

PRUEBA RÁPIDA DE CALPROTECTINA

(heces)
CPH 0525/01
REF DMCAL01

Uso deseado

La prueba rápida de Calprotectina (heces) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de calprotectina en muestras de heces.

Resumen

La calprotectina es una proteína fijadora de zinc y calcio que se encuentra ampliamente distribuida en el organismo [1] pertenece a la familia S100 [2]. Es liberada en fases muy precoces del proceso inflamatorio y su concentración en las heces es directamente proporcional a la presencia de neutrófilos en la luz intestinal [3]. La calprotectina inhibe sistemas de enzimas dependientes de zinc, como resultado, mata microbios e induce la apoptosis en células normales y cancerosas. En presencia de calcio, la calprotectina es significativamente resistente a la degradación proteolítica y así es estable en las heces a temperatura ambiente durante siete días [4]. La calprotectina fecal es un buen marcador de inflamación intestinal con una alta sensibilidad y especificidad [5].

Principio

La prueba rápida de Calprotectina para la detección cualitativa de Calprotectina en muestras de heces es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impreso anticuerpos monoclonales anti-Calprotectina y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-Calprotectina. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de calprotectina por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de calprotectina mayores al límite de detección se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado partículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-Calprotectina, así como anticuerpos de captura anti-Calprotectina y anticuerpos anti-ratón impresos sobre la membrana

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Tubo colector con solución de corrimiento
- Instructivo de uso
- Gotero

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Contenedor para recolección de muestras

Recolección de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces (equivalente al tamaño de una nuez) en un contenedor de recolección de muestras que esté estéril y seco.
Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra dentro de las 6 horas posteriores a su recolección.

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Almacenar la muestra por un máximo de 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben almacenarse por debajo de los -20 °C.

- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

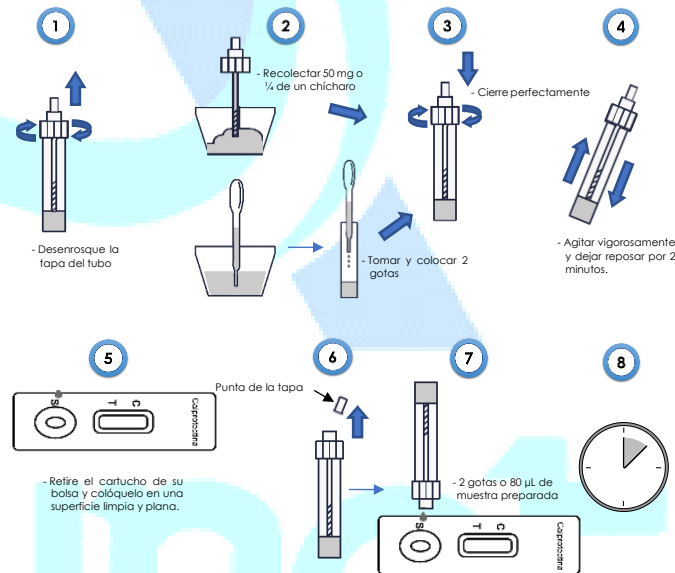
Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Siga los pasos que se describen a continuación:

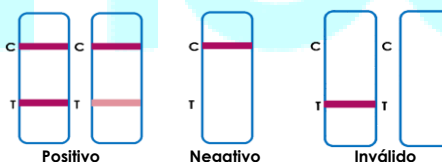
- 1) Tome el tubo colector y desenrosque la tapa.
- 2) Realice en función de la disponibilidad del tipo de muestra.
2.1 Para muestras sólidas:
Pinche la muestra con el aplicador del tubo colector de forma aleatoria al menos 3 veces en sitios diferentes hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharro).
2.2 Para muestras líquidas:
Con Ayuda de un gotero recolecte 2 gotas de muestra (aproximadamente 80 µL) y transfíralas al tubo colector.
- 3) Una vez colocada la muestra en el tubo, ciérrelo perfectamente.
- 4) Proceda a agitar el tubo vigorosamente y después déjelo reposar por 2 minutos.
- 5) Retire una prueba de la bolsa sellada y utilícela inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada.
- 6) Desenrosque la punta de la tapa del tubo preparado.
- 7) Coloque 3 gotas (aproximadamente 120 µL) en el pozo 'S' del cartucho.
- 8) Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 10 minutos. No interprete el resultado después de los 20 minutos.

