



AFIAS Calprotectin

PROPÓSITO PREVISTO

AFIAS Calprotectin es un inmunoensayo de fluorescencia (FIA) para la determinación cuantitativa de calprotectina (MRP8/14; S100A8/S100A9) en heces humanas. Es útil como ayuda en el manejo y monitoreo de la inflamación gastrointestinal causada por varias patologías (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorrectal y algunas enteropatías). Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína citosólica presente en los neutrófilos, cuya concentración aumenta en las heces debido a la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), específicamente la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. La estabilidad de la calprotectina frente a la degradación la mantiene estable en las heces durante hasta siete días a temperatura ambiente y durante períodos mucho más largos a -20°C. La calprotectina inhibe los sistemas enzimáticos dependientes de zinc, lo que resulta en la eliminación de microbios e induce la apoptosis en células normales y cancerosas. En presencia de calcio, la calprotectina es significativamente resistente a la degradación proteolítica y, por lo tanto, se mantiene estable en las heces guardadas a temperatura ambiente durante siete días. La concentración fecal de calprotectina se correlaciona con los patrones histológicos y endoscópicos de la inflamación intestinal en pacientes con EII.

PRINCIPIO

La prueba utiliza un método de inmunodetección tipo sándwich. Los anticuerpos detectores distribuidos sobre la membrana se unen a los antígenos de la muestra, formando complejos antígeno-anticuerpo, y migran sobre la matriz de nitrocelulosa para ser capturados por otros anticuerpos inmovilizados en la tira de prueba. Cuantos más antígenos haya en la muestra, más complejos antígeno-anticuerpo se formarán, lo que dará lugar a una señal de fluorescencia más intensa de los anticuerpos detectores, que será procesada por el instrumento para pruebas AFIAS para mostrar la concentración de calprotectina en la muestra.

COMPONENTES

AFIAS Calprotectin consta de “cartuchos” y “tubo de tampón de extracción”.

- Cada bolsa de aluminio sellada contiene dos cartuchos.
- Cada cartucho envasado en una bolsa de aluminio tiene un componente: una parte del cartucho.
- La parte del cartucho contiene la membrana llamada tira de prueba, que tiene anti-calprotectina en la línea de prueba, conjugado anti-calprotectina-fluorescencia y conjugado anti-IgG-fluorescencia en la línea de glaseado, e IgG de conejo en la línea de control.

- El tampón de extracción contiene azida sódica en Tris como conservante. Está pre-dispensado en tubos de tampón de extracción. Los tubos de tampón de extracción están empaquetados en una caja.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Siga las instrucciones y los procedimientos descritos en estas “instrucciones de uso”.
- Use solo muestras frescas y evite la luz solar directa.
- Los números de lote de todos los componentes de prueba (cartucho, tubo de tampón de extracción y ID chip) deben coincidir entre sí.
- No intercambie componentes de prueba entre diferentes lotes ni utilice componentes de prueba después de la fecha de caducidad, ya que podría obtener resultados incorrectos.
- No reutilice cartuchos o tubo de tampón de extracción. Se debe utilizar un cartucho para analizar una sola muestra. Se debe utilizar un tubo de tampón de extracción para el procesamiento de una sola muestra.
- El cartucho debe permanecer precintado en su bolsa original hasta justo antes de su uso. No utilice un cartucho si la bolsa está dañada o ya ha sido abierta
- La muestra congelada debe descongelarse solo una vez. Para el envío, las muestras deben embalarse de acuerdo con la normativa local.
- Si los componentes de la prueba y/o la muestra se almacenan en un frigorífico, deje que el cartucho y la muestra estén a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos antes de su uso.
- El instrumento para pruebas AFIAS puede generar ligeras vibraciones durante su uso.
- Los cartuchos, tubo de búfer de extracción y las puntas de pipeta usados deben manipularse con cuidado y desecharse mediante un método adecuado de acuerdo con la normativa local pertinente.
- El tubo de tampón de extracción contiene azida sódica (NaN₃) y puede dar lugar a algunos problemas de salud, como convulsiones, presión arterial baja, frecuencia cardíaca baja, pérdida de conciencia, lesiones pulmonares e insuficiencia respiratoria. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, aclare inmediatamente con agua corriente.
- **AFIAS Calprotectin** proporcionará resultados precisos y fiables siempre que se cumplan las siguientes condiciones
 - **AFIAS Calprotectin** solo debe utilizarse junto con el instrumento para pruebas AFIAS.

