



Calprotectin TURBILATEX[®] Combo

Calprotectin latex turbidimetric assay

Cat. TL-022CP100ED, TL-022CP200ED, TL-022CP400ED, TL-022CP800ED

IU-TL – 022CP100ED-200ED-400ED-800ED en-es v.08

CONTENT/CONTENIDO

ENGLISH	4
Intended use.....	4
Synthesis	4
Principle	4
Precautions.....	5
Storage and stability	6
Reagents	6
Materials provided	6
Materials and instruments that could be required but no provided.....	6
Specimen collection and preparation.....	7
Analytical procedure.....	7
Quality control	8
Interpretation of results	8
Performance characteristics.....	9
Analytical sensitivity	9
Measuring range	9
Prozone	9
Clinical sensitivity and specificity.....	9
Interferences	10
Cross reactivity.....	10
Precision	10
Linearity	10
Limitations	11
Expected values.....	11
ESPAÑOL.....	13
Uso previsto	13
Introducción.....	13
Fundamento de la prueba	14
Precauciones.....	14
Condiciones de almacenamiento y estabilidad.....	16
Reactivos.....	16
Materiales suministrados.....	16
Materiales y equipos que podrían ser necesarios pero no suministrados.....	16
Toma de muestras y su preparación.....	16
Procedimiento analítico.....	17
Control de calidad.....	17
Interpretación de resultados.....	18
Características de la prueba.....	19

Sensibilidad analítica.....	19
Rango de medición.....	19
Prozona.....	19
Sensibilidad y especificidad clínica.....	19
Interferencias.....	20
Reactividad cruzada.....	20
Precisión.....	20
Linealidad.....	20
Limitaciones.....	21
Valores esperados.....	22
ENGLISH/ESPAÑOL	23
References/bibliografía.....	23
Symbols for ivd components and reagents/Símbolos para reactivos y productos para diagnóstico <i>in vitro</i>	24
ANNEX COMPATIBILITY OF THE MOST COMMON TURBIDIMETRY EQUIPMENT/	25
ANEXO DE COMPATIBILIDAD CON LOS EQUIPOS MÁS COMUNES DE TURBIDIMETRÍA.....	25
Change control/Control de cambios.....	26

ENGLISH

INTENDED USE

Calprotectin Turbilatex® is a latex turbidimetric assay **only for the quantitative detection of calprotectin in human stool samples** (not to be used for body fluid as blood, serum, plasma, urine, cerebrospinal fluid, oral fluid, synovial fluid or empyema fluid).

This assay is simple and widely applicable. This product is optimized for several automated analyser.

For professional *in vitro* diagnostic use only.

SYNTHESIS

Calprotectin is a surrogate marker of neutrophil turnover and is elevated in various inflammatory conditions. It has been studied in numerous infectious and inflammatory diseases, especially in gastroenterology, where it is elevated in several gastrointestinal conditions. Calprotectin is detectable in stool and is highly resistant to proteolytic degradation in the presence of calcium, making its measurement in stool samples useful for providing diagnostic and prognostic information for various common organic diseases (1). Studies have shown that faecal calprotectin levels correlate with colorectal and intestinal inflammation (2), and it is considered a useful marker for inflammatory bowel disease (IBD) (3).

IBD refers to a group of gastrointestinal inflammatory diseases, with Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) being the main types (4). As these are inflammatory disorders, a neutrophil-derived protein like calprotectin can be valuable for diagnosis and monitoring (1). Both CD and UC are characterized by periods of remission and episodes of relapse, often caused by acute intestinal inflammation (5), leading to symptoms like diarrhoea, abdominal pain, and rectal bleeding (4). However, most patients with such symptoms have irritable bowel syndrome (IBS) rather than IBD, with IBS showing normal colonoscopy results (4). Calprotectin detection can reduce the need for invasive colonoscopies (4).

PRINCIPLE

Calprotectin Turbilatex® Combo is a latex turbidimetric assay **only for the quantitative detection of Calprotectin in human stool samples**. This assay is simple, widely applicable and test results are obtained in a very short time.

The intended use of the test is **exclusively to differentiate IBD patients with inflammation from IBD patients without inflammation and from irritable bowel syndrome (IBS)**.

Calprotectin latex turbidimetric assay is based on agglutination reactions. These involve *in vitro* aggregation of microscopic latex particles. This aggregation consists in the specific

reaction between antigen and antibodies, antigen contained in the sample and the antibodies anti-antigen coated on polystyrene latex particles. The sample is mixed with a suspension containing antibodies against the antigen bound to latex particles. If antigen is present in the sample, it will react with the antibodies and form an aggregate. If no antigen is present in the sample the mixture will keep its appearance as a smooth suspension. Such turbidity is measured as an increase in absorbance at determinate wavelength and is proportional to the quantity of antigen contained in the sample.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- The product is intended for use by qualified and trained clinical laboratory personnel specifically instructed and trained in Turbidimetric technique, autoanalyzer use and *in vitro* diagnostic procedures.
- The analyser should be ready before performing any assay.
- Read the instructions for use carefully before use the kit.
- Do not use after expiration date.
- Do not use the reagents if pack is damaged or opened.
- Do not freeze to maintain the integrity and performance of the test.
- Do not mix screw caps from different reagent vials.
- Components provided in the kit are approved for use in **Calprotectin Turbilatex® Combo**. Do not mix or use with components from other product kit or lots. Do not use with other commercial kit components (from another supplier). The test's satisfactory performance is ensured only when components from the same lot of **Calprotectin Turbilatex® Combo** are used.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous as well as all the materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the local or national safety regulations. Must be handled in the same manner as an infectious agent. Use proper infection control practices. These practices should include, but are not limited to, personal protective equipment (PPE), such as laboratory coat, surgical or appropriate mask, or face shield, disposable gloves, and eye protection. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, handling, and disposal of the samples.
- **Calprotectin Turbilatex® Combo** do not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) or which

