



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Ensaio turbidimétrico de calprotectina
para uso profissional

Kit de reagentes

B-KCAL-RSET

Data de revisão: 2017-12-19

PORTUGUÊS

INTENÇÃO DE USO

O BÜHLMANN fCAL® turbo é um teste de diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa da calprotectina em amostras fecais humanas, sendo indicado ao uso como auxiliar na avaliação da inflamação da mucosa intestinal. Os resultados do ensaio podem ser utilizados com o auxílio no diagnóstico, ajudando a distinguir doenças inflamatórias orgânicas do trato gastrointestinal (doenças inflamatórias intestinais [DII], p.ex., doença de Crohn ou colite ulcerativa [CU]) de doenças funcionais (síndrome do intestino irritável [SII]) (ref. 1-7), em pacientes com dor abdominal crônica com mais de quatro anos de idade (ref. 8-9), e como auxiliar do monitoramento de DII (ref. 10-12).

Apenas para utilização laboratorial.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O teste BÜHLMANN fCAL® turbo consiste em um imunoenensaio turbidimétrico melhorado por partículas (PETIA) que permite a quantificação da calprotectina em extratos fecais usando analisadores químicos clínicos. As amostras fecais são extraídas com o tampão de extração (B-CAL-EX), usando-se o dispositivo de extração BÜHLMANN CALEX® Cap (código: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) ou um método de pesagem manual, e aplicadas com uma diluição final de 1:500. Os extratos são incubados com um tampão de reação e misturados a nanopartículas de poliestireno revestidas com anticorpos específicos da calprotectina (imunopartículas). A calprotectina disponível na amostra realiza a aglutinação das imunopartículas. A turbidez da amostra, medida por absorvância de luz, aumenta com a formação do complexo calprotectina-imunopartícula, sendo proporcional à concentração da calprotectina. Assim, a absorvância de luz detectada permite a quantificação da concentração da calprotectina por meio de interpolação em uma curva padrão de calibração estabelecida.

REAGENTES FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código	Preparação
Tampão de reação (R1) MOPS tamponado salino	1 frasco 35 mL	B-KCAL-R1	Pronto para utilização
Imunopartículas (R2) Esferas de poliestireno revestidas com anticorpos aviários contra a calprotectina humana	1 frasco 7 mL	B-KCAL-R2	Pronto para utilização

Tabela 1

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

- **Não congele os reagentes!** Vida útil dos reagentes não abertos a 2-8 °C: consulte a data de validade no rótulo da embalagem.
- Vida útil dos reagentes abertos a 2-8 °C: consulte a data de validade no rótulo da embalagem.
- Estabilidade *onboard*: pelo menos 60 dias a até 15 °C.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de calibradores Calibradores 1-6 para calibração de instrumentos	1 x 6 frascos 1 mL/frasco	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de controles Controles alto e baixo	3 x 2 frascos 1 mL/frasco	B-KCAL-CONSET
Dispositivo CALEX® Cap Dispositivo de extração preenchido com tampão de extração	50 tubos	B-CALEX-C50
	200 tubos	B-CALEX-C200
	500 tubos	B-CALEX-C500
Kit de extração Tampão de extração para método alternativo de extração	3 frascos	B-CAL-EX3
	12 frascos	B-CAL-EX12
	125 mL/frasco	

Tabela 2

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Este teste se destina somente a uso *in vitro* e deve ser executado por um profissional qualificado, de acordo com os princípios de boas práticas do laboratório (BPL).
- Não misture os reagentes de lotes diferentes, nem troque as tampas dos frascos de reagentes.
- As imunopartículas contêm substâncias potencialmente infecciosas de origem animal e devem ser manuseadas com o devido cuidado. O descarte de quaisquer materiais deve ser executado de acordo com os requisitos locais pertinentes.
- O reagente R1 contém MOPS (ácido morfolino-propanossulfônico), que pode ser irritante para os olhos e a pele. Manuseie com cuidado.
- O reagente R2 contém nanopartículas de poliestireno.

COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS

Transporte da amostra: As amostras de fezes devem ser recebidas pelo laboratório nos 3 dias seguintes à coleta. As amostras podem ser transportadas à temperatura ambiente (23°C).

Armazenamento de amostras: As amostras de fezes recebidas devem ser armazenadas a 2-8°C e extraídas dentro de 3 dias.

Extração de fezes com CALEX® Cap: As amostras fecais são coletadas, extraídas e diluídas até uma concentração final de 1:500 usando-se o dispositivo BÜHLMANN CALEX® Cap (código: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500). O procedimento de extração está descrito e ilustrado nas instruções de uso fornecidas com o respectivo dispositivo de extração.

Importante: Após a extração, centrifugue o dispositivo CALEX® Cap por 10 minutos a 1000-3000 g e inicie o procedimento do ensaio.

Armazenamento do extratos: A calprotectina em extractos obtidos pelo tampão BÜHLMANN CALEX® é estável à temperatura ambiente durante 3 dias, a 2-8°C durante 6 dias e a -20°C durante 18 meses.

Método alternativo: As amostras de fezes devem ser coletadas em tubos lisos.

Pesagem manual com BÜHLMANN tampão de extração a 1:50 (código: B-CAL-EX3, B-CAL-EX12), centrifugação (5 minutos a 3000 g) seguida de diluição adicional a 1:10 no BÜHLMANN tampão de extração. A calprotectina em extratos (1:50) obtidos por método de pesagem manual é estável a 2-8°C durante 6 dias ou a -20°C durante 18 meses.

Importante: A amostra deve ser coletada sem a adição de qualquer produto químico ou biológico no dispositivo de coleta.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Notas de aplicação / instalação do ensaio

Os procedimentos de ensaio do BÜHLMANN fCAL® turbo são realizados em diversos analisadores químicos clínicos. Notas de aplicação validadas que descrevem a instalação e análise em instrumentos específicos estão disponíveis e podem ser solicitados à BÜHLMANN. Os manuais correspondentes devem ser considerados para a instalação, manutenção e operação dos instrumentos em questão, assim como para as precauções pertinentes.

Preparação de reagentes

Os reagentes são fornecidos prontos para serem utilizados. Misture delicadamente antes de carregar no instrumento. Os frascos de reagentes podem ser encaixados diretamente no instrumento, a menos que indicado de outra forma na Nota de aplicação.

Determinação da curva de calibração

Os calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo (código: B-KCAL-CASET) são utilizados para determinar uma curva padrão de seis pontos, de acordo com o manual do instrumento. Os valores dos calibradores são específicos para cada lote. Uma nova calibração deve ser executada para cada novo lote de calibradores e de reagentes. Caso contrário, a calibração deve ser realizada a cada 4-8 semanas, de acordo com as notas de aplicação específicas dos instrumentos. Consulte a folha de dados de CQ fornecida com os calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo para obter os valores atribuídos aos calibradores. Entre em contato com o atendimento da BÜHLMANN caso a calibração não possa ser realizada e apresente erros.

Controles de CQ

Os controles alto e baixo do BÜHLMANN fCAL® turbo (código: B-KCAL-CONSET) devem ser testados diariamente, antes da execução dos testes de extratos de amostras fecais de pacientes, para validar a curva de calibração. Faixas de valores são atribuídas aos controles, conforme indicado na folha de dados de CQ fornecida com cada lote do kit de controles do BÜHLMANN fCAL® turbo. As medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas para que resultados válidos sejam obtidos para os extratos de amostras fecais dos pacientes. Se os valores dos controles não forem válidos, execute os seguintes procedimentos:

- Repita a medição de controles de CQ com controles frescos.
- Recalibre o instrumento.

Entre em contato com o atendimento da BÜHLMANN caso não seja possível reproduzir valores de controle válidos.

Medição de extratos de amostras fecais de pacientes

Uma vez que a curva de calibração tenha sido determinada e validada com os controles de CQ, os extratos fecais dos pacientes podem ser medidos. A medição dos extratos fecais deve ser realizada de acordo com a Nota de aplicação e com o manual do instrumento.

