

# **BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo**

Dosage de la calprotectine par turbidimétrie  
Pour utilisation professionnelle

**Coffret de réactifs**

B-KCAL-RSET

Revision date: 2016-06-29

## UTILISATION PRÉVUE

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est un test diagnostique *in vitro* de dosage quantitatif de la calprotectine dans les échantillons de selles humaines, conçu pour aider à évaluer l'état inflammatoire de la muqueuse intestinale. Les résultats du test peuvent contribuer, d'une part, au diagnostic permettant de distinguer – chez les patients de plus de quatre ans [ref. 8-9] souffrant de douleurs abdominales chroniques – une maladie inflammatoire du tractus gastro-intestinal de type organique (maladie inflammatoire chronique de l'intestin MICI, par ex. maladie de Crohn ou recto-colite hémorragique, RCH) [ref. 1-7] d'une maladie fonctionnelle (syndrome de l'intestin irritable, SII) et, d'autre part, à la surveillance d'une MICI [ref. 10-12].

Pour utilisation en laboratoire uniquement.

## PRINCIPE DU TEST

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo est basé sur la technique d'immunoturbidimétrie (PETIA) et permet la quantification d'extraits fécaux de calprotectine sur différents analyseurs de chimie clinique. Les échantillons de selles sont extraits à l'aide du tampon d'extraction (B-CAL-EX) contenu dans le dispositif BÜHLMANN CALEX® Cap (Réf : B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) ou par pesée. La dilution finale appliquée est au 1/500<sup>ème</sup>. Les extraits sont incubés avec du tampon de réaction et mélangés avec des nanoparticules de latex revêtues d'anticorps spécifiques de la calprotectine (immunoparticules). La calprotectine présente crée une agglutination d'immunoparticules. La turbidité de l'échantillon, mesurée par absorbance de la lumière, augmente avec la formation de complexes calprotectine-immunoparticules et est proportionnelle à la concentration en calprotectine. L'absorbance détectée permet de quantifier la concentration en calprotectine grâce à une courbe de calibration.

## REACTIFS FOURNIS ET PREPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Préparation
<b>Tampon de réaction (R1)</b> Tampon salin MOPS	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Prêt à l'emploi
<b>Immunoparticules (R2)</b> Billes de polystyrène revêtues d'anticorps aviaires dirigés contre la calprotectine humaine	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Prêt à l'emploi

Table 1

## CONSERVATION DES REACTIFS ET STABILITE

- **Ne pas congeler les réactifs !** Les réactifs non entamés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration inscrite sur le coffret.
- Les réactifs entamés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à la date d'expiration inscrite sur le coffret.
- Stabilité à bord : au moins 60 jours jusqu'à 15 °C.

## PRECAUTIONS ET SECURITE

- Ce test est prévu pour une utilisation *in vitro* et doit être réalisé par un personnel qualifié, en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire (BPL).
- Les immunoparticules contiennent des substances potentiellement infectieuses d'origine humaine et doivent être manipulées avec précaution. Pour en savoir plus sur les précautions pour la manipulation et l'élimination des déchets, nous vous recommandons fortement de consulter l'organisme réglementaire compétent pour votre pays.
- Le R1 contient du MOPS pouvant être irritant pour les yeux et la peau. A manipuler avec précaution.
- Le R2 contient des nanoparticules de polystyrène.

## MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Réactifs	Quantité	Code
<b>Coffret de calibrateurs BÜHLMANN fCAL® turbo</b> Calibrateurs 1 à 6 pour la calibration de l'analyseur	1 x 6 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
<b>Coffret de contrôles BÜHLMANN fCAL® turbo</b> Contrôles haut et bas	3 x 2 vials 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
<b>Dispositif CALEX® Cap</b> Tubes d'extraction remplis avec du tampon d'extraction	50 tubes 200 tubes 500 tubes	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
<b>Kit d'extraction</b> Tampon d'extraction nécessaire si d'autres techniques d'extraction utilisées	12 bouteilles 125 mL	B-CAL-EX12

Table 2

## RECUEIL DE L'ECHANTILLON ET MANIPULATION

Le test BÜHLMANN fCAL® turbo permet de quantifier la calprotectine présente dans des extraits fécaux. Les selles sont recueillies, extraites et diluées à une concentration finale de 1/500 en utilisant le dispositif d'extraction BÜHLMANN CALEX® Cap (Réf : B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500).

