



- REVISTA DE -

# MEDICINA DE LABORATORIO

**Estudio comparativo entre  
diferentes métodos para la  
determinación de la calprotectina  
fecal**

**Comparative study between  
different methods for the  
determination of fecal  
calprotectin**

10.20960/revmedlab.00015

**OR 00015**

## **Estudio comparativo entre diferentes métodos para la determinación de la calprotectina fecal**

*Comparative study between different methods for the determination of fecal calprotectin*

Rocío Cabra-Rodríguez<sup>1</sup>, Miguel Ángel Castaño López<sup>2</sup>, Ana María Serrano Mira<sup>3</sup>, Antonio León-Justel<sup>4</sup>, Ignacio Vázquez Rico<sup>3</sup>, Juan María Vázquez Morón<sup>3</sup>, Francisco Navarro Roldán<sup>5</sup>

<sup>1</sup>UGC Centro de Salud El Cachorro. Distrito Sanitario Sevilla. Sevilla.

<sup>2</sup>UGC de Análisis Clínicos. Hospital Comarcal Infanta Elena. Huelva.

<sup>3</sup>UGC de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez.

Huelva. <sup>4</sup>UGC de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Virgen

Macarena. Sevilla. <sup>5</sup>Departamento de Ciencias Integradas de Biología

Celular. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva.

Huelva

Recibido: 31/03/2020

Aceptado: 25/01/2021

Correspondencia: Rocío Cabra Rodríguez. UGC Centro de Salud Alamillo. Distrito Sanitario Sevilla. Sevilla

e-mail: rocarod@hotmail.com

*Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.*

### **RESUMEN**

**Introducción:** la calprotectina fecal (CPF) es un marcador fiable de inflamación de la mucosa. El objetivo del presente estudio fue comparar los métodos de análisis de CPF.

**Material y método:** se determinó CPF en 160 muestras. El método de BÜHLMANN® ELISA se comparó con otros 4: Quantum Blue® (inmunocromatografía), IDK® ELISA, BÜHLMANN fCAL® turbo (turbidimetría) y LIAISON® CPF (quimioluminiscencia). La comparación estadística se realizó mediante estudio Passing-Bablok (PB) y coeficiente de Lin.

**Resultados:** para el estudio de comparación de BÜHLMANN® ELISA frente al método cromatográfico Quantum Blue®, el coeficiente de correlación de concordancia Lin fue 0,9870 (IC 95 %: 0,9822 a 0,9905) y la regresión de PB indica que no hay diferencias sistemáticas ni proporcionales. Al comparar los dos métodos ELISA, BÜHLMANN® ELISA e IDK® ELISA, el coeficiente de Lin fue 0,7988 (IC 95 %: 0,6419 a 0,8915) y el PB muestra que hay diferencias proporcionales pero no sistemáticas. El coeficiente de Lin resultante del estudio comparativo entre los métodos BÜHLMANN® ELISA y BÜHLMANN fCAL® turbo fue de 0,5696 (IC del 95: 0,4632 a 0,6599), y el PB nos indica que hay diferencias sistemáticas pero no proporcionales. Finalmente, para BÜHLMANN® ELISA y LIAISON® CPF se obtuvo un coeficiente de Lin de 0,9740 (IC 95 %: 0,9637 a 0,9814) mientras que en el PB se observan diferencias sistemáticas y proporcionales.

**Conclusiones:** dadas las diferencias encontradas entre los diferentes métodos, el método BÜHLMANN® ELISA solo puede intercambiarse con el Quantum Blue® cromatográfico. Por lo tanto, se requieren más esfuerzos para lograr una estandarización de los ensayos de CPF.

**Palabras clave:** Calprotectina. Método. Correlación.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** calprotectin (CPF) is a reliable marker of mucosal inflammation. The objective of this study was to compare CPF analysis methods.

**Material and method:** CPF was determined in 160 samples. The method of BÜHLMANN® ELISA was compared with another 4: Quantum Blue® (immunochromatography), IDK® ELISA, BÜHLMANN fCAL® turbo (turbidimetry) and LIAISON® CPF (chemiluminiscence). The statistical comparison was performed by Passing-Bablok study (PB) and Lin coefficient.

**Results:** for the comparison study of BÜHLMANN® ELISA *versus* the Quantum Blue chromatographic method®, the Lin match correlation coefficient was 0.9870 (CI 95 %: 0.9822 to 0.9905) and PB indicates that there are no systematic or proportional differences. When comparing the two ELISA methods, BÜHLMANN® ELISA and IDK® ELISA, Lin coefficient was 0.7988 (95 % CI: 0.6419 to 0.8915) and PB shows that there are proportional but non- systematic differences. Lin's coefficient resulting from the comparative study between the methods BÜHLMANN® ELISA and BÜHLMANN fCAL® turbo was 0.5696 (95: 0.4632 to 0.6599 IC), while with PB it tells us that there are systematic but not proportional differences. Finally, for BÜHLMANN® ELISA and LIAISON® CPF, a Lin coefficient of 0.9740 (95 % CI: 0.9637 to 0.9814) was obtained but PB indicates that it has systematic and proportional differences.

