95% CI)**	**Смещение при 160 мкг/г (95% CI)**	**r**
1.181 (1.120, 1.235)	-9.7 (-16.0, -2.4)	5.9% (1.4%, 12.2%)	12.0% (7.8%,16.9%)	0.948

Таблица 24

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Пероральные фармацевтические препараты, пищевые добавки и гемоглобин

Торговое наименование	Активное вещество	Концентрация мг/50 мг кала
гино-Тардиферон	Сульфат железа (II) (содержит 0,35 мг фолиевой кислоты)	0.11
Преднизон	Преднизон	0.31
Имурек	Азатиоприн	0.19
Салофальк	Мезаламин; 5-АСА	5.21
Агоптон	Лансопразол	0.18
Асакол	Мезаламин; 5-АСА	2.50
Ванкоцин	Ванкомицин	2.00
Сульфаметоксазол	Сульфаметоксазол	1.60
Триметоприм	Триметоприм лактат	0.35
Ципроксин	Ципрофлоксацин	1.25
Витамин Е	DL-α-Токоферола ацетат	0.30
Бион 3	3 пробиотика (107 КОЕ): lactobacillus gasseri PA16 / 8, bifidobacterium bifidum MF 20/5, bifidobacterium long SP07 / 3, 12 витаминов: A (800 мкг), B1 (1,4 мг), B2 (1,6 мг), B6 (2 мг), B12 (1 мкг), C (60 мг), D (5 мкг), E (10 мг), биотин (150 мкг), фолиевая кислота (200 мкг), ниацин (18 мг), пантотеновая кислота (6 мг) и 7 минералы: йод (100 мкг), железо (5 мг), цинк (5 мг), селен (30 мкг), хром (25 мкг), марганец (1,2 мг), молибден (25 мкг)	1.06
Гемоглобин	Гемоглобин	1.25

Таблица 25

Энтеропатогенные микроорганизмы

Название	Конечная концентрация (КОЕ/мл экстракта кала)
Escherichia coli	9.5×10^7
Salmonella enterica subsp. enterica	1×10^9
Klebsiella pneumoniae subsp. pneumonia	5.4×10^7
Citrobacter freundii	9.7×10^7
Shigella flexneri	1.5×10^8
Yersinia enterocolitica subsp. enterocolitica	1.6×10^8

Таблица 26

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

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ / REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS

