



BÜHLMANN sCAL[®] turbo

Ensayo turbidimétrico de calprotectina sérica

Kit de reactivos

B-KSCAL-RSET

Versión A1.1

Para uso diagnóstico *in vitro*.



Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch

Suiza

Tel.: +41 61 487 1212

Fax: +41 61 487 1234

info@buhlmannlabs.ch

USO PREVISTO

El ensayo BÜHLMANN sCAL[®] turbo es un ensayo diagnóstico *in vitro* diseñado para la determinación cuantitativa de la calprotectina sérica (MRP8/14) en muestras de suero humano. La concentración de calprotectina sérica puede usarse para determinar el estado de inflamación de los pacientes. El ensayo se utiliza en combinación con analizadores de química clínica.

Solo para uso en laboratorio.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

El ensayo BÜHLMANN sCAL[®] turbo es un inmunoensayo turbidimétrico potenciado con partículas (PETIA) que permite la cuantificación de la calprotectina en muestras de suero humano en analizadores de química clínica. El análisis de las muestras no requiere ningún paso adicional de dilución. Las muestras 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 sérica. 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 con tampón de HEPES	1 vial 24 mL	B-KSCAL-R1	Listo para usar
Inmunopartículas (R2) Partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos policlonales anti calprotectina humana	1 vial 7.3 mL	B-KSCAL-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 55 días a 2-15°C.

Tabla 2: Conservación y estabilidad de los reactivos

¡No congelar los reactivos!

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos	Cantidad	Código
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit de calibradores Calibradores 1-6 para determinar una curva de calibración de seis puntos	1 x 6 viales 1 mL/ vial	B-KSCAL-CASET
BÜHLMANN sCAL® turbo Kit de control Controles bajo y alto	3 x 2 viales 1 mL/ vial	B-KSCAL-CONSET

Tabla 3: Materiales necesarios pero no suministrados

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este ensayo es solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Se recomienda que sea el personal capacitado quien manipule el ensayo, de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).
- Las inmunopartículas contienen sustancias potencialmente infecciosas de origen animal y deben manipularse con el debido cuidado. La eliminación de cualquier material desechado debe realizarse de acuerdo con la reglamentación local.
- R2 contiene nanopartículas de poliestireno.
- La solución no utilizada se debe desechar conforme a las normativas locales, estatales y federales.

Precauciones técnicas

- No mezclar los reactivos R1 y R2 de diferentes lotes de reactivos ni intercambiar el tapón de los reactivos.
- El arrastre de las muestras depende del analizador de química clínica. Para más información, consultar la nota de aplicación específica del analizador.
- Una vez congelado, el reactivo R2 no se puede usar volver a usar. La congelación de R2 causa una reducción de la sensibilidad y la precisión en las muestras de baja concentración y, en el peor de los casos, una reducción del valor medido.
- Antes de la medición, equilibrar los reactivos, controles, calibradores y muestras a temperatura ambiente durante 30 minutos.
- Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas antes de realizar el ensayo.

- La evaporación de los calibradores y los controles del analizador puede llevar a resultados incorrectos. Ejecutar el ensayo inmediatamente después de cargar el analizador.

OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Recoger la sangre en tubos sin aditivos o tubos con gel separador conforme a las instrucciones del fabricante y evitar la hemólisis.

Centrifugar el tubo de venopunción a 1800 g durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-28 °C) y **transferir el suero** a tubos simples **en un plazo de 6 horas** tras la extracción. Evitar la transferencia de células sanguíneas con el suero. No someter las muestras a inactivación por calor.

Transporte y conservación de las muestras

Las muestras de suero separado pueden almacenarse a temperaturas de hasta 28 °C durante 15 días. Las muestras separadas pueden almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 16 días. Para una conservación más prolongada, mantener las muestras de suero sin diluir a ≤ -20 °C. Estas muestras son estables durante al menos un mes a ≤ -20 °C. No se recomiendan más de 6 ciclos de congelación-descongelación.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Notas de aplicación / Instalación del ensayo

El procedimiento de ensayo de BÜHLMANN sCAL® turbo se ha ensayado 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. Transferir el contenido de los reactivos a los recipientes específicos del instrumento.

Determinación de la curva de calibración

El kit de calibradores BÜHLMANN sCAL® 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 sCAL® 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

El kit de controles BÜHLMANN sCAL® turbo debe utilizarse todos los días antes de analizar las muestras de suero de los pacientes para validar la curva de calibración. 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 sCAL® turbo. Las mediciones de los controles deben estar dentro de los intervalos de valor indicados para obtener resultados válidos para las muestras de suero de los pacientes.

