



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Ensayo turbidimétrico de calprotectina
para uso profesional

Kit de reactivos

B-KCAL-RSET
Versión A4

Para uso diagnóstico *in vitro*.



Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch
Switzerland
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

USO PREVISTO

El ensayo BÜHLMANN fCAL[®] turbo es un ensayo diagnóstico *in vitro* automatizado para la determinación cuantitativa de la calprotectina en muestras de heces humanas con el objetivo de facilitar la valoración de la inflamación de la mucosa intestinal (ref. 1-3). Los resultados del ensayo pueden utilizarse en el diagnóstico para distinguir entre las enfermedades inflamatorias orgánicas del tubo gastrointestinal (enfermedad inflamatoria intestinal (EII), en particular la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU)) y las enfermedades funcionales (síndrome del colon irritable, SII) (ref. 4-10) en los pacientes con dolor abdominal crónico y para facilitar el control de la EII (ref. 10-22).

Solo para uso en laboratorio.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo es un inmunoensayo turbidimétrico potenciado con partículas (PETIA) que permite la cuantificación automatizada de la calprotectina en extractos fecales en analizadores de química clínica. Las muestras fecales se extraen con un tampón de extracción (B-CAL-EX) utilizando el dispositivo de extracción CALEX® Cap (B-CALEX-Cx) o por extracción manual, y se aplican con una dilución final de 1:500. Los extractos se incuban con tampón de reacción y se mezclan con nanopartículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos anticalprotectina (inmunopartículas). La calprotectina presente en la muestra provoca la aglutinación de las inmunopartículas. La turbidez de la muestra, medida por la absorbancia de la luz aumenta con la formación de los complejos calprotectina-inmunopartícula y es proporcional a la concentración de calprotectina. La absorbancia de la luz observada permite cuantificar la concentración de calprotectina mediante interpolación en una curva de calibración establecida.

REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Cantidad	Código	Preparación
Tampón de reacción (R1) Solución salina MOPS	1 vial 35 mL	B-KCAL-R1	Listo para usar
Inmunopartículas (R2) Partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos aviares anti calprotectina humana	1 vial 7 mL	B-KCAL-R2	Listo para usar

Tabla 1: Reactivos suministrados

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Reactivos sin abrir
Conservar a 2-8 °C. No utilizar el kit después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
Estabilidad a bordo
Conservar hasta un máximo de 3 meses a 5-12 °C

Tabla 2: Conservación y estabilidad de los reactivos

¡No congelar los reactivos!

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos	Cantidad	Código
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de calibradores Calibradores 1-6 para determinar una curva de calibración de seis puntos	1 × 6 viales 1 mL/vial	B-KCAL-CASET
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de control Controles bajo y alto	3 × 2 viales 1 mL/vial	B-KCAL-CONSET
Dispositivo CALEX® Cap Dispositivo de extracción con tampón de extracción incluido	50 tubos 200 tubos 500 tubos	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit de extracción Tampón de extracción	3 botellas 12 botellas 125 mL/frasco	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabla 3: Materiales necesarios pero no suministrados

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este ensayo es solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Las inmunopartículas contienen sustancias potencialmente infecciosas de origen animal y deben manipularse de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) con las precauciones adecuadas.
- R2 contiene nanopartículas de poliestireno.
- El kit contiene componentes clasificados de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008: clorhidrato de 2-metil-4-isotiazolín-3-ona (conc. ≥ 0,0015%), por lo que los reactivos pueden provocar reacciones alérgicas cutáneas (H317).
- Evite el contacto de los reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, enjuagar inmediatamente con abundante agua; de lo contrario, pueden producirse irritaciones o quemaduras.

Precauciones técnicas

- Equilibrar los reactivos, controles, calibradores y muestras como se describe en la nota de aplicación.
- La evaporación de los calibradores y los controles del analizador puede llevar a resultados incorrectos. Ejecutar el ensayo inmediatamente después de cargar el analizador.
- No mezclar los reactivos R1 y R2 de diferentes lotes de reactivos ni intercambiar el tapón de los reactivos.
- Si se congela el reactivo R2 no se puede utilizar más.

- El ensayo está diseñado para muestras de extracto fecal preparadas utilizando el tampón de extracción específico de BÜHLMANN.
- Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas antes de realizar el ensayo.
- El arrastre de las muestras depende del analizador de química clínica. Para más información, consultar la nota de aplicación específica del analizador.

OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el procedimiento de extracción, se requiere menos de 1 g de muestra de heces naturales. Recoger la muestra de heces en tubos simples.

Importante: La muestra debe recogerse sin ningún aditivo químico o biológico.

Transporte de las muestras

El laboratorio deberá recibir las muestras de heces para su procesamiento en un plazo de 3 días desde su recolección. Las muestras de heces pueden enviarse a temperatura ambiente o refrigeradas.

Conservación de las muestras

Las muestras de heces deben refrigerarse a 2-8 °C y extraerse en un plazo de 3 días a partir de su recepción en el laboratorio. No conservar las muestras a temperaturas elevadas.

EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS DE HECES Y ESTABILIDAD DE LOS EXTRACTOS

CALEX® Cap

Seguir las instrucciones de uso proporcionadas con el kit del dispositivo CALEX® Cap. Los extractos de muestras fecales preparados utilizando el dispositivo CALEX® Cap tienen una dilución final de 1:500 y están listos para su uso.

Las muestras de heces líquidas se pueden pipetear directamente en el dispositivo CALEX® Cap. Desenroscar la tapa azul y pipetear 10 µl de muestra de materia fecal en el dispositivo. Volver a tapar el dispositivo CALEX® Cap y proceder con el paso de mezclado en vórtex de acuerdo con el procedimiento de extracción descrito e ilustrado en las instrucciones de uso suministradas con el dispositivo CALEX® Cap.

Importante: Centrifugar el dispositivo CALEX® Cap durante 10 minutos a 1000-3000 g antes de aplicar el procedimiento de BÜHLMANN fCAL® turbo.

La calprotectina fecal en los extractos obtenidos por BÜHLMANN CALEX® Cap es estable a temperatura ambiente (23 °C) durante 7 días, a 2-8 °C durante 15 días y a -20 °C durante un mínimo de 23 meses.

Los extractos de Calex® Cap pueden ser congelados directamente y conservados en el dispositivo CALEX® Cap. Los extractos pueden someterse a cuatro ciclos de congelación y descongelación. Antes de la medición, equilibrar los extractos congelados a temperatura ambiente, mezclar en vórtex completamente durante 10 segundos y centrifugar de acuerdo con las instrucciones de uso del ensayo.

Kit de extracción

Para la extracción manual, siga las instrucciones de uso proporcionadas con el kit de extracción. Los extractos de muestras fecales preparados con el kit de extracción tendrán una dilución final de 1:50. Diluir los extractos de heces 1:10 en el tampón de extracción de BÜHLMANN que se incluye en el kit de extracción (p. ej., 50 µL de extracto y 450 µL de tampón de extracción) antes de realizar el procedimiento de BÜHLMANN fCAL® turbo.

La calprotectina fecal en extractos (1:50) obtenidos por extracción manual es estable a 2-8 °C durante 7 días o a -20 °C durante 36 meses.

PROCEDIMIENTO

Notas de aplicación / Instalación del ensayo

Los procedimientos de ensayo para BÜHLMANN fCAL® turbo se han establecido en varios analizadores de química clínica. A petición del usuario, BÜHLMANN proporciona notas de aplicación validadas que describen la instalación y el análisis en instrumentos específicos. Para la configuración, mantenimiento y funcionamiento del instrumento 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 su uso. Mezclar suavemente antes de cargarlos en el instrumento. Los frascos de reactivos se pueden colocar directamente en el instrumento, a menos que se indique lo contrario en la nota de aplicación.

Determinación de la curva de calibración

El kit de calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo se utiliza para determinar una curva de calibración de seis puntos de acuerdo con el manual del instrumento. Los valores de los calibradores son específicos de cada lote. Cada lote de calibradores y reactivos requiere una nueva calibración. De lo contrario, la calibración debe realizarse cada uno o dos meses de acuerdo con las notas de aplicación específicas del instrumento. Consultar la ficha

de datos de control de calidad suministrada con el kit de calibradores BÜHLMANN fCAL® turbo para conocer los valores asignados a los calibradores. Contactar con el servicio técnico de BÜHLMANN si la calibración no puede realizarse sin errores.