Resultados

Os resultados são calculados automaticamente no analisador de química clínica e apresentados em µg/g, salvo indicação em contrário nas notas de aplicação específicas do analisador de química clínica correspondente.

ESTANDARDIZAÇÃO

O BÜHLMANN fCAL® turbo é padronizado em relação ao BÜHLMANN fCAL® ELISA. Os resultados de ambos os ensaios são altamente comparáveis (vide Características de desempenho).

LIMITAÇÕES

- Arraste de amostra: Dependendo do analisador de química clínica, foi detectado um pequeno arraste de amostra (0,5%), o que pode provocar níveis ligeiramente mais elevados.
- Caso o reagente R2 seja congelado, não poderá ser mais utilizado. O congelamento do R2 reduz a sensibilidade e a precisão em amostras de baixo nível e, no pior caso, gera níveis de medição diminuídos.
- O ensaio se destina a extratos de amostras fecais preparados com o tampão de extração BÜHLMANN específico (B-CAL-EX). A aplicação de outros tampões de extração pode levar a resultados incorretos.
- A evaporação dos calibradores e controles no analisador também pode gerar resultados incorretos. Execute o ensaio imediatamente após carregar o analisador.
- Um efeito prozona menor pode ocorrer em extratos >8000 µg/g. Valores maiores que 8000 µg/g são raros (<0,5%), mas podem gerar medições falsas entre 1000 e 2000 µg/g. Ainda não se observou se o valor de extratos >8000 µg/g pode ser determinado como abaixo de 1000 µg/g.
- Pacientes que tomam NSAIDs regularmente podem apresentar elevações nos níveis de calprotectina fecal.
- Os valores da calprotectina fecal servem para auxiliar no diagnóstico e facilitar a distinção entre doenças orgânicas e doenças funcionais, e para auxiliar no monitoramento de DII (doenças inflamatórias intestinais). Os resultados devem sempre ser interpretados em combinação a outros achados clínicos e laboratoriais.
- Para o monitoramento de DII, sugeriu-se que diversas medições da calprotectina fecal realizadas em intervalos de até 4 semanas possibilitam a melhor precisão de diagnóstico na previsão da recidiva clínica em pacientes (ref. 21-22).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

COMO DISTINGUIR DOENÇAS ORGÂNICAS DE DOENÇAS GASTROINTESTINAIS FUNCIONAIS

A estimativa dos níveis de calprotectina fecal pode ser usada como um auxílio confiável e simples para distinguir as doenças gastrointestinais orgânicas das funcionais (ref. 1-7). A BÜHLMANN recomenda a aplicação dos mesmos valores de corte do BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Valores normais abaixo de 50 µg/g

Valores de calprotectina abaixo de 50 µg/g não são indicativos de inflamação do trato gastrointestinal. Os pacientes com baixos níveis de calprotectina provavelmente não requerem procedimentos invasivos para determinação da causa da inflamação (ref. 4).

Valores elevados entre 50 e 200 µg/g

Valores de calprotectina na faixa de 50 a 200 µg/g podem representar doenças orgânicas leves, tais como inflamações causadas por NSAIDs, diverticulite branda ou DII em fase de remissão. A baixa resposta inflamatória indicada nessa faixa pode sugerir a repetição da medição e a execução de mais investigações.

Valores elevados acima de 200 µg/g

Valores de calprotectina acima de 200 µg/g são indicativos de doença orgânica ativa com inflamação do trato gastrointestinal. Sugere-se a execução de procedimentos de investigação apropriados conduzidos por especialistas.

O nível de corte sugerido para adultos (50 µg/g) também pode ser utilizado para crianças na faixa de 4 a 17 anos de idade, independente do sexo (ref. 8-9).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

MONITORAMENTO DE DII

A estimativa da calprotectina fecal também é uma forma confiável e simples de auxiliar no monitoramento de pacientes com DII (ref. 10-20).

O conhecimento condensado dos valores de corte publicados e os estudos de desempenho clínico respaldam as seguintes categorias de resultados:

Valores abaixo de 100 µg/g

Níveis de calprotectina fecal abaixo de 100 µg/g podem indicar confiavelmente pacientes com baixo risco de recidiva clínica que estão em remissão endoscópica e para os quais procedimentos endoscópicos invasivos podem ser evitados (ref. 10-20).

