



BÜHLMANN sCAL[®] turbo

Ensaio turbidimétrico de calprotectina sérica

Kit de reagentes

B-KSCAL-RSET

Versão A1

Para uso em diagnósticos *in vitro*



Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Suíça

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

USO INTENDIDO

O BÜHLMANN sCAL[®] turbo é um teste de diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa de calprotectina (MRP8/14) em amostras de soro humano. Os níveis séricos de calprotectina podem ser usados para determinar o status inflamatório de pacientes. O teste é utilizado em combinação com analisadores de química clínica.

For laboratory use only.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

O teste BÜHLMANN sCAL[®] turbo consiste em um imunoenensaio turbidimétrico melhorado por partículas (PETIA) que permite a quantificação da calprotectina em amostras de soro humano em analisadores de química clínica. As amostras podem ser medidas sem a necessidade de etapas adicionais de diluição. As amostras são incubadas com um tampão de reação e misturadas 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 de soro. 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) HEPES tamponado salino	1 frasco 24 mL	B-KSCAL-R1	Pronto para utilização
Imunopartículas (R2) Esferas de poliestireno revestidas com anticorpos policlonais contra a calprotectina humana	1 frasco 7.3 mL	B-KSCAL-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 55 dias a uma temperatura na faixa de 2–15 °C.

Tabela 2: Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Não congele os reagentes!

MATERIAIS NECESSÁRIOS, PORÉM NÃO FORNECIDOS

Reagentes	Quantidade	Código
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit de calibradores Calibradores 1-6 para determinar uma curva de calibração de seis pontos	1 x 6 frascos 1 mL/ frasco	B-KSCAL-CASET
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit de controles Controles alto e baixo	3 x 2 frascos 1 mL/ frasco	B-KSCAL-CONSET

Tabela 3: Materiais necessários, porém não fornecidos

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Este teste se destina somente ao uso para diagnóstico *in vitro*.
- Recomenda-se que este teste seja executado por pessoal qualificado, de acordo com os princípios de Boas Práticas Laboratoriais (BPL).
- As imunopartículas contêm substâncias potencialmente infecciosas de origem animal e devem ser manuseadas com cuidado. A disposição dos materiais descartados deve ser executada de acordo com os requisitos locais pertinentes.
- O reagente R2 contém nanopartículas de poliestireno.
- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

Precauções técnicas

- Não misture os reagentes R1 e R2 de lotes diferentes, nem troque as tampas dos frascos de reagentes.
- O arraste de amostras depende do analisador químico clínico. Para mais informações, consulte a nota de aplicação específica do analisador.
- Se o reagente R2 for 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.
- Antes da medição, equilibre os reagentes, controles, calibradores e amostras por 30 minutos à temperatura ambiente, antes de iniciar a análise.
- Certifique-se de que as amostras não contêm bolhas de ar antes de executar o teste.

- A evaporação dos calibradores e controles no analisador também pode gerar resultados incorretos. Execute o ensaio imediatamente após carregar o analisador.

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Colete o sangue em tubos sem nenhum aditivo ou em tubos com gel separador, de acordo com as instruções do fabricante, e evite a hemólise. Centrifugue o tubo de venipuntura a 1800 g por 15 minutos à temperatura ambiente (18–28 °C) e **transfira o soro** para tubos simples **dentro de até 6 horas** após a coleta do sangue. Evite transferir células do sangue juntamente com o soro. Não desative as amostras com calor.

Transporte e armazenamento das amostras

As amostras de soro separadas podem ser armazenadas a temperaturas ambiente de até 28 °C por 15 dias. As amostras separadas podem ser armazenadas a 2–8 °C por até 16 dias. Para períodos de armazenamento mais longos, mantenha as amostras de soro não diluídas a uma temperatura ≤ -20 °C. Essas amostras permanecem estáveis por pelo menos 1 mês a ≤ -20 °C. Não se recomendam mais de 6 ciclos de congelamento-descongelamento.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Notas de aplicação / instalação do ensaio

O procedimento de teste do BÜHLMANN sCAL[®] turbo foi estabelecido em diversos analisadores de química clínica. 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. Transfira o conteúdo dos reagentes para os frascos específicos do instrumento.

Determinação da curva de calibração

O kit de calibradores do BÜHLMANN sCAL[®] 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 sCAL® 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 sCAL® turbo deve ser testado diariamente antes da execução dos testes com amostras de soro de pacientes, para se 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 sCAL® turbo. Os resultados das medições dos controles devem ficar dentro das faixas de valores indicadas para que resultados válidos sejam obtidos para as amostras de soro 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 do soro de pacientes

Uma vez que a curva de calibração tenha sido determinada e validada com os controles, as amostras de soro dos pacientes podem ser medidas. A medição do soro dos pacientes 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 $\mu\text{g/mL}$.