**Important :** après l'extraction, centrifuger le dispositif CALEX® Cap pendant 10 minutes à 1000 x g et continuer avec la « Procédure de test ».

**Technique alternative :** peser les selles et les extraire dans le tampon d'extraction de BÜHLMANN au 1/50ème (Réf. B-CAL-EX), centrifuger (10 minutes à 1000 x g) puis réaliser une dilution supplémentaire au 1/10ème avec le tampon d'extraction de BÜHLMANN.

**Stockage de l'échantillon :** Les échantillons de selles peuvent être conservés jusqu'à 6 jours entre 2 et 8 °C. Les extraits sont stables jusqu'à 6 jours entre 2 et 8 °C et peuvent être congelés (-20 °C) pendant au moins 6 mois.

## PROCEDURE DE TEST

## Protocoles d'application / Installation du test :

Les procédures de test pour le BÜHLMANN fCAL® turbo sont établies sur plusieurs analyseurs de chimie clinique. Les protocoles d'application décrivant l'installation et l'analyse sur chaque instrument sont disponibles sur

demande chez BÜHLMANN. Se référer au manuel instrument pour le paramétrage, la maintenance, la réalisation d'un dosage et les précautions générales à prendre.

#### Préparation des réactifs :

Les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Homogénéiser légèrement avant de charger l'analyseur. Les bouteilles de réactifs sont normalement adaptées à l'analyseur, sauf indication contraire marquée sur le protocole d'application.

#### Etablissement de la courbe de calibration :

Le set de calibrateurs BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo (Réf. B-KCAL-CASET) permet de réaliser une courbe d'étalonnage de 6 points selon la notice de l'instrument. Une nouvelle calibration doit être réalisée pour chaque nouveau lot de calibrateurs ou toutes les 4 à 8 semaines selon les indications du protocole d'application de l'instrument. Se référer à la fiche de contrôle qualité incluse dans le set de calibrateurs BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo pour connaître les valeurs de calibrateur définies.

Contactez le support BÜHLMANN si la calibration ne peut être réalisée sans erreur.

#### Contrôles qualité :

Les contrôles BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo, haut et bas, (Réf. B-KCAL-CONSET) doivent être dosés chaque jour avant le dosage d'échantillons patients afin de valider la courbe de calibration. Les valeurs des contrôles sont définies par lot, voire fiche de contrôle qualité incluse dans le set de contrôles BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo. Les valeurs des contrôles doivent être comprises dans l'intervalle de mesure afin de pouvoir valider les valeurs des échantillons patients. Si les valeurs des contrôles sont invalides, réaliser les étapes suivantes :

- Répéter la mesure des contrôles avec de nouveaux contrôles.
- Re-calibrer l'analyseur.

Contactez le support BÜHLMANN si les contrôles sont toujours invalides.

#### Dosage de l'extrait patient :

Une fois la courbe de calibration établie et validée avec les contrôles qualité, les extraits patients peuvent être dosés. Lancer le dosage des extraits patients selon la Note d'Application et le manuel d'utilisation de l'analyseur.

#### Résultats :

Les résultats se calculent automatiquement par l'instrument et sont rendus en µg/g.

---

### INTERVALLES DE REFERENCE ET SEUILS

Le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo est standardisé avec le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> ELISA. Les résultats des deux tests sont hautement comparables (voir les caractéristiques de performances). BÜHLMANN recommande d'appliquer les mêmes seuils que ceux utilisés pour BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> ELISA.

