



BÜHLMANN fCAL[®] turbo

Ensaio turbidimétrico de calprotectina
para uso profissional

Kit de reagentes

B-KCAL-RSET

Versão A4

Para uso em diagnósticos *in vitro*



BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Switzerland

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

USO PRETENDIDO

O BÜHLMANN fCAL[®] turbo é um teste automático de diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa de calprotectina em amostras fecais humanas, para uso como auxiliar na avaliação da inflamação da mucosa intestinal (ref. 1-3). Os resultados do teste podem ser usados como um auxiliar de diagnóstico, ajudando a fazer a distinção entre doenças inflamatórias orgânicas do trato gastrointestinal (doenças intestinais inflamatórias, DII; mais especificamente doença de Crohn (DC) ou colite ulcerativa, (CU)) e doenças funcionais (síndrome do intestino irritável, SII) (ref. 4-10) em pacientes com dor abdominal crônica e também como auxiliar no monitoramento das DII (ref. 10-22).

Somente para uso laboratorial.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O teste BÜHLMANN fCAL® turbo consiste em um imunoenensaio turbidimétrico melhorado por partículas (PETIA) que permite a quantificação automática 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 CALEX® Cap (B-CALEX-Cx) ou por extração manual, e aplicadas a 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 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: Reagentes fornecidos

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagentes não abertos
Guarde a uma temperatura na faixa de 2-8 °C. Não use o kit depois da data de validade impressa nos rótulos.
Estabilidade <i>on-board</i>
Guarde por até 3 meses a uma temperatura na faixa de 5-12 °C.

Tabela 2: Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Não congele os reagentes!

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código
BÜHLMANN fCAL® turbo Kit de calibradores Calibradores 1-6 para determinar uma curva de calibração de seis pontos	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 200 tubos 500 tubos	B-CALEX-C50 B-CALEX-C200 B-CALEX-C500
Kit de extração Tampão de extração	3 frascos 12 frascos 125 mL/frasco	B-CAL-EX3 B-CAL-EX12

Tabela 3: Materiais necessários, porém não fornecidos

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Este teste se destina somente ao uso para diagnóstico *in vitro*.
- As imunopartículas contêm substâncias potencialmente infecciosas de origem animal e devem ser manuseadas com o devido cuidado, de acordo com Boas Práticas Laboratoriais (BPL) e tomando-se as precauções apropriadas.
- O reagente R2 contém nanopartículas de poliestireno.
- Este kit contém componentes classificados de acordo com a Regulamentação (CE) n.º 1272/2008: cloridrato de 2-metil-4-isotioazolin-3-ona (conc. $\geq 0,0015\%$). Portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas na pele (H317).
- Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com quantidades abundantes de água; caso contrário poderá ocorrer irritação/queimaduras.

Precauções técnicas

- Equilibre os reagentes, controles, calibradores e amostras conforme descrito na nota de aplicação.

- A evaporação dos calibradores e controles no analisador também pode gerar resultados incorretos. Execute o ensaio imediatamente após carregar o analisador.
- Não misture os reagentes R1 e R2 de lotes diferentes, nem troque as tampas dos frascos de reagentes.
- Se o reagente R2 for congelado, não poderá ser mais utilizado.
- O ensaio se destina a extratos de amostras fecais preparados com o tampão de extração BÜHLMANN específico.
- Certifique-se de que as amostras não contêm bolhas de ar antes de executar o teste.
- O arraste de amostras depende do analisador químico clínico. Para mais informações, consulte a nota de aplicação específica do analisador.

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Para o procedimento de extração, menos de 1 g da amostra nativa de fezes será necessário. Colete as amostras de fezes em tubos comuns.

Importante: A amostra deve ser coletada sem nenhum aditivo químico ou biológico.

Transporte das amostras

As amostras de fezes devem ser recebidas pelo laboratório para processamento até 3 dias depois da coleta. Elas devem ser transportadas à temperatura ambiente ou refrigeradas.