PADRONIZAÇÃO

O BÜHLMANN sCAL® turbo é padronizado contra um material de referência interno (calprotectina nativa purificada). Os valores dos calibradores e dos controles são atribuídos de acordo com um protocolo de transferência de valores (Ref. 1, 2), para garantir a rastreabilidade metrológica.

O intervalo de medição analítica do BÜHLMANN sCAL® turbo, estabelecido no instrumento Mindray BS-480, é de 0,23-15,0 $\mu\text{g/mL}$.

LIMITAÇÕES

- Amostras lipêmicas e hemolíticas exibem interferências. Para mais informações, consulte o capítulo sobre substâncias interferentes. Amostras lipêmicas podem ser evitadas pedindo-se aos pacientes que jejem por pelo menos 12 horas antes da coleta da amostra.
- Os resultados dos testes devem ser interpretados em conjunto com as informações disponíveis da avaliação clínica do paciente e de outros procedimentos de diagnóstico.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

O intervalo de referência do teste BÜHLMANN sCAL[®] turbo foi determinado de acordo com a diretriz C28-A3 do CLSI, com 160 amostras de soro de indivíduos autodeclarados saudáveis: homens e mulheres adultos, com idades variando entre 18 e 83 anos. As amostras foram coletadas em tubos sem aditivos ou tubos com gel separador, e processadas dentro 3,4 horas após a coleta. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Matriz	N	95% Limite de referência* [µg/mL]	Intervalo de referência		
			2,5–97,5 Percentil [µg/mL]	Intervalo de confiança de 90% Limite de referência inferior	Limite de referência superior
Soro (tubo sem aditivos)	160	1,77	0,24–2,01	0,11–0,31	1,78–2,74
Soro (gel separador)	160	1,10	0,19–1,80	0,06–0,23	1,10–2,07

Tabela 4: Intervalo de referência do BÜHLMANN sCAL[®] turbo; *unilateral

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho apresentadas foram estabelecidas em um instrumento Mindray BS-480, exceto se indicado de outra forma. Consulte as notas de aplicação específicas do analisador para verificar as características de desempenho com outros analisadores de química clínica.

Comparação de métodos:

BÜHLMANN sCAL® turbo vs GCAL® (Gentian AS)

O estudo de comparação de métodos foi realizado de acordo com a diretriz EP09-A3 do CLSI. Cento e onze (111) amostras foram medidas usando-se 3 lotes do BÜHLMANN sCAL® turbo por 3 dias. Valores médios de referência com concentrações de calprotectina de 0,5–10,3 µg/mL (dentro da faixa de medição), foram estabelecidos com 1 lote do teste GCAL® no Roche cobas c501. 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/ml] (95% do IC)	r
12.5% (9.8%, 15.1%)	-15.2% (-19.8%, - 10.7%)	40.1% (35.6%, 44.7%)	1.16 (1.13, 1.20)	-0.065 (-0.112, -0.022)	0.990

Reprodutibilidade: 2,9 – 11,1% do CV

A reprodutibilidade foi estabelecida de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos/lotos/operador x 5 dias x 5 replicatas e um critério de aceitação de 15% do CV. Os testes foram executados nos instrumentos Roche cobas c501, Beckman Coulter AU480 e Mindray BS-480. Quatro amostras de soro foram testadas.

N.º	Média [µg/mL]	n	Intracorrída		Interdias		Entre lotes/ instrumento/operador		Total	
			DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV
1	0.62	75	0.03	5.2	0.01	2.0	0.03	4.6	0.04	7.2
2	1.43	75	0.02	1.5	0.04	2.8	0.09	6.4	0.10	7.2
3	4.03	75	0.06	1.4	0.06	1.5	0.44	10.9	0.45	11.1
4	10.44	75	0.09	0.9	0.12	1.1	0.27	2.5	0.31	2.9

Repetibilidade: 0,5 – 3,9% do CV

Precisão intralaboratorial: 0,7 – 5,1% 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 testadas quatro amostras de soro (n.ºs 1–4) com concentrações de calprotectina abrangendo o intervalo de medição analítica (AMI) do teste (0,66 – 10,41 µg/mL), e três amostras de

soro (n.ºs 5–7) com concentrações abrangendo o intervalo de medição estendido (EMI) (20,62 – 166,5 µg/mL).

