

VITASSAY

Calprotectin -Turbidimetric Assay-

Test rápido de detección cuantitativa de calprotectina humana en muestras de heces humanas.

IU-7115002 Ed02 Enero 2019



ES



Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*, personal entrenado en técnicas turbidimétricas.

USO PREVISTO

Vitassay Calprotectin –Turbidimetric Assay- es una prueba rápida turbidimétrica para la detección cuantitativa de calprotectina humana en muestras de heces sólidas humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad para la detección de calprotectina humana en heces que sirve de ayuda en la búsqueda de problemas inflamatorios gastrointestinales. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador. Los resultados deben utilizarse para diferenciar entre pacientes con IBD que presentan inflamación de los que no presentan inflamación y de los que tengan síndrome de intestino irritable.

INTRODUCCIÓN

Calprotectina es una proteína presente en los neutrófilos de 36 KDa con propiedades antimicrobianas. Un aumento de la concentración de esta proteína en muestras de heces está asociado a inflamación intestinal. Esta proteína permanece estable en heces durante 7 días a temperatura ambiente, convirtiéndose en un marcador ideal de la enfermedad.

La liberación de calprotectina está asociada a la activación de los neutrófilos, dando mayores niveles en plasma, orina o muestras de heces como consecuencia de la enfermedad en los órgano(s) pertinentes.

El mecanismo de acción de calprotectina está relacionado con la inhibición de enzimas dependientes de zinc, matando microbios e induciendo la apoptosis en células sanas y cancerígenas. En presencia de calcio, la calprotectina es muy resistente a la degradación proteolítica.

PRINCIPIO

Vitassay Calprotectin –Turbidimetric Assay- es una prueba turbidimétrica, cuantitativa para la detección de calprotectina humana en muestras de heces sólidas humanas.

Calprotectin Turbidimetric Assay, se basa en las reacciones de aglutinación antígeno-anticuerpo fijados a las partículas de látex de poliestireno. El aumento de la absorbancia (proporcional a la aglutinación producida) está relacionado con la cantidad de antígeno contenida en la muestra.

La utilización de dos controles externos Control 1 y Control 2, sirve para verificar el correcto funcionamiento de la prueba.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

- No utilizar la prueba si los envases primarios se encuentran dañados.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Evitar errores de contaminación, seguir el procedimiento adecuado de trabajo.
- Los reactivos tras su utilización deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Vitassay Calprotectin-Turbidimetric Assay-**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Si el rango de medición excede, utilizar el diluyente de muestra para diluir la muestra y repetir el ensayo de nuevo.
- Leer y seguir las instrucciones de uso proporcionadas en el kit.
- Preparar y ajustar el analizador antes de empezar las medidas.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 8°C (35.6-46.4°F) para los reactivos y el diluyente de muestra puede conservarse refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/35.6-86°F) en su envase original.

El producto es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta siempre que se hayan conservado en las condiciones recomendadas.

No congelar y mantener alejado de la luz solar.

MATERIALES

| MATERIAL SUMINISTRADO | MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">▪ Reactivo R1▪ Reactivo R2▪ Calibrador 0▪ Calibrador 1▪ Calibrador 2▪ Calibrador 3▪ Calibrador 4▪ Calibrador 5▪ Control 1▪ Control 2▪ Viales con diluyente para dilución de muestra.▪ Instrucciones de uso. | <ul style="list-style-type: none">▪ Recipiente para recogida de muestras.▪ Guantes desechables.▪ Analizador automático.▪ Vortex.▪ Microtubos (vial analizador). |