1. Fagerhol MK: *Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality.* Lancet 356, 1783-4 (2000)
2. Tibble JA et al.: *A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease.* Gut 47, 506-513 (2000)
3. Tibble JA et al.: *Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease*. Gastroenterol 123, 450-460 (2002)
4. Jahnsen J, Røseth AG, Aadland E.: *Measurement of calprotectin in faeces*.. Tidsskr Nor Legeforen 128, 743–5 (2008)
5. Manz M et al.: *Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study.* BMC Gastroenterology 12, 5 (2012)
6. Pavlidis P. et al.: *Diagnostic accuracy and clinical application of faecal calprotectin in adult patients presenting with gastrointestinal symptoms in primary care.* Scand J Gastroenterol. 48, 1048-54 (2013)
7. Konikoff MR and Denson LA: *Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis 12(6), 524-34 (2006)
8. Lin JF et al. *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment 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 calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease.* J Crohns Coliti, 7(12), 641-51 (2013)
10. Lobatón T et al.: *A new rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis. 19(5), 1034-42 (2013)
11. Wright EK et al.: *Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery.* Gastroenterology. 148(5), 938-947 (2015)
12. Naismith GD et al.: *A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease*. J Crohns Colitis. 8, 1022-9 (2014)
13. Ferreiro-Iglesias R et al.: *Usefulness of a rapid faecal calprotectin test to predict relapse in Crohn's disease patients on maintenance treatment with adalimumab.* Scand J Gastroenterol. 23, 1-6 (2015)
14. Ferreiro-Iglesias R1 et al.: *Fecal calprotectin as Predictor of Relapse in Patients with Inflammatory Bowel Disease Under Maintenance Infliximab Therapy.* J Clin Gastroenterol. 50(2), 147-51 (2015)
15. Guardiola J. et al.: *Fecal Level of calprotectin Identifies Histologic Inflammation in Patients with Ulcerative Colitis In Clinical And Endoscopic Remission.* Clinical Gastroenterology and Hepatology. 12(11), 1865-70 (2014)
16. Lasson A et al.: *Pharmacological intervention based on fecal calprotectin levels in patients with ulcerative colitis at high risk of a relapse: A prospective, randomized, controlled study.* United European Gastroenterol J. 3(1), 72-9 (2015)
17. Bressler B et al.: *Clinicians' guide to the use of fecal calprotectin to identify and monitor disease activity in inflammatory bowel disease.* Can J Gastroenterol Hepatol. 29(7), 369-72 (2015)
18. Peyrin-BL et al.: *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target.* Am J Gastroenterol. 110, 1324-38 (2015)
19. Molander P et al.: *Does Fecal calprotectin Predict Short-Term Relapse After Stopping Tnfalpha-Blocking Agents In Inflammatory Bowel Disease Patients In Deep Remission?* Journal of Crohn's and Colitis, 33-40 (2015)
20. De Vos M et al.: *Consecutive fecal calprotectin measurements to predict relapse in patients with ulcerative colitis receiving infliximab maintenance therapy.* Inflamm Bowel Dis. 19, 2111-2117 (2013)
21. Fagerberg UL et al.: *Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 40, 450-5 (2005)
22. Li F. et al.: *Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months.* PLoS ONE 10(3)(2015)
23. Zhu Q et al.: *Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years.* PLoS ONE 11 (3) (2016)
24. Peura S. et al.: *Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study*. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation78(1-2), 120-124 (2018)

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

ПРИЛОЖЕНИЕ III

КРАТКИЙ ПРОТОКОЛ

КАЛЬПРОТЕКТИН ИФА

Предварительно покрытый микротитровый планшет

↓ ↺ *промойте 2x с ≥300 мкл промывочного буфера*

100 мкл инкубационного буфера, калибраторы, контроли или разбавленные образцы

↓ ↺ *инкубируйте 30 (+ 5) минут при 18-28°C на шейкере для планшетов ~450 об. в мин.*

↺ *промойте 3x с ≥300 мкл промывочного буфера*

добавьте 100 мкл ферментной метки

↓ ↺ *икубируйте 30 +/-5 минут при 18-28°C на шейкере для планшетов ~450 об. в мин.*

↺ ***промойте 5x*** *с ≥300 мкл промывочного буфера*

добавьте 100 мкл раствора TMB субстрата

↓ ↺ *инкубируйте 15 +/-2 минут при 18-28°C на шейкере для планшетов ~450 об. в мин.*

добавьте 100 мкл стоп раствора

→ **считывание поглощения при 450 нм (в течение 30 минут)**

ВРЕМЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТА: 75 МИНУТ

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

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу вашего государства-члена ЕС.

MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

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.

NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE

Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ V

СИМВОЛЫ / SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Символ	Обозначение
	Использовать до Verwendbar bisUtiliser jusqu'auUtilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração
REF	Код заказа Bestellnummer Référence du catalogue Numero di catalogo Número de catálogo Código de encomenda
LOT	Код партии LotbezeichnungCode du lot Codice del lotto Código de lote Código lote
IVD	Медицинское устройство для диагностики *in vitro* *In Vitro* Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic *in vitro* Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* Producto sanitario para diagnóstico *in vitro* Producto sánitario para diagnóstico *in vitro*
	Набор для проведения <n> тестов Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n" tests Contenuto sufficiente per „n" saggi Contenudo sufficiente para <n> ensayos Contenudo sufficiente para <n> tests
	Обратитесь к инструкции по применению Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções
	Температурные ограничения Zulässiger TemperaturbereichLimites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Lmite de temperatura
MP	Микропланшет MikrotiterplatteMicroplaque Micropiastra Microplaca Placa de microtitulação

