

Calprotectin 50+200 MonlabTest®



MO-804019 20 TESTS



One Step to detect Calprotectin in feces

A rapid and one step test for the qualitative detection of calprotectin in human feces.

For professional *in vitro* diagnostic use only.

INTENDED USE

The Calprotectin 50+200 MonlabTest® is a rapid chromatographic immunoassay (non-invasive assay) for the qualitative detection of human fecal calprotectin (hFCP) in human feces specimens to the following cut-off values: A: 50µg/g feces and B: 200µg/g feces.

SYNTHESIS

Calprotectin is a calcium-containing protein that makes up 5% of the total protein and 60% of the cytosolic protein of neutrophil. It has bacteriostatic and fungistatic properties and is found in feces at levels six times higher than that in plasma.

Calprotectin is a neutrophil cytosolic protein with antimicrobial properties, which is present at increased concentration in stool samples during bowel inflammation (intestinal inflammation). The stability of the protein to degradation keeps it stable in feces for up to 7 days at room temperature, making it an ideal analyte.

Calprotectin is released by activation of leukocytes, giving increased levels in plasma, cerebral spinal fluid, synovial fluid, urine or stools as a consequence of disease in the relevant organ(s).

Calprotectin inhibits zinc-dependent enzyme systems, as a result kills microbes and induces apoptosis in normal and cancer cells. In the presence of calcium, calprotectin is a remarkably resistant to proteolytic degradation.

This is a non-invasive marker of intestinal inflammation (for example in Ulcerative Colitis (UC) and Crohn's Disease (CD)).

PRINCIPLE

The Calprotectin 50+200 MonlabTest® is a qualitative lateral flow immunoassay for detection of human calprotectin in human feces specimens. The membrane of the Test A is pre-coated with monoclonal antibodies against human calprotectin and the membrane of the Test B is pre-coated with monoclonal antibodies against human calprotectin on the test lines region. During testing, the sample reacts with the red colored particles coated with anti-human calprotectin antibodies in the Test A and/or with anti-human calprotectin antibodies in the Test B which were pre-dried on the test strips. The mixture moves upward on the membrane by capillary action. In the case of a positive result in the Test A the specific antibodies present on the membrane will react with the mixture conjugate and generate one red colored line. In the case of a positive result in the Test B the specific antibodies present on the membrane will react with the mixture conjugate and generate one red colored line. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody places in the control line regions. A green colored line always appears in the control lines and serves as verification that sufficient volume was added, that proper flow was obtained and as an internal control for the reagents.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- The test should remain in the sealed pouch until use.
- Do not use the test if pouch is damaged.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, do not eat, drink or smoke in the area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch either at refrigerated or room temperature (2-30°C/36-86°F). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

MATERIALS PROVIDED

- 20 Tests
- Instructions for use
- 20 Specimen collection vial with buffer

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or mL for liquid sample). Stool 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/36-46.4°F) for 7 days prior to testing. For longer storage (maximum 6 months), the specimen must be kept frozen at -20°C/-4°F. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

PROCEDURES

To process the collected stool samples (see illustration 1):

Use a separate specimen collection vial for each sample. Unscrew the cap of the vial and introduce the stick four times into the fecal specimen to pick up the sample. Close the vial with the buffer and stool sample. This vial with the sample can be storage during 7 days (2-8°C/36-46.4°F).

Shake the vial in order to assure good sample dispersion. For liquid stool samples, aspirate the fecal specimen with a dropper and add 15µL into the specimen collection vial with buffer.

Test Procedure (see illustration 2)

Allow the tests, stool samples and buffer to reach to room temperature (15-30°C/59-86°F) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Remove the Calprotectin 50+200 MonlabTest® from its sealed pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection vial to assure good sample dispersion. Break off the tip of the vial.
3. Use a separate device for each sample. Dispense 4 drops into the specimen well (S) of the Test A and dispense 4 drops into the specimen well (S) of the Test B using the same vial. Start the timer.
4. Read the result at **10 minutes** after dispensing the sample.