Nota 1: Evite generar burbujas a la hora de depositar la muestra.

Nota 2: En caso de que las partículas no permitan una correcta migración, centrifugue la muestra preparada (muestra con reactivo de corrimiento) y repita este paso directamente colocando las 2 gotas.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región T.
Nota: La intensidad del color de la línea en la región T puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región C. No aparece ninguna línea de color en la región T.

INVÁLIDO: La línea de la región C no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

1. La prueba rápida de Calprotectina es solo para uso profesional *in vitro*.
2. Esta prueba debe usarse para la detección cualitativa de calprotectina en muestras de heces humanas. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de calprotectina se puede determinar mediante esta prueba cualitativa.
3. La prueba rápida de Calprotectina solo indicará la presencia de esta proteína en la muestra y no debe usarse como único criterio para el diagnóstico.
4. Al igual que con todas las pruebas de laboratorio, los resultados deben considerarse con información clínica disponible para el médico.
5. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.

Valores esperados

La prueba rápida de Calprotectina para la detección cualitativa de calprotectina en muestras de heces fue comparada con una prueba comercial líder de calprotectina, se obtuvo una precisión global de 98.50%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida de Calprotectina para procesar un total de 200 muestras, fue comparada con una prueba comercial líder usando muestras clínicas, los resultados obtenidos se presentan a continuación

Método	Prueba comercial		Resultados totales	
	Positivo	Negativo		
Prueba rápida Calprotectina	Positivo	2	135	
	Negativo	3	201	
Resultados totales		65	136	200

Sensibilidad: 97.80% (IC: 93.70% - 99.50%)
Especificidad: 99.00% (IC: 96.40% - 99.99%)
Precisión: 98.50% (IC: 96.60% - 99.50%)
IC: Intervalo de confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada realizando 15 réplicas con las siguientes concentraciones utilizando heces como muestra: 140 ng/mL, 500 ng/mL y 10 µg/mL. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 15 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días con las mismas concentraciones: 140 ng/mL, 500 ng/mL y 10 µg/mL utilizando heces como muestra. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

Se analizaron muestras enriquecidas con las sustancias indicadas en la siguiente tabla con la prueba rápida de Calprotectina (heces), ninguna presentó interferencia.

- Ácido ascórbico (20 mg/dL)
- Ácido gálico (20 mg/dL)
- Ácido oxálico (600 mg/dL)
- Cafeína (20 mg/dL)
- Aspirina (20 mg/dL)
- Bilirrubina (100 mg/dL)

Reactividad cruzada

Se han analizado muestras positivas a algunos elementos que también podrían encontrarse en la muestra con la prueba rápida de Calprotectina (heces), ninguno de los elementos indicados en la siguiente tabla presentó reactividad cruzada:

- Rotavirus
- Adenovirus
- Campylobacter coli/jejuni
- Clostridium difficile
- Cryptosporidium
- Entamoeba histolytica
- Escherichia coli O111
- Escherichia coli O157
- Giardia
- Helicobacter pylori
- Listeria monocytogenes
- Salmonella enteritidis
- Salmonella typhi
- Shigella Flexneri
- Yersinia Enterocolitica

Referencias

- [1]. Valenzuela, J., Alberca, F., & Carballo, F. (2018). Calprotectina fecal como predictor de lesiones inflamatorias en intestino delgado diagnosticadas con capsula endoscópica. Scielo: https://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n4/es_original3.pdf
- [2]. Covarubias, N., Madrid, A., Rojas, R., & Gompertz, M. (2018). Calprotectina fecal: utilidad en el diagnóstico diferencial de enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome intestinal irritable en adultos. Revista hospital clínico universal Chile.
- [3]. boditech, B. (Junio de 2018). Ichromas . Obtenido de https://desego.com/wp-content/uploads/2019/05/calprotectina.pdf?srsltid=AfmBOoo6hN_nslAN8KikrcFWpGXawJGjoOlgK-tz2fX2Raaz20vYSX
- [4]. Caro, M., Alsius, M., & Claramonte, P. (2022). Utilidad de la calprotectina fecal como marcador de enfermedad intestinal . Farmaceuticos : <https://www.farmaceuticos.com/wp-content/uploads/2023/01/2022-documento-tecnico-Enfermedad-Inflamatoria-Intestinal-Calprotectina.pdf>

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		