**Conclusions:** the differences between the different methods only made possible to interchange BÜHLMANN® ELISA with Quantum Blue® cromatographic method. Therefore, more effort is required to achieve standardization of CPF tests.

**Keywords:** Calprotectin. Method. Correlation.

## INTRODUCCIÓN

La calprotectina (CPF) es una glicoproteína de 36 kDa de la familia de las lipocalinas que transporta moléculas hidrofóbicas. Fue descrita por primera vez en 1980 por Fagerhol y cols. y se encuentra en el citoplasma de las células implicadas en el proceso inflamatorio, como

son los neutrófilos (donde representa el 60 % de las proteínas de su citosol), los monocitos y los macrófagos activados (1,2).

La aparición de CPF se relaciona con la migración de neutrófilos hacia la mucosa intestinal durante el proceso inflamatorio. Esta inflamación intestinal se acompaña de migración de estas células a la luz intestinal; de este modo, la concentración de CPF es directamente proporcional al número de neutrófilos en la luz intestinal (3,4).

El método de referencia en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es la ileocolonoscopia con toma de muestras histológicas. Sin embargo, los procedimientos de endoscopia y preparación del intestino son caros, consumen mucho tiempo y presentan molestias para el paciente por ser una técnica invasiva (4).

En los últimos años, la búsqueda de parámetros bioquímicos en plasma y heces para la detección de inflamación intestinal, ha sido todo un reto, sin embargo, la CPF se ha convertido en una herramienta de diagnóstico muy demandada en la evaluación de la actividad de la EII (5,6). En la actualidad, es considerada el mejor marcador para el diagnóstico diferencial entre la enfermedad intestinal orgánica (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn) y la enfermedad intestinal funcional (colon irritable) (4). Se eleva significativamente en enfermedad inflamatoria intestinal orgánica, mientras que, no se encuentra elevada en pacientes con enfermedad intestinal funcional (5-7).

Los niveles de CPF varían en función de la edad. La CPF se eleva significativamente en neonatos y descienden durante las primeras semanas hasta los 4 años, cuando los niveles ya son comparables a los de los adultos, por lo tanto, los valores de referencia fijados para los niños mayores de 4 años son similares a los encontrados en los adultos (8,9). No existen diferencias de concentración entre sexos. No obstante, los niveles de CPF pueden mostrar variaciones notables en muestras realizadas en días consecutivos en pacientes sin enfermedad intestinal (10).



En 2014, Lin y cols. publicaron un metaanálisis en el que analizaban 13 estudios: 5 estudios basados en cuantificación de CPF mediante ELISA y el resto mediante Inmunoensayo enzimático de absorbanza para la determinación cuantitativa, diseñado por la “Calprotestin Company”. Obtuvieron un punto de corte de 50  $\mu\text{g/g}$  con una sensibilidad del 92 % y una especificidad del 60 %. La sensibilidad disminuía hasta un 80 % y aumentaba la especificidad hasta un 82 % cuando el punto de corte era de 250  $\mu\text{g/g}$ . Dicho estudio concluía que la CPF era un marcador fiable para la evaluación de la actividad de la EI, observando una mayor precisión en colitis ulcerosa que en enfermedad de Crohn (11).

El límite superior de referencia de CPF está establecido, según la ficha técnica de las distintas casas comerciales para los diferentes métodos, en CPF de 50-100  $\mu\text{g/g}$  (12,13). Sin embargo, a día de hoy, no existe un consenso en el punto de corte óptimo de CPF para establecer actividad endoscópica de la enfermedad.

La CPF se considera un marcador fiable de inflamación mucosa que se correlaciona bien con varios de los índices de actividad endoscópicos, entre los que se encuentra el SES-CD colónico (14). Asimismo, es capaz de discriminar la actividad inflamatoria valorada por endoscópica, siendo de utilidad para monitorizar la respuesta al tratamiento y predecir el riesgo de recidiva (14).