LIMITACIONES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

- La prueba puede producir resultados falsos positivos debido a reacciones cruzadas y/o a la adhesión inespecífica de ciertos componentes de la muestra a los anticuerpos de captura/detección.
- La prueba puede producir resultados falsos negativos debido a la falta de respuesta de los antígenos a los anticuerpos, que es lo más común si el epítipo está enmascarado por algunos componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado ni captado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación de los antígenos con el tiempo y/o la temperatura también puede causar resultados falso negativos, ya que hace que los antígenos sean irreconocibles por los anticuerpos.

- Otros factores pueden interferir en la prueba y provocar resultados erróneos, como errores técnicos o de procedimiento, degradación de los componentes o reactivos de la prueba o presencia de sustancias interferentes en las muestras de la prueba.
- Cualquier diagnóstico clínico basado en el resultado de la prueba debe estar respaldado por un juicio exhaustivo del médico en cuestión, junto con los síntomas clínicos y otros resultados de pruebas relevantes.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Condiciones de almacenamiento			
Componente	Temperatura de almacenamiento	Vida útil	Nota
Cartucho	2 – 30 °C	20 meses	Sin abrir
		1 mes	Resellado
Tubo de tampón de extracción	2 – 30 °C	20 meses	Desechable

- Vuelva a colocar el cartucho no utilizado en la bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto que contiene el paquete de desecante. Vuelva a sellar a lo largo de todo el borde del cierre.

MATERIALES SUMINISTRADOS

REF SMFP-149

Componentes de **AFIAS Calprotectin**

- Caja de cartuchos:
 - Cartucho 24
 - Tubo de tampón de extracción 24
 - Punta de pipeta (bolsa con cierre) 24
 - Spare cartridge zipper bag 1
 - (Bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto)
 - ID chip 1
 - Instrucciones de uso 1

MATERIALES NECESARIOS PERO SUMINISTRADOS BAJO DEMANDA

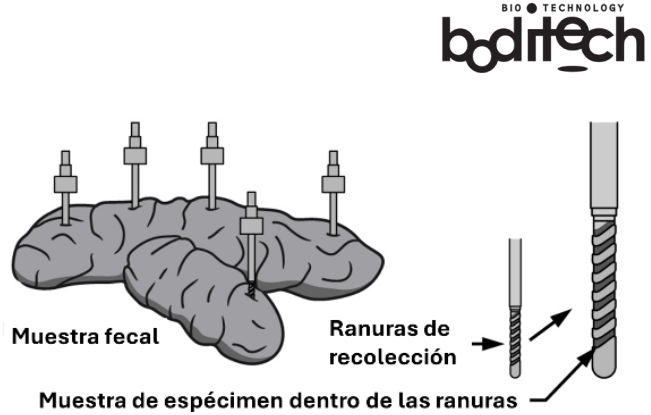
Los siguientes artículos pueden adquirirse por separado de **AFIAS Calprotectin**.

Para más información, póngase en contacto con nuestro departamento de ventas.

- Instrumento para pruebas AFIAS
 - **AFIAS-1** **REF** FPRR019
 - **AFIAS-3** **REF** FPRR040
 - **AFIAS-6** **REF** FPRR020
 - **AFIAS-10** **REF** FPRR038
- **Boditech Calprotectin Control** **REF** CFPO-211
- **Boditech Calprotectin Calibrator** **REF** CFPO-380

RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

- El tipo de muestra para **AFIAS Calprotectin** es heces humanas.
- Recolecte la muestra de heces en un recipiente limpio y seco.
 - Invierta un tubo de búfer de extracción y afloje la tapa donde está adherida la varilla de muestreo (de color amarillo).
 - Inserte la varilla de muestreo en la muestra fecal aproximadamente 5 a 6 veces en diferentes sitios. Al recolectar la muestra con la varilla de muestreo, asegúrese de excluir los grandes grumos sólidos. (En caso de que las heces estén en forma líquida o al usar control, transfiera 10 µL de la muestra a un tubo de búfer de extracción usando una pipeta.)