are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their declaration. Material Safety Data Sheet are not included with this device, nevertheless it could be consulted upon request to Certest Biotec.

- **Calprotectin Turbilatex® Combo** has been validated with the analyser Biolis from Tokyo Boeki. For different analysers, Calprotectin should be measured according to the specific application parameters for each specific chemistry analyzer. More information about the application notes available can be found on our website.
- Homogenise the reagents before use, make sure that the reagents are free of bubbles.
- Evaporation of calibrators and controls can lead to incorrect results. Follow the storage recommendations detailed in the following section.
- If the values obtained for the controls are not valid, repeat the quality control measurement with new controls. If the control values are still invalid, recalibrate the equipment.
- If the result exceeds the measurement range, use the sample diluent to dilute the sample and repeat the assay again.
- The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.

STORAGE AND STABILITY

Kit components must be stored at refrigerated temperature (2-8°C). **Do not freeze.**

Reagents are stable up to the expiration date printed on the label, always considering that reagent containers must be properly closed to avoid any contamination, kept away from the sunlight and conserved at 2-8°C.

REAGENTS

Materials provided

<u>References</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022CP100ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022CP200ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022CP400ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022CP800ED</u>
- TL-022CP01 Calprotectin Turbilatex® Reagent 1	1x27mL	2 x 27mL	4 x 27mL	8 x 27mL
- TL-022CP02 Calprotectin Turbilatex® Reagent 2	1 x 5mL	1 x 8mL	2 x 8mL	4 x 8mL
- TL-022CP70/ TL-022CP71/ TL-022CP72- TL-022CP73/ TL-022CP74/ TL-022CP75 Calprotectin Turbilatex® Calibrators		6 x 1mL		
- TL-022CP08/ TL-022CP09 Calprotectin Turbilatex® Control 1&2		4 x 1mL		

Materials and instruments that could be required but no provided

- Specimen collection container.
- Disposable gloves and laboratory equipment.

- Automated analyser.
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect enough quantity of human solid stool samples. These samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 7 days prior to testing. If not immediately tested, freeze the stored samples at -20 °C maximum 6 months. In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature (15-30°C) before testing. Homogenize stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

To process the collected stool samples using catalogue reference MST-0019U follow the indication of the instruction for use of the product.

ANALYTICAL PROCEDURE

R1 and R2 are ready to use.

Preparation of the calibration curve

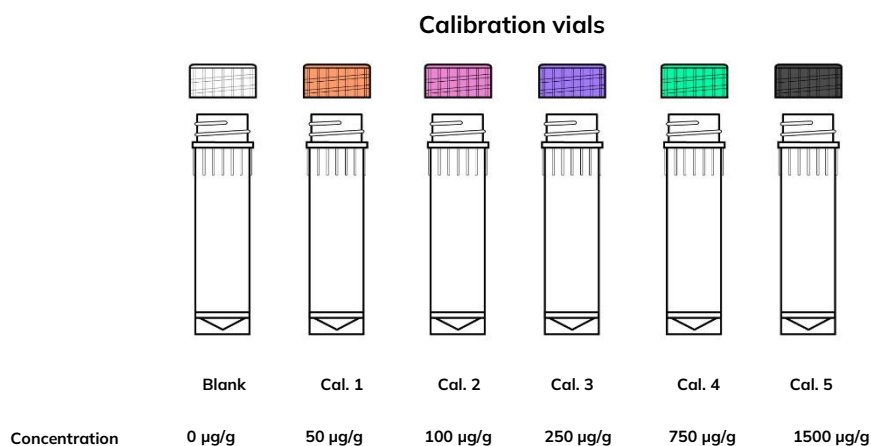
For calibration use only the following materials:

TL-022CP70, TL-022CP71, TL-022CP72, TL-022CP73, TL-022CP74 and TL-022CP75, Calprotectin Turbilatex® Calibrator vials: liquid calibrator containing recombinant human calprotectin at different concentrations.

Concentration is indicated on the label of each vial.

Calibrate the system at least once a month is extremely recommended. Recalibrate the system when reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range given on the control label or certificate of analysis provided with the kit.

Calprotectin Turbilatex® Calibrator vials (calibrator 0 to 5) are ready to use.



Picture 1. Prepared calibrators for performing the calibration curve (5 points and blank)

Quality control

For quality control only use the following materials:

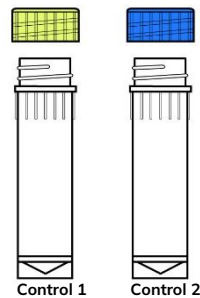
TL-022CP08 Calprotectin Turbilatex® Control 1 and TL-022CP09 Calprotectin Turbilatex® Control 2: liquid controls at two different concentrations of recombinant human calprotectin. Concentration is indicated on the label of the vial. The use of control materials at two different concentrations is recommended in order to verify test precision.