Según las recomendaciones de ECCO-ESGAR (Guideline for Diagnostic Assessment in Inflammatory Bowel Disease) (15), se puede obtener una buena precisión diagnóstica para la práctica clínica con un valor de corte de 150  $\mu\text{g/g}$ , pese a no existir un valor de corte exacto. Para el seguimiento, según recoge la guía “ACG Clinical Guideline: Management of Crohn’s Disease in Adults”, para monitorizar a los pacientes tras la resección ileocólica postoperatoria para la enfermedad de Crohn, los niveles de  $> 100 \mu\text{g/g}$  indican recurrencia endoscópica con una sensibilidad del 89 % y en pacientes con una remisión inducida por infliximab, la CPF  $> 160 \mu\text{g/g}$  tiene una

sensibilidad del 91,7 % y una especificidad del 82,9 % para predecir la recaída (16).

Actualmente encontramos disponibles distintos métodos de medida para la cuantificación de CPF, tales como enzimoimmunoanálisis (ELISA), turbidimetría, quimioluminiscencia e inmunocromatografía, sin embargo, existe una falta de estandarización en general entre los diferentes ensayos para la determinación de CPF. Los anticuerpos usados para su determinación pueden ser monoclonales o policlonales, siendo los primeros los que tienen una mayor sensibilidad y especificidad (11).

Estos métodos carecen de un patrón internacional que propicie una homogeneidad de los ensayos entre las diferentes casas comerciales (17-19).

### **Objetivo**

El objetivo del presente estudio ha sido, comparar el método de CPF BÜHLMANN® ELISA, frente a Quantum Blue® (inmunocromatografía), IDK® ELISA, BÜHLMANN fCAL® turbo (turbidimetría) y LIAISON® CPF (quimioluminiscencia) con el fin de establecer la correlación entre el método BÜHLMANN® ELISA y los otros métodos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó la determinación de CPF en 160 muestras mediante BÜHLMANN® ELISA, Quantum Blue® (inmunocromatografía de flujo lateral), IDK® ELISA (enzimoimmunoanálisis), BÜHLMANN fCAL® turbo (turbidimetría) y LIAISON® CPF (inmunoensayo quimioluminiscente).

Los pacientes con EII fueron reclutados en la consulta de la Unidad de Digestivo de nuestro hospital, informándoles del estudio y dando su consentimiento verbal a participar en el mismo. Se les facilitó un único contenedor de heces estéril para la recogida de la muestra. Una vez en el laboratorio, se procedió a realizar la extracción en sus correspondientes dispositivos según las recomendaciones del

fabricante, conservándose todas las muestras a -80 °C hasta el momento de su análisis.

Para la realización de los procedimientos analíticos de las muestras de CPF se siguieron estrictamente las instrucciones de todos los fabricantes. Las muestras fueron analizadas por duplicado y durante todo el estudio se utilizó en mismo número de lote de reactivo para cada método empleado.

Se realizó un estudio comparativo siguiendo las recomendaciones descritas por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), en la guía EP09-A2-IR (20-22), que permite la evaluación y la comparación de dos métodos que midan el mismo analito, utilizando muestras de pacientes, siempre que uno de los dos sea el método de referencia o el método habitual del laboratorio (23,24).

Se estudió la reproducibilidad de los duplicados. Para cada método empleado, se calculó el promedio de las medidas por duplicado ( $(x_{i1} + x_{i2})/2$ ) y las diferencias absolutas de estas ( $DX_i = |x_{i1} - x_{i2}|$ ). Los límites de aceptabilidad entre duplicados correspondieron al promedio de las diferencias multiplicado por 4 (24,25).

En este estudio de evaluación de métodos, se utilizó como referencia BÜHLMANN® ELISA, por ser el método habitual disponible en nuestro laboratorio y sobre el que se habían realizado estudios previos de verificación.

## **Métodos**

Las características de los distintos métodos empleados se muestran en la tabla I. Se describen a continuación.

### ***Método BÜHLMANN® de ELISA (Palex)***

Se trata de un ensayo de inmunoenzimología que permite la medición selectiva de CPF mediante un ensayo tipo sándwich. La placa de microtitulación de ELISA está recubierta con un anticuerpo de captura monoclonal (mAb) altamente específico para los complejos poliméricos y heterodiméricos de CPF.



Para este método se empleó el dispositivo de extracción BÜHLMANN Calex Cap® que consigue obtener una dilución de 1:500 con la muestra de heces (50-100 mg). Para la realización del ensayo se utilizaron de 50-150 µL de extracto obtenido.

La duración aproximada del ELISA fue de 2 horas. Para ello, se usó la plataforma Triturus® (Grifols) con un único rango de medida de 10-1800 µg/g.

#### ***Método IDK® ELISA CPF (Inmunodiagnostik)***

Se trata de un enzimoimmunoanálisis tipo sándwich que emplea dos anticuerpos monoclonales que se unen a la CPF, diseñado para la cuantificación de la misma.