Armazenamento das amostras

As amostras de fezes devem ser armazenadas a uma temperatura na faixa de 2-8 °C e extraídas até 3 dias depois de recebidas no laboratório. Não guarde as amostras a temperaturas elevadas.

EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FEZES E ESTABILIDADE DOS EXTRATOS

CALEX® Cap

Siga as instruções de uso fornecidas com o kit do dispositivo CALEX® Cap. Os extratos de amostras fecais preparados usando-se o dispositivo CALEX® Cap terão uma diluição final de 1:500 e estarão prontos para utilização.

As amostras líquidas de fezes podem ser pipetadas diretamente no dispositivo CALEX® Cap. Desenrosque a tampa azul e pipete 10 µL da amostra de fezes no dispositivo. Recoloque a tampa no dispositivo CALEX® Cap e proceda com a etapa de mistura por vórtex de acordo com o

procedimento de extração descrito e ilustrado nas instruções de uso fornecidas com o dispositivo CALEX® Cap.

Importante: Centrifugue o dispositivo CALEX® Cap por 10 minutos a 1000-3000 x g antes de executar o procedimento BÜHLMANN fCAL® turbo.

A calprotectina fecal nos extratos obtidos pelo BÜHLMANN CALEX® Cap permanece estável por 7 dias à temperatura ambiente (23 °C), por 15 dias a 2-8 °C e por pelo menos 23 meses a -20 °C.

Os extratos do CALEX® Cap podem ser congelados diretamente e armazenados dentro do dispositivo CALEX® Cap. Os extratos podem ser submetidos a até quatro ciclos de congelamento-descongelamento. Antes da medição, deixe os extratos congelados atingirem o equilíbrio à temperatura ambiente, misture bem por agitação com vórtex por 10 segundos e então centrifugue de acordo com as instruções de uso do teste.

Kit de extração

Para executar uma extração manual, siga as instruções de uso fornecidas com o kit de extração. Os extratos de amostras fecais preparados usando-se o kit de extração terão uma diluição final de 1:50. Dilua os extratos fecais a 1:10 no tampão de extração BÜHLMANN fornecido com o kit de extração (p. ex., 50 µL de extrato e 450 µL de tampão de extração) antes de executar o procedimento BÜHLMANN fCAL® turbo.

A calprotectina fecal nos extratos (1:50) obtidos por extração manual permanece estável a 2- 8 °C por 7 dias ou a -20 °C por for 36 meses.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Notas de aplicação / instalação do ensaio

Os procedimentos de teste do BÜHLMANN fCAL® turbo foram estabelecidos em diversos analisadores químicos clínicos. Notas de aplicação validadas descrevendo a instalação e análise em instrumentos específicos podem ser fornecidas pela BÜHLMANN mediante solicitação. 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

O kit de calibradores do BÜHLMANN fCAL® turbo é utilizado para determinar uma curva de calibração 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 deverá ser realizada a cada um a dois meses, de acordo com as notas de aplicação específicas do instrumento. Consulte a folha de dados de CQ fornecida com o kit de calibradores do BÜHLMANN fCAL® turbo para verificar os valores atribuídos aos calibradores. Entre em contato com o atendimento ao cliente da BÜHLMANN caso a calibração não possa ser realizada sem erros.

Controles de CQ

O kit de controles do BÜHLMANN fCAL® turbo deve ser testado diariamente, antes da execução dos testes com 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, repita a medição usando controles novos. Se os valores de controle continuarem inválidos, recalibre o instrumento. Se os valores de controle não puderem ser reproduzidos depois de os procedimentos acima terem sido executados, entre em contato com o atendimento ao cliente da BÜHLMANN.

Medição de extratos de amostras fecais de pacientes

Uma vez que a curva de calibração tenha sido determinada e validada com os controles, 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 químico clínico e apresentados em $\mu\text{g/g}$, exceto se indicado de outra forma nas notas de aplicação específicas do analisador.