Символ	Обозначение
BUF WASH 10X	Концентрат водного буфера (10x) Waschpuffer-Konzentrat (10x) Tampon de lavage concentré (10x) Tampone di lavaggio concentrato (10x) Tampón de lavado concentrado (10x) Tampão de lavagem concentrado (10x)
BUF INC	Инкубационный буфер Inkubationspuffer Tampon d'incubation Tampone di incubazione Tampón de incubación Tampão de incubação
CAL A - CAL E	Калибратор A -E Kalibrator A -E Calibrateur A -E Calibratore A - E Calibrador A – E Calibrador A – E
CONTROL L	Низкий контроль Kontrolle tief Contrôle bas Controllo basso Control bajo Controle baixo
CONTROL H	Control high Kontrolle hoch Contrôle élevé Controllo alto Control alto Controle alto
EL	Ферментная метка Enzymmarker Marqueur enzymatique Marcatore enzimatico Marcador enzimático Marcador enzimático
SUBS TMB	TMB субстрат TMB-Substrat Substrat TMB Substrato di TMB Substrato de TMB Substrato de TMB
SOLN STOP	Стоп-раствор Stopp-Lösung Solution stop Soluzione di stop Solución de parada Solução de parada

CE

IVD

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

ССЫЛКИ НА ЛИТЕРАТУРУ

1. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22.
2. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9.

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу вашего государства-члена ЕС.

ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ТРАНСПОРТИРОВКЕ

Пожалуйста, сообщите своему дистрибьютору, если данный продукт был доставлен поврежденным.

REACH

Ни один из материалов и реагентов в наборе не требует Паспорта Безопасности Материалов (MSDS) в соответствии с CLP-Регламентом (ЕС) № 1272/2008 и директивой ЕС 1907/2006 (REACH).

СИМВОЛЫ

	Срок годности
	Обратитесь к инструкции по эксплуатации
	Производитель
	Каталожный номер
	Устройство медицинского назначения для диагностики *In Vitro*
	Партия
	Температурные ограничения

Производитель
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария
Дата выпуска: 2020-10-30

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

BÜHLMANN

BÜHLMANN fCAL® turbo

Турбидиметрический анализ на кальпротектин для профессионального использования

Набор Контролей

B-KCAL-CONSET
Версия A2

Для диагностики *In Vitro*

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Швейцария
Тел.: +41 61 487 1212
Факс: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

DE: Die vollständige Gebrauchs-anweisung kann heruntergeladen werden unter **FR:** La notice d'utilisation complète peut être téléchargée sur le site **IT:** Le istruzioni per l'uso complete possono essere scaricate dal sito **ES:** Las instrucciones de uso completas pueden descargarse en **PT:** A Instrução de uso completa pode ser baixada pelo site **www.buhlmannlabs.ch**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор контролей BÜHLMANN fCAL® turbo предназначен для использования с комплектом реагентов BÜHLMANN fCAL® turbo для проведения контроля качества при определении уровня кальпротектина в образце кала.

Исключительно для лабораторного использования.

КОНТРОЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Контрольные значения назначаются в соответствии с протоколом передачи (ссылки 1–2) и указываются в прилагаемом листе данных контроля качества. Контрольный материал содержит кальпротектин человека, полученный из крови, и стандартизирован по отношению к внутреннему эталонному материалу.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

Реагенты	Количество	Код	Подготовка
Контроли высокий / низкий Контроли, содержащие заданную концентрацию человеческого кальпротектина	3 x 2 виалы 1 мл/виала	B-KCAL-CONSET	Готов к использованию

Таблица 1

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Невскрытые контроли
Хранить при температуре 2-8°C. Не используйте комплект с истекшим сроком годности, указанным на этикетке.
Вскрытые контроли
Хранить до 3 месяцев при температуре 2-8°C, закрыв крышкой.