El extractor utilizado para el método IDK® ELISA fue IDK Extract® 2,5x (1:100) que consigue una dilución con las muestras de 1:25, empleándose para la realización del ensayo de 50-150 µL del extracto.

La duración aproximada del proceso fue de 2 horas. El ensayo se realizó de forma automatizada en la plataforma Triturus (Grifols) con un único rango de medida de 30-1800 µg/g.

#### ***Método Quantum Blue® CPF (Palex)***

Se trata de un método rápido inmunocromatográfico que se basa en la determinación selectiva del antígeno de CPF mediante un inmunoanálisis tipo sándwich, en el que participa un anticuerpo monoclonal conjugado con oro coloidal.

El extractor empleado fue ScheBo® Quick-Prep que contienen 1,3 ml del tampón de extracción con una dilución 1:50. El volumen del extracto para la realización del ensayo fue 60-80 µL.

La duración de este inmunoensayo fue alrededor de los 12-15 minutos, la lectura del casete se realizó en el Quantum Blue Reader (Palex), instrumento para el análisis de pruebas colorimétricas mediante reflectometría para la obtención de resultados cuantitativos.

El método Quantum Blue® proporciona dos rangos de medidas: rango alto (100-1800 µg/g) y rango bajo (30-100 µg/g). Se utilizó para cada una de las muestras el más adecuado en función de una primera medición.

#### ***Método LIAISON® CPF (Diasorin)***

Se trata de un inmunoensayo quimioluminiscente cuantitativo tipo sándwich que utiliza anticuerpos monoclonales (para Subunidad S100A9).

Se usaron los extractores específicos CPF Stool Extraction Device (DiaSorin, LIAISON®). Para la realización del ensayo se emplearon 5 µL de extracto.

Este inmunoensayo tiene una duración aproximada de 35 minutos. El ensayo se procesó de forma automatizada en la plataforma LIAISON® and LIAISON® XL y el rango de medición fue de 5 a 800 µg/g, con posibilidad de diluciones automáticas para mediciones hasta los 8000 µg/g.

#### ***Método BÜHLMANN fCAL® turbo (Palex)***

Este método se basa en un inmunoanálisis turbidimétrico mejorado con partículas (PETIA). Los extractos se incubaron con tampón de reacción y se mezclaron con nanopartículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos anticalprotectina (inmunopartículas).

Se empleó el dispositivo de extracción BÜHLMANN Callex Cap®, con una dilución del extracto de 1:500. Fueron necesarios para la realización del ensayo 10 µL del extracto.

La duración del procedimiento fue de aproximadamente de 10 minutos. Las muestras fueron procesadas en la plataforma cobas 6000 c501 (Roche) con un rango de medición de 20 a 8.000 µg/g.

Tabla I. Características principales de los diferentes Métodos comparados

	Tipo de método	Anticuerpo empleado	Dispositivo de extracción	Volumen del extracto	Plataforma de trabajo	Rango de medida	Duración
<b>BÜHLMANN® ELISA (Palex)</b>	ELISA (sándwich)	Ac. monoclonal de captura y detección	BÜHLMANN Calex Cap® (Palex)	50-150 µl	Triturus® (Grifols)	10-1800 µg/g	2 horas
<b>Quantum Blue® (Palex)</b>	Inmunocromatografía	Ac. monoclonal	ScheBo® Quick-Prep (Palex)	60-80 µl	Quantum Blue Reader (Palex)	100-1800 µg/g y 30-100 µg/g	12-15 minutos
<b>IDK® ELISA (Inmunodiagnóstico)</b>	ELISA (sándwich)	Ac. monoclonal de captura y detección	IDK Extract® 2,5x (Inmunodiagnóstico)	50-150 µl	Triturus® (Grifols)	30-1800 µg/g	2 horas
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo (Palex)</b>	Turbidimetría	Inmunopartículas Ac. policlonal de detección	BÜHLMANN Calex Cap® (Palex)	10 µl	Cobas 6000 c501 (Roche)	20 a 8.000 µg/g	10 minutos
<b>LIAISON® CPF (Diasorin)</b>	CLIA	Ac. monoclonal para Subunidad S100A9	CPF Stool Extraction Device (DiaSorin, LIAISON®)	5 µl	LIAISON® and LIAISON® XL	5 a 800 µg/g (8000 µg/g)	35 minutos

ELISA: enzimoimmunoanálisis; Ac: anticuerpo; CLIA: inmunoensayo quimioluminiscente; CPF: calprotectina fecal.

## **Análisis estadístico**

Para las comparaciones de ELISA BÜHLMANN (Palex) respecto a cada uno de los otros métodos estudiados se realizó un estudio de PB y se calculó el coeficiente de correlación de Lin, como índice de acuerdo absoluto.