PADRONIZAÇÃO E RASTREABILIDADE METROLÓGICA

Não existem materiais de referência ou procedimentos de medição de referência reconhecidos internacional ou nacionalmente para o analito

calprotectina em amostras de fezes. O BÜHLMANN fCAL® turbo é padronizado com base em materiais de referência internamente estabelecidos e valores de controles e calibradores são atribuídos de acordo com um protocolo de transferência de valores (ref. 23, 24) para garantir a rastreabilidade metrológica. O intervalo de confiança de 95% da incerteza combinada dos calibradores do produto foi determinado como inferior a 3,7%, enquanto a incerteza combinada dos controles ficou abaixo de 6,9%.

LIMITAÇÕES

- Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com as informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.
- Para o monitoramento de DII, sugeriu-se que diversas medições da calprotectina fecal realizadas em intervalos de até 4 semanas possibilitam melhor precisão de diagnóstico na previsão da recidiva clínica em pacientes (ref. 25-26).
- A ingestão de anti-inflamatórios não esteroides (NSAID) pode gerar níveis elevados de calprotectina fecal.
- Os resultados podem não ser clinicamente aplicáveis a crianças menores de 4 anos de idade que tenham níveis de calprotectina fecais levemente aumentados (ref. 27-30).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

I. Como distinguir doenças gastrointestinais orgânicas de funcionais

A determinação dos níveis de calprotectina fecal pode ser usada como um método auxiliar confiável e simples para distinguir as doenças gastrointestinais orgânicas das funcionais (ref. 4-10). A BÜHLMANN recomenda a aplicação dos mesmos valores de corte do BÜHLMANN fCAL® ELISA:

Limiar clínico

Concentração de calprotectina	Interpretação	Acompanhamento
< 80 µg/g	Normal	Nenhum
80 – 160 µg/g	Zona cinzenta/limítrofe	Retorno dentro de 4-6 semanas
> 160 µg/g	Elevada	Repetir conforme necessário

Tabela 4: Faixas de diagnóstico do BÜHLMANN fCAL® turbo.

As categorias de resultados baseiam-se nos dados de estudos clínicos realizados pela BÜHLMANN e são recomendações da BÜHLMANN. Todos

os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com as informações disponíveis dos sintomas clínicos do paciente, seu histórico médico e outros resultados clínicos e laboratoriais.

Valores de calprotectina abaixo de 80 µg/g

Valores de calprotectina fecal abaixo de 80 µg/g não são indicativos de inflamação do trato gastrointestinal. Os pacientes com baixos níveis de calprotectina fecal provavelmente não requerem procedimentos invasivos para determinação da causa da inflamação (ref. 4).

Valores de calprotectina entre 80 e 160 µg/g

Os níveis intermediários de calprotectina (entre 80 e 160 µg/g, inclusive), também conhecidos como níveis da zona cinzenta, não são diretamente indicativos de inflamação ativa que necessite de acompanhamento imediato com testes invasivos. Todavia, a presença de inflamação não pode ser descartada. A reavaliação dos níveis de calprotectina fecal depois de 4 a 6 semanas é recomendada para determinação do status inflamatório.

Valores de calprotectina maiores que 160 µg/g

Valores de calprotectina acima de 160 µg/g são indicativos de infiltrado de neutrófilos no trato gastrointestinal e, portanto, podem significar a presença de doença inflamatória ativa. Sugere-se a execução de procedimentos de investigação adicionais apropriados, conduzidos por especialistas, para se obter um diagnóstico clínico completo.

Avaliação clínica

A capacidade do BÜHLMANN fCAL[®] turbo de fazer a distinção entre pacientes com DII e outros distúrbios não inflamatórios gastrointestinais, incluindo SII, foi avaliada usando-se amostras clínicas coletadas de 295 pacientes e extraídas com o auxílio do dispositivo CALEX[®] Cap. Cento e vinte sete (127) pacientes apresentaram um diagnóstico final de DII (doença de Crohn, colite ulcerativa ou colite indeterminada), 103 pacientes sofriam de SII e 65 apresentavam dor abdominal, diarreia ou outras condições não inflamatórias associadas ao trato gastrointestinal (GI). O diagnóstico final foi corroborado por resultados endoscópicos e outros resultados clínicos.

