

VITASSAY

Calprotectin 50+200

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

IU-7455005 Ed00



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Vitassay Calprotectin 50+200 es un test rápido inmunocromatográfico, de un solo paso para la detección cualitativa de calprotectina humana en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad para la detección de calprotectina humana en heces. Utilizado para detectar una posible actividad inflamatoria intestinal, como control de la respuesta a un tratamiento, para detectar posibles recaídas y como control de posibles rechazos tras injertos o trasplantes del intestino delgado.

INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína eliminada por los neutrófilos en el intestino en caso de enfermedad inflamatoria intestinal. En los pacientes en los que se sospecha que pueden presentar la enfermedad inflamatoria intestinal, un resultado negativo frente a calprotectina indica una baja probabilidad de presentar la misma (alto valor predictivo negativo), mientras que un elevado nivel de calprotectina fecal necesitaría de posteriores investigaciones con endoscopia e histología. Un reciente meta-análisis calculó que una prueba del nivel de calprotectina puede reducir la necesidad de procedimientos endoscópicos en adultos con sospecha de presentar la enfermedad inflamatoria intestinal en más de un 67%.

PRINCIPIO

Vitassay Calprotectin 50+200 es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de calprotectina humana en muestras de heces humanas.

Tira A: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a calprotectina humana ($\geq 50\mu\text{g/g}$).

Tira B: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a calprotectina humana ($\geq 200\mu\text{g/g}$).

Durante el proceso, la muestra reacciona con los anticuerpos anti-calprotectina, formando conjugados. La muestra se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. Si la muestra es calprotectina humana positiva (concentración $\geq 50\mu\text{g/g}$), los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo en la tira A, y si la muestra es calprotectina positiva (concentración $\geq 200\mu\text{g/g}$), los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo en la tira B, los cuales fueron secados previamente en el

material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-calprotectina humana presentes en la membrana de la tira A (línea de test) y los anticuerpos anti-calprotectina humana presentes en la membrana de la tira B (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea **roja** aparecerá en ambas tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

La presencia de estas líneas **verde** (en la zona de control (C)) indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests 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 50+200**. 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.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 30°C (35.6 y 86°F) en su envase original sellado.

El test es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase primario.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.

No congelar.

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS
<ul style="list-style-type: none"> 25 tests/kit Vitassay Calprotectin 50+200 Instrucciones de uso. 25 viales con diluyente para dilución de muestra. 	<ul style="list-style-type: none"> Recipiente para recogida de muestras. Guantes desechables. Cronómetro.

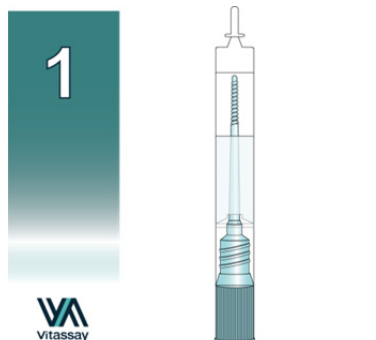
RECOGIDA DE MUESTRAS

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.

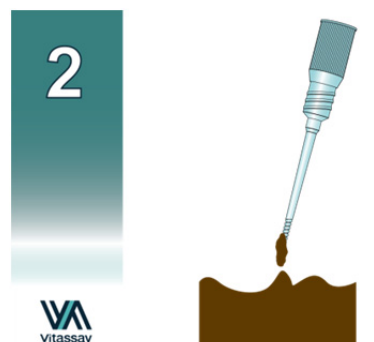
Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C / 35.6-46.4°F) como máximo 7 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 6 meses, debe congelarse a -20°C (-4°F). La muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

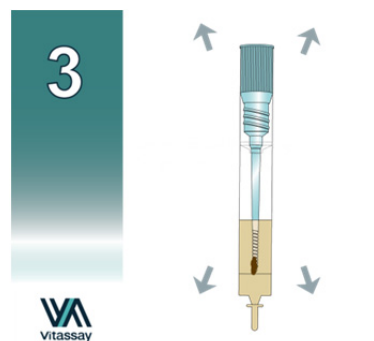
1. Abrir el vial con diluyente para dilución de la muestra (figura 1).
2. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas, para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (figura 2), el palo con la muestra tomada se introduce en el vial para dilución de muestra. Si la muestra es líquida, se añade aproximadamente 15µL en el vial de dilución de muestra utilizando una micropipeta.
3. Cerrar el vial con la muestra y el diluyente. Agitar vigorosamente para facilitar la dispersión de la muestra (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.



Vial de dilución de muestra.



Toma de muestra en 4 zonas distintas.



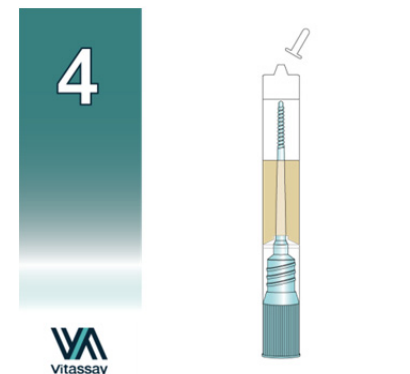
Poner la muestra dentro del vial, cerrar el vial y agitar.

PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba los test, muestras y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C / 59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el vial con la muestra para asegurar una buena dilución de la muestra.
2. Sacar **Vitassay Calprotectin 50+200** de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el vial con diluyente para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (figura 4) y dispensar 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra S para la tira A-Calprotectin 50 (figura 5) y otras 4 gotas, utilizando el mismo vial en la ventana circular marcada con la letra S para la tira B-Calprotectin 200 (figura 6).
4. Leer el resultado a los **10 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 10 minutos.

Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas, se debe agitar con el palito la muestra en la ventana. Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



Cortar la punta del tapón.

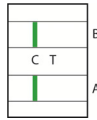
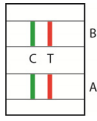




Dispersar 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra S para la tira B - Calprotectin 50.



Dispersar 4 gotas en la ventana circular marcada con la letra S para la tira B - Calprotectin 200.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	Tira A Calprotectin 50 (Concentración ≥ 50µg/g)	Tira B Calprotectin 200 (Concentración ≥ 200µg/g)	INTERPRETACIÓN
	NEGATIVO	NEGATIVO	No existe presencia de calprotectina humana en la muestra (o en concentración <50µg/g), puede significar que no hay inflamación gastrointestinal activa, ni riesgo de recidiva (de CD o UC), ni rechazo del injerto o del trasplante.
	POSITIVO	POSITIVO	Cierta cantidad del marcador calprotectin humana (≥200µg/g) está presente en la muestra del paciente: podría significar que hay una inflamación gastrointestinal activa, o un riesgo de recidiva en la recuperación, o un rechazo del injerto o del trasplante.
	POSITIVO	NEGATIVO	El marcador calprotectina está presente en la muestra del paciente (≥50µg/g y <200µg/g), podría significar una inflamación gastrointestinal activa.
	NEGATIVO	POSITIVO	Resultado inválido: Si B es positivo, A tiene que ser positivo también.

Cualquier otro resultado	Resultado inválido en A o en B, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. Nota: procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Si los síntomas o las situación persisten, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor local.
--------------------------	---

Observaciones: La intensidad de la línea de color rojo en la zona de línea de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Calprotectin 50+200**. La línea verde aparece como control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- No debe utilizarse **Vitassay Calprotectin 50+200** una vez abierto el envase primario y transcurridas 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea de test puede variar dependiendo de la concentración de calprotectina humana.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las humanas.
- La calidad de **Vitassay Calprotectin 50+200** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras.
- 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 el resultado con otras técnicas invasivas, la endoscopia y la biopsia para confirmar el diagnóstico y establecer el grado de inflamación.

- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de calprotectina en la muestra de heces sea inferior al valor de cut-off. Si los síntomas o la situación persisten, se debería repetir la prueba con técnicas invasivas. Los resultados negativos no excluyen de la presencia de inflamación, algunas enfermedades como la enfermedad celiaca y los pólipos microscópicos de colitis pueden presentar inflamación mononuclear.
- Pacientes que sigan un tratamiento con anti-inflamatorios no esteroideos (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 entre 22-860µg/g).
- Pacientes que presentan enfermedad inflamatoria intestinal lleva normalmente asociada una inflamación neutrófila del intestino, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, dando sus muestras de heces resultados positivos para calprotectina fecal.
- Vitassay Calprotectin 50+200** puede ser sensible para el diagnóstico en pacientes con diarrea crónica.

VALORES ESPERADOS

Varios estudios muestran que aproximadamente el 90 por ciento de los pacientes con cáncer colorrectal tienen incrementados los niveles de calprotectina. Esto significa que la detección de cáncer se ve facilitada a expensas de realizar endoscopia con resultados negativos.

La precisión del diagnóstico basado en el nivel de calprotectina podría hacer disminuir la necesidad de realizar una endoscopia hasta 3 veces en adultos y en un 35% en niños, lo que conlleva, además, una reducción de costes.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Valor de Cut-off

El valor de Cut-off para **Vitassay Calprotectin 50+200** es:

- Tira A: 500ng/mL (50µg hCp/g heces)
- Tira B: 2000ng/mL (200µg hCp/g heces)

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos por **Vitassay Calprotectin 50+200** y otro test comercializado de ELISA (Calprest®, Eurospital). Los resultados se muestran a continuación:

		Calprest®		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Calprotectin 50+200	Positivo	34	2	36
	Negativo	2	26	28
	Total	36	28	64

Vitassay Calprotectin 50+200 vs Calprest®			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>94%	93%	>94%	93%

Los resultados mostraron que **Vitassay Calprotectin 50+200** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar calprotectina humana.

Reacciones cruzadas

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

Hemoglobina bovina y de cerdo	Hemoglobina humana
Transferrina bovina y de cerdo	Transferrina humana
Lactoferrina bovina	Lactoferrina humana

BIBLIOGRAFÍA

1. DELPHINE LABAERE; ANNICK SMISMANS; AUGUST VAN OLMEN; PAUL CHRISTIAENS; GEERT D'HAENS; VEERLE MOONS; PIETER-JAN CUYLE; JOHAN FRANS; PETER BOSSUYT. "Comparison of six different calprotectin assays for the assessment of inflammatory bowel disease". United European Gastroenterology journal. 2014, Vol. 2(1), pp. 30-37.

2. ERLING AADLAND; MAGNE K. FAGERHOL. "Fecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract". European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2002, 14: 823-825.

3. JOSÉ MANUEL BENITEZ; VALLE GARCÍA-SÁNCHEZ. "Faecal calprotectin: Management in inflammatory bowel disease". World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology. 2015 November 15; 6(4): 203-209.

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

