

Quantitative determination of calprotectin in feces IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Calprotectin-Turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of human calprotectin in feces.

Latex particles coated with specific anti-human calprotectin are agglutinated when mixed with samples containing calprotectin. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the calprotectin contents in the sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known calprotectin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

 Inflammatory Bowel Disease (IBD) includes Crohn's disease and ulcerative colitis. There is an overlap in symptoms between IBD and Irritable Bowel Syndrome (IBS). Calprotectin-turbilatex allows to rule out IBD in patients under suspicion of IBS. Moreover, it is useful to monitor treatment in patients with IBD ^{1,2,3,4}.

REAGENTS

Diluent (R1)	Buffered solution. Preservative.
Latex (R2)	Latex particles coated with polyclonal IgY antibody anti-human calprotectin. Preservative.
Related products	Control L and Control H Ref.: 1107093 Calprotectin Calibrator Ref.: 1107092 Sample collection tubes Ref.: 1107195

PRECAUTIONS

R1 and R2: H317 - May cause an allergic skin reaction. Contains 2-Methylisothiazol-3(2H)-one (Proclin 950). Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

Contains products of animal origin. Handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

Use Calprotectin Calibrator Ref. 1107092. Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

Mix the R2 reagent gently before use. The calibrators and controls are ready to be used. The concentrations of calibrators and controls are indicated on the vial label.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Reagents should not be left inside the analyzer after use, they must be stored refrigerated at 2-8°C. Latex may sediment. Mix reagents gently before use. Do not use reagents over the expiration date. Do not freeze. Reagent deterioration: presence of particles (R1, R2) and turbidity (R1).

Calibrators/controls stability: stable until the expiration date indicated on the vial label when the vial is kept tightly closed at 2-8°C.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- MINDRAY BS-120 / BS-200E autoanalyzer.
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Use only Spinreact's sample collection tube (ref. 1107195, 1x100 tubes), following the instructions included in the package. Store the collection tube with fecal samples at 2-30°C during no more than 28 days.

REFERENCE VALUES

 Each laboratory should determine its own normal reference value. A value <50ug/g might be considered negative, between 50 and 100ug/g weakly positive, and >100ug/g highly positive ³.

QUALITY CONTROL

Control solutions are recommended to monitor the performance of assay procedures (Control L and Control H). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

INTERFERENCES

 No significant interferences were detected with bilirubin (<0,05mg/dL), hemoglobin (<20mg/dL), Intralipid (<100mg/dL), ascorbic acid (<10mg/dL), BaSO₄ (<5mg/dL), azathioprine (<0,7mg/dL), mesalazine (<100mg/dL), prednisolone (<1,5mg/dL).

MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION

<u>PARAMETERS</u>			
Test	CALPRO	R1	180
No.	**	R2	60
Full Name	CALPRO	Sample volume	6
Standard No.	6	R1 Blank	
Reac. Type	Fixed Time	Mixed Rgt Blank	
Pri. Wavelength	510/505 nm	Linearity Range	*
Sec. Wavelength		Linearity Limit	*
Direction	Increase	Substrate Limit	*
Reac. Time	1 13	Factor	
Incuba. Time		Prozone check	*
Unit	ug/g	q1	q2
Precision	0.01	q3	q4
		PC	Abs
<u>CALIBRATION (Cal + Rgt Blk)</u>			
Rule	Spline		
Sensitivity	1		
Replicates	2		
Interval (days)	0		
Difference Limit			
SD			
Blank Response			
Error Limit			
Correlation Coefficient			

With this parameter the blank must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The calibration is stable until 30 days. After this period a new calibration must be performed.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Linearity limit:** A linearity limit of 2000ug/g was validated, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/5 in sample buffer (obtained by emptying new collection tubes) and re-tested. The linearity limit depends on the sample/reagent ratio and the analyzer used.
- Quantification limit:** Values < 18ug/g may give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 3500 ug/g.
- Precision:** Ten replicates of two levels were obtained in two different days:

	% CV (n=20)	
	53 ug/g	201 ug/g
Intra-assay	5,9%	2,2%
Inter-assay	5,7%	4,8%

- Accuracy:** 150 fecal samples were tested comparing with Liaison-calprotectin. The regression curve is fitted to the lineal equation $y = 0,703x + 18,4$ with a regression coefficient $r = 0,815$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

NOTES

 Calprotectin levels in pediatric patients are normally higher. The cutoff of 212ug/g was proposed ⁵.

The clinical diagnosis should not be based on a single test result; the complete medical history of the patient should be taken into consideration.

BIBLIOGRAPHY

- von Roon AC. et al., Diagnostic precision of fecal calprotectin for IBD and colorectal malignancy. Am. J. Gastroenterol 2007.
- van Rheenen PF et al., Fecal calprotectin for screening of patients with suspected IBD: diagnostic metanalysis, BMJ 2010.
- D'Angelo F et al., Calprotectin in daily practice: where do we stand in 2017. Digestion, 2017.
- Sipponen T et al., Fecal Calprotectin in diagnosis and clinical assessment of IBD, Scand. J. Gastroenterol., 2015.
- Degrauwe P.L.J. et al., Faecal calprotectin in suspected paediatric IBD. Gastroenterology, 2015.

