

# **BÜHLMANN fCAL<sup>®</sup> turbo**

Ensayo turbidimétrico de calprotectina  
para uso profesional

**Kit de reactivos**

B-KCAL-RSET

Fecha de revisión: 2017-12-19

**USO PREVISTO**

El BÜHLMANN fCAL® turbo es un ensayo diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de calprotectina en muestras de heces humanas a fin de facilitar la valoración de una inflamación de la mucosa intestinal. Los resultados del ensayo se pueden utilizar para facilitar el diagnóstico, permitiendo distinguir una enfermedad inflamatoria orgánica del tracto gastrointestinal (enfermedad inflamatoria intestinal, EII, por ejemplo la enfermedad de Crohn o una colitis ulcerosa) (ref. 1-7) de una enfermedad funcional (síndrome del intestino irritable, SII), en pacientes con dolor abdominal crónico mayores de cuatro años (ref. 8-9), y para facilitar el control de la EII (ref. 10-12).

Para uso de laboratorio únicamente.

**PRINCIPIO DEL ENSAYO**

El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo es un inmunoensayo turbidimétrico potenciado con partículas (PETIA) y permite la cuantificación de la calprotectina presente en extractos fecales en analizadores químicos clínicos. Las muestras de heces se extraen con tampón de extracción (B-CAL-EX) utilizando el dispositivo de extracción BÜHLMANN CALEX® Cap (código: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500) o un método de pesada manual y se aplican en una dilución final de 1:500. Los extractos se incuban con tampón de reacción y se mezclan con nanopartículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos específicos para calprotectina (inmunopartículas). La calprotectina disponible en la muestra media la aglutinación de las inmunopartículas. La turbidez de la muestra, medida a través de la absorbancia de luz, aumenta con la formación del complejo calprotectina-inmunopartícula y es proporcional a la concentración de calprotectina. La absorbancia de luz detectada permite cuantificar la concentración de calprotectina mediante interpolación en una curva estándar de calibradores establecida al efecto.

**REACTIVOS SUMINISTRADOS**

Reactivos	Cantidad	Código	Preparación
<b>Tampón de reacción (R1)</b> solución salina tamponada de MOPS	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Listo para usar
<b>Inmunopartículas (R2)</b> perlas de poliestireno recubiertas con anticuerpos aviares contra calprotectina humana	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Listo para usar

Tabla 1

**ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS**

- ¡No congelar los reactivos! Vida útil de almacenamiento de los reactivos sin abrir a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

- Vida útil de almacenamiento de los reactivos abiertos a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Estabilidad en el instrumento: por lo menos 60 días a una temperatura de hasta 15 °C.

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS**

Reactivos	Cantidad	Código
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de calibradores</b> Calibradores 1-6 para calibración del instrumento	1 x 6 viales 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de controles</b> Controles bajo y alto	3 x 2 viales 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
<b>Dispositivo CALEX® Cap</b> Dispositivo de extracción llenado con tampón de extracción	50 tubos 200 tubos 500 tubos	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
<b>Kit de extracción</b> Tampón de extracción para un método de extracción alternativo	3 botellas 12 botellas Botella de 125 mL	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabla 2

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

- Este ensayo es únicamente para uso *in vitro*, y debe ser manipulado por personal cualificado siguiendo buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- No mezclar reactivos de distintos lotes ni intercambiar las tapas de los reactivos.
- Las inmunopartículas contienen sustancias de origen animal potencialmente infecciosas y deben manipularse con el debido cuidado. La eliminación de cualquier material desechado debe realizarse conforme a los requisitos locales.
- R1 contiene MOPS, que puede ser irritante para los ojos y la piel. Manipular con el debido cuidado.
- R2 contiene nanopartículas de poliestireno.

**RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS**

**Transporte de muestras:** El laboratorio deberá recibir las muestras de heces durante los 3 días posteriores a su recogida. Las muestras podrán transportarse a temperatura ambiente (23 °C).