- Devuelva la varilla al tubo de búfer de extracción. Apriete bien la tapa y agite el tubo vigorosamente alrededor de 10 a 15 veces para dispersar la muestra en todo el tubo de búfer de extracción.
- Los períodos de almacenamiento de las muestras (heces) son los siguientes:
 - La muestra (heces) almacenada a temperatura ambiente no mostró diferencias de rendimiento durante 4 horas.
 - La muestra (heces) almacenada en refrigerador (2 – 8 °C) no mostró diferencias de rendimiento durante 72 horas.
 - La muestra (heces) almacenada en congelador (-20 °C) no mostró diferencias de rendimiento durante 8 semanas.
- Los períodos de almacenamiento de la mezcla de muestras en el tubo de búfer de extracción son los siguientes:
 - La mezcla de muestras en un tubo de búfer de extracción almacenada a temperatura ambiente no mostró diferencias de rendimiento durante 7 días.
 - La mezcla de muestras en un tubo de búfer de extracción almacenada en refrigerador (2 – 8 °C) no mostró diferencias de rendimiento durante 10 días.
- Sin embargo, se recomienda utilizar la mezcla de muestras en el búfer de extracción el mismo día después de la toma de muestras.
- El período de almacenamiento puede variar dependiendo de la condición y el tipo de heces.
- Dado que un ciclo repetido de congelación-descongelación puede afectar al resultado de la prueba, no vuelva a congelar las muestras previamente congeladas.

CONFIGURACIÓN DE LA PRUEBA

- Verifique los componentes de **AFIAS Calprotectin** según se describen a continuación: : cartuchos, tubos de tampón de extracción, puntas de pipeta, un ID chip, una bolsa hermética para cartuchos de repuesto e instrucciones de uso.
 - Asegúrese de que el número de lote del cartucho coincida con el del tubo de tampón de extracción y el ID chip.
 - Si el cartucho sellado y el tubo de tampón de extracción se han almacenado en un frigorífico, colóquelo en una superficie limpia y plana a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos antes de realizar la prueba.
 - Encienda el instrumento para pruebas AFIAS.
 - Vacíe la caja de puntas.
 - Inserte el del ID chip en el “puerto para ID chip”.
- ※ Consulte el manual de funcionamiento del instrumento para pruebas AFIAS para obtener información completa y conocer las instrucciones de uso.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

► **AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6**

Modo general (General mode)

1) Recolecte la muestra utilizando la varilla de muestreo según el método de recolección de muestras descrito en la sección “recolección y procesamiento de muestras”.

2) Sostenga el tubo boca abajo y rompa la punta negra en el exterior de la tapa negra.

3) Deseche 5 gotas de reactivo sobre el papel toalla antes de aplicarlo al cartucho.

4) Aplique 8 gotas de la mezcla de muestra en pocillo de muestra del cartucho.

5) Inserte un cartucho en el portacartucho.

6) Inserte una punta en el orificio para puntas del cartucho.

7) Seleccione el “Modo general (General mode)” en el instrumento para pruebas AFIAS.

8) Seleccione el tipo de muestra (otros) en la pantalla.

9) Seleccione “Iniciar” en la pantalla.

10)El resultado de la prueba se mostrará en la pantalla después de 10 minutos.

► **AFIAS-10**

Para AFIAS-10, AFIAS Calprotectin solo se puede usar en modo de Emergencia.

Modo de emergencia – Punta general

(Emergency mode – General tip)

1) Recolecte la muestra utilizando una varilla de muestreo según el método de recolección de muestras descrito en el apartado “recolección y procesamiento de muestras”.