A combinação ótima de ponto de corte para esses grupos de pacientes pôde ser definida por análise de ROC a 80 µg/g e 160 µg/g de calprotectina (tabelas 6 e 8), valores ligeiramente mais restritivos que uma combinação de um ponto de corte inferior mais sensível de 50 µg/g com um desempenho mais baixo em especificidade, e um ponto de corte superior de 200 µg/g, com uma sensibilidade ligeiramente mais baixa (tabelas 7 e 9).

Diagnóstico final	Distribuição dos resultados dos pacientes em números (percentuais) nas faixas de diagnóstico do BÜHLMANN fCAL® turbo.			
	< 80 µg/g	80 - 160 µg/g	> 160 µg/g	Total
DII	11 (8.7%)	8 (6.3%)	108 (85.0%)	127 (100%)
SII	75 (72.8%)	11 (10.7%)	17 (16.5%)	103 (100%)
Outras GI	42 (64.6%)	8 (12.3%)	15 (23.1%)	65 (100%)

Tabela 5: Distribuição dos resultados dos pacientes nas faixas de diagnóstico do BÜHLMANN fCAL® turbo

DII vs. não DII	Ponto de decisão clínica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilidade (95% do IC)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Especificidade (95% do IC)	69.6% (62.1%, 76.5%)	81.0% (74.2%, 86.6%)
VPP (95% do IC)	69.5% (61.9%, 76.3%)	77.1% (69.3%, 83.8%)
VPN (95% do IC)	91.4% (85.1%, 95.6%)	87.7% (81.5%, 92.5%)
AUC da curva ROC (95% do IC)	0.912 (0.878, 0.946)	

Tabela 6: Características de desempenho clínico do BÜHLMANN fCAL® na diferenciação entre DII, doenças não DII – SII e outros distúrbios gastrointestinais, com pontos de decisão clínica de 80 µg/g e 160 µg/g

DII vs. não DII	Ponto de decisão clínica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilidade (95% do IC)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Especificidade (95% do IC)	62.5% (54.7%, 69.8%)	85.7% (79.5%, 90.6%)
VPP (95% do IC)	65.6% (58.2%, 72.4%)	81.0% (73.0%, 87.4%)
VPN (95% do IC)	93.8% (87.5%, 97.5%)	85.2% (78.9%, 90.2%)

Tabela 7: Características de desempenho clínico do BÜHLMANN fCAL® na diferenciação entre DII, doenças não DII – SII e outros distúrbios gastrointestinais, com pontos de decisão clínica de 50 µg/g e 200 µg/g

DII vs. SII	Ponto de decisão clínica	
	80 µg/g	160 µg/g
Sensibilidade (95% do IC)	91.3% (85.0%, 95.6%)	85.0% (77.6%, 90.7%)
Especificidade (95% do IC)	72.8% (63.2%, 81.1%)	83.5% (74.9%, 90.1%)
VPP (95% do IC)	80.6% (73.1%, 86.7%)	86.4% (79.1%, 91.9%)
VPN (95% do IC)	87.2% (78.3%, 93.4%)	81.9% (73.2%, 88.7%)
AUC da curva ROC (95% do IC)	0.925 (0.892, 0.958)	

Tabela 8: Características de desempenho clínico do BÜHLMANN fCAL® na diferenciação entre DII e SII, com pontos de decisão clínica de 80 µg/g e 160 µg/g

DII vs. SII	Ponto de decisão clínica	
	50 µg/g	200 µg/g
Sensibilidade (95% do IC)	94.5% (89.0%, 97.8%)	80.3% (72.3%, 86.8%)
Especificidade (95% do IC)	67.0% (57.0%, 75.9%)	88.3% (80.5%, 93.8%)
VPP (95% do IC)	77.9% (70.5%, 84.2%)	89.5% (82.3%, 94.4%)
VPN (95% do IC)	90.8% (81.9%, 96.2%)	78.4% (69.9%, 85.5%)