**Almacenamiento de muestras:** Las muestras de heces recibidas deberán ser almacenadas entre 2 – 8°C y extraídas en el transcurso de los siguientes 3 días.

**Extracción de muestras con CALEX® Cap:** Se recogen muestras de heces que se extraen y se diluyen hasta una concentración final de 1:500 utilizando el dispositivo BÜHLMANN CALEX® Cap (código: B-CALEX-C50 / B-CALEX-C200 / B-CALEX-C500). El procedimiento de extracción se describe y se ilustra en las instrucciones de uso entregadas con los respectivos dispositivos de extracción.

**Importante:** Tras la extracción, centrifugar el dispositivo CALEX® Cap durante 10 minutos a 1000-3000 x g y continuar con el procedimiento de ensayo.

**Almacenamiento de extractos:** Calprotectina en extractos obtenidos por BÜHLMANN CALEX® Cap es estable a temperatura ambiente durante 3 días, a 2-8 ° C durante 6 días y a -20 ° C durante 18 meses.

**Método alternativo:** Las muestras de heces se deberán recoger en tubos lisos.

Pesada manual con el tampón de extracción de BÜHLMANN 1:50 (código: B-CAL-EX3, B-CAL-EX12), centrifugación (5 minutos a 3000 x g) seguida de una dilución 1:10 adicional en el tampón de extracción de BÜHLMANN.

Calprotectina en extractos (1:50) obtenidos por método de pesaje manual es estable a 2-8 ° C durante 6 días o a -20 ° C durante 18 meses.

Importante: La muestra debe tomarse sin adiciones químicas o biológicas.

---

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

### Notas de aplicación / Instalación del ensayo

Los procedimientos de ensayo para BÜHLMANN fCAL® turbo se han establecido en varios analizadores químicos clínicos. Hay disponibles previa solicitud notas de aplicación validadas en las que se describe la instalación y el análisis en instrumentos concretos. Para la configuración del instrumento, su mantenimiento, la operación y las precauciones a tomar, se debe tener en cuenta lo indicado en los manuales del instrumento correspondiente.

### Preparación de los reactivos

Los reactivos suministrados están listos para usar. Mezclarlos suavemente antes de cargarlos en el instrumento. Las botellas de reactivo se pueden colocar directamente en el instrumento salvo que se indique otra cosa en la nota de aplicación.

### Establecimiento de la curva de calibración

Los calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo (código: B-KCAL-CASET) se utilizan para establecer una curva estándar de seis puntos siguiendo el manual del instrumento. Los valores de calibradores son específicos del lote. Debe realizarse una nueva calibración para cada lote de calibradores y reactivos nuevo.

De otro modo, debe realizarse una calibración cada entre 4 y 8 semanas en función de las notas de aplicación específicas del instrumento. Consultar los valores de calibradores asignados en la ficha de datos de CC suministrada junto con los calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo. Contactar con el servicio de atención al cliente de BÜHLMANN en caso de no poder llevar a cabo una calibración sin errores.

### Controles de CC

Los controles BÜHLMANN fCAL® turbo, bajo y alto, (código: B-KCAL-CONSET) deben ensayarse cada día, antes de proceder al análisis de extractos de muestras fecales de pacientes, con el fin de validar la curva de calibración. Los controles tienen asignados rangos de valores que se indican en la ficha de datos de CC suministrada junto con cada lote del kit de controles BÜHLMANN fCAL™ turbo. Para obtener resultados válidos para los extractos de muestras fecales de pacientes, las mediciones de control deben estar dentro de los rangos de valores indicados. Si los valores de control no son válidos, llevar a cabo los procedimientos siguientes:

- Repetir la medición de control de CC con controles nuevos.
- Recalibrar el instrumento.

Contactar con el servicio de atención al cliente de BÜHLMANN en caso de no poder reproducir valores de control válidos.