Controls should be assayed every day before running patient faecal samples extract to validate the calibration curve.

If the obtained results are out of the tolerance range, the equipment, the reagents or the technique must be reviewed.

Calprotectin Turbilatex® Control vials (Control 1 and Control 2) are ready to use.

Control vials



Picture 2. Prepared controls C1 and C2 (check control concentration on the label)

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive results: higher or equal than the cut-off fixed by the clinical lab.

Recommended: 50 µg of hCp/g of stool for diagnostic procedures and 200 µg of hCp/g of stool for screening procedures.

Positive results determine the abnormal presence of human Calprotectin (hCp) in stool samples.

Calprotectin Turbilatex® Combo cut-off value:

Calprotectin concentration values lower than 50 µg of hCp/g of stool are considered normal values and that is not indicative of an inflammation of gastrointestinal tract.

Calprotectin concentration values between 50 and 200 µg hCp/g of stool are considered as an abnormal presence being indicative of mild inflammation of gastrointestinal tract, therefore monitoring and follow-up of the patient is recommended.

Calprotectin concentration values higher than 200 µg of hCp/g of stool are indicative of a severe inflammation of gastrointestinal tract.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Limit of detection (LOD): 7 µg hCp/g of stool. The lower limit of detection of **Calprotectin Turbilatex® Combo** was determined on 20 samples and 2 sample replicates as the mean value +2· SD.

Limit of quantification (LOQ): 20 µg hCp/g of stool. The lower limit of quantification is defined as the lowest actual amount of analysis that can be reliably detected; imprecision is < 20% as CV%.

Measuring range

Calprotectin Turbilatex® Combo assay measuring range is 20-3125 µg hCp/g of stool. Samples higher concentrated than 1500 µg hCp/g of stool must be diluted for proper quantification by the user, using additional sample buffer.

Prozone

Studies have been made up to a concentration of 25000 µg of hCp/g of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Samples with concentrations up to 3125 µg of hCp/g can be measured without inhibitory prozone effect.

Clinical sensitivity and specificity

The following tables provide information about the evaluations **Calprotectin Turbilatex® Combo**, has undergone with a cut-off of 50 µg of hCp/g of stool:

N°	Evaluated test	Sample type
1	Calprest ELISA, Eurospital	Human stool samples
2	Calprest ELISA, Eurospital	Human stool samples
3	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Human stool samples
4	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Human stool samples

Table 1 Resume of Clinical evaluations. Test and sample type.

N°	TP	FP	FN	TN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	PPV (%) CI (%)	NPV (%) CI (%)	LR+ CI	LR- CI
1	16	0	1	38	55	94.1 (71.3-99.9)	100.0 (79.4-100.0)	100.0 (90.7-100.0)	97.4 (96.5-99.9)	71.50 (4.58-1127)	0.084 (0.018-0.391)
2	42	6	0	52	100	100.0 (91.6-100.0)	89.7 (78.8-96.1)	87.5 (74.8-95.3)	100.0 (93.2-100.0)	8.97 (4.341-18.54)	0.013 (0.001-0.206)
3	51	7	3	39	100	94.4 (84.6-98.8)	84.8 (71.1-93.7)	87.9 (76.7-95.0)	92.9 (80.5-98.5)	6.206 (3.128-12.31)	0.066 (0.022-0.198)
4	42	5	1	62	110	97.7 (87.7-99.9)	92.5 (83.4-97.5)	89.4 (76.9-96.5)	98.4 (91.5-100.0)	13.09 (5.63-30.45)	0.025 (0.004-0.175)
Total	151	18	5	191	365	96.8 (92.7-99.0)	91.4 (86.7-94.8)	89.3 (83.7-93.6)	97.4 (94.1-99.2)	11.24 (7.22-17.49)	0.035 (0.015-0.083)

Table 2 Clinical evaluations and global results. True positive (TP), false positive (FP), false negative (FN), true negative values (TN), and total samples (N). Sensitivity (Sens), specificity (Spec), Predictive Positive Values (PPV), Predictive Negative Values (NPV), 95% interval of confidence (CI), Likelihood positive ratio (LR+), Likelihood negative ratio (LR-) for *Calprotectin Turbilatex® Combo*.

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human calprotectin (hCp) using *Calprotectin Turbilatex® Combo*.

Interferences

An evaluation was performed to determine the interferences of *Calprotectin Turbilatex® Combo*. No interferences were founded against other substances tested: BSA, Hemin, Ascorbic acid.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity; no cross reactivity was founded against other faecal markers occasionally present in faeces, such as: bovine and pig haemoglobin, bovine transferrin, bovine lactoferrin and human haemoglobin, transferrin and lactoferrin.

Precision

An evaluation was performed to determine the accuracy of *Calprotectin Turbilatex® Combo*. *Calprotectin Turbilatex® Combo* shows high in its reproducibility results on known concentration of calprotectin.

Linearity

Calprotectin Turbilatex® Combo using calibrator kit is linear in the calibration range of 36-1500 µg hCp/g of stool.