Tabela 9: Características de desempenho clínico do BÜHLMANN fCAL® na diferenciação entre DII e SII, com pontos de decisão clínica de 50 µg/g e 200 µg/g

IC – intervalo de confiança

VPP – valor preditivo positivo

VPN – valor preditivo negativo

AUC da curva ROC – área sob a curva característica de operação do receptor

II. Monitoramento de DII

Limiares e avaliação clínica

A determinação da calprotectina fecal também é uma forma confiável e simples de auxiliar no monitoramento de pacientes com DII (ref. 10-22).

A correlação entre os níveis de calprotectina e o status inflamatório da mucosa intestinal do paciente, de acordo com avaliações endoscópicas, foi determinada em três estudos independentes usando testes de calprotectina da BÜHLMANN (tabela 10). Determinou-se o valor do diagnóstico da calprotectina na predição da remissão e recidiva clínicas em três estudos usando-se testes de calprotectina da BÜHLMANN (tabela 11), de acordo com os sintomas dos pacientes, os índices de atividade clínica, e a necessidade não planejada de intensificação de terapia, hospitalização ou emergência.

Atividade da calprotectina ¹ vs DII determinada por meio de resultados endoscópicos	Estudo 1 Espanha (ref. 12)	Estudo 2 Espanha (ref. 13)	Estudo 3 Austrália, Nova Zelândia (ref. 14)
Quantidade e dados demográficos dos pacientes	89 (DC ²) Faixa etária: 32-58 44% homens	123 (CU ³) Faixa etária: 18-85 66,4% homens	99 (DC ² após ressecção) Faixa etária: 29-47 46,5% homens
Valor de corte	272 µg/g	280 µg/g	100 µg/g
VPN	98%	86%	91%
VPP	76%	80.3%	53%

Tabela 10: Correlação entre níveis de calprotectina e atividade da DII determinada por avaliações endoscópicas.

¹ Os resultados dos estudos 1 e 2 foram obtidos com os ensaios de fluxo lateral da BÜHLMANN (Quantum Blue® fCAL e Quantum Blue® fCAL high range). Os resultados do estudo 3 foram obtidos com o BÜHLMANN fCAL® ELISA).

² DC = pacientes com doença de Crohn

³ CU = pacientes com colite ulcerativa

Calprotectina¹ vs remissão ou recidiva clínicas futuras	Estudo 4 Reino Unido (ref. 15)	Estudo 5 Espanha (ref. 16)	Estudo 6 Espanha (ref. 17)
Quantidade e dados demográficos dos pacientes	92 (DC ²) 38% homens	30 (DC ²) terapia com adalimumabe Faixa etária: 24-64 43,3% homens	33 (DC ²) 20 (CU ³) terapia com infliximabe Faixa etária: 18-68 47,2% homens
Data de retorno depois da medição da calprotectina	12 meses	4 meses	12 meses
Pacientes com recidiva clínica depois do retorno	11%	30%	23%
Valor de corte	240 µg/g	204 µg/g	160 µg/g
VPN	96.8%	100%	96.1%
VPP	27.6%	75%	68.7%

Tabela 11: Determinação do valor de diagnóstico da calprotectina na predição da remissão ou recidiva clínicas da DII.

¹ Os resultados do estudo 4 foram obtidos com o BÜHLMANN fCAL[®] ELISA. Os resultados dos estudos 5 e 6 foram obtidos com os ensaios de fluxo lateral da BÜHLMANN (Quantum Blue[®] fCAL e Quantum Blue[®] fCAL high range).

² DC = pacientes com doença de Crohn

³ CU = pacientes com colite ulcerativa

As categorias de resultados mostradas são recomendações e sua determinação se baseia no conhecimento condensado de valores de corte e estudos de desempenho clínico publicados. Aconselha-se que os profissionais de saúde definam limiares individuais para cada paciente a partir da determinação do nível de base de calprotectina durante a remissão da doença.