Controles de CC

Para validar la curva de calibración, el kit de controles BÜHLMANN fCAL® turbo debe analizarse todos los días antes de realizar extracciones de muestras de heces del paciente. Los controles tienen intervalos de valores asignados, que se indican en la ficha de datos de control de calidad que se proporciona con cada lote del kit de controles BÜHLMANN fCAL® turbo. Las mediciones de los controles deben estar dentro de los intervalos de valor indicados para que los resultados de las muestras fecales extraídas del paciente sean válidos. Si los valores de los controles no son válidos, repetir la medición con nuevos controles. Si los valores de los controles permanecen inválidos, recalibrar el ensayo. Si no se pueden reproducir valores válidos de los controles después de realizar los pasos descritos anteriormente, contactar con el servicio de asistencia de BÜHLMANN.

Medición de los extractos de muestras fecales del paciente

Una vez establecida una curva de calibración y validada con los controles, se pueden medir los extractos fecales del paciente. Realizar la medición de los extractos fecales del paciente de acuerdo con 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 $\mu\text{g/g}$ a menos que se indique lo contrario en las correspondientes notas de aplicación específicas del analizador de química clínica.

ESTANDARIZACIÓN Y TRAZABILIDAD METROLÓGICA

No existen materiales de referencia ni procedimientos de medida de referencia que sean reconocidos a escala internacional o nacional para el analito calprotectina en muestras fecales. El ensayo BÜHLMANN fCAL® turbo se estandariza con respecto a un material de referencia interno y los valores de los controles y los calibradores se asignan siguiendo un protocolo de transferencia de valores (ref. 23, 24) para garantizar la trazabilidad metrológica. El intervalo de confianza al 95% de la incertidumbre combinada de los calibradores del producto se determinó como inferior al 3,7% y el de la incertidumbre combinada de los controles como inferior al 6,9%.

LIMITACIONES

- Los resultados del ensayo deben ser interpretados en combinación con la información derivada de la evaluación clínica del paciente y los otros procedimientos diagnósticos.
- En el control de la EII, se ha sugerido que las mediciones múltiples de calprotectina fecal realizadas a intervalos de hasta 4 semanas maximizan la precisión diagnóstica en el pronóstico las recaídas clínicas de los enfermos (ref. 25-26).
- La ingesta de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) puede llevar a concentraciones elevadas de calprotectina fecal.
- Los resultados pueden no ser clínicamente aplicables a niños menores de 4 años de edad con ligeros aumentos de la concentración de calprotectina fecal (ref. 27-30).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

I. Diferenciar entre las enfermedades gastrointestinales orgánicas de las funcionales

La determinación de la concentración de calprotectina fecal puede ayudar de forma fiable y sencilla a diferenciar las enfermedades gastrointestinales orgánicas de las funcionales (ref. 4-10). BÜHLMANN recomienda aplicar los mismos valores de corte que los del ensayo BÜHLMANN fCAL[®] ELISA:

Umbrales clínicos

Concentración de calprotectina	Interpretación	Seguimiento
< 80 µg/g	Normal	Ninguno
80 – 160 µg/g	Zona gris/valor límite	Seguimiento en un plazo de 4 a 6 semanas
> 160 µg/g	Elevado	Repetir según sea necesario

Tabla 4: Intervalos diagnósticos de BÜHLMANN fCAL[®] turbo.

Las categorías de resultados se basan en datos de estudios clínicos realizados por BÜHLMANN y son recomendaciones de BÜHLMANN. Todos los resultados del ensayo deben ser interpretados en combinación con la información derivada de las manifestaciones clínicas del paciente, sus antecedentes médicos y otros datos clínicos y de laboratorio:

Valores de calprotectina por debajo de 80 µg/g

Unos valores de calprotectina fecal <80 µg/g no son indicativos de inflamación gastrointestinal. Los pacientes con bajas concentraciones de

calprotectina probablemente no necesiten procedimientos invasivos para determinar la causa de la inflamación (ref. 4).

Valores de calprotectina entre o igual a 80 y 160 µg/g

Unos valores intermedios de calprotectina fecal de entre o igual a 80 y 160 µg/g, también denominados valores de la zona gris, no son una indicación directa de inflamación activa que requiera un seguimiento inmediato con pruebas invasivas. Sin embargo, no se puede excluir la presencia de inflamación. Se recomienda la reevaluación de los valores de calprotectina fecal después de entre 4 y 6 semanas para determinar el estado inflamatorio.