### Medición de los extractos de muestras fecales de pacientes

Una vez establecida una curva de calibración y validada con los controles de CC, ya se pueden medir los extractos fecales de pacientes. Realizar la medición de los extractos fecales de pacientes conforme a lo indicado en la nota de aplicación y el manual del instrumento.

### Resultados

Los resultados se calculan automáticamente en el analizador de química clínica y se presentan en µg/g, a menos que se indique lo contrario en el correspondiente analizador de química clínica notas de aplicación específicas.

---

## ESTANDARIZACIÓN

El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo ha sido estandarizado con respecto al ensayo BÜHLMANN fCAL® ELISA. Los resultados obtenidos con ambos ensayos son muy comparables (véase la sección de características del rendimiento).

---

## LIMITACIONES

- Contaminación por arrastre de muestra: Dependiendo del analizador de química clínica, se ha detectado una pequeña contaminación por arrastre de muestra (0,5 %) que puede provocar la obtención de valores ligeramente aumentados.
- El reactivo R2 que se haya congelado ya no se puede utilizar. La congelación de R2 provocará una reducción de la sensibilidad y la precisión en muestras con bajo nivel de calprotectina y en el peor escenario dará lugar a la obtención de niveles medidos disminuidos.
- El ensayo está diseñado para extractos de muestras fecales preparados utilizando el tampón de extracción BÜHLMANN específico (B-CAL-EX). La utilización de otros tampones de extracción podría dar lugar a la obtención de resultados incorrectos.
- La evaporación de los calibradores y controles en el analizador podría dar lugar a la obtención de resultados incorrectos. Llevar a cabo el ensayo inmediatamente después de cargar el analizador.
- En extractos con niveles >8000 µg/g se puede producir un pequeño efecto gancho. Los valores >8000 µg/g son raros (<0,5 %), pero pueden dar resultados falsos de entre 1000 y 2000 µg/g. No se ha observado que el valor de extractos >8000 µg/g se pueda determinar como inferior a 1000 µg/g.
- Los pacientes que tomen AINE de manera habitual pueden tener elevados los niveles de calprotectina fecal.

- Los valores de calprotectina fecal son una ayuda para facilitar el diagnóstico distinguiendo entre enfermedad orgánica y enfermedad funcional y para facilitar el control de la EII. Los resultados deben interpretarse siempre en combinación con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.
- Para el control de la EII, se ha sugerido que el uso de múltiples determinaciones de calprotectina fecal obtenidas a intervalos de hasta 4 semanas proporciona la mejor exactitud diagnóstica en la predicción de una recaída clínica de los pacientes (ref. 21-22).

---

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### DISTINGUIR ENTRE ENFERMEDAD ORGÁNICA Y ENFERMEDAD FUNCIONAL GASTROINTESTINAL

La determinación de los niveles de calprotectina fecal pueden ser utilizados como una ayuda fiable y simple para distinguir entre enfermedades gastrointestinales funcionales u orgánicas (ref. 1-7).

BÜHLMANN recomienda aplicar los mismos valores de corte que para el ensayo BÜHLMANN fCAL® ELISA:

#### Valores normales por debajo de 50 µg/g

Los valores de calprotectina por debajo de 50 µg/g no son indicativos de inflamación del tracto gastrointestinal. No es probable que los pacientes con niveles bajos de calprotectina precisen de procedimientos invasivos para determinar la causa de la inflamación (ref. 4).

#### Valores elevados entre 50 y 200 µg/g

Los valores de calprotectina entre 50 y 200 µg/g pueden ser representativos de un trastorno orgánico leve tal como inflamación originada por AINE, diverticulitis leve o EII en fase de remisión. La baja respuesta inflamatoria mostrada dentro de ese intervalo puede sugerir la repetición de la medida y la realización de investigaciones adicionales.

#### Valores elevados por encima de 200 µg/g

Los valores de calprotectina por encima de 200 µg/g son indicativos de un trastorno orgánico activo con inflamación del tracto gastrointestinal. Sugieren llevar a cabo investigaciones adicionales apropiadas por parte de especialistas.