#### Valeurs normales inférieures à 50 µg/g :

Les valeurs de calprotectine <50 µg/g ne sont pas indicatives d'une inflammation du tractus gastro-intestinal. Les patients avec des niveaux bas n'ont généralement pas besoin d'investigation invasive plus poussée pour déterminer la cause de l'inflammation [Réf.8].

#### Valeurs élevées entre 50 et 200 µg/g :

Les valeurs de calprotectine entre 50 et 200 µg/g peuvent représenter une maladie organique douce telle qu'une inflammation causée par les AINS, une diverticulite légère et une MICI en phase de rémission. La faible réponse inflammatoire démontrée dans cette zone suggérerait de répéter le test et de réaliser des investigations supplémentaires.

#### Valeurs élevées supérieures à 200 µg/g :

Les valeurs de calprotectine >200 µg/g sont indicatives d'une maladie organique active avec inflammation du tube digestif. Des procédures d'investigations et curatives appropriées par des spécialistes sont suggérées.

Les valeurs de seuil suggérées pour les adultes (50 µg/g) peuvent aussi être appliquées aux enfants de 4 à 17 ans sans distinction de sexe [Réf.8].

---

### LIMITES

- Contamination inter-échantillon : un transfert mineur d'échantillon (« carry-over ») a été détecté (0,5 %), qui pourrait provoquer une faible augmentation des valeurs.
- Le réactif R2, occasionnellement congelé, ne peut pas être utilisé. Congeler le réactif R2 a pour conséquence la réduction de la sensibilité et de la précision pour les échantillons de faibles concentrations et dans les situations plus critiques, la diminution des valeurs mesurées.
- Le test est conçu pour les échantillons fécaux extraits avec le tampon spécifique d'extraction BÜHLMANN (B-CAL-EX). Utiliser tout autre tampon d'extraction pourra engendrer des résultats incorrects.
- L'évaporation des contrôles et calibrateurs dans l'analyseur pourra provoquer des résultats incorrects. Réaliser le test immédiatement après avoir chargé l'analyseur.
- Un effet crochet mineur peut apparaître pour les extraits >8000 µg/g. Les valeurs >8000 µg/g sont rares (<0,5 %) mais peuvent être incorrectement mesurées entre 1000 et 2000 µg/g. Aucune valeur pour ces extraits n'a été observée en dessous de 1000 µg/g.
- Les patients prenant régulièrement des AINS peuvent présenter des taux de calprotectine fécale plus élevés.

---

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance présentées ont été générées sur l'analyseur Mindray BS-380 (marque déposée de Mindray Medical International).

#### Limites de détection

La limite de quantification est définie comme suit : La plus faible quantité réelle d'un analyte qui peut être détectée de manière fiable et à laquelle l'erreur totale répond aux exigences de précision.

Le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo a une limite de quantification de 19 µg/g de calprotectine sur l'analyseur BS-380.

#### Précision

La précision du test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo a été évaluée pendant 20 jours avec le coffret de calibrateurs (B-KCAL-CASET) en accord avec la directive CLSI,

EP5-A3. 4 extraits fécaux et 2 niveaux de contrôles ont été mesurés sur l'analyseur BS-380.

Extraits fécaux	Valeur moyenne (µg/g)	CV intra-série (%)	CV inter-jour (%)	CV inter-série (%)	CV total (%)
Faible	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Moyennement faible	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Moyennement fort	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Fort	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Contrôle bas	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Contrôle haut	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Table 3 : Résultats de précision

### Linéarité

Le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo est linéaire entre 21 et 2058 µg/g sur l'analyseur BS-380 en utilisant le set de calibrateurs (B-KCAL-CASET). Les extraits dont les concentrations sont au-delà de cette gamme, seront dilués au 1:10 selon un protocole spécifique de l'analyseur et dosés à nouveau.

### Effet crochet

Pour le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo, aucun effet crochet n'est observé pour des concentrations en calprotectine jusqu'à 8000 µg/g.