Valores de calprotectina superiores a 160 µg/g

Los valores de calprotectina fecal >160 µg/g son indicativos de infiltrado neutrofílico en el tubo gastrointestinal y pueden indicar la presencia de una enfermedad inflamatoria activa. Se recomienda llevar a cabo los procedimientos de investigación especializados oportunos para alcanzar un diagnóstico clínico global.

Evaluación clínica

La capacidad de BÜHLMANN fCAL® turbo para diferenciar la EII de los otros trastornos gastrointestinales no inflamatorios, incluido el SII, se evaluó a partir de muestras clínicas recogidas de 295 pacientes y extraídas utilizando el dispositivo CALEX® Cap. Ciento veintisiete (127) pacientes tenían un diagnóstico final de EII (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o colitis indeterminada), 103 pacientes presentaban SII y 65 pacientes presentaban dolor abdominal y/o diarrea u otras afecciones gastrointestinales no inflamatorias. El diagnóstico final se apoyaba en datos endoscópicos y otros datos clínicos.

La combinación óptima de cortes para estos grupos de pacientes se estableció en 80 µg/g y 160 µg/g de calprotectina (tablas 6 y 8) mediante el análisis de las curvas de rendimiento diagnóstico (ROC). Esta combinación es ligeramente más restrictiva que la combinación de un corte inferior más sensible de 50 µg/g, con una especificidad ligeramente inferior, y un corte superior de 200 µg/g, con una sensibilidad ligeramente inferior (tablas 7 y 9).

Diagnóstico final	Distribución de los resultados de los pacientes en números (porcentaje) en los intervalos diagnósticos de BÜHLMANN fCAL® turbo.			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Total
EII	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
SII	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Otras enfermedades GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tabla 5: Distribución de los resultados de los pacientes en los intervalos diagnósticos de BÜHLMANN fCAL® turbo

EII frente a no EII	Punto de decisión clínica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilidad (95% IC)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Especificidad (95% IC)	69.6% (62.1%, 76.5%)	81.0% (74.2%, 86.6%)
VPP (95% IC)	69.5% (61.9%, 76.3%)	77.1% (69.3%, 83.8%)
VPN (95% IC)	91.4% (85.1%, 95.6%)	87.7% (81.5%, 92.5%)
AUC ROC (95% IC)	0.912 (0.878, 0.946)	

Tabla 6: Datos de eficacia diagnóstica de BÜHLMANN fCAL® turbo en la diferenciación de la EII de la no EII (SII y otros trastornos gastrointestinales) en los puntos de decisión clínica de 80 µg/g y 160 µg/g

EII frente a no EII	Punto de decisión clínica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilidad (95% IC)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Especificidad (95% IC)	62.5% (54.7%, 69.8%)	85.7% (79.5%, 90.6%)
VPP (95% IC)	65.6% (58.2%, 72.4%)	81.0% (73.0%, 87.4%)
VPN (95% IC)	93.8% (87.5%, 97.5%)	85.2% (78.9%, 90.2%)

Tabla 7: Datos de eficacia diagnóstica de BÜHLMANN fCAL® turbo en la diferenciación de la EII de la no EII (SII y otros trastornos gastrointestinales) en los puntos de decisión clínica de 50 µg/g y 200 µg/g

EII frente a SII	Punto de decisión clínica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilidad (95% IC)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Especificidad (95% IC)	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
VPP (95% IC)	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
VPN (95% IC)	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
AUC ROC (95% IC)	0.925 (0.892, 0.958)	

Tabla 8: Datos de eficacia diagnóstica de BÜHLMANN fCAL® turbo en la diferenciación de la EII del SII en los puntos de decisión clínica de 80 µg/g y 160 µg/g

EII frente a SII	Punto de decisión clínica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilidad (95% IC)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Especificidad (95% IC)	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
VPP (95% IC)	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
VPN (95% IC)	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Tabla 9: Datos de eficacia diagnóstica de BÜHLMANN fCAL® turbo en la diferenciación de la EII del SII en los puntos de decisión clínica de 50 µg/g y 200 µg/g

IC: intervalo de confianza

VPP: valor predictivo positivo

VPN: valor predictivo negativo

AUC ROC: área bajo la curva de rendimiento diagnóstico

II. Control de la EII

Umbrales clínicos y evaluación

La determinación de la calprotectina fecal es un método fiable y sencillo para facilitar el control de los pacientes con EII (ref. 10-22).