Valores entre 100 e 300 µg/g

Níveis de calprotectina fecal entre 100 e 300 µg/g podem indicar a necessidade de um controle mais rigoroso no período seguinte, para avaliar as tendências de desenvolvimento da doença.

Valores acima de 300 µg/g

Níveis de calprotectina fecal acima de 300 µg/g requerem a repetição do teste e, se confirmados os níveis elevados, indicam a execução de procedimentos adicionais de investigação (ref. 10-20).

As categorias de resultados acima são recomendações. Aconselha-se que os profissionais de saúde definam limites individuais para cada paciente a partir da determinação do nível de base de calprotectina durante a remissão da doença.

Embora improvável, um resultado falso negativo de calprotectina abaixo de 100 µg/g para um paciente com inflamação endoscópica, onde o valor deveria ser acima 300 µg/g, pode atrasar a tomada de decisões clínicas apropriadas e o tratamento do paciente. Assim, é importante que o paciente permaneça sob os cuidados de um profissional de saúde e informe todos os sintomas clínicos.

Estudos demonstraram que níveis altos de calprotectina, acima de 300 µg/g, nem sempre indicam o desenvolvimento de uma recidiva clínica (ref. 10-20). Altos níveis de calprotectina devem ser tratados como um sinal de alerta, requerendo a repetição do teste. A confirmação desses níveis indica a necessidade de procedimentos adicionais de investigação.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho apresentadas foram determinadas no analisador Mindray BS-380 (marca registrada da Mindray Medical International). Consulte as notas de aplicação específicas do analisador de química clínica para as características de desempenho em outro analisador de química clínica.

Limites de detecção

O limite de quantificação (LoQ) do BÜHLMANN fCAL® turbo é de 19 µg/g de calprotectina no analisador BS-380, sendo que o LoQ é definido como a menor quantidade efetiva analítico que pode ser detectada com confiabilidade e a qual o erro total atende aos requisitos de exatidão.

Precisão

A precisão do BÜHLMANN fCAL® turbo calibrador com o kit de calibradores (B-KCAL-CASET) foi determinada em um estudo de precisão de 20 dias executado de acordo com o diretriz EP5-A3 do CLSI. Quatro extratos fecais e dois controles (B-KCAL-CONSET) foram medidos no analisador BS-380.

Extratos fecais	Valor médio (µg/g)	CV intraensaio (%)	CV interdias (%)	CV interensaios (%)	CV total (%)
Baixo	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Médio-baixo	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Médio-alto	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Alto	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Controle baixo	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Controle alto	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Tabela 3: Resultados da precisão

Linearidade

O BÜHLMANN fCAL® turbo calibrador com o kit de calibradores (B-KCAL-CASET) é linear na faixa de 21-2058 µg/g no analisador BS-380. Concentrações fora desta faixa devem ser diluídas conforme o protocolo específico do analisador em 1:10 e testadas novamente.

Efeito Prozona

Nenhum efeito gancho é observado com o BÜHLMANN fCAL® turbo para concentrações de calprotectina até 8000 µg/g.

Interferência

Nenhuma interferência foi detectada com hemoglobina (0,05 g/L), triglicérides (Intralipid®) (1 g/L) ou bilirrubina (0,5 mg/L) no analisador BS-380. Uma vez que as amostras para o BÜHLMANN fCAL® turbo são extraídas com alta diluição (1:500), concentrações de interferentes menores que o padrão foram usadas. Nenhuma interferência foi observada com medicamentos e aditivos alimentares padrão administrados por via oral prescritos para queixas gastrointestinais. O estudo de interferência foi estruturado de acordo com o diretriz EP07-A2 do CLSI.

Comparação de métodos

Os resultados obtidos com o BÜHLMANN fCAL® turbo no analisador BS-380 foram comparados aos obtidos pelo BÜHLMANN fCAL® ELISA empregando-se a regressão de Passing-Bablok. O estudo incluiu 112 extratos fecais na faixa de 30-1800 µg/g (Fig. 1).