### Interférences

Aucune interférence n'est détectée avec l'hémoglobine (0,05 g/L), l'intralipide (1 g/L) ou la bilirubine (0,5 mg/L) sur l'analyseur BS-380. Du fait de l'extraction et donc de la dilution au 1:500e des échantillons de selles, les concentrations testées sont plus faibles que celles testées normalement avec les échantillons de sang.

Aucune interférence n'a été observée avec différents médicaments, ni additifs alimentaires administrés oralement et liés à des troubles intestinaux. L'évaluation des interférences a été menée en accord avec la directive CLSI, EP07-A2 [5].

### Comparaison de méthodes

Les résultats obtenus avec le test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo sur l'analyseur BS-380 ont été comparés avec la régression de Passing et Bablok au test BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> ELISA. L'évaluation a inclus 112 extraits de selles dans la gamme de 30 à 1800 µg/g.

---

### DOMMAGES LIES AU TRANSPORT

Merci d'indiquer à votre distributeur si le produit a été réceptionné endommagé.

---

### REACH

Aucun des matériaux et des réactifs dans le kit nécessite une fiche de données de sécurité (FDS) conformément au règlement CLP (CE) n ° 1272/2008 et de la directive CE 1907/2006 (REACH).

N	Régression linéaire (turbo vs. ELISA)		Analyse Altman Bland (turbo vs. ELISA)		
	Pente	Coefficient de détermination (R <sup>2</sup> )	Biais (%)	Lower LoA*	Upper LoA*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Table 4 : Résultats de comparaison de méthodes.

\*LoA = Limites d'Acceptabilité

## Method Comparison

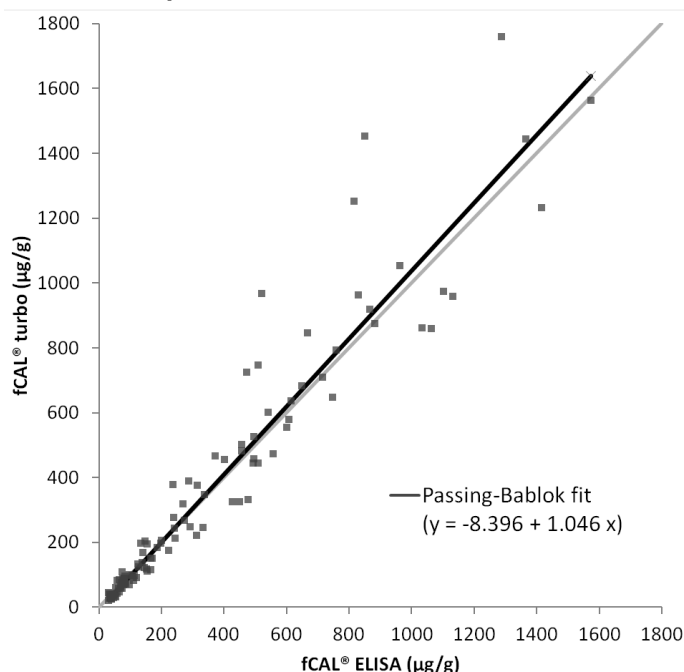









Fig. 1 : Nuage de points des 112 échantillons inclus dans l'analyse de comparaison de méthodes.

1. Fagerhol MK: Lancet 2000; 356, 1783 – 4.
2. Tibble JA et al.: Gut 2000; 47, 506 – 13.
3. Tibble JA et al.: Gastroenterol 2002; 123, 450 – 60.
4. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524 – 34.
5. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2008; 128, 743 – 5.
6. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5
7. Pavlidis P. et al. Scand J Gastroenterol. 2013; 48, 1048 – 54
8. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450 – 5.
9. Kapel N et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 50
10. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407 – 1415.
11. Wright et al.: Gastroenterology 2015; 148, 938 – 947.
12. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022 – 9.

Symbol	Explanation
	Utiliser jusqu'au
	Référence du catalogue
	No. du lot
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>

Symbol	Explanation
	Consulter le mode d'emploi
	Fabricant
	Limites de température

CE

IVD