Utilizando los ensayos de calprotectina de BÜHLMANN, tres estudios independientes determinaron la correlación entre los valores de calprotectina y el estado inflamatorio de la mucosa intestinal del paciente basado en las evaluaciones endoscópicas (tabla 10). Utilizando los ensayos de calprotectina de BÜHLMANN, tres estudios determinaron el valor diagnóstico de la calprotectina para pronosticar la remisión y las recaídas clínicas, sobre la base de los síntomas, los índices de actividad clínica, la necesidad no programada de aumento del tratamiento, la hospitalización y las urgencias (tabla 11).

Calprotectina ¹ frente a actividad de la EII determinada por vía endoscópica	Estudio 1 España (v. ref. 12)	Estudio 2 España (v. ref. 13)	Estudio 3 Australia, Nueva Zelanda (v. ref. 14)
Número, edad y sexo de los pacientes	89 (EC ²) Edades: 32-58 44% hombres	123 (CU ³) Edades: 18-85 66,4% hombres	99 (EC ² después de la resección) Edades: 29-47 46,5% hombres
Corte	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
VPN	98%	86%	91%
VPP	76%	80.3%	53%

Tabla 10: Correlación entre la concentración de calprotectina y la actividad de la EII determinada mediante evaluaciones endoscópicas.

¹ Los resultados de los estudios 1 y 2 se obtuvieron con los ensayos de flujo lateral de BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL y Quantum Blue® fCAL high range). Los resultados del estudio 3 se obtuvieron con el ensayo BÜHLMANN fCAL® ELISA).

² ED = Pacientes con enfermedad de Crohn

³ CU = Pacientes con colitis ulcerosa

Calprotectina ¹ frente a remisión o recaída clínica en el futuro	Estudio 4 REINO UNIDO (v. ref. 15)	Estudio 5 España (v. ref. 16)	Estudio 6 España (v. ref. 17)
Número, edad y sexo de los pacientes	92 (EC ²) 38% hombres	30 (EC ²) tratamiento con adalimumab Edades: 24-64 43,3% hombres	33 (EC ²) 20 (CU ³) terapia con infliximab Edades: 18-68 47,2% hombres

Período de seguimiento después de la medición de calprotectina	12 meses	4 meses	12 meses
Pacientes en recaída clínica después del seguimiento	11%	30%	23%
Corte	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
VPN	96.8%	100%	96.1%
VPP	27.6%	75%	68.7%

Tabla 11: Determinación del valor diagnóstico de la calprotectina en el pronóstico de la remisión y la recaída clínicas de la enfermedad inflamatoria intestinal.

¹ Los resultados del estudio 4 se obtuvieron con BÜHLMANN fCAL® ELISA. Los resultados de los estudios 5 y 6 se obtuvieron con los ensayos de flujo lateral de BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL y Quantum Blue® fCAL high range).

² ED = Pacientes con enfermedad de Crohn

³ CU = Pacientes con colitis ulcerosa

Las categorías de resultados mostradas son recomendaciones y su determinación se basa en el conocimiento condensado de los valores de corte y los estudios de eficacia diagnóstica publicados. Se recomienda la determinación de los umbrales individuales de cada paciente por el médico sobre la base del valor de referencia de calprotectina del paciente durante la remisión de la enfermedad:

Valores de calprotectina por debajo de 100 µg/g

Unos valores de calprotectina fecal por debajo de 100 µg/g pueden indicar de forma fiable que el paciente presenta bajo riesgo de recaída clínica y se encuentra en remisión endoscópica, por lo que pueden evitarse los procedimientos endoscópicos invasivos (ref. 10-22).

Valores de calprotectina de entre 100 y 300 µg/g

Los valores de calprotectina fecal entre 100 y 300 µg/g indican la necesidad de un control más atento en el período sucesivo para evaluar la evolución de la enfermedad.

Valores de calprotectina superiores a 300 µg/g

Si se obtienen valores de calprotectina fecal superiores a 300 µg/g, se debe repetir el ensayo y, en caso de confirmarse el resultado, realizar pruebas ulteriores (ref. 10-22).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

La eficacia diagnóstica presentada se ha determinado en un instrumento Roche cobas® 6000 c501. Consultar las notas de aplicación específicas del analizador de química clínica para conocer la eficacia diagnóstica en otros analizadores de química clínica.

