

## Calprotectina-Lactoferrina Card

### CL-8010

### 10 test

Test rapido one step per la diagnosi qualitativa della Calprotectina e della Lactoferrina umana nelle feci.  
Per suo diagnostico in vitro

**INTENTO DIAGNOSTICO:** Calprotectina-Lactoferrina card è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione qualitativa della Calprotectina e della lactoferrina umana nelle feci. Ciò può essere utile nella diagnosi di disturbi infiammatori gastrointestinali.

#### INTRODUZIONE:

La Calprotectina è una proteina contenente calcio, che costituisce il 5% delle proteine totali e il 60% delle proteine del citosol dei neutrofili. Possiede proprietà batteriostatiche e funginostatiche; viene trovata nelle feci in quantità sei volte superiore rispetto al plasma. Questo biomarker fecale è utile nell'accertare l'attività delle malattie dell'intestino infiammato (IBD). Le IBD includono: il morbo di Crohn (ID) e coliti ulcerose (UC) e sono associate con elevati livelli di neutrofili. Il test calprotectina card fecale è utile nel differenziare le malattie gastrointestinali organiche (IBD) da quelle funzionali (IBS - sindromi intestinali). È biomarker semplice e non invasivo, particolarmente adatto ai bambini, che in genere richiedono l'anestesia, in caso di colonscopia. Questo test può predire eventuali recidive.

La Lactoferrina è una glicoproteina, che è prodotta da neutrofili, fagociti mononucleari e cellule epiteliali. È contenuta nei fluidi secretori come saliva e latte materno. La sua funzione è quella di bloccare la crescita batterica limitando la disponibilità di ferro, inoltre l'attività batteriostatica è incrementata dalla presenza di specifiche IgA secretorie dirette contro i batteri. La lactoferrina ha anche effetto battericida agendo direttamente contro le membrane cellulari, in cooperazione con il lisozima. Quando si sviluppa l'infiammazione nel tratto intestinale, i neutrofili e i fagociti migrano verso il focus dell'infiammazione dove rilasciano granuli contenenti lactoferrina. Questa proteina è stabile nelle feci ed è facilmente rilevabile tramite processi immunochimici. Questo marker è elevato in pazienti con sindrome da intestino infiammato. Le IBD includono coliti ulcerose (UC) e morbo di Crohn, e rappresentano uno spettro di malattie che sono caratterizzate da infiammazione cronica e idiopatica del tratto gastrointestinale. I pazienti adulti e pediatrici con IBD possono presentare una varietà di sintomi clinici (come diarrea e dolore addominale) che possono essere aspecifici.

**PRINCIPIO DEL TEST:** Calprotectina-Lactoferrina card è saggio qualitativo per la rilevazione della Calprotectina e della

Lactoferrina umana in campioni di feci. La membrana è pre-adesa con anticorpi monoclonali, posizionati nella regione del test, contro la calprotectina e la lactoferrina umana. Durante l'esecuzione del test, il campione reagisce con le particelle adesive con anticorpi anti calprotectina umana e anti-lactoferrina umana, che sono presenti sulla card. Tramite capillarità il complesso si muove lungo la membrana. Nel caso di positività, l'anticorpo specifico presente sulla membrana reagirà col complesso coniugato e genererà una linea colorata. Una banda colorata verde apparirà sempre nella zona del controllo e serve come verifica che sia stata aggiunta la corretta quantità di volume, che il processo cromatografico sia avvenuto correttamente e come controllo interno dei reagenti.

#### PRECAUZIONI:

- Solamente per uso diagnostico in vitro;
- Non utilizzare dopo la data di scadenza;
- Il test deve restare nel suo contenitore ermetico fino al suo utilizzo;
- Non utilizzare il test se la busta contenitrice è danneggiata;
- Seguire le buone norme di laboratorio, indossare vestiti protettivi, usare guanti, non mangiare, bere o fumare nella zona dove si esegue il test;
- Tutti i campioni devono essere considerati come potenzialmente pericolosi e maneggiati allo stesso modo degli agenti infettivi;
- Il test deve essere smaltito come rifiuto speciale dopo l'utilizzo;
- Il test deve essere utilizzato dopo due ore dall'apertura della busta contenitrice sigillata;

**REAGENTI E CONSERVAZIONE:** Conservare sia a temperatura ambiente che refrigerata (2 - 30°C). Il test è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Il test dovrebbe rimanere all'interno della busta contenitrice sigillata fino al suo utilizzo. Non congelare.

#### MATERIALI FORNITI:

- Calprotectina-lactoferrina card
- metodica
- flaconi per raccolta del campione con tampone

#### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Contenitore prelievo campioni
- Timer
- Guanti

#### CAMPIONI - Prelievo e preparazione

Prelevare una sufficiente quantità di feci (1-2 g o mL di feci liquide). I campioni di feci devono essere prelevati in contenitori puliti e asciutti (no conservanti o trospore medium). I campioni possono essere conservati in frigo (2-4°C) fino a 7 giorni prima del test. Per periodi più lunghi i campioni devono essere conservati a -20°C. In

questo caso, scongelare completamente e portare a temperatura ambiente il campione prima del test.

#### PROCEDIMENTO:

##### Per esaminare i campioni di feci prelevati (vedi fig. 1)

Usare un flacone differente per ogni campione. Svitare il tappo del flacone e introdurre lo stick tre volte nel campione di feci e prelevarne una certa quantità. Chiudere il flacone col tappone e con il campione di feci. Il flacone col campione può essere conservato fino a 5 giorni. Agitare il flacone in modo da ottenere una giusta dispersione del campione. Con campioni di feci liquide aspirare il campione con una pipetta e aggiungere circa 10-20µL nel flacone col campione.

##### Procedura del test (vedi fig. 2)

1. Far raggiungere ai test, ai campioni di feci e al tampone, la temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test. Non aprire il contenitore della card fino a che non si è pronti per eseguire il test.
2. Rimuovere la card di calprotectina-lactoferrina dal suo contenitore sigillato e adoperarlo al più presto possibile.
3. Agitare il flacone col campione per assicurare giusta dispersione. Rompere il puntale del flacone.
4. Adoperare una card per ogni flacone. Dispensare 4 gocce o 100µl nel pozzetto del campione (S). Far partire il timer.
5. Leggere i risultati dopo 10 minuti dalla dispensazione del campione.

Fig. 1