Valores de calprotectina 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. 10-22).

Valores de calprotectina 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 de calprotectina 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 necessidade execução de procedimentos adicionais de investigação (ref. 10-22).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho apresentadas foram estabelecidas em um instrumento Roche cobas® 6000 c501. Consulte as notas de aplicação específicas do analisador químico clínico para verificar as características de desempenho de outros analisadores.

Comparação de métodos – fCAL® turbo CALEX® Cap vs fCAL® ELISA CALEX® Cap

O estudo de comparação de métodos foi realizado de acordo com a diretriz EP09-A3 do CLSI. Cento e noventa e nove (199) amostras clínicas foram medidas usando-se um único lote do BÜHLMANN fCAL® turbo por 18 dias em um único ciclo de calibração. Valores de referência com um intervalo final de concentração de calprotectina de 30,3 - 1672,5 µg/g, foram estabelecidos com o BÜHLMANN fCAL® ELISA. As amostras foram extraídas com o auxílio do dispositivo CALEX® Cap. Determinações individuais dos extratos do CALEX® Cap foram executadas usando-se ambos os métodos. O desvio foi determinado usando-se análise de regressão linear de Passing-Bablok e análise de Bland-Altman.

Análise de Bland-Altman			Análise de regressão de Passing-Bablok				
Desvio médio (95% do IC)	LoA inferior (95% do IC)	LoA superior (95% do IC)	Inclinação (95% do IC)	Intercepto (µg/g) (95% do IC)	Viés a 80 µg/g (95% do IC)	Viés a 160 µg/g (95% do 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

Comparação de métodos – fCAL® turbo CALEX® Cap vs extração manual com fCAL® ELISA

O estudo de comparação de métodos foi realizado de acordo com a diretriz EP09-A3 do CLSI. Cento e sessenta e oito (168) amostras clínicas foram medidas usando-se três lotes do dispositivo BÜHLMANN CALEX® e medidos usando-se um único lote do BÜHLMANN fCAL® turbo por 18 dias em um único ciclo de calibração. Valores de referência com um intervalo final de concentração de calprotectina de 30,5 - 1573,8 µg/g, foram estabelecidos usando o método de extração manual e a medição de extrato com o BÜHLMANN fCAL® ELISA. Os extratos foram medidos em determinações individuais usando-se ambos os métodos. O desvio foi

determinando usando-se análise de regressão linear de Passing-Bablok e análise de Bland-Altman.

Análise de Bland-Altman			Análise de regressão de Passing-Bablok				r
Desvio médio (95% do IC)	LoA inferior (95% do IC)	LoA superior (95% do IC)	Inclinação (95% do IC)	Intercepto (µg/g) (95% do IC)	Viés a 80 µg/g (95% do IC)	Viés a 160 µg/g (95% do IC)	
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

Reprodutibilidade (estudo multicêntrico de avaliação da precisão): 3,2 - 9,1% do CV

A reprodutibilidade foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de 3 laboratórios x 5 dias x 5 replicatas. Foram testados oito extratos de amostras fecais agrupadas, com concentrações de calprotectina de 47,2 – 5475,6 µg/g.

Precisão entre lotes: 2,4 - 8,2% do CV

A reprodutibilidade lote a lote foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de 3 lotes x 5 dias x 5 replicatas. Foram testados oito extratos de amostras fecais agrupadas, com concentrações de calprotectina de 45,2 – 5303,1 µg/g.

Repetibilidade: 0,7 - 8,3% do CV

Precisão intralaboratorial: 1,4 - 9,1% do CV

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo padronizado de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas. Foram testados oito extratos de amostras fecais agrupadas, com concentrações de calprotectina de 42,9 – 5405,6 µg/g.

Reprodutibilidade da extração – CALEX® Cap: 8,1 – 19,7% do CV

A reprodutibilidade da extração foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de 2 dias x 2 operadores x 3 lotes de CALEX® Cap x 2 extrações x 3 replicatas. Foram testadas doze amostras fecais clínicas, incluindo amostras com consistência sólida, semissólida e líquida, com concentrações de calprotectina de 42,7 – 3440,0 µg/g.