Comparación de métodos: fCAL® turbo CALEX® Cap frente a fCAL® ELISA CALEX® Cap

El estudio de comparación del método se realizó conforme a la norma EP09-A3 del CLSI. Se midieron ciento noventa y nueve (199) muestras clínicas utilizando un lote de BÜHLMANN fCAL® turbo durante 18 días en un ciclo de calibración. Los valores de referencia, con un intervalo de concentración final de calprotectina de 30,3-1672,5 µg/g, se determinaron con el ensayo BÜHLMANN fCAL® ELISA. Las muestras se extrajeron utilizando el dispositivo CALEX® Cap. En ambos métodos, se realizaron determinaciones individuales de los extractos de CALEX® Cap. El sesgo se determinó mediante regresión lineal de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman.

Análisis de Bland-Altman			Análisis de regresión de Passing-Bablok				
Sesgo medio (95% IC)	LoA inferior (95% IC)	LoA superior (95% IC)	Pendiente (95% IC)	Ordenada en el origen (µg/g) (95% IC)	Sesgo en 80 µg/g (95% IC)	Sesgo en 160 µg/g (95% IC)	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

Comparación entre métodos: fCAL® turbo CALEX® Cap frente a fCAL® ELISA con extracción manual

El estudio de comparación del método se realizó conforme a la norma EP09-A3 del CLSI. Se extrajeron ciento sesenta y ocho (168) muestras clínicas utilizando tres lotes del dispositivo CALEX® Cap y se midieron utilizando un lote de BÜHLMANN fCAL® turbo durante 18 días en un ciclo de calibración. Se establecieron valores de referencia para el uso del método de extracción manual y la medición de extracto con BÜHLMANN fCAL® ELISA, con un intervalo de concentración final de calprotectina de 30,5-1573,8 µg/g. Los extractos se midieron en determinaciones únicas para ambos métodos. El sesgo se determinó mediante regresión lineal de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman.

Análisis de Bland-Altman			Análisis de regresión de Passing-Bablok				
Sesgo medio (95% IC)	LoA inferior (95% IC)	LoA superior (95% IC)	Pendiente (95% IC)	Ordenada en el origen (µg/g) (95% IC)	Sesgo en 80 µg/g (95% IC)	Sesgo en 160 µg/g (95% IC)	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% (-16.4%, 7.1%)	13.8% (8.1%, 23.2%)	0.955

Reproducibilidad (estudio multicéntrico de evaluación de la precisión): 3,2-9,1% CV

La reproducibilidad se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI con un diseño de estudio de 3 laboratorios × 5 días × 5 repeticiones. Se analizaron ocho extractos de muestras de heces combinadas con concentraciones de calprotectina de entre 47,2 y 5475,6 µg/g.

Precisión entre lotes: 2,4-8,2% CV

La reproducibilidad entre lotes se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio de 3 lotes × 5 días × 5 repeticiones. Se analizaron ocho extractos de muestras de heces combinadas con concentraciones de calprotectina de entre 45,2 y 5303,1 µg/g.

Repetibilidad: 0,7-8,3% CV

Precisión dentro de un mismo laboratorio: 1,4-9,1% CV

La repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio se determinaron de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio estandarizado de 20 días × 2 series × 2 repeticiones. Se analizaron ocho extractos de muestras de heces combinadas con concentraciones de calprotectina de entre 42,9 y 5405,6 µg/g.

Reproducibilidad de la extracción: CALEX® Cap: 8,1-19,7% CV

La reproducibilidad de la extracción se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio de 2 días × 2 operadores × 3 lotes de CALEX® Cap × 2 extracciones × 3 repeticiones. Se analizaron doce muestras clínicas de heces, que comprendían muestras con consistencia sólida, semisólida y líquida, con concentraciones de calprotectina de entre 42,7 y 3440,0 µg/g.

Exactitud/recuperación: 93,6-102% CV

Siete extractos de muestras de heces de restos clínicos con valores de calprotectina de entre 44,1 y 1076,3 µg/g se enriquecieron con 56,9 µg/g o 227,8 µg/g de calprotectina del material de los calibradores. El enriquecimiento se realizó al 10% del volumen del extracto de la muestra. Las muestras «de referencia» se enriquecieron con el volumen

correspondiente de muestras sin analitos. Las muestras de referencia y enriquecida se midieron por cuadruplicado.