Illustration 1

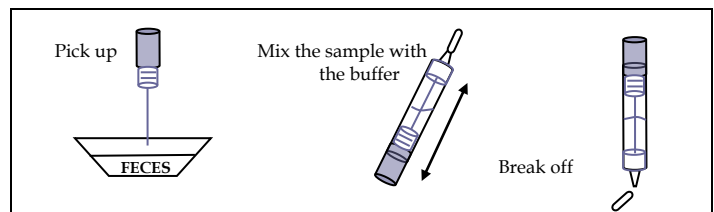
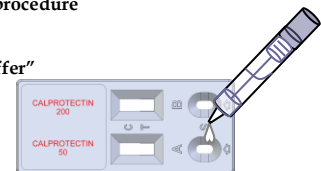


Illustration 2

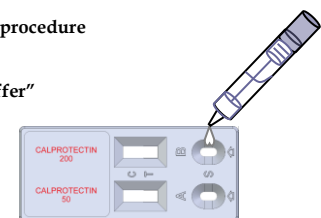
Test A Calprotectin (50µg/g) procedure

Add 4 drops of "sample + buffer"



Test B Calprotectin (200µg/g) procedure

Add 4 drops of "sample + buffer"



INTERPRETATION OF RESULTS

Illustration 3

	Calprotectin marker negative, (<50µg/g) is not present in patient sample		Calprotectin marker positive, (>50µg/g and <200µg/g)
	Calprotectin marker positive, (>200µg/g) is present in patient sample		Invalid result. If B is positive, A has to be also positive

INVALID: Strip A: Calprotectin 50 NEGATIVE. A **green** control line appears across the central window in the site marked with the letter C (control line). **Strip B: Calprotectin 200 POSITIVE.** Besides the **green** control line, a second **red** one (Calprotectin 200 test line) appears in the site marked with the letter T (result region).

INVALID: Total absence of the **green** control colored band in one or both Tests (A/B) regardless the appearance or not of the **red** test line in one or both Tests (A/B). Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor. See illustration 3.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured test lines in the test lines (T) in the results windows will vary depending on the concentration of human calprotectin present in the specimen.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test:

- Green lines appearing in the control lines regions (C). It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

- 1 Calprotectin 50+200 MonlabTest® will only indicate the presence of calprotectin in different concentrations in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of calprotectin in feces specimens only.
- 2 An excess of sample could cause wrong results (brown lines appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
- 3 Some stool samples can decrease the intensity of the control lines.
- 4 Stool from patients with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) treatment might show positive result.
- 5 Neonatal fecal calprotectin levels have been reported higher than those in normal children with a mean of 167µg/g.
- 6 Patients' stool suffering from active inflammatory bowel disease, usually involve significant neutrophilic inflammation of the intestine, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, would be positive for fecal calprotectin. Calprotectin 50+200 MonlabTest® could be sensitive for this diagnosis in patients with chronic diarrhea.
- 7 Positive results confirm the presence of human calprotectin in fecal samples. Nevertheless, it can also be due to several causes such as Inflammatory Bowel Disease, colorectal cancer and some other enteropathies. A positive result should be followed up with additional diagnostic invasive procedures, colonoscopy and biopsy in order to confirm the diagnosis and establish the inflammation extent.
- 8 Negative results do not exclude inflammation. Some diseases such as celiac sprue and microscopic colitis polyps may mainly involve mononuclear inflammation.

EXPECTED VALUES

Higher levels of calprotectin in the stool are associated with an increased risk of relapse in patients with inflammatory bowel disease (IBD). Some studies established equal or higher 50µg hCP/g feces as cut-off value to allow detect adult patients with GI inflammatory problems.

The clinical course of inflammatory bowel disease is characterized by a succession of relapses and remissions. Some studies established equal or higher 200µg hFCP/g feces as cut-off value to allow predict clinical relapse of disease activity in patients with Ulcerative Colitis and in Crohn's Disease and detect some neonatal patients (higher levels than

normal children) with gastrointestinal inflammatory pathology that will require to diagnosis additional diagnostic invasive procedures.

