

VITASSAY

Calprotectin -Turbidimetric Assay-

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

IU-7115002 Ed06 Abril 2024



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 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*.
- Es necesario que el usuario esté entrenado en técnicas turbidimétricas y en el uso de autoanalizadores.

- 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 (Tampón potenciador)▪ Reactivo R2 (Partículas de latex)▪ Calibrador 0▪ Calibrador 1▪ Calibrador 2▪ Calibrador 3▪ Calibrador 4▪ Calibrador 5▪ Control 1▪ Control 2	<ul style="list-style-type: none">▪ Recipiente para recogida de muestras.▪ Guantes desechables y equipamiento de laboratorio.▪ Vortex.▪ Analizador automático.▪ Microcentrifuga (10000g).

- Viales universales con diluyente para dilución de muestra.
- Instrucciones de uso.
- Tapones adicionales.

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 (15-30°C/59-86°F) 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 tapón del vial de toma de muestra (en sentido anti horario) sin retirar el separador azul y usar el palito de toma de muestra para recoger la cantidad suficiente (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 y girar repetidamente para que la muestra sea homogénea y asegurándose de que todas las ranuras están llenas de muestra (figura 2).
4. Eliminar el exceso de heces girando la varilla en la pared interna del recipiente.
5. Insertar el palito con la muestra en el vial a través del separador azul. Mientras cierra el tapón en sentido horario, mantenga sujeto el separador azul para evitar que se abra.
6. Agitar cada dispositivo (30-60 segundos), en un vortex para asegurar una buena dispersión del contenido (figura 3). Proceda al paso 7 si las ranuras no contienen muestra, de lo contrario repetir la agitación hasta un máximo de 120 segundos y proceder al paso 7 sin importar si hay alguna muestra residual en las ranuras. La muestra diluida en el vial puede ser almacenada en el frigorífico (2-8°C) hasta 7 días antes de realizar el ensayo y debe de llevarse a temperatura ambiente antes de ser analizada.
7. Centrifugar el vial durante 10 minutos a 1000-3000 x g con el fin de eliminar los posibles residuos de muestra. Alternativamente, puede dejar reposar el vial en posición vertical durante un mínimo de 15 minutos.
8. Coger el vial con la muestra diluida, quitar el tapón blanco y el separador azul (en sentido horario). La muestra fecal está lista

para ser analizada. Insertar el dispositivo abierto directamente en el analizador o transferir el sobrenadante a un dispositivo adaptado (no suministrado) (figura 4).

9. Cerrar el vial mediante el tapón de rosca adicionalmente suministrado (figura 4).

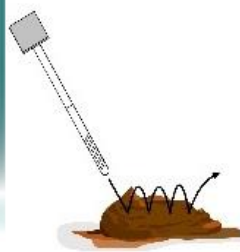
Nota: los viales de muestra no se deben usar directamente en el analizador.



Vial de dilución de muestra.



Sacar el palito girando la rosca del tapón (sentido antihorario).



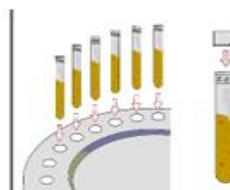
Toma de muestra en 4 zonas distintas.



Agitar en un vortex el vial de dilución de la muestra con diluyente+muestra. Centrifugar



Retirar el tapón blanco y el separador azul, girando en sentido horario.



Introducir los viales en el analizador. Después del análisis, cerrar el vial con el tapón adicional.

PROCEDIMIENTO

Reactivo R1 y Reactivo R2 están listos para usar.

Curva de calibración

Para la calibración utilizar únicamente 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 µg/g	50 µg/g	100 µg/g	250 µg/g	750 µg/g	1500 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 24i (Tokio Boeki)

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados positivos: Superior o igual al valor de corte o cut-off 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.

Resultados positivos determinan la presencia anormal de Calprotectina humana (hCp) en muestras de heces.

Valor de Cut-off **Vitassay Calprotectin-Turbidimetric Assay**:-

Valores de concentración de calprotectina menores a 50 µg de hCp/g de heces son considerados normales y no son indicativos de una inflamación de tracto gastrointestinal.

Valores de concentración de calprotectina entre 50 y 200 µg de hCp/g de heces no son consideradas como normales siendo indicativo de una leve inflamación del tracto gastrointestinal, por ello se recomienda la monitorización y el seguimiento del paciente.

Los valores superiores de calprotectina superiores a 200 µg de hCp/g de heces son considerados indicativos de una severa inflamación del tracto gastrointestinal.

CONTROL DE CALIDAD

Calprotectin C1 & C2 Controls están listos para usar.

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.

NOTA: El rango de valores de los controles del kit se encuentra indicado en las etiquetas de los tubos correspondientes, tanto para el Control 1 como para el Control 2. Para más información, solicite y consulte el certificado de análisis (no incluido).

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 enteropatías). 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.

Prozona:

Concentraciones inferiores a 25 mg 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	Hemoglobina Humana	Ninguna
Hemoglobina Porcina	Ninguna	Transferrina Humana	Ninguna
Transferrina Bovina	Ninguna	Lactoferrina Humana	Ninguna
Lactoferrina Bovina	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. Faecal calprotectin: a quantitative marker of colonic inflammation in children with inflammatory bowel disease. Fagerberg UL, Löf 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

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

EQUIPOS ADAPTADOS

- A15 (Biosystems)
- Advia 1800 (Siemens)
- Advia 2400(Siemens)
- Alinity (Abbot)
- Architect c1000/c4000/c8000 (Abbot)
- Atellica (Siemens)
- Au680 (Beckman Coulter)
- Biolis 24i/Biolis 50i (Tokio Boeki)
- BS200E/240 (Mindray)
- Chemwell-T (Awareness)
- Cobas c111 (Roche)
- Cobas c501 (Roche)
- Cobas c702 (Roche)
- Respons 910 (DiaSys)
- Vitros 5600 (Ortho)
- TC220 (Tecom)
- XL-180 & XL-200 (Erba)