Para el PB y la generación de gráficos se utilizó el Software R versión 2.12.2, junto con la interfaz R-commander, proyecto R de la Universidad de Cádiz y el *software* Medcalc® versión 11.0.

El coeficiente de correlación de concordancia de Lin se calculó con el software Medcalc®. Las medidas resultantes por debajo del límite de cuantificación (LoQ) de alguno de los 5 métodos quedaron excluidas del análisis estadístico.

## **RESULTADOS**

De las 160 muestras procesadas, se excluyeron 11 debido al distinto LoQ para dichos métodos, en los que se fijaba un punto de corte determinado.

Los resultados obtenidos del coeficiente de correlación de concordancia de Lin, los valores de la ordenada en origen y la pendiente del método de regresión de PB y sus correspondientes intervalos de confianza se muestran en la tabla II y la figura 1.

Observamos en nuestro estudio, de forma general, tres valores *outliers*, que no se pudieron eliminar siguiendo los criterios de REED (25,26).

Con el método BÜHLMANN® ELISA y Quantum Blue® obtuvimos un coeficiente de correlación de concordancia Lin de 0,9870 (IC 95 %: 0,9822 a 0,9905). Con el método de regresión de PB no se observaron diferencias sistemáticas o proporcionales entre los dos métodos.

Para los dos métodos de ELISA, BÜHLMANN® ELISA e IDK® ELISA, el coeficiente de correlación de concordancia de Lin fue 0,7988 (IC 95 %: 0,6419 a 0,8915). El método de PB mostró que existían diferencias proporcionales entre los dos métodos, al no incluir el 1 el intervalo de confianza de la pendiente.

Para el estudio comparativo entre el método BÜHLMANN® ELISA y BÜHLMANN fCAL® turbo se obtuvo un coeficiente de correlación de concordancia de Lin de 0,5696 (IC del 95 %: 0,4632 a 0,6599). El método de PB demostró una diferencia sistemática entre los dos métodos, ya que el intervalo de confianza de la ordenada en origen no incluía el 0.

Finalmente, se obtuvo un coeficiente de correlación de concordancia de Lin de 0,9740 (IC del 95 %: 0,9637 a 0,9814) para BÜHLMANN® ELISA y LIAISON® CPF. Sin embargo, el método de PB indicaba que había una diferencia sistemática y proporcional entre los dos métodos, ya que el intervalo de confianza de la ordenada en el origen no incluía el 0, ni el intervalo de confianza de la pendiente el 1.

Por tanto, los coeficientes de Lin de las distintas comparaciones detectaron un grado de concordancia (0,95-0,99) entre BÜHLMANN® ELISA con Quantum Blue® y LIAISON® CPF, sin embargo, el grado de concordancia, de BÜHLMANN® ELISA con BÜHLMANN fCAL® turbo e IDK® ELISA fue pobre (< 0,90).

Tabla II. Resultados del estudio comparativo de BÜHLMANN® ELISA con otros 4 métodos para la medición de CPF

	<b>Passing- Bablok (n = 149)</b>	<b>Coeficiente de correlación de concordancia Lin (n = 149)</b>	<b>Rango</b>	<b>Mediana</b>



<b>Método de comparación con BÜHLMANN® ELISA</b>	Ordenada en el origen (IC 95 %)	Pendiente (IC 95 %)	Coeficiente Lin (IC 95 %)	µg/g	µg/g
<b>BÜHLMANN® ELISA</b>				11-7662	485
<b>Quantum Blue® (cromatografía)</b>	-6,5316 (-14,2945 a 6,4897)	0,9790 (0,9040 a 1,0136)	0,9870 (0,9822 a 0,9905)	30-7566	480
<b>IDK® ELISA</b>	13,9033 (-8,1436 a 36,234)	1,2547 (1,1293 a 1,7174)	0,7988 (0,6419 a 0,8915)	9,3-1800	133
<b>BÜHLMANN fCAL® turbo (turbidimetría)</b>	-49,3734 (-58,722 a -41,301)	1,0563 (0,9825 a 1,1242)	0,5696 (0,4632 a 0,6599)	11-1438	91,6
<b>LIAISON® CPF (quimiluminiscencia)</b>	-11,0232 (-16,645 a -0,2022)	0,4512 (0,3370 a 0,5462)	0,9740 (0,9637 a 0,9814)	5-1800	590

n: número de muestras; IC: intervalo de confianza; rango: rango de las muestras estudiadas por este método.

## DISCUSIÓN

La CPF es un marcador biológico que podemos medir en el laboratorio de forma rutinaria, siendo de gran importancia en el diagnóstico, seguimiento y la toma de decisiones en pacientes con EII (27,28).