2) Sujete el tubo boca abajo y rompa la punta negra en el exterior de la tapa negra.

3) Descarte 5 gotas de reactivo sobre el papel toalla antes de aplicarlo al cartucho.

4) Aplique 8 gotas de la mezcla de muestra en la el pocillo de muestra del cartucho.

5) Inserte un cartucho en el portacartucho.

6) Inserte una punta en el orificio para puntas del cartucho.

7) Pulse el botón “Cargar (Load)” del compartimiento que contiene el cartucho con la punta para leer el código de barras del cartucho y confirme el nombre del artículo que aparece escrito en el cartucho.

8) Pase al modo “Modo de emergencia (Emergency mode)” en AFIAS-10.

9) Verifique el tipo de punta (Punta General (General tip)) en la pantalla.

10)Verifique el tipo de muestra (heces) en la pantalla.

11)Pulse el botón “Iniciar (Start)” en la pantalla.

12)El resultado de la prueba se mostrará en la pantalla transcurridos 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE LA PRUEBA

■ El instrumento para pruebas AFIAS calcula el resultado de la prueba automáticamente y muestra la concentración de calprotectina en la muestra en términos de mg/kg.

■ Valor de referencia:

Valor	Interpretación
< 50 mg/kg	Negativo
50 – 100 mg/kg	Área límite, para repetir (dentro de 4-6 semanas)
> 100 mg/kg	Positivo

■ Rango de trabajo: 10 – 1.000 mg/kg

CONTROL DE CALIDAD

■ Las pruebas de control de calidad forman parte de las buenas prácticas de prueba para confirmar los resultados esperados y la validez de la prueba y deben realizarse a intervalos regulares.

■ Las pruebas de control de calidad también se deben realizar siempre que haya alguna duda sobre la validez de los resultados de las pruebas.

■ Los materiales de control se proporcionan bajo demanda con **AFIAS Calprotectin**. Para obtener más información sobre la obtención de los materiales de control, póngase en contacto con la División de Ventas de Boditech Med Inc. para obtener ayuda.
(Consulte las instrucciones de uso del material de control.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

■ **Sensibilidad analítica**

- Límite de blanco (LoB)2,82 mg/kg

- Límite de detección (LoD)4,59 mg/kg

- Límite de cuantificación (LoQ)10 mg/kg

■ **Especificidad analítica**

- **Reactividad cruzada**

Se añadieron biomoléculas como las que figuran a continuación a la(s) muestra(s) de ensayo en concentraciones muy superiores a sus niveles fisiológicos normales en las heces. Los resultados de la prueba **AFIAS Calprotectin** no mostraron ninguna reactividad cruzada significativa con estas biomoléculas.

Reactivos cruzados	Concentración
Helicobacter pylori	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL
Campylobacter jejuni	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL
Candida albicans	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL
Enterobacter cloacae	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL
Escherichia coli	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL
Pseudomonas aeruginosa	1,2 x 10 ⁸ CFU/mL

- **Interferencia**

Los interferentes que se enumeran en la tabla siguiente se añadieron a la muestra de ensayo en la concentración que se menciona a continuación. Los resultados de la prueba **AFIAS Calprotectin** no mostraron ninguna interferencia significativa con estos materiales.

Interferentes	Concentración
Hemoglobina humana	10 g/dL
Transferrina	400 mg/dL
Prednisolona	8,31 µmol/L
Ciprofloxacina	36,2 µmol/L
Ácido esteárico	0,4 mmol/L
Ácido palmítico	6 mmol/L
Metronidazol	719 µmol/L
Vancomicina	82,8 µmol/L
DMF	2%
DMSO	2%

■ **Precisión**

- **Estudio en un solo centro**

Repetibilidad (precisión dentro de una misma serie)

Precisión intralaboratorio (precisión total)

Precisión lote a lote

Se analizaron tres lotes de **AFIAS Calprotectin** durante 20 días. Cada material estándar se analizó dos veces al día. Para cada prueba, se duplicó cada material.