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 del suero de los pacientes

Una vez establecida una curva de calibración y validada la curva con los controles, se pueden medir muestras de pacientes. Realizar la medición del suero de pacientes 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 µg/mL.

ESTANDARIZACIÓN

BÜHLMANN sCAL® está estandarizado con el material de referencia interno (calprotectina natural purificada). Los valores de los calibradores y los controles se asignan conforme a un protocolo de transferencia de valores (ref. 1, 2) para garantizar la trazabilidad metrológica.

El intervalo analítico de medición del ensayo BÜHLMANN sCAL® turbo, determinado en el instrumento Mindray BS-480, es de 0,23 – 15,0 µg/mL.

LIMITACIONES

- Las muestras lipémicas y hemolíticas presentan interferencias. Véase el capítulo sobre interferencia con otras sustancias para más información. Se puede evitar la lipemia de las muestras recomendando a los pacientes un ayuno de al menos 12 horas previo a la extracción.
- Los resultados del ensayo deben ser interpretados en combinación con la información derivada de la evaluación clínica del paciente y los otros procedimientos diagnósticos.

INTERVALO DE REFERENCIA

El intervalo de referencia del ensayo BÜHLMANN sCAL® turbo se determinó conforme a la norma CLSI C28-A3 con 160 muestras de suero de individuos que se consideran sanos: hombres y mujeres adultos de entre 18 y 83 años. Las muestras se recogieron en tubos sin aditivos o tubos con gel separador y se procesaron en un plazo de 3,4 horas tras la extracción. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Matriz	N	95% Límite de referencia* [µg/mL]	Intervalo de referencia		
			2.5-97.5 Percentil [µg/mL]	Intervalo de confianza del 90%	
				Límite inferior de referencia	Límite superior de referencia
Suero (tubo sin aditivos)	160	1.77	0.24-2.01	0.11-0.31	1.78-2.74
Suero (gel separador)	160	1.10	0.19-1.80	0.06-0.23	1.10-2.07

Tabla 4: Intervalo de referencia de BÜHLMANN sCAL turbo®; *unilateral

EFICACIA DIAGNÓSTICA

La eficacia diagnóstica presentada se ha determinado en un instrumento Mindray BS-480, a menos que se indique lo contrario. Consultar las notas de aplicación específicas de cada analizador de química clínica para conocer la eficacia diagnóstica en otros analizadores.

Comparación de métodos:

BÜHLMANN sCAL® turbo frente al ensayo GCAL® (Gentian AS)

El estudio de comparación de métodos se realizó conforme a la norma EP09-A3 del CLSI. Se midieron ciento once (111) muestras utilizando tres lotes de BÜHLMANN sCAL® turbo durante 3 días. Se establecieron los valores de referencia medios, con un intervalo de concentración de calprotectina de 0,5 – 10,3 µg/mL en el intervalo de medición, con 1 lote del ensayo GCAL® en Roche cobas c 501. El sesgo se determinó mediante el método de regresión lineal de Passing-Bablok y el análisis de Bland-Altman.

Análisis de Bland-Altman			Método 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/ml] (95% IC)	<i>r</i>
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

Reproducibilidad: 2,9 – 11,1% CV

La reproducibilidad se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI con un diseño de 3 instrumentos/lote/operador × 5 días × 5 repeticiones y un criterio de aceptación del 15% CV. El ensayo se realizó en los instrumentos Roche cobas c 501, Beckman Coulter AU480 y Mindray BS-480. Se analizaron cuatro muestras de suero.

#	Media [µg/mL]	<i>n</i>	Intraserial		Entre días		Entre lotes/ instrumento/operador		Total	
			DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/ml]	%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

Repetibilidad: 0,5 – 3,9% CV

Precisión dentro de un mismo laboratorio: 0,7 – 5,1% CV

La repetibilidad y la precisión dentro de un mismo laboratorio se determinaron de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI utilizando un diseño de estudio normalizado de 20 días × 2 series × 2 repeticiones. Se analizaron cuatro muestras de suero (núm. 1-4) con concentraciones de calprotectina que abarcaban el intervalo de medición analítico (0,66 – 10,41 µg/mL) del ensayo

y tres muestras de suero (núm. 5-7) con concentraciones que abarcaban el intervalo de medición ampliado (20,62 – 166,5 µg/mL).