Para el diagnóstico diferencial de la EII y pese a que no hay consenso en el punto de corte, la recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU) sobre la utilidad de la determinación de CPF en la EII, propone que valores de CPF < 50-100 µg/g hacen muy improbable la presencia de inflamación intestinal y permitirían obviar colonoscopias diagnósticas (29).

Con nuestros resultados podemos concluir que el método Quantum Blue® fue el que mostró mayor grado de concordancia con el método BÜHLMANN® ELISA para la determinación de CPF (coeficiente de Lin de 0,9870) y ambos métodos pueden ser intercambiables ya que no se observan diferencias sistemáticas ni proporcionales entre ellos.

El Quantum Blue® es un test rápido, que puede emplearse como “test a la cabecera del paciente”, ya que realiza cada análisis de forma individualizada en 12-15 minutos. Esto permite obtener resultados sin necesidad de acumular muestras para la realización del estudio, como ocurre con los ELISA, por lo que es una opción válida para laboratorios con poco volumen de muestras o departamentos clínicos en los se necesita dar una respuesta rápida para el seguimiento del paciente (27,28).

Los métodos de CPF BÜHLMANN® ELISA y IDK® ELISA se basan en un mismo tipo de ensayo, por lo que esperábamos que existiera una buena correlación entre ellos. Sin embargo observamos un grado de concordancia pobre, lo que está en línea con lo encontrado en el estudio del Servicio Nacional de Evaluación de Calidad Externa del Reino Unido, que reveló diferencias de hasta 3,8 veces entre ELISA de diferentes fabricantes (30).

BÜHLMANN® ELISA y BÜHLMANN fCAL® turbo pertenecen a una misma casa comercial (Palex), al igual que Quantum Blue®, por lo que esperábamos encontrar una buena correlación también con estos dos métodos, máxime cuando BÜHLMANN® ELISA y BÜHLMANN fCAL® turbo emplean un mismo dispositivo de extracción. Sin embargo, la comparación de BÜHLMANN® ELISA con BÜHLMANN fCAL® turbo fue la que mostró un menor coeficiente de Lin (0,5696), por lo que no son intercambiables.

El método LIAISON® CPF presentó siempre valores absolutos más bajos que BÜHLMANN® ELISA, esto puede ser debido a que la metodología empleada es distinta y a que cada método emplea un extractor específico y diferente en su composición.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio coinciden con el estudio de Labaere y cols., donde tras evaluar la correlación cuantitativa entre 6 métodos de CPF, mostraron coeficientes de correlación de moderados a excelentes, sin embargo, al realizar el análisis de regresión, observaron diferencias significativas (hasta 5 veces) (4). Las diferencias encontradas en nuestro trabajo entre los distintos métodos pueden ser debidas no solo a la diferente metodología, sino también a la fase preanalítica. Los distintos extractores de cada casa comercial tienen composiciones diferentes que desconocemos, diferentes protocolos de extracción, y los métodos emplean distinto volumen de extracto (Tabla I), circunstancias que pueden repercutir directamente en los resultados de nuestro estudio.

## **CONCLUSIONES**

Actualmente, existen comercializados una amplia variedad de métodos para la determinación de CPF. Cada método difiere en su forma de procesamiento, ensayo y condiciones de almacenamiento y usa extractores diferentes, de los que se desconoce su composición. Como se demuestra con los resultados obtenidos de nuestro estudio, solo puede intercambiarse con BÜHLMANN® ELISA el método Quantum Blue®. Se requieren más esfuerzos para conseguir una estandarización global de los ensayos de CPF, ya que las guías y recomendaciones hacen referencia a los mismos valores de referencia, independientemente del ensayo utilizado para su determinación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:661-5. DOI: 10.1097/00054725-200409000-00026
2. Bjerke K, Halstensen TS, Jahnsen F, Pulford K, Brandtzaeg P. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human 69 Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut* 1993;34:1357-63. DOI: 10.1136/gut.34.10.1357
3. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006;55:426-31. DOI: 10.1136/gut.2005.069476
4. Labaere D, Smismans A, Van Olmen A, Christiaens P, D'Haens G, Moons V, et al. Comparison of six different calprotectin assays for the assessment of inflammatory bowel disease. *United European Gastroenterol J* 2014;2:30-7. DOI: 10.1177/2050640613518201
5. López-Victoria AB, Noffal-Nuño VM. Biomarcadores tradicionales y novedosos en el diagnóstico de Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Med Sur* 2013;20(1):21-5.
6. Angulo MEL, de las Heras Gómez I, Villanueva MM, Velasco JAN, Plaza FA. Calprotectina fecal, marcador eficaz en la diferenciación de enfermedades inflamatorias intestinales y trastornos funcionales gastrointestinales. *Gastroenterol Hepatol* 2017;40:125-31. DOI: 10.1016/j.gastre.2017.02.002
7. Bjarnason I. The Use of Fecal Calprotectin in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol* 2017;13:53.
8. Rodríguez-Moranta F, Lobatón T, Rodríguez-Alonso L, Guardiola J. Calprotectina fecal en el diagnóstico de enfermedades inflamatorias. *Gastroenterol Hepatol* 2013;36:400-6. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.10.008
9. Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, Berstad A. Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain

and healthy children. *Acta Paediatr* 2002;91:45-50. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2002.tb01638.x