RECOGIDA DE MUESTRAS

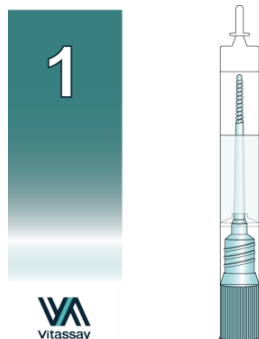
La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C / 35.6-46.4°F) como máximo 7 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 6 meses, debe congelarse a -20°C (-4°F). En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse. Homogeneizar la muestra lo máximo posible antes de su dilución en el vial.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Etiquetar el vial con la identificación del paciente.
2. Abrir el vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1).
3. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas, para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (figura 2), el palo con la muestra tomada se introduce en el vial para dilución de muestra. Si la muestra es líquida, se añade aproximadamente 20µL en el vial para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
4. Cerrar el vial con la muestra y el diluyente, agitar el vial para asegurar una buena dispersión de muestra, vortear 1 minuto, (figura 3). El vial con la muestra diluida puede conservarse en el rango de temperaturas (2-8°C / 35.6-46.4 °F) hasta 7 días antes de realizar el test.
5. Dejar reposar el vial unos 10 minutos para conseguir la mejor extracción (figura 3).
6. Coger el vial con la muestra diluida, cortar la punta del vial de muestra, añadir 20 gotas de la muestra diluida en el tubo (figura 4) para analizador (microtubo). Este vial será compatible con el analizador.

Nota: los viales de muestra no se deben usar directamente en el analizador.



Vial de dilución de muestra.



Toma de muestra en 4 zonas distintas.



Poner la muestra dentro del vial, cerrar el vial y agitar para una buena dispersión de muestra (vortear hasta que la muestra queda totalmente resuspendida, máx. 1 minuto). Después, dejar reposar el vial 10 min para conseguir la mejor extracción.



Dispensar 20 gotas en el tubo para analizador (microtubo).

Los reactivos y las heces solidas deben alcanzar la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de probarse. Reactivo R1 y Reactivo R2 están listos para usar.

Curva de calibración

Para la calibración utilizar unicamente Calprotectin Calibrator: Cal0, Cal1, Cal2, Cal3, Cal4 y Cal5. Contienen calprotectina humana a distintas concentraciones indicada en la etiqueta de cada uno de los viales.

| | Referencia | Calibrador 1 | Calibrador 2 | Calibrador 3 | Calibrador 4 | Calibrador 5 |
|-------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Conc. | 0 | 50 | 100 | 250 | 750 | 1500 |
| | µg/g | µg/g | µg/g | µg/g | µg/g | µg/g |
| Vol. | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

Estos reactivos están listos para usar. La frecuencia en la realización de la recta de calibración la debe establecer el usuario final en función de los criterios establecidos por el laboratorio clínico.

Nota: ver apartado control de calidad.

Procedimiento analítico

Rango de medida: 20 – 8000 µg hCp/g.

| Procedimiento | Pasos | |
|------------------|-----------------|-------|
| Adición R1 | 250 µL | 0 s |
| Adición Muestra | 5 µL | 10 s |
| Adición R2 | 30 µL | 300 s |
| Medida de blanco | 450 nm – 800 nm | 310 s |
| Medida principal | 450 nm – 800 nm | 610 s |

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki)

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El valor de corte o cut-off debe ser fijado por el laboratorio clínico. Valores de cut-off recomendados: 50 µg de hCp/g de heces para procedimientos de diagnóstico y 200 µg de hCp/g de heces para procedimientos de cribado/detección

Los valores superiores al cut-off, determinan una presencia anormal de calprotectina humana (hCp) en muestras de heces.

CONTROL DE CALIDAD

Calprotectin C1 & C2 Controls están listos para usar, Deben alcanzar temperature ambiente (15-30°C/59-86 °F) antes de utilizarse.

Calprotectin Control 1: es un control líquido a una determinada concentración de calprotectina humana recombinante (menor que Control 2). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

Calprotectin Control 2: es un control líquido a una determinada concentración de calprotectina humana recombinante (mayor que Control 1). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

El uso de controles a dos concentraciones distintas se recomienda para verificar la precisión del test.

Si los resultados obtenidos están fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el procedimiento, equipo, los reactivos y/o repetir la prueba. Si el problema persiste, dejar de utilizar los reactivos y contactar con su distribuidor.