Fecal calprotectin level evolution in individuals showed that fecal calprotectin level can predict rejection days before histopathological diagnosis.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Cut-off value

Cut-off value test is 500ng/mL (50µghCp/g feces) for human calprotectin in strip A and 2000ng/mL (200µg hCp/g feces) for human calprotectin in strip B.

Sensitivity and Specificity

An evaluation was conducted comparing the results obtained using the Calprotectin 50+200 MonlabTest® to a commercial available assay: Calprest®Eurospital.

Calprotectin 50+200 MonlabTest® was highly specific >93% and also highly sensitive >94% to compared with the results of that membrane assay.

Cross-Reactivity

It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of Calprotectin 50+200 MonlabTest®. There is not cross reactivity with common gastrointestinal pathogens occasionally present in feces.

Bovine and pig hemoglobin	Human hemoglobin
Bovine and pig transferrin	Human lactoferrin
Bovine lactoferrin	Human transferrin

REFERENCES

- VIEIRA, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
- HANAI, H. et al. «"Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
- BONNIN TOMAS, A, et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
- Angriman I. et al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68.
- Langhorst, M.D. et al. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Fecal Lactoferrin, Calprotectin and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. Am. J. Gastroenterol. 2008; Vol 103, p. 162-169.
- Tibble JA., et al., "Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease". Gastroenterology, Vol 119 (1), Jul 2000, p. 15-22.
- Gisbert J.P. et al. "Utilidad de la calprotectina y lactoferrina fecal en la predicción de la recidiva de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)". Gastroenterología y Hepatología, Vol. 32, Issue 3, March 2009, p. 226-227.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by



Calprotectin 50+200 MonlabTest®



MO-804019 20 TESTS

IVD

Test rápido para la detección de Calprotectina en heces

Test rápido para la detección cualitativa de Calprotectina en muestras de heces.

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Calprotectin 50+200 MonlabTest® es un test rápido inmunocromatográfico (ensayo no invasivo) para la detección cualitativa de calprotectina en muestras de heces humanas, presentando unos valores de cut-off para A: 50µg/g heces y para B: 200µg/g heces.

RESUMEN

La calprotectina es una proteína del citosol de los neutrófilos con propiedades antimicrobianas, que se encuentra presente en las heces en una concentración muy elevada durante la inflamación intestinal. La proteína una vez liberada hasta su degradación se mantiene estable a temperatura ambiente durante 7 días en las heces, siendo por ello un analito ideal.

La calprotectina se libera por activación de los leucocitos, lo que conlleva un aumento de su nivel en plasma, en líquido cerebro-espinal, en líquido sinovial, en orina y heces como consecuencia de una enfermedad asociada al órgano u órganos correspondientes.

Esta proteína inhibe el sistema enzimático dependiente del zinc, ocasionando con ello la muerte de ciertos microbios e induciendo la apoptosis de células sanas y cancerígenas. La calprotectina en presencia de calcio es extremadamente resistente a la degradación proteolítica (proteólisis), y por ello es tan estable en las heces almacenadas a temperatura ambiente durante 7 días.

Este es un marcador no invasivo de la inflamación intestinal (por ejemplo, en la colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn).