The analytical performance of *Calprotectin Turbilatex® Combo* has been validated using the Tokyo Boeki Biolis 24i analyser. For more information about other compatible equipment,

please refer to the corresponding application. The different turbidimetric equipment with which our turbidimetric products are compatible can be found in **Annex I**.

LIMITATIONS

1. **Calprotectin Turbilatex® Combo** should **only be used in human stool samples (not to be used for body fluid such as blood, serum, plasma, urine, cerebrospinal fluid, oral fluid, synovial fluid or empyema fluid)**. The use of other samples has not been established. Proper faecal specimens must be obtained.
2. Positive results determine the presence of hCp in faecal samples. A positive result should be followed up with additional diagnostic invasive procedures, a colonoscopy and a biopsy in order to confirm the diagnosis and to establish the inflammation extent.
3. If symptoms or situation still persist, calprotectin determination should be carried out invasive techniques. Negative results do not exclude IBD with inflammation, some diseases such as celiac sprue and microscopic colitis polyps that mainly involve mononuclear inflammation (6,7).
4. Stool samples from patients with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) treatment could show positive result (7).
5. Neonatal faecal calprotectin levels have been reported higher than those in normal children with a mean of 167 µg/g (range 22-860 µg/g) (8).
6. Patients with agranulocytosis may produce false-negative results due to low neutrophil production in the bone marrow, which affects calprotectin detection (9).
7. Patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD) transition between active (inflammatory) and inactive phases of the disease. It is important to consider these disease activity changes when interpreting **Calprotectin Turbilatex® Combo** assay results (9).
8. Other intestinal disorders, such as gastrointestinal infections and colorectal cancer, can also elevate calprotectin levels. Therefore, a positive result on the **Calprotectin Turbilatex® Combo** assay cannot be used as the sole criterion for diagnosing active IBD (6).

EXPECTED VALUES

Inflammatory bowel diseases (IBD), including Crohn's disease and ulcerative colitis, are chronic conditions affecting millions worldwide. The prevalence varies significantly by region, with rates in North America, Oceania and Europe reaching up to 0.3% of the population, which makes IBD one of the most common gastrointestinal disorders in these areas. The rise in cases

is attributed partly to greater awareness, environmental factors, and potentially genetic predispositions in certain populations (10).

Some studies established equal or higher 50 µg hCp/g faeces as cut-off value to allow detect adult patients with gastrointestinal inflammatory pathology that will require to diagnosis additional diagnostic invasive procedures.

ESPAÑOL

USO PREVISTO

Calprotectin Turbilatex® es una prueba turbidimétrica **para la detección cuantitativa de calprotectina únicamente para muestras de heces de origen humano** (no puede usarse para fluidos del cuerpo humano como sangre, suero, plasma, orina, líquido cerebroespinal, fluidos orales, líquido sinovial o líquido de empiemas).

Es una prueba sencilla de realizar y con múltiples aplicaciones. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador.

Sólo para uso profesional diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La calprotectina es un marcador indirecto del recambio de neutrófilos, elevado en varias condiciones inflamatorias. Se ha estudiado en numerosas enfermedades infecciosas e inflamatorias, especialmente en gastroenterología, ya que sus niveles aumentan en varias enfermedades gastrointestinales. Es detectable en heces y resistente a la degradación proteolítica en presencia de calcio, lo que permite que su medición en muestras fecales ofrezca información diagnóstica y pronóstica en diversas enfermedades orgánicas comunes (1). Estudios han demostrado que los niveles de calprotectina en heces se correlacionan con la inflamación intestinal y colorrectal (2), siendo un marcador útil para la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (3).

La EII incluye enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal, principalmente la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU) (4). Dado que son trastornos inflamatorios, una proteína derivada de neutrófilos puede ser útil para su diagnóstico y seguimiento (1). Tanto la EC como la CU presentan periodos de remisión y episodios de recaída clínica caracterizados por inflamación intestinal aguda (5), causando síntomas molestos como diarrea, dolor abdominal y sangrado rectal (4). Sin embargo, la mayoría de los pacientes con estos síntomas tienen síndrome de intestino irritable (SII), un trastorno funcional sin inflamación detectable en la colonoscopia, a diferencia de la EII. La detección de calprotectina puede reducir la necesidad de colonoscopias (4).

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

Calprotectin Turbilatex® es una prueba turbidimétrica **para la detección cuantitativa de calprotectina únicamente en muestras de heces sólidas de origen humano**. Es una prueba sencilla de realizar, con múltiples aplicaciones y los resultados se obtienen en un corto espacio de tiempo.

Su uso previsto está destinado **exclusivamente a diferenciar pacientes con IBD que presentan inflamación de los que no la presentan y también para diferenciarlos de pacientes con síndrome de intestino irritable (IBS)**.