#	Media [µg/mL]	n	Repetibilidad		Entre series		Entre días		Dentro de un mismo laboratorio	
			DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/mL]	%CV	DE [µg/mL]	%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 medición ampliado: 15,0 – 225 µg/mL

El intervalo de medición ampliado del ensayo BÜHLMANN sCAL® turbo se ha determinado conforme a la norma EP34 del CLSI. Se diluyeron muestras con concentración conocida dentro del intervalo de medición ampliado con el factor de dilución recomendado de 1:15 con agua desmineralizada por un operador en 2 instrumentos y 2 lotes de reactivos diferentes. Se midieron 4 réplicas por cada dilución en cada instrumento y por cada lote. Se permitió una recuperación máxima de la dilución de ±20%.

Recuperación: 97,3 – 104,8%

A seis muestras de suero con valores de concentración de calprotectina de entre 0,38 µg/mL y 8,8 µg/mL se añadieron 1,5 µg/mL de calprotectina del material de los calibradores. La adición se realizó al 10% del volumen de la muestra. A las «muestras de referencia» se añadió el volumen correspondiente de muestras sin analitos. Las muestras de referencia y enriquecida se midieron por cuatruplicado.

Arrastre de la muestra

El arrastre de la muestra se determinó de acuerdo con la norma EP10-A3 del CLSI. No se observó ningún arrastre estadísticamente significativo con el ensayo BÜHLMANN sCAL® turbo en el instrumento Mindray BS-480.

Límite de detección (LoD): 0,11 µg/mL

El LoD se determinó de acuerdo con la norma EP17-A2 del CLSI con el método clásico, el análisis paramétrico y un **LoB de 0,07 µg/mL**, determinado mediante un análisis no paramétrico.

Límite inferior de cuantificación (LoQ): 0,23 µg/mL

El LoQ se determinó conforme a la norma EP17-A2 del CLSI sobre la base de 60 determinaciones y un objetivo de precisión del 20% CV.

Intervalo de linealidad: 0,16 – 15,1 µg/mL

El intervalo de linealidad de BÜHLMANN sCAL® turbo se ha determinado conforme a la norma EP06-Ed2 del CLSI. Para la calprotectina sérica se ha demostrado que el método es lineal en el intervalo entre 0,16 y 15,1 µg/mL, con una desviación permitida de $\pm 20\%/\pm 0,2$ µg/mL en este intervalo.

Efecto gancho a dosis altas

Se midieron muestras con concentraciones de calprotectina de hasta 91,2 µg/mL en tres (3) lotes de reactivo en el instrumento Mindray BS-480 sin limitación del intervalo superior de cuantificación (ULoQ) del ensayo.

Interferencia con otras sustancias:

La sensibilidad del ensayo BÜHLMANN sCAL® turbo a los productos farmacéuticos orales e inyectables y a las sustancias endógenas se evaluó de acuerdo con la norma EP07-A3 del CLSI. Sesgos mayores del 20% en los resultados se consideraron interferencia.

Sustancias endógenas como la hemoglobina, intralípidos, los factores reumatoides y las muestras hemolizadas mostraron interferencia. Las muestras con factores reumatoides de hasta 88,3 U/mL pueden medirse correctamente. Por encima de eso, se producirán resultados positivos erróneos de calprotectina. Las muestras con intralípidos de hasta 9,2 U/mL pueden medirse. Por encima de esa concentración, se producirán resultados negativos erróneos de calprotectina.

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias hasta las concentraciones indicadas: ibuprofeno (0,22 mg/mL), naproxeno (0,36 mg/mL), metotrexato (1,36 mg/mL), adalimumab (Humira®) (36 µg/mL), infliximab (Remicade®) (277 µg/mL), tofacitinib (116 ng/mL), prednisona (99 ng/mL), prednisolona (99 ng/mL), dexametasona (Fortecortin®) (12 µg/mL), ciprofloxacino (12 µg/mL), lansoprazol (1,0 µg/mL), triglicéridos (9,2 mg/mL), bilirrubina conjugada (0,40 mg/mL), bilirrubina no conjugada (0,40 mg/mL) y factores reumatoides (88,3 U/mL).

REFERENCIAS

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

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.

REACH

Ninguno de los materiales y reactivos del kit requiere una hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS) conforme al Reglamento CLP (CE) n.º 1272/2008 y la Directiva CE 1907/2006 (REACH).

SÍMBOLOS

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

Para la definición de los símbolos, véase el glosario de símbolos en:
www.buhlmannlabs.ch/support/downloads/