PRINCIPIOS

Calprotectin 50+200 MonlabTest® es un inmunoensayo cualitativo para la detección de calprotectina humana en muestras de heces. En la membrana del Test A se han fijado unos anticuerpos frente a calprotectina humana y en la membrana del Test B se han fijado unos anticuerpos frente a calprotectina humana en la zona de la línea de test. Durante el proceso, la muestra reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-calprotectina humana en el Test A y/o con anticuerpos anti-calprotectina humana en el Test B, formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de que se dé un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en las membranas reaccionarán con el conjugado y aparecerán unas líneas rojas. Una línea verde siempre debe verse en la zona de la línea de control ya que sirve como verificación de que el volumen de muestra añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar tras la fecha de caducidad.
- El test debe estar en su envase sellado hasta el momento de usarlo.
- No utilizar el test si el envase se encuentra dañado.
- Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, no comer, ni beber o fumar en la zona de realización del ensayo.
- Todas las muestras deben ser consideradas como potencialmente peligrosas y manipuladas de la misma forma que si se tratase de un agente infeccioso.
- El test debería desecharse en un contenedor de residuos sanitarios tras su utilización.
- La prueba debería ser realizada durante las dos horas posteriores a la apertura del envase.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). El test se conservará intacto hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No conviene congelar.

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO
<ul style="list-style-type: none"> - 20 Tests - Instrucciones de uso - 20 Viales de muestra con diluyente 	<ul style="list-style-type: none"> - Envase para la toma de muestras - Guantes desechables - Cronómetro

TOMA DE MUESTRA Y PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestra de heces (1-2g o mL para muestras líquidas). Las muestras de heces deberían ser almacenadas en un envase limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/36-46.4°F) durante 7 días antes de usarse. Para una conservación más larga, como máximo 6 meses, deberían congelarse a -20°C/-4°F. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

PROCEDIMIENTO

Para procesar las muestras de heces (ver dibujo 1):

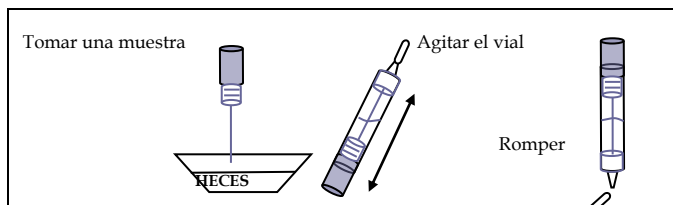
Utilice un vial para muestra de diluyente diferente para cada muestra. Desenrosque la parte de arriba del vial e introduzca el stick cuatro veces en la muestra de heces para tomar la muestra. Cierre el vial con el diluyente y la muestra. Este vial con la muestra puede conservarse hasta 7 días (2-8°C/36-46.4°F). Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas, utilice una pipeta y añada aprox. 15µL en el vial para muestra con diluyente.

Procedimiento (ver dibujo 2)

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

1. Sacar Calprotectin 50+200 MonlabTest® de su envase sellado y usarlo tan pronto como sea posible.
2. Agitar el vial con la muestra para asegurarse de una buena dispersión. Romper la parte de arriba del vial.
3. Usar un test diferente para cada muestra. Dispense 4 gotas en el pocillo de muestra (S) del test A y dispense 4 gotas en el pocillo de muestra del Test B utilizando el mismo vial. Ponga en marcha el cronómetro.
- 4.- Leer el resultado a los 10 minutos tras dispensar la muestra.

Dibujo 1



Dibujo 2

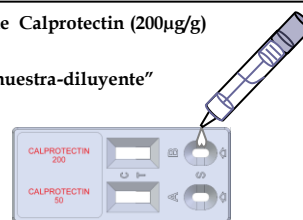
Test A Procedimiento de Calprotectin (50µg/g)

4 gotas de la mezcla "muestra-diluyente"



Test B Procedimiento de Calprotectin (200µg/g)

4 gotas de la mezcla "muestra-diluyente"



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Dibujo 3

	Marcador de Calprotectin negativo, (<50µg/g) no está presente en la muestra del paciente		Marcador de Calprotectin positivo, (>50µg/g y <200µg/g).
	Marcador de Calprotectin positivo, (>200µg/g) está presente en la muestra del paciente		Resultado inválido: Si B es positivo, A tiene que ser positivo también.

INVALIDOS: Test A: Calprotectin 50 NEGATIVO. Una línea de control **verde** aparece en la ventana central marcada con la letra C (línea de control). **Test B: Calprotectin 200 POSITIVO.** Además de la línea de control **verde**, aparece una segunda línea **roja** (línea de test de Calprotectin 200) en la zona marcada con la letra T (zona de resultados).