El nivel de corte sugerido para adultos (50 µg/g) se puede utilizar también para niños de entre 4 y 17 años de edad con independencia del sexo (ref. 8-9).

---

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### CONTROL DE LA EII

La determinación de la calprotectina fecal es también un método fiable y sencillo para facilitar el control de pacientes con EII (ref. 10-20).

El conocimiento condensado de los niveles de corte publicados y los estudios de rendimiento clínico respalda las categorías de resultados siguientes:

#### Valores por debajo de 100 µg/g

Los niveles de calprotectina fecal por debajo de 100 µg/g pueden indicar de manera fiable pacientes con riesgo bajo de recaída clínica, en remisión endoscópica, para los que se puede evitar la realización de procedimientos endoscópicos invasivos (ref. 10-20).

#### Valores entre 100 y 300 µg/g

Los niveles de calprotectina fecal entre 100 y 300 µg/g pueden indicar la necesidad de un control más estrecho en el siguiente período para evaluar las tendencias de evolución de la enfermedad.

#### Valores por encima de 300 µg/g

Los niveles de calprotectina fecal por encima de 300 µg/g deben dar lugar a la repetición del análisis y, en caso de confirmarse los niveles elevados, la pronta realización de procedimientos de investigación adicionales (ref. 10-20).

Las categorías de resultados anteriores son recomendaciones. Se aconseja que los profesionales sanitarios establezcan umbrales individuales para cada paciente determinando el nivel basal de calprotectina del paciente durante la remisión de la enfermedad.

Un resultado falso negativo que es un resultado de calprotectina en la categoría por debajo de 100 µg/g que debería mostrar un valor por encima de 300 µg/g, para un paciente con inflamación endoscópica, aunque improbable, podría retrasar la toma de las decisiones clínicas apropiadas y el tratamiento del paciente. Por lo tanto, es importante que el paciente permanezca bajo la atención de un profesional sanitario y comunique cualquier síntoma clínico.

Los estudios han mostrado que niveles de calprotectina altos, por encima de 300 µg/g, no siempre indican el desarrollo de una recaída clínica (ref. 10-20). Los niveles de calprotectina altos deben considerarse una señal de alerta para repetir el análisis. La confirmación de los niveles elevados debe dar lugar a la realización de procedimientos de investigación adicionales.

---

## CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Las características del rendimiento aquí presentadas han sido determinadas en un instrumento Mindray BS-380 (marca registrada de Mindray Medical International). Consulte las notas de aplicación específicas del analizador de química clínica para las características del rendimiento en otro analizador de química clínica

#### Límites de detección

El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo tiene un límite de cuantificación (LdC) de 19 µg/g de calprotectina en el analizador BS-380, definiéndose el LdC como la cantidad más baja de un analito que se puede detectar de manera fiable y a la que el error total satisface los requisitos de exactitud.

## Precisión

La precisión del ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo calibrado con el kit de calibradores (B-KCAL-CASET) se determinó en un estudio de precisión de 20 días con el protocolo CLSI EP5-A3. Se midieron en el analizador BS-380 cuatro extractos fecales y dos controles (B-KCAL-CONSET).

Extractos fecales	Valor medio (µg/g)	CV intraensayo (%)	CV interdía (%)	CV interensayo (%)	CV total (%)
Bajo	52	3.91	3.10	3.60	6.15
Medio bajo	84	1.99	3.98	0.87	4.54
Medio alto	418	0.64	0.15	1.54	1.67
Alto	2024	0.32	1.79	1.12	2.14
Control bajo	74	4.43	5.24	0.51	6.88
Control alto	259	0.62	2.48	1.52	2.97

Tabla 3 : Resultados de precisión

## Linealidad

El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo calibrado con el kit de calibradores (B-KCAL-CASET) es lineal dentro del rango de entre 21 y 2058 µg/g en el analizador BS-380. Las concentraciones que caigan fuera de este rango se diluirán en proporción 1:10 siguiendo el protocolo específico del analizador y se someterán nuevamente a ensayo.