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

REACH

Nenhum dos materiais e reagentes no kit exigir uma Ficha de Segurança (FDS) de acordo com a CLP-Regulamento (CE) n.º 1272/2008 ea Directiva CE 1907/2006 (REACH).

ANEXO I

TABELAS E FIGURAS

N	Regressão linear (turbo vs. ELISA)		Análise de Bland-Altman (turbo vs. ELISA)		
	Inclinação	Coefficiente de determinação (R ²)	Viés (%)	LoA inferior*	LoA superior*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Tabela 4: Resultados da comparação de métodos
*LoA = limite de concordância

Comparação de métodos

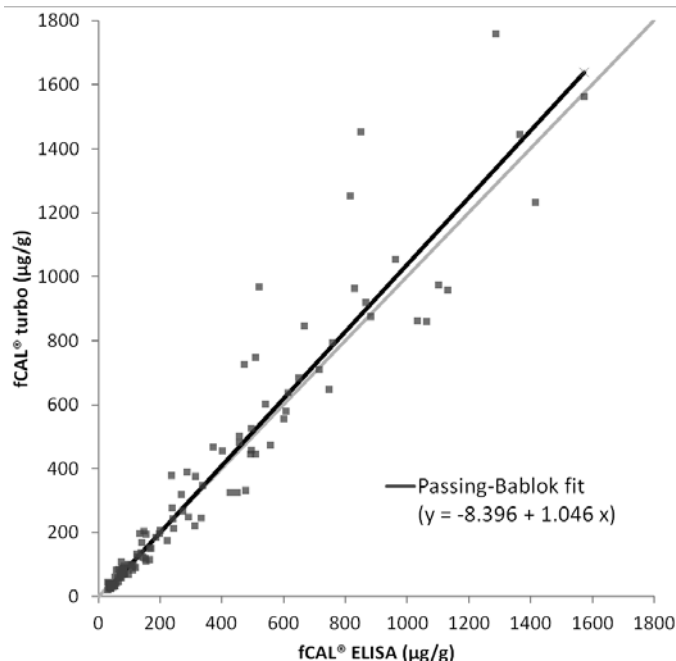


Figura 1: Diagrama de dispersão de 112 amostras incluído na análise comparativa dos métodos.





ANEXO II




REFERÊNCIAS

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. Jahnsen J et al.: Tidsskr Nor Legeforen 2008; 128, 743-5.
5. Manz M. et al.: BMC Gastroenterology 2012; 12, 5.
6. Pavlidis P. et al. Scand J Gastroenterol. 2013; 48, 1048-54.
7. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
8. Kapel N et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 50.
9. Konikoff MR and Denson LA: Inflamm Bowel Dis 2006; 12(6), 524-34.
10. Lin et al.: Inflamm Bowel Dis 2014; 20: 1407-1415.
11. Lobatón T et al.: J Crohns Colitis 2013, 641-51.
12. Lobatón T et al.: Inflamm Bowel Dis 2013, 1034-42.
13. Wright et al.: Gastroenterology 2015; 148, 938-947.
14. Naismith GD et al.: J Crohns Colitis 2014; 8, 1022-9.
15. Ferreiro-Iglesias R et al.: Scand J Gastroenterol 2015, 23, 1-6.
16. Ferreiro-Iglesias R1 et al. : J Clin Gastroenterol 2015, 147-51.
17. Guardiola J. et al. Clinical Gastroenterology & Hepatology 2014, 1865-70.
18. Lasson A et al.: United European Gastroenterol J 2015, 72-9.
19. Bressler B et al.: Can J Gastroenterol Hepatol 2015, 369-72.
20. Peyrin-BL et al.: Am J Gastroenterol 2015, 1324-38.
21. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
22. De Vos M et al. : Inflamm Bowel Dis. 9 2013, 2111-2117.

ANEXO III

SÍMBOLOS

Símbolo	Explicação
	Data de validade
	Número de catálogo
	Número de lote
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>

Símbolo	Explicação
	Consulte as instruções de uso
	Fabricante
	Limitações de temperatura