N.º	Média [µg/mL]	n	Repetibilidade		Intercorridas		Interdias		Intralaboratorial	
			DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV	DP [µg/mL]	% do CV
1	0.66	80	0.03	3.9	0.02	3.2	0.00	0.0	0.03	5.1
2	1.47	80	0.01	0.9	0.01	0.7	0.00	0.0	0.02	1.2
3	4.16	80	0.04	0.9	0.01	0.3	0.00	0.0	0.04	0.9
4	10.41	80	0.05	0.5	0.05	0.5	0.00	0.0	0.07	0.7
5	20.63	80	0.27	1.3	0.31	1.5	0.19	0.9	0.46	2.2
6	90.88	80	0.75	0.8	0.92	1.0	0.46	0.5	1.27	1.4
7	166.47	80	1.49	0.9	1.92	1.2	0.00	0.0	2.43	1.5

Intervalo de medição estendido (EMI): 15,0 – 225 µg/mL

O intervalo de medição estendido (EMI) do BÜHLMANN sCAL® turbo foi determinado de acordo com a diretriz EP34 do CLSI. Amostras com concentrações conhecidas dentro do EMI foram diluídas com água desmineralizada usando-se o fator de diluição recomendado de 1:15 por um único operador em 2 instrumentos e 2 lotes de reagentes diferentes. Foram medidas quatro replicatas por diluição em cada instrumento e para cada lote. Foi permitida uma recuperação máxima da diluição de ±20%.

Recuperação: 92,0 – 112,8%

Seis amostras de soro com níveis de calprotectina variando entre 0,38 µg/mL e 8,8 µg/mL foram fortificadas com 1,5 µg/mL de calprotectina no material do calibrador. A fortificação foi realizada a 10% do volume 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-A3 do CLSI. Nenhum arraste estatisticamente significativo foi detectado com o teste BÜHLMANN sCAL® turbo no instrumento Mindray BS-480.

Limite de detecção (LoD): 0,11 µg/mL

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, utilizando-se o método clássico e análise paramétrica, enquanto um **LoB (limite de branco) de 0,07 µg/mL** foi determinado usando-se análise não paramétrica.

Limite inferior de quantificação (LoQ): 0,23 µg/mL

O LoQ foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI, com base em 60 determinações e uma meta de precisão de 20% do CV.

Faixa de linearidade: 0,16 – 15,1 µg/mL

A faixa linear do BÜHLMANN sCAL[®] turbo foi determinada de acordo com a diretriz EP06-Ed2 do CLSI. Para a calprotectina sérica, o método demonstrou ser linear entre 0,16 e 15,1 µg/mL, com um desvio permissível de ±20% / ±0,2 µg/mL nesse intervalo.

Efeito gancho com dose elevada

Amostras com concentrações de calprotectina de até 91,2 µg/mL já foram medidas em três (3) lotes de reagentes no Mindray BS-480 sem a limitação do limite superior de quantificação (ULoQ) do teste.

Substâncias interferentes:

A suscetibilidade do BÜHLMANN sCAL[®] turbo a produtos farmacêuticos orais e injetáveis, bem como a substâncias endógenas, foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A3 do CLSI. Desvios superiores a 20% nos resultados foram considerados como interferências.

Substâncias endógenas, tais como hemoglobina, intralipídios, fatores reumatóides e amostras hemolisadas, exibiram interferência. As amostras com até 88,3 U/mL de fatores reumatóides podem ser medidas corretamente. Acima disso, ocorrem resultados positivos errados de calprotectina. Amostras com até 9,2 mg/L de intralipídios podem ser medidas. Acima dessa concentração, ocorrem resultados negativos errados de calprotectina.

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: ibuprofen (0,22 mg/mL), naproxeno (0,36 mg/mL), metotrexato (1,36 mg/mL), adalimumabe (Humira[®]) (36 µg/mL), infliximabe (Remicade[®]) (277 µg/mL), tofacitinibe (116 ng/mL), prednisona (99 ng/mL), prednisolona (99 ng/mL), dexametasona (Fortecortin[®]) (12 µg/mL), ciprofloxacina (12 µg/mL), lansoprazol (1,0 µg/mL), triglicérides (9,2 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,40 mg/mL), bilirrubina não conjugada (0,40 mg/mL) e fatores reumatóides (88,3 U/mL).

REFERÊNCIAS

1. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2001; 39, 1110-22
2. Blirup-Jensen et al.: Clin Chem Lab Med 2008; 46, 1470-9
3. Ometto F, et al.: Exp Biol Med 2017; 242(8): 859–873
4. Jarlborg M, et al.: Arthritis Res Ther. 2020; 22(1):105
5. La C, et al. RMD Open 2021;7:e001646

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.

REACH

Nenhum dos materiais e reagentes deste kit requer uma Ficha de Dados de Segurança do Material (MSDS) de acordo com a Regulamentação CLP (CE) No 1272/2008 e a Diretiva CE 1907/2006 (REACH).

SÍMBOLOS

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