Precisão / recuperação: 93,6 – 102% do CV

Sete extratos de amostras fecais de sobras de amostras clínicas com níveis de calprotectina variando entre 44,1 µg/g e 1076,3 µg/g foram fortificados com 56,9 µg/g ou 227,8 µg/g de calprotectina em material de calibrador. A fortificação foi realizada a 10% do volume do extrato da amostra. As amostras de "referência" foram fortificadas com o volume correspondente de

amostra isenta do analito. As amostras de "referência" e as de "referência + fortificante" foram medidas em quatro replicatas.

Arraste das amostras

O arraste das amostras foi determinado de acordo com a diretriz EP10-A2 do CLSI. Nenhum arraste de amostra estatisticamente significativo foi detectado com o teste BÜHLMANN fCAL[®] turbo no instrumento Roche cobas[®] 6000 c501.

Limite de detecção (LoD): 23,7 µg/g

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI e com as proporções de falsos positivos (α) inferiores a 5% e falsos negativos (β) inferiores a 5% com base em 120 determinações, com 60 brancos e 60 replicatas de baixo nível; e um **LoB de 16,7 µg/g**.

Limite de quantificação (LoQ): 23,7 µg/g

O LoQ foi estabelecido de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, com base em 90 determinações e uma meta de precisão de 20% do CV. A estimativa do LoQ ficou abaixo do valor do LoD e, portanto, está indicada como sendo igual ao LoD estimado.

Faixa de linearidade: 9,13 – 13.339 µg/g

A faixa linear do BÜHLMANN fCAL[®] turbo foi determinada de acordo com a diretriz EP06-A do CLSI. As amostras com uma concentração acima de 2000 µg/g foram diluídas automaticamente a 1:10 pelo analisador. Foi permitido um desvio máximo de 10% da linearidade. Para valores abaixo de 75 µg/g, uma diferença absoluta de menos de 7,5 µg/g foi permitida.

Efeito gancho com dose elevada

As amostras com concentrações teóricas de 45.715 µg/g podem ser medidas sem limitar a faixa de medição do ensaio.

Substâncias interferentes

A suscetibilidade do BÜHLMANN fCAL[®] turbo a produtos farmacêuticos orais, suplementos nutricionais, hemoglobina e micro-organismos enteropatológicos, foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2 do CLSI. Desvios superiores a 10% nos resultados foram considerados como interferências.

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias [concentração em mg/50 mg de fezes]: gyno-Tardyferon (0,11), Prednisona (0,31), Imurek (0,19), Salofalk (5,21), Asacol (2,50), Agopton (0,18), Vancocina (2,00), Sulfametoxazol (1,6), Trimetoprim (0,35), Ciproxina (1,25), vitamina E (0,30), Bion 3 (1,06) e hemoglobina (1,25).

Nenhuma interferência foi detectada com os seguintes micro-organismos enteropatológicos [concentração em unidades formadoras de colônias (UFC)/mL de extrato de fezes]: *Escherichia coli* ($3,3 \times 10^7$), *Salmonella enterica ssp. enterica* ($9,0 \times 10^7$), *Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae* ($5,3 \times 10^7$), *Citrobacter freundii* ($12,9 \times 10^7$), *Shigella flexneri* ($5,0 \times 10^7$), *Yersinia enterocolitica ssp. enterocolitica* ($9,8 \times 10^7$).

REFERÊNCIAS

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. 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.

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Data	Versão	Alteração
2022-02-28	A4	Atualizado o capítulo “advertências e precauções”, revisão do capítulo "símbolos", adicionado o capítulo “padronização e rastreabilidade metrológica”, incluído o número do órgão notificado na marcação CE - procedimento de avaliação de conformidade de acordo com a regulamentação IVDR 2017/746

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.

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

LEGENDA DOS SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza os símbolos e sinais listados e descritos na norma ISO 15223-1.