La prueba de látex turbidimétrico para la detección de Calprotectina se basa en unas reacciones de aglutinación. Estas reacciones implican una agregación *in vitro* de partículas de látex microscópicas. Esta agregación consiste en la reacción específica entre antígeno y anticuerpos, el antígeno presente en la muestra y los anticuerpos anti-antígeno unidos a las partículas de látex de poliestireno. La muestra debe ser mezclada con una suspensión que contiene anticuerpos frente al antígeno unido a las partículas de látex. Si el antígeno está presente en la muestra, reaccionará con los anticuerpos y se formará un agregado. Si no hay antígeno presente en la muestra, la mezcla mantendrá una apariencia de suspensión sin agregación. Esta turbidez se mide como un incremento en la absorbancia a una determinada longitud de onda y será proporcional a la cantidad de antígeno que contenga la muestra.

PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- El producto está destinado a ser utilizado por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado, instruido y entrenado específicamente en las técnicas turbidimétricas, en el uso de autoanalizadores y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- El analizador debe estar listo antes del ensayo.
- Leer las instrucciones de uso cuidadosamente antes de usar el kit.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No usar los reactivos si el envase estuviera dañado o abierto.
- No congelar para mantener la integridad y el rendimiento de la prueba.
- No mezclar tapones de rosca de diferentes viales de reactivo.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Calprotectin Turbilatex® Combo®**. No mezclar o utilizar componentes de otros kits o lotes. No se deben

usar con componentes de otros kits comercializados (de otros proveedores). La correcta realización de la prueba solo está garantizada cuando se usan componentes del mismo lote de **Calprotectin Turbilatex® Combo**.

- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, beber o fumar en la zona de trabajo.
- Las muestras deben considerarse como potencialmente peligrosas, así como los materiales que han estado en contacto con las muestras y deben ser manipuladas de acuerdo con las normas locales o nacionales de seguridad. Deben tratarse de la misma forma que un agente infeccioso. Utilice prácticas adecuadas de control de infecciones al recolectar y manipular las muestras. Estas prácticas deben incluir, pero no se limitan a, equipo de protección personal (EPP), bata de laboratorio, mascarilla quirúrgica u otro tipo de máscara que se considere apropiada, guantes desechables y protección para los ojos. Tome las precauciones necesarias durante la recogida, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.
- **Calprotectin Turbilatex® Combo** no contiene sustancias y/o mezclas que cumplan los criterios de clasificación de peligro disponibles en el Reglamento (CE) No 1272/2008 (CLP) o que se encuentren en concentraciones superiores al valor establecido en dicho reglamento para su declaración. Las fichas de datos de seguridad no se incluyen con este dispositivo, no obstante, podrán ser consultadas previa solicitud a Certest Biotec.
- **Calprotectin Turbilatex® Combo** ha sido validado con el analizador Biolis de Tokyo Boeki. Para diferentes analizadores, la calprotectina debe ser medida de acuerdo con los parámetros de aplicación específicos para cada analizador químico específico. Encontrará más información sobre las notas de aplicación disponibles en nuestro sitio web.
- Homogeneizar los reactivos antes de utilizarlos, asegúrese que los reactivos no tengan burbujas.
- La evaporación de calibradores y controles pueden producir resultados incorrectos. Siga las recomendaciones de almacenaje detalladas en el siguiente apartado.
- Si los valores obtenidos para los controles no son válidos, repetir la medición de control de calidad con controles nuevos. Si los valores de control siguen sin ser válidos, recalibre el equipo.
- Si el resultado excede el rango de medición, utilice el diluyente de muestra para diluir la muestra y repita el ensayo nuevamente.

- Las mezclas preparadas una vez añadida la muestra deben ser gestionados como residuos sanitarios según reglamentaciones locales.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit deben ser almacenados y refrigerados (2-8°C). No congelar.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase, siempre que los frascos estén bien cerrados para evitar su contaminación, protegidos de la luz y se conserven a 2-8°C.

REACTIVOS

Materiales suministrados

Referencias	Cat.: TL-022CP100ED	Cat.: TL-022CP200ED	Cat.: TL-022CP400ED	Cat.: TL-022CP800ED
- TL-022CP01 Calprotectin Turbilatex® Reagent 1	1x27mL	2 x 27mL	4 x 27mL	8 x 27mL
- TL-022CP02 Calprotectin Turbilatex® Reagent 2	1 x 5mL	1 x 8mL	2 x 8mL	4 x 8mL
- TL-022CP70/ TL-022CP71/ TL-022CP72- TL-022CP73/ TL-022CP74/ TL-022CP75 Calprotectin Turbilatex® Calibrators		6 x 1mL		
- TL-022CP08/ TL-022CP09 Calprotectin Turbilatex® Control 1&2		4 x 1mL		

Materiales y equipos que podrían ser necesarios pero no suministrados

- Recipiente para la recogida de muestra.
- Guantes desechables y equipos de laboratorio.
- Analizador automático.
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial.

TOMA DE MUESTRAS Y SU PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestras de heces sólidas de origen humano. Estas muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y seco (sin conservantes ni medios de transporte). Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 7 días hasta el momento de utilizarlas. Si no se prueba en el momento, congelar las muestras a -20°C como máximo 6 meses. En este caso la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura

ambiente (15-30°C) para poder utilizarse en la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Para procesar la muestra de heces utilizando la referencia MST-0019U siga las instrucciones de uso del producto.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

R1 y R2 están listos para usar.

Preparación de la curva de calibración.