10. Malickova K, Janatkova I, Bortlik M, Komarek V, Lukas M. Calprotectin levels in patients with idiopathic inflammatory bowel disease comparison of two commercial Tests. *Epidemiol Mikrobiol Immunol* 2008;57:147-53.

11. Lin JF, Cen JM, Zuo JH, Yu A, Xiao ZJ, Deng FH, et al. Meta-analysis: fecal calprotectina for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:1407-15. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000057

12. Gecse KB, Brandse JF, Van Wilpe S, Löwenberg M, Ponsioen C, Van den Brink G, et al. Impact of disease location on fecal calprotectin levels in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2015;50:841-7. DOI: 10.3109/00365521.2015.1008035

13. Yamamoto-Furusho JK. Enfermedad de Crohn: Diagnóstico y tratamiento. *Revista de Gastroenterología de México* 2013;78:68-70. DOI: 10.1016/j.rgmx.2013.06.010

14. Schoepfer A, Beglinger C, Straumann A, et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:162-9. DOI: 10.1038/ajg.2009.545

15. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, Kucharzik T, Fiorino G, Annese, V, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD. Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis* 2019;13(2):144-164K. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjy113

16. Lichtenstein GR, Loftus EV, Isaacs KL, Regueiro MD, Gerson LB, Sands BE. ACG clinical guideline: management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol* 2018;113(4):481-517. DOI: 10.1038/ajg.2018.27

17. Kittanakom S, Shajib MS, Garvie K, Turner J, Brooks D, Odeh S, ET AL. Comparison of Fecal Calprotectin Methods for Predicting Relapse of Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2017;2017:1450970 DOI: 10.1155/2017/1450970



18. Lobatón T, Rodríguez-Moranta F, Lopez A, Sánchez E, Rodríguez-Alonso L, Guardiola JA. New rapid quantitative test for fecal calprotectin predicts endoscopic activity in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:1034-42. DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182802b6e
19. Damms A, Bischoff SC. Validation and clinical significance of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases. *Int J Colorectal Dis* 2008;23:985-92. DOI: 10.1007/s00384-008-0506-0
20. Delefortrie Q, Schatt P, Grimmelprez A, Gohy P, Deltour D, Collard G, et al. Comparison of the Liaison® Calprotectin kit with a well established point of care test (Quantum Blue—Bühlmann-Alere®) in terms of analytical performances and ability to detect relapses amongst a Crohn population in follow-up. *Clin Biochem* 2016;49:268-73. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2015.10.010
21. Rodriguez A, Yokomizo L, Christofferson M, Barnes D, Khavari N, Park KT. Correlation of rapid point-of-care vs send-out fecal calprotectin monitoring in pediatric inflammatory bowel disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2017;8:127. DOI: 10.4292/wjgpt.v8.i2.127
22. Clinical And Laboratory Standards Institute Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. 2nd ed. EP09-A2-IR 2010;30(17).
23. Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, Goldschmidt HM, Kroll MH, Linnet K, et al. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—2nd ed. NCCLS document EP9-A2. Pennsylvania, USA; 2002.
24. Schulz C, Wex T, Arnim UV, Malfertheiner P. Validation of Two Calprotectin Rapid Tests in Daily Routine. *Clinical Laboratory* 2016;62:1249. DOI: 10.7754/clin.lab.2015.151101
25. Canalías RF. Recomendaciones para el estudio de la precisión de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. *Química Clínica* 2003;22:63-5.