Таблица 2

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Реагенты	Количество	Код
Набор реагентов BÜHLMANN fCAL® turbo Реакционный буфер (R1) Иммуночастицы (R2)	1 виала/35 мл 1 виала/7 мл	B-KCAL-RSET
BÜHLMANN fCAL® turbo Набор калибраторов Калибраторы 1–6 для установления шеститочечной калибровочной кривой	1 x 6 виал 1 мл/виала	B-KCAL-CASET

Таблица 3

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

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Данный тест предназначен исключительно для диагностики *in vitro*.
- Перед измерением, пожалуйста, уравновесьте реагенты, контрольные материалы, калибраторы и образцы, как описано в инструкции по применению.
- Не смешивайте контрольные материалы из разных партий и не меняйте колпачки между реагентами.
- Избегайте испарения контрольных материалов.
- Контрольные материалы содержат компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что проведенные исследования показали отрицательные результаты к HBV, HCV и HIV, работа с реагентами должна проводиться таким образом, будто материал способен передавать инфекции, поэтому эксплуатация материала должна осуществляться в соответствии с Надлежащей лабораторной практикой (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности. Утилизация любых использованных материалов должна осуществляться в соответствии с региональными требованиями.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности применения / настройки анализа

Процедура анализа для BÜHLMANN fCAL® turbo была установлена на нескольких биохимических анализаторах. Проверенные инструкции по применению, описывающие установку и анализ на конкретных устройствах, предоставляются компанией BÜHLMANN по запросу.

Контроли качества

Набор контролей BÜHLMANN fCAL® turbo следует проверять каждый день перед проведением экстракции кала пациента. Это делается для создания калибровочной кривой, установленной с помощью комплекта калибраторов BÜHLMANN fCAL® turbo. Материал контроля имеют диапазоны значений для конкретных партий, указанные во вкладыше к материалу для контроля качества. Показатели контрольных измерений должны находиться в пределах указанных диапазонов значений. Таким образом можно рассчитывать на получение достоверных результатов для образцов кала пациента.

Если контрольные значения неверны, повторите измерение со свежими материалами для контроля качества. Если контрольные значения остаются недействительными, выполните повторную калибровку устройства. Если допустимые контрольные значения не могут быть воспроизведены, после выполнения описанных выше действий обратитесь в службу поддержки BÜHLMANN.

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

Ссылки на литературные источники

1. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110 – 22.
2. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470 – 9.

СООБЩЕНИЯ ОБ ИНЦИДЕНТАХ В ГОСУДАРСТВАХ-ЧЛЕНАХ ЕС

Если произошел какой-либо серьезный инцидент, связанный с данным устройством, пожалуйста, незамедлительно сообщите об этом производителю и компетентному органу вашего государства-члена ЕС.

ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ТРАНСПОРТИРОВКЕ

Пожалуйста, сообщите своему дистрибьютору, если данный продукт был получен поврежденным.

ДИРЕКТИВА REACH

Ни один из материалов и реагентов в наборе не требует Паспорта безопасности материалов (MSDS) в соответствии с CLP-Регламентом (ЕС) № 1272/2008 и директивой ЕС 1907/2006 (REACH).

ЗНАЧЕНИЯ СИМВОЛОВ

	Срок годности
	Инструкция по применению
	Производитель
REF	Каталожный номер
IVD	Медицинское устройство для диагностики *In Vitro*
LOT	Номер партии
	Температурные ограничения

 **Производитель**
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Швейцария

CE

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

BÜHLMANN

BÜHLMANN fCAL® turbo

Турбидиметрический анализ на кальпротектин
Для профессионального использования

Набор калибраторов

B-KCAL-CASET
Версия A2

Для диагностики *In Vitro*

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

DE: Die vollständige Gebrauchs-anweisung kann heruntergeladen werden unter **FR:** La notice d'utilisation complète peut être téléchargée sur le site **IT:** Le istruzioni per l'uso complete possono essere scaricate dal sito **ES:** Las instrucciones de uso completas pueden descargarse en **PT:** A Instrução de uso completa pode ser baixada pelo site **www.buhlmannlabs.ch**

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор калибраторов fCAL® turbo производителя предназначен для использования с набором реагентов BÜHLMANN fCAL® turbo для определения уровня фекального кальпротектина в образцах кала. Каждый калибратор устанавливает точку отсчета для рабочей кривой, которая используется для расчета результатов исследований образцов пациентов.