Para la calibración únicamente utilizar los siguientes materiales:

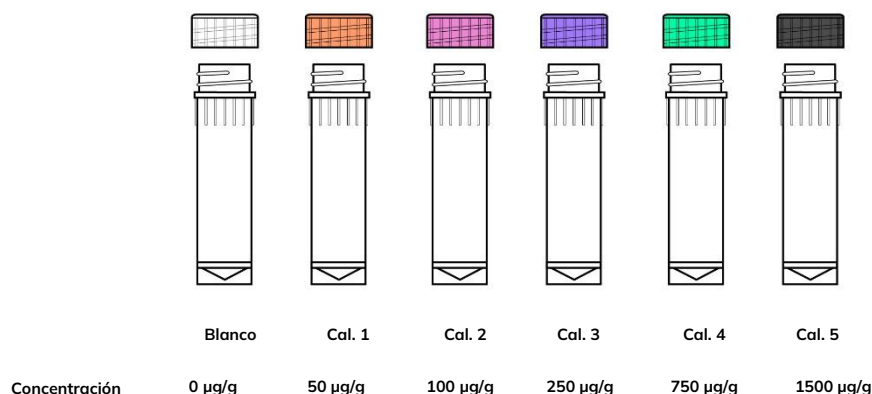
TL-022CP70, TL-022CP71, TL-022CP72, TL-022CP73, TL-022CP74 y TL-022CP75, Calprotectin Turbilatex® Calibrator vials: calibrador líquido que contiene calprotectina recombinante humana a distintas concentraciones.

La concentración está indicada en la etiqueta de cada vial.

Calibrar el sistema al menos una vez al mes es altamente recomendado. Recalibrar el sistema cuando los lotes de reactivos hayan cambiado o cuando los controles estén fuera del rango indicado en las etiquetas de los controles o en el certificado de análisis suministrado con el kit.

Los viales de calibrador líquido de **Calprotectin Turbilatex® Combo** (calibrador 0 al 5) están listos para su uso.

Viales calibración



Dibujo 1. Calibradores preparados para realizar una curva de calibración (5 puntos y el blanco)

Control de calidad

Para el control de calidad únicamente utilizar los siguientes materiales:

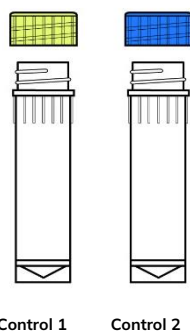
TL-022CP08 Calprotectin Turbilatex® Control 1 y TL-022CP09 Calprotectin Turbilatex® Control 2: controles líquidos a dos concentraciones distintas de calprotectina recombinante humana. La concentración se indica en la etiqueta del vial. Se recomienda el uso de materiales de control en dos puntos diferentes de análisis para verificar la precisión del test.

Los controles deben ser probados cada día antes de analizar las muestras fecales de pacientes para validar la curva de calibración.

Si los valores obtenidos están fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el equipo, los reactivos o la técnica

Los viales de control líquido de **Calprotectin Turbilatex® Combo** (Control 1 y Control 2) están listos para su uso.

Viales control



Dibujo 2. Controles preparados C1 and C2 (comprobar la concentración en la etiqueta)

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultados positivos: Superiores o iguales al valor límite fijado por el laboratorio clínico.

Recomendado: 50 µg hCp/g de heces para protocolos de diagnóstico clínico y 200 µg de hCp/g de heces para protocolos de screening.

Resultados positivos revelan la presencia anormal de Calprotectina humana (hCp) en las heces.

El valor de referencia de **Calprotectin Turbilatex® Combo**:

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

Valores de concentración de calprotectina entre 50 y 200 µg 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.

Valores de concentración de calprotectina mayores a 200 µg hCp/ g de heces son considerados indicativos de una severa inflamación del tracto gastrointestinal.

CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

Sensibilidad analítica

Límite de detección (LOD): 7 µg hCp/g de heces. El límite inferior de detección de **Calprotectin Turbilatex® Combo** se determinó en 20 muestras y 2 réplicas de muestras como el valor medio +2·SD.

Límite de cuantificación (LOQ): 20 µg hCp/g de heces. El límite inferior de cuantificación se define como la cantidad real más baja de análisis que puede detectarse de manera fiable; la imprecisión es < 20% como CV%.

Rango de medición

El rango de medición del ensayo **Calprotectin Turbilatex® Combo** es de 20-3125 µg hCp/g de heces. Las muestras concentradas superiores a 1500 µg hCp/g de heces deben diluirse para una cuantificación adecuada por parte del usuario, utilizando tampón de muestra adicional.

Prozona

Se han realizado estudios hasta una concentración de 25000 µg hCp/g de heces y no se han observado resultados falsos negativos. No se han realizado estudios con concentraciones superiores.

Las muestras con concentraciones de hasta 3125 µg hCp/g pueden medirse sin efecto inhibitor de la prozona.

Sensibilidad y especificidad clínica

En las siguientes tablas puede encontrarse información acerca de las evaluaciones que se le han realizado a **Calprotectin Turbilatex® Combo** con un cut-off de 50 µg of hCp/g de heces:

Nº	Test evaluado	Tipo de muestras
1	Calprest ELISA, Eurospital	Muestras de heces humanas
2	Calprest ELISA, Eurospital	Muestras de heces humanas
3	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Muestras de heces humanas
4	BÜHLMANN fCAL® turbo, Bühlmann Diagnostics	Muestras de heces humanas

Tabla 1 Resumen de las evaluaciones clínicas. Test evaluado y tipo de muestra.