LIMITACIONES

- **Vitassay Calprotectin -Turbidimetric Assay-** debería usarse únicamente para la detección de calprotectina humana en muestras de heces humanas.
- La calidad de la prueba **Vitassay Calprotectin -Turbidimetric Assay-** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestra.
- Los resultados positivos determinan la presencia de calprotectina humana en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorectal y algunas eneteropatías). Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas invasivas, la endoscopia y la biopsia para confirmar el diagnóstico, determinar la causa exacta y el origen de la calprotectina en heces.
- Si el resultado del ensayo es negativo y los síntomas clínicos o situación continúan, se recomienda realizar otro método de detección. Un resultado negativo no excluye de la presencia de inflamación, algunas enfermedades como la enfermedad celiaca y los pólipos microscópicos de colitis pueden presentar una inflamación mononuclear.
- Pacientes que sigan un tratamiento con anti-inflamatorios no esteroides (AINES) podrían dar resultados positivos.
- En neonatos se han descrito niveles más elevados de calprotectina fecal comparando los valores normales en niños. Nivel medio 167 µg/g (en un rango de 22-860µg/g).
- Todos los resultados deben ser interpretados junto con el resto de información clínica y otros resultados obtenidos en el laboratorio por un médico especialista.

VALORES ESPERADOS

Los valores de calprotectina por debajo de 50 µg/g no se consideran indicativos de inflamación intestinal. Valores entre 50-200 µg/g pueden ser representativos de enfermedades relacionadas con la inflamación intestinal. Pacientes que se encuentren en este rango deberán ser reevaluados y pueden ser susceptibles de análisis clínicos invasivos. Excepción de este rango son los niños lactantes cuyos valores de calprotectina son más elevadas que en los adultos sanos. Valores superiores a 200 µg/g son indicativos de un proceso inflamatorio activo, estos pacientes requerirán análisis clínicos adicionales.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica:

Límite de detección: 7 µg hCp/g.

Valor de cut-off para **Vitassay Calprotectina-Turbidimetric Assay-**: 50-200 µg hCp/g.

Valores de concentración de Calprotectina superiores a 200 µg de hCp/g son indicativos de una inflamación de tracto gastrointestinal.

Prozona:

Concentraciones inferiores a 8000 µg de hCp/g no muestran efecto prozona y no se observan resultados falsos negativos.

Precisión intra-análisis:

| | Baja (20 µg/g) | Media (80 µg/g) | Alta (250 µg/g) |
|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| N | 20 | 20 | 20 |
| Media (µg/g) | 22.1 | 84.3 | 258 |
| DS (µg/g) | 3.6 | 11.9 | 17.7 |
| CV (%) | 16 | 14 | 6 |

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki)

Reacciones cruzadas:








No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces:

| | | | |
|----------------------|---------|---------------------|---------|
| Hemoglobina Bovina | Ninguna | Lactoferrina Bovina | Ninguna |
| Hemoglobina Porcina | Ninguna | Hemoglobina Humana | Ninguna |
| Transferrina Bovina | Ninguna | Transferrina Humana | Ninguna |
| Transferrina Porcina | Ninguna | Lactoferrina Humana | Ninguna |

BIBLIOGRAFÍA

1. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. Gut. 2001 Sep;49(3):402-8.
2. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Gastroenterology. 2000 Jul;119(1):15-22.
3. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. Røseth AG, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N. Digestion. 1997;58(2):176-80.
4. Fecal calprotectin: a quantitative marker of colonic inflammation in children with inflammatory bowel disease. Fagerberg UL, Lööf L, Lindholm J, Hansson LO, Finkel Y. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007 Oct;45(4):414-20.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

| | | | |
|---|---|---|---------------------------|
| IVD | Producto para diagnóstico <i>in vitro</i> |  | Almacenar en lugar seco |
|  | Consultar las instrucciones de uso |  | Limitación de temperatura |
|  | Fecha de caducidad |  | Fabricante |
| LOT | Número de lote |  | Contiene <n> test |
| DIL | Diluyente de muestra | REF | Número de referencia |
|  | Manténgase fuera de la luz del sol | | |

EQUIPOS ADAPTADOS

- Biolis i24 (Tokio Boeki)
- BS200 (Mindray)
- Architect 4000/8000 (Abbott)
- Vitros 5600 (Ortho)
- ChemwellIT (Awareness)
- A15 (Biosystems)
- Cobas c501 (Roche)



Vitassay
For information purposes only