Исключительно для лабораторной диагностики.

ЗНАЧЕНИЯ КАЛИБРАТОРА

Значения калибратора присваиваются в соответствии с протоколом передачи значений (ссылки 1, 2) и указываются в прилагаемом листе данных контроля качества. Материал калибратора содержит кальпротектин человека, полученный из крови, и стандартизирован по отношению к внутреннему эталонному материалу.

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

Реагенты	Количество	Код	Приготовление
Калибраторы Калибраторы 1–6, содержащие заданную концентрацию человеческого кальпротектина	1 x 6 виал 1 мл/виала	B-KCAL-CASET	Готов к применению

Таблица 1

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Невскрытые калибраторы
Хранить при температуре 2–8°C. Не используйте комплект с истекшим сроком годности, указанным на этикетке.
Вскрытые калибраторы
Хранить до 3 месяцев при температуре 2–8°C, закрыв крышкой.
Стабильность калибровочной кривой
См. примечание по применению конкретного устройства.

Таблица 2

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Реагенты	Количество	Код
Набор реагентов BÜHLMANN fCAL® turbo Реакционный буфер (R1) Иммуночастицы (R2)	 1 виала/35 мл 1 виала/7 мл	B-KCAL-RSET
Набор контролей BÜHLMANN fCAL® turbo Низкий и высокий контроли	3 x 2 виал 1 мл/виала	B-KCAL-CONSET

Таблица 3

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

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Данный тест предназначен исключительно для диагностики *in vitro*.
- Перед измерением, пожалуйста, уравновесьте реагенты, контроли, калибраторы и образцы, как описано в примечании к применению.
- Не смешивайте калибраторы из разных партий и не меняйте колпачки разных реагентов.
- Не допускайте испарения калибратора.
- Калибратор содержит компоненты человеческого происхождения. Несмотря на то, что тесты и результаты оказались отрицательными на HBV, HCV и ВИЧ, калибраторы должны обрабатываться так, как будто они способны передавать инфекции, и должны применяться в соответствии с рекомендациями надлежащей лабораторной практики (GLP) с использованием соответствующих мер предосторожности. Утилизация любых материалов должна осуществляться в соответствии с региональными требованиями.

ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

Примечания по применению / Настройки анализа

Процедура анализа для BÜHLMANN fCAL® turbo была установлена на нескольких анализаторах клинической химии. Проверенные инструкции по применению, описывающие установку и анализ конкретных приборов, предоставляются компанией BÜHLMANN по запросу.

Создание калибровочной кривой

Комплект калибраторов BÜHLMANN fCAL® turbo используется для построения шеститочечной калибровочной кривой в соответствии с руководством к устройству. Показатели калибратора варьируют в зависимости от партии. Для каждой новой партии калибраторов и реагентов необходимо проводить новую калибровку. В противном случае калибровку следует проводить каждые один-два месяца в соответствии с инструкциями по применению устройства. Обратитесь к прилагаемому паспорту контроля качества для получения назначенных значений калибратора. Если калибровка не может быть выполнена без ошибок, обратитесь в службу поддержки BÜHLMANN.

Контроли качества

Калибровочная кривая должна быть верифицирована с помощью низких и высоких контролей (код: B-KCAL-CONSET) ежедневно перед проведением экстракции образцов кала пациента. Дополнительную информацию см. в инструкции по использованию набора контролей BÜHLMANN fCAL® turbo.