N°	TP	FP	FN	TN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	VPP (%) CI (%)	NPV (%) CI (%)	LR+ CI	LR- CI
1	16	0	1	38	55	94.1 (71.3-99.9)	100.0 (79.4-100.0)	100.0 (90.7-100.0)	97.4 (96.5-99.9)	71.50 (4.58-1127)	0.084 (0.018-0.391)
2	42	6	0	52	100	100.0 (91.6-100.0)	89.7 (78.8-96.1)	87.5 (74.8-95.3)	100.0 (93.2-100.0)	8.97 (4.341-18.54)	0.013 (0.001-0.206)
3	51	7	3	39	100	94.4 (84.6-98.8)	84.8 (71.1-93.7)	87.9 (76.7-95.0)	92.9 (80.5-98.5)	6.206 (3.128-12.31)	0.066 (0.022-0.198)
4	42	5	1	62	110	97.7 (87.7-99.9)	92.5 (83.4-97.5)	89.4 (76.9-96.5)	98.4 (91.5-100.0)	13.09 (5.63-30.45)	0.025 (0.004-0.175)
Total	151	18	5	191	365	96.8 (92.7-99.0)	91.4 (86.7-94.8)	89.3 (83.7-93.6)	97.4 (94.1-99.2)	11.24 (7.22-17.49)	0.035 (0.015-0.083)

Tabla 2 Evaluaciones clínicas y resultados globales. Valores de verdadero positivo (TP), de falso positivo (FP), falso negativo (FN) y número total de muestras (N). Sensibilidad (Sens), especificidad (Spec), valor predictivo positivo (PPV), valor predictivo negativo (NPV), 95% intervalo de confianza (CI), cociente de probabilidad positivo (LR+), cociente de probabilidad negativo (LR-) de Calprotectin Turbilatex®.

Los resultados mostraron que **Calprotectin Turbilatex® Combo** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar Calprotectina humana (hCp).

Interferencias

Se realizó una evaluación para determinar posibles interferencias de **Calprotectin Turbilatex® Combo**. No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias probadas: BSA, Hemin, ácido ascórbico.

Reactividad cruzada

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de **Calprotectin Turbilatex® Combo**; no se detectó reacción cruzada con otros marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces: hemoglobina bovina y de cerdo, transferrina bovina, lactoferrina bovina y hemoglobina, transferrina y lactoferrina humanas.

Precisión

Se realizó una evaluación para determinar la precisión de **Calprotectin Turbilatex® Combo**. **Calprotectin Turbilatex® Combo** muestra alta reproducibilidad en concentraciones conocidas de calprotectina.

Linealidad

La linealidad de **Calprotectin Turbilatex® Combo** utilizando el kit de calibración es lineal en el rango de calibración de 36-1500 µg hCp/g de heces.

El desempeño analítico de **Calprotectin Turbilatex® Combo** ha sido validado utilizando el analizar Biolis 24i de Tokyo Boeki. Para más información acerca de otros equipos

compatibles, consulte la aplicación correspondiente. Los diferentes equipos de turbidimetría con los que son compatibles nuestros productos turbidimétricos podrían consultarse en el **Anexo I**.

LIMITACIONES

1. Calprotectin Turbilatex® se debería usar **únicamente para muestras de heces de origen humano** (no puede usarse para fluidos del cuerpo humano como sangre, suero, plasma, orina, líquido cerebroespinal, fluidos orales, líquido sinovial o líquido de empiemas). El uso de otras muestras no ha sido establecido. Se debe de utilizar con muestras fecales extraídas debidamente.
2. Los resultados positivos determinan la presencia de hCp en muestras de heces. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas invasivas diagnósticas: la endoscopia y la biopsia son los métodos más adecuados para detectar y cuantificar la inflamación en el intestino.
3. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de hCp, 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 una inflamación mononuclear (6,7).
4. Heces de pacientes que sigan un tratamiento con anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) podrían dar resultados positivos (7).
5. Se han descrito niveles más elevados de calprotectina fecal en neonatos comparado con los niveles normales en niños. Nivel medio de 167 µg/g (en un rango entre 22-860 µg/g) (8).
6. Los pacientes con agranulocitosis pueden producir resultados falsos negativos debido a la baja producción de neutrófilos en la médula ósea, que afecta a la detección de la calprotectina (9).
7. Los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) pasan de la fase activa (inflamatoria) a la fase inactiva de la enfermedad. Es importante tener en cuenta estos cambios en la actividad de la enfermedad al interpretar los resultados del ensayo **Calprotectin Turbilatex® Combo** (9).
8. Otros trastornos intestinales, como las infecciones gastrointestinales y el cáncer colorrectal, también pueden elevar los niveles de calprotectina. Por lo tanto, un resultado positivo en el ensayo **Calprotectin Turbilatex® Combo** no puede utilizarse como único criterio para diagnosticar una EII activa (6).