INVALIDOS: Ausencia total de la línea de control de color **verde** en uno o ambos Tests (A/B) a pesar de que aparezcan o no la línea **roja** en la zona de resultados de uno o ambos Tests (A/B). Nota: un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o un deterioro de los reactivos podrían ser la causa de la no aparición de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests y contacte con su distribuidor.

NOTAS DE AYUDA EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La intensidad de las líneas rojas de las zonas de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de calprotectina humana que se encuentre en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en el test:

- Las líneas verdes que aparecen en las zonas de control (C). Estas líneas confirman que el volumen añadido de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- 1 Calprotectin 50+200 MonlabTest® indicará únicamente la presencia de calprotectina en la muestra de heces (detección cualitativa) y solamente debería usarse para este fin.
- 2 Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico, o ausencia de la línea de control.
- 3 Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
- 4 Heces de pacientes que sigan un tratamiento con anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) podrían dar resultados positivos.
- 5 Se ha determinado que los niveles normales de calprotectina fecal neonatales están más elevados que en niños con una media de 167µg/g.
- 6 Los pacientes con enfermedad inflamatoria neutrofílica intestinal, por ejemplo Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerativa, deberían mostrar resultado positivo para calprotectina fecal. Calprotectin 50+200 MonlabTest® puede ser usado en pacientes con diarrea crónica.
- 7 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 colorrectal y algunas enteropatías). 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.
- 8 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.

VALORES ESPERADOS

El curso clínico de la enfermedad inflamatoria intestinal se caracteriza por una sucesión de recaídas y remisiones. Algunos estudios establecieron un valor de cut-off igual o superior a 200µg hCp/g de heces como valor de corte para permitir predecir la recaída clínica de la actividad de la enfermedad en pacientes con colitis ulcerosa y

enfermedad de Crohn y, también para detectar algunos pacientes neonatos (niveles más altos que los niños normales), con patología gastrointestinal inflamatoria que son requeridos para el diagnóstico adicional de otros procedimientos diagnósticos invasivos.

El nivel de calprotectina fecal en pacientes con enfermedades intestinales mostró que el nivel de calprotectina fecal puede predecir las recaídas incluso días antes del diagnóstico histopatológico.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Valor de cut-off

El valor de cut-off del test es 500ng/mL (50µg hCp/g heces) para calprotectina humana en el Test A y 2000ng/mL (200µg hCp/g heces) para calprotectina humana en el Test B.

Sensibilidad y Especificidad

Se realizó una evaluación usando Calprotectin 50+200 MonlabTest®. Calprotectin 50+200 MonlabTest® fue evaluado comparándolo con otro test comercial (Calprest®, Eurospital).

Sensibilidad >94% y especificidad >93%.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas de Calprotectin 50+200 MonlabTest®. No existen reacciones cruzadas con otros marcadores fecales presentes en las heces.

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

BIBLIOGRAFÍA

- VIEIRA, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
- HANAI, H. et al. "Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
- BONNIN TOMAS, A, et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
- Angriman I. et al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68.
- Langhorst, M.D. et al. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Fecal Lactoferrin, Calprotectin and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. Am. J. Gastroenterol. 2008; Vol 103, p. 162-169.
- Tibble JA., et al., "Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease". Gastroenterology, Vol 119 (1), Jul 2000, p. 15-22.
- Gisbert J.P. et al. "Utilidad de la calprotectina y lactoferrina fecal en la predicción de la recidiva de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII)". Gastroenterología y Hepatología, Vol. 32, Issue 3, March 2009, p. 226-227.

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

- Fabricante
- No reutilizar
- Contiene suficiente para <n> test
- Código
- Número de lote
- Uso de diagnóstico *in vitro*
- Consultar las instrucciones de uso
- Mantener seco
- Límite de temperatura
- Fecha de caducidad