Estudio en un solo centro

Calprotectina [mg/kg]	Repetibilidad		Precisión intralaboratorio		Precisión lote a lote	
	Media	CV	Media	CV	Media	CV
	[mg/kg]	(%)	[mg/kg]	(%)	[mg/kg]	(%)
25	24,07	7,3	24,15	7,0	24,10	7,3
100	100,90	7,3	100,96	6,7	100,86	6,6
250	258,34	6,1	259,05	6,1	260,46	5,7
500	506,14	6,5	502,30	6,4	504,65	6,6
800	802,14	7,2	809,93	6,8	814,54	7,0

- **Estudio multicéntrico**

Reproducibilidad

Se analizó 1 lote de **AFIAS Calprotectin** durante 5 días en 3 centros diferentes (1 persona por 1 centro, 1 instrumento por 1 centro). Cada material estándar se analizó 1 vez y con 5 réplicas por día.

Estudio multicéntrico		
Calprotectina [mg/kg]	Reproducibilidad	
	Media [mg/kg]	CV (%)
25	24,57	6,9
100	99,92	6,5
250	257,62	6,4
500	505,79	7,5
800	818,37	6,6

■ **Exactitud**

La exactitud se confirmó mediante pruebas con 3 lotes diferentes de **AFIAS Calprotectin**. Las pruebas se repitieron 10 veces con cada concentración del estándar de control.

Calprotectina [mg/kg]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media [mg/kg]	Recuperación (%)
800,0	778,84	801,16	808,65	796,22	100
645,0	634,97	623,39	605,18	621,18	96
490,0	499,23	501,69	508,06	502,99	103
335,0	337,07	336,69	330,49	334,75	100
180,0	177,85	185,28	182,33	181,82	101
25,0	24,06	24,26	24,14	24,15	97

■ **Comparabilidad**

Las concentraciones de calprotectina de 100 muestras clínicas se cuantificaron de manera independiente con **AFIAS Calprotectin (AFIAS-6)** y el **Comparador A** según los procedimientos de prueba prescritos. Se compararon los resultados de la prueba, y su comparabilidad se investigó mediante regresión lineal y coeficiente de correlación (R). La ecuación de regresión y el coeficiente de correlación son los siguientes:

* Línea sólida: línea de regresión de AFIAS Calprotectin

* Línea discontinua: y = x

REFERENCIAS

1. Buun SK et al., Fecal Calprotectin: Validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2001; 33(1): 14-22.

2. Gaya D.R.m et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn’s disease activity. Q J Med 2005, Vol 98, May 2005, p. 435-441.

3. Quail, M.A. et al. Fecal Calprotectin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756-759.

4. Angriman I. et. al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68.

5. Henderson P, Anderson NH, Wilson DC. The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol 2014; 109:637-645.

6. Walsham NE and Sherwood RA, Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, Clinical and Experimental Gastroenterology, 2016; 9: 21-29.

7. Bjarnason I, The use of fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, Gastroenterology & Hepatology, 2017; 13(1): 53-56.

Form-GE02-15 (Rev.04)

2 / 3

Nota: Consulte la tabla siguiente para identificar los distintos símbolos.

	Suficiente para <n> pruebas
	Lea las instrucciones de uso
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Número de catálogo
	Precaución
	Fabricante
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>In vitro</i>
	Límite de temperatura
	No reutilizar
	Este producto cumple con los requisitos de la Directiva 98/79/EC sobre dispositivos de diagnóstico <i>In vitro</i>

Para asistencia técnica, póngase en contacto con:
Technical Sales de Boditech Med Inc.
Tel: +(82) -33 243-1400
E-mail: TS@boditech.co.kr

 **Boditech Med Inc.**
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,
Gang-won-do, 24398, Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

 **Obelis s.a.**
Bd. Général Wahis 53, 1030 Brussels, Belgium
Tel: +(32) -2-732-59-54
Fax: +(32) -2-732-60-03
E-Mail: mail@obelis.net