VALORES ESPERADOS











Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), incluidas la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, son afecciones crónicas que afectan a millones de personas en todo el mundo. La prevalencia varía significativamente según la región, con tasas en Norteamérica, Oceanía y Europa que alcanzan hasta el 0.3% de la población, lo que convierte a la EII en uno de los trastornos gastrointestinales más comunes en estas zonas. El aumento de los casos se atribuye en parte a una mayor concienciación, a factores ambientales y a predisposiciones potencialmente genéticas en determinadas poblaciones, lo que equivale a casi 1 de cada 100 personas (10).

En varios estudios se ha determinado que el valor de cut-off de calprotectina en heces sea de 50 µg hCp/g en heces, para permitir detectar pacientes adultos con una patología inflamatoria gastrointestinal los cuales requerirán para su diagnóstico procedimientos adicionales invasivos.

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. **Emerging role of calprotectin in gastroenterology. Vol. 18, Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia).** Blackwell Publishing; 2003. p. 756–62.
2. Angriman I, Scarpa M, D'Inca R, Basso D, Ruffolo C, Polese L, et al. **Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease.** Clinica Chimica Acta. 2007 May 2;381(1):63–8.
3. Mayer EA. **Functional Gastrointestinal Disorders: Irritable Bowel Syndrome, Dyspepsia, and Functional Chest Pain of Presumed Esophageal Origin.** Goldman's Cecil Medicine: Twenty Fourth Edition. 2012;1:868–74.
4. Khaki-Khatibi F, Qujeq D, Kashifard M, Moein S, Maniati M, Vaghari-Tabari M. **Calprotectin in inflammatory bowel disease.** Vol. 510, Clinica Chimica Acta. Elsevier B.V.; 2020. p. 556–65.
5. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. **Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease.** Gastroenterology. 2000;119(1):15–22.
6. Pathirana WGW, Chubb SP, Gillett MJ, Vasikaran SD. **Faecal Calprotectin.** Clin Biochem Rev. 2018;39(3):77.
7. Klingberg E, Strid H, Ståhl A, Deminger A, Carlsten H, Öhman L, et al. **A longitudinal study of fecal calprotectin and the development of inflammatory bowel disease in ankylosing spondylitis.** Arthritis Res Ther. 2017 Feb 2;19(1):1–9.
8. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derrieux S, Aubert-Jacquín C, Barbot L, et al. **High faecal calprotectin concentrations in newborn infants.** Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2004 Jul;89(4).
9. Fukunaga S, Kuwaki K, Mitsuyama K, Takedatsu H, Yoshioka S, Yamasaki H, et al. **Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization.** Int J Mol Med. 2018;41(1):107–18.
10. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. **Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies.** The Lancet. 2017 Dec 23;390(10114):2769–78.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

 IVD	<p>In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i></p>		<p>Keep dry Almacenar en lugar seco</p>		<p>Use by Fecha de caducidad</p>		<p>Manufacturer Fabricante</p>	 LOT	<p>Batch code Número de lote</p>
	<p>Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso</p>		<p>Temperature limitation Limitación de temperatura</p>		<p>Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test</p>	<p>DIL</p>	<p>Sample diluent Diluyente de muestra</p>	 REF	<p>Catalogue number Número de referencia</p>
	<p>Keep out of the sunlight Manténgase fuera de la luz del sol</p>								

**ANNEX COMPATIBILITY OF THE MOST COMMON TURBIDIMETRY EQUIPMENT/
ANEXO DE COMPATIBILIDAD CON LOS EQUIPOS MÁS COMUNES DE TURBIDIMETRÍA**

Model / Modelo	Manufacturer / Fabricante
A15	Biosystems
Alinity c-series	Abbott
Advia 1800, Advia 2400	Siemens
Architect c1000/c4000/c8000/c16000	Abbott
Atellica	Siemens
AU680	Beckman Coulter
Bioassays 240PLUS	Snibe
Biolis 24i/Biolis 50i	Tokyo Boeki
BK-200 mini	Biobase
BS-200/200E	Mindray
Chemwell-T	Awareness
Cobas c111, c3111, c501, c702	Roche
InCCA/InCCA bit	Diconex
Optilite	Binding Site
Respons 910	DiaSys
Selectra PRO S, Selectra PRO M	Elitech
TC220	Tecom
Vitros 5600	Ortho Clinical Technologies
XL-180 & XL-200	Erba

The application notes for use our turbidimetric products with the different equipments could be consulted in our website: www.certest.es

Note/Nota: Turbilatex® registered brand name/ Turbilatex® marca registrada

Nº: CTM-010179299; community (OAMI)/ Nº: CTM-010179299; comunitaria (OAMI)

Nº: 4,650,387 ; EEUU (UPSTO)

CHANGE CONTROL/CONTROL DE CAMBIOS

Version / Version nº	Changes / Cambios	Date / Fecha
07	Instruction updating including new sections. Procedure A is deleted. / Actualización de la instrucción incluyendo nuevos apartados. Se elimina el procedimiento A.	02/12/2024
08	Revision of the sections Measurement range, prozone and linearity due to drafting error. New clinical data./ Revisión de los apartados de Rango de medición, prozona y linealidad por fallo de redacción. Nuevos datos clínicos.	10/02/2025





Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, N°1
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)
Tel. (+34) 976 520 354
salesidx@certest.es · www.certest.es

IU_TL-022CP100ED-200ED-400ED-800ED en-es v.08