PACKAGING

Ref: M1107090	Cont.	R1: 2 x 15 mL
		R2: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de calprotectina en heces IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Calprotectina-Turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de calprotectina humana en heces. Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-calprotectina humana son aglutinadas por calprotectina presente en la muestra. La aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de calprotectina de la muestra, que se puede cuantificar por comparación frente a un calibrador con concentración de calprotectina conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) incluye la enfermedad de Crohn y la Colitis ulcerosa. Existe un solapamiento significativo de los síntomas entre EII y el Síndrome del Intestino Irritable (SII). Calprotectina-turbilátex permite descartar EII en pacientes con sospecha de SII. Además, permite monitorizar el tratamiento en pacientes con EII ^{1,2,3,4}.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Solución tamponada. Conservante.	
Látex (R2)	Partículas de látex recubiertas con anticuerpo policlonal IgY anti-calprotectina humana. Conservante.	
Productos relacionados	Control L and Control H	Ref: 1107093
	Calibrador Calprotectina	Ref: 1107092
	Tubos recolección muestra	Ref: 1107195

PRECAUCIONES

R1 y R2: H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Contienen 2-Metilisotiazol-3(2H)-ona (Proclin 950). Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

Contiene productos de origen animal. Manipular con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

Usar el Calibrador Calprotectina Ref. 1107092. Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

PREPARACIÓN

Mezclar suavemente el reactivo R2 antes de su uso. Los calibradores y controles están listos para ser usados. Las concentraciones de calibradores y controles están indicadas en la etiqueta del vial.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No deben dejarse los reactivos dentro del analizador después de su uso; conservar refrigerados a 2-8°C. El látex puede sedimentar. Agitar suavemente los reactivos antes de usar. No usar reactivos fuera de la fecha indicada. No congelar el reactivo. Indicadores de deterioro de los reactivos: presencia de partículas (R1, R2) y turbidez (R1).

Estabilidad de calibradores/controles: son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial cuando se mantiene el vial bien cerrado a 2-8°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Para la recolección de muestras utilizar el tubo de recolección de muestras (ref. 1107195, 1x100 tubos), siguiendo las instrucciones de la metódica incluida en el kit. Almacenar el tubo de muestras de heces a 2-30°C por un periodo máximo de 28 días desde su recolección.

VALORES DE REFERENCIA

Es recomendable que cada laboratorio establezca su propio valor normal de referencia. Un valor de <50ug/g puede considerarse negativo para EII; 50-100ug/g positivo débil; >100ug/g altamente positivo³.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras soluciones control valoradas (Control L y Control H). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

INTERFERENCIAS

No se han detectado interferencias significativas por bilirrubina (<0,05mg/dL), hemoglobina (<20mg/dL), Intralipid (<100mg/dL), ácido ascórbico (<10mg/dL), BaSO₄ (<5mg/dL), azatioprina (<0,7mg/dL), mesalazina (<100mg/dL), prednisolona (<1,5mg/dL).

APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E

PARAMETROS

Nombre Abrev	CALPRO	R1	180
Numero	**	R2	60
Nombre	CALPRO	Volúmen muestra	6
Num standard	6	Blanco R1	
Modo	Tiempo Fijo	Blanco mezcla reactivo	
Long onda primaria	510/505 nm	Rango linealidad	*
Long onda secund		Límite linealidad	*
Dirección	Aumentar	Límite sustrato	*
Tiempo reacción	1 13	Factor	
Tiempo incubación		Efecto prozona	*
Unidades	ug/g	q1	q2
Precisión	0.01	q3	q4
		PC	Abs

CALIBRACIÓN (Cal + BI reactivo)

Tipo curva	Spline
Sensibilidad	1
Replicados	2
Intervalos (días)	0
Límite aceptación	
SD	
Respuesta del blanco	
Error Límite	
Coefficiente correlación	

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La calibración es estable hasta **30 días**. Pasado este período es necesario recalibrar de nuevo.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Límite de linealidad:** Se ha validado un límite de linealidad de 2000 ug/g en las condiciones descritas del ensayo. Muestras con concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en tampón de muestras (vaciar de tubos de recolección nuevos) y ensayarse de nuevo. La linealidad puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado, así como de la relación muestra/reactivo.
- Límite de cuantificación:** Valores < 18ug/g pueden dar lugar a resultados poco reproducibles.
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 3500 ug/g.
- Precisión:** Se analizan dos niveles de calprotectina en dos días distintos, haciendo diez replicados cada día:

	% CV (n=20)	
	53 ug/g	201 ug/g
Intra-series	5,9%	2,2%
Inter-series	5,7%	4,8%

- Exactitud:** Se analizaron 150 muestras fecales comparando con Liaison-Calprotectin. La curva de regresión se ajusta a la ecuación lineal $y = 0,703x + 18,4$ con un coeficiente regresión $r = 0,815$.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

Los niveles de calprotectina en pacientes pediátricos son más elevados, proponiéndose un nivel cutoff de 212ug/g⁵.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que deben considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

- von Roon AC. et al., Diagnostic precision of fecal calprotectin for IBD and colorectal malignancy. Am. J. Gastroenterol 2007.
- van Rheeën PF et al., Fecal calprotectin for screening of patients with suspected IBD: diagnostic metanalysis, BMJ 2010.
- D'Angelo F et al., Calprotectin in daily practice: where do we stand in 2017. Digestion, 2017.
- Sipponen T et al., Fecal Calprotectin in diagnosis and clinical assessment of IBD, Scand. J. Gastroenterol., 2015.
- Degrauwe P.L.J. et al., Fecal calprotectin in suspected paediatric IBD. Gastroenterology, 2015.

PRESENTACION

Ref: MI1107090	Cont.	R1: 2 x 15 mL
		R2: 1 x 10 mL