26. Prieto L, Lamarca R, Casado A. La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclass. *Med Clin (Bar)* 1998;110:142-5.
27. Oyaert M, Trouvé C, Baert F, De Smet D, Langlois M, Vanpoucke H. Comparison of two immunoassays for measurement of faecal calprotectin in detection of inflammatory bowel disease: (pre)-analytical and diagnostic performance characteristics. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:391-7. DOI: 10.1515/cclm-2013-0699
28. Abej E, El-Matary W, Singh H, Bernstein CN. The utility of fecal calprotectin in the real-world clinical Care of Patients with inflammatory bowel disease. *Canadian J Gastroenterol Hepatol* 2016;2016:2483261. DOI: 10.1155/2016/2483261
29. Guardiola J, Lobatón T, Cerrillo E, Ferreiro-Iglesias R, Gisbert JP, Domènech, et al. Recomendaciones del Grupo Español de Trabajo en Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa (GETECCU) sobre la utilidad de la determinación de calprotectina fecal en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterol Hepatol* 2018;41(8):514-29. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2018.05.029
30. Whitehead S, French J, Brookes M, Ford C, Gama R. Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Ann Clin Biochem* 2013;50:53-61. DOI: 10.1177/2050640613518201

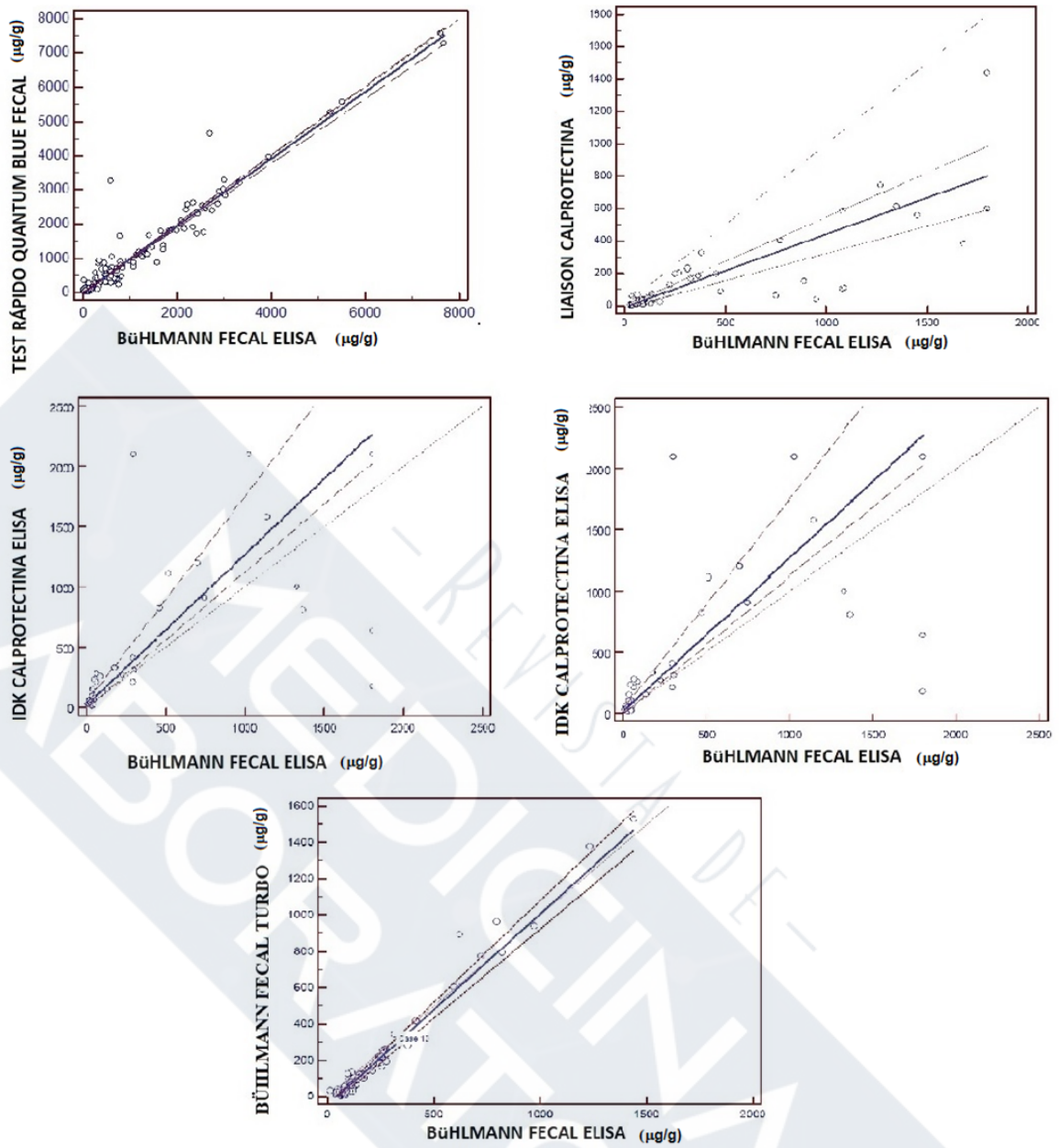


Fig. 1. Regresión de Passing-Bablok de los diferentes métodos de CPF analizados.