## Efecto gancho

Con el ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo no se observó efecto gancho para concentraciones de calprotectina de hasta 8000 µg/g.

## Interferencias

En el analizador BS-380 no se detectan interferencias con hemoglobina (0,05 g/L), triglicéridos (Intralipid®) (1 g/L) o bilirrubina (0,5 mg/L). Puesto que las muestras para el ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo se extraen muy diluidas (1:500), se utilizaron concentraciones de interferentes inferiores a las normales. No se observaron interferencias con los fármacos administrados por vía oral y aditivos alimentarios habitualmente prescritos para problemas gastrointestinales. El estudio de interferencias se diseñó de conformidad con el protocolo CLSI EP07-A2.

## Comparación de métodos

Los resultados obtenidos con el ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo en el analizador BS-380 se compararon con los obtenidos con el ensayo BÜHLMANN fCAL® ELISA mediante regresión de Passing-Bablok. El estudio incluyó 112 extractos fecales con valores en el rango de entre 30 y 1800 µg/g (Fig. 1).

## DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Si el producto ha sufrido algún daño, notifíquese al distribuidor.

## REACH

Ninguno de los materiales y reactivos en el kit requiere una Hoja de Datos de Seguridad (FDS) de acuerdo con CLP-Reglamento (CE) nº 1272/2008 y la Directiva de la CE 1907/2006 (REACH).

## APÉNDICE I

### TABLAS Y FIGURAS

N	Regresión lineal (turbo frente a ELISA)		Análisis de Altman-Bland (turbo frente a ELISA)		
	Pendiente	Coefficiente de determinación (R <sup>2</sup> )	Sesgo (%)	LdA inferior*	LdA superior*
112	1,05	0,91	-2.5	-47.8 %	42.9 %

Tabla 4 : Resultados de la comparación de métodos.  
\*LdA = Límites de acuerdo

### Comparación de métodos

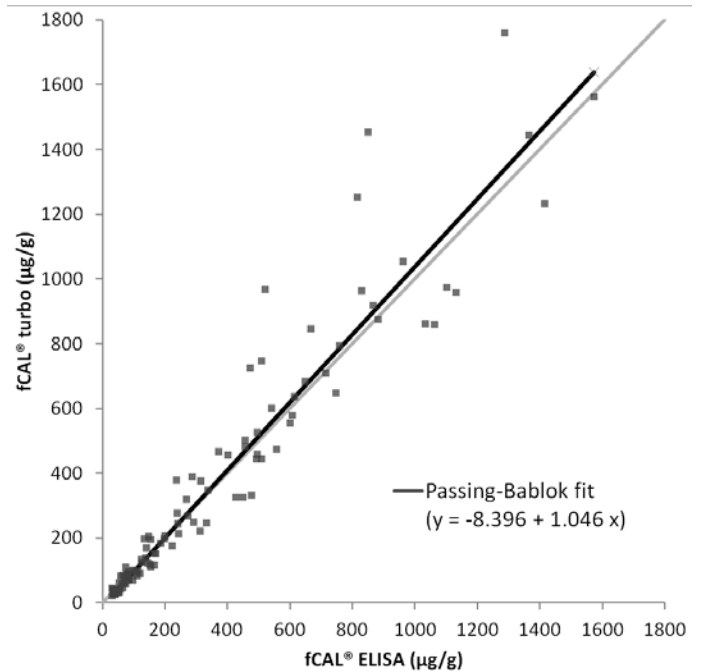


Fig. 1: Diagrama de puntos de las 112 muestras incluidas en el análisis de comparación de métodos.





## APÉNDICE II




### REFERENCIAS

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.

## APÉNDICE III

### SÍMBOLOS

Símbolo	Explicación
	Fecha de caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>

Símbolo	Explicación
	Consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	Limitaciones de temperatura