Arrastre de la muestra

El arrastre de la muestra se determinó de acuerdo con la norma EP10-A2 del CLSI. No se observó ningún arrastre estadísticamente significativo con el ensayo BÜHLMANN fCAL[®] turbo en el instrumento Roche cobas[®] 6000 c501.

Límite de detección (LoD): 23,7 µg/g

El LoD se determinó de acuerdo con la norma EP17-A2 del CLSI y con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y falsos negativos (β) inferiores al 5% sobre la base de 120 determinaciones, con 60 repeticiones del blanco y 60 de valores bajos, y un **LoB de 16,7 µg/g**.

Límite de cuantificación (LoQ): 23,7 µg/g

El LoQ se determinó conforme a la norma EP17-A2 del CLSI sobre la base de 90 determinaciones y un objetivo de precisión del 20% CV. La estimación del LoQ se encontró por debajo de la del LoD y por lo tanto se indica como igual a la estimación del LoD.

Intervalo de linealidad: 9,13-13 339 µg/g

El intervalo de linealidad de BÜHLMANN fCAL[®] turbo se ha determinado conforme a la norma EP06-A del CLSI. Las muestras con una concentración superior a 2000 µg/g fueron diluidas automáticamente a 1:10 por el analizador. Se permitió una desviación máxima de la linealidad del 10%. Para valores inferiores a 75 µg/g se permitió una diferencia absoluta inferior a 7,5 µg/g.

Efecto gancho a dosis altas

Las muestras con concentraciones teóricas de hasta 45 715 µg/g pueden medirse sin limitar el intervalo de medición del ensayo.

Interferencia con otras sustancias

La sensibilidad del ensayo BÜHLMANN fCAL[®] turbo a los productos farmacéuticos orales, suplementos nutricionales, hemoglobina y microbios enteropatógenos se evaluó de acuerdo con la norma EP07-A2 de la CLSI. Sesgos mayores del 10% en los resultados se consideraron interferencia.

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias [Concentración en mg/50 mg de heces]: gyno-Tardyferon (0,11), prednisona (0,31), Imurek (0,19); Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocin (2,00), sulfametoxazol (1,6), trimetoprima (0,35), ciproxina (1,25), vitamina E (0,30), Bion 3 (1,06), hemoglobina (1,25).

No se detectó interferencia con los siguientes microbios enteropatógenos [Concentración en unidades formadoras de colonias (UFC)/mL de extracto fecal]: *Escherichia coli* ($3,3 \times 10^7$), *Salmonella enterica subsp. Enterica* ($9,0 \times 10^7$), *Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae* ($5,3 \times 10^7$), *Citrobacter freundii* ($12,9 \times 10^7$), *Shigella flexneri* ($5,0 \times 10^7$), *Yersinia enterocolitica subsp. Enterocolitica* ($9,8 \times 10^7$).

REFERENCIAS

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 Lægeforen 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. Lason 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. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22
24. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9
25. Molander P et al.: Journal of Crohn's and Colitis 2015, 33-40.
26. De Vos M et al.: Inflamm Bowel Dis. 2013; 19, 2111-2117.
27. Fagerberg UL et al.: J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 40, 450-5.
28. Li F. et al.: PLoS ONE 10(3) (2015).
29. Zhu Q. et al. PLoS ONE 11 (3) (2016).
30. Peura S. et al.: Scand J Clin Lab Invest 2018; 78(1-2): 120-124.

REGISTRO DE LOS CAMBIOS

Fecha	Versión	Cambios
2022-02-28	A4	Actualización del capítulo “Advertencias y precauciones”, introducción del capítulo “Estandarización y trazabilidad metrológica”, Revisión del capítulo “ <i>Símbolos</i> ”, incorporación del número del organismo notificado al marcado CE – procedimiento de evaluación de la conformidad con arreglo al Reglamento IVDR 2017/746

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.

DAÑOS DURANTE EL TRANSPORTE

Notificar al distribuidor si este producto se ha recibido dañado.

CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza los símbolos y signos enumerados y descritos en la norma ISO 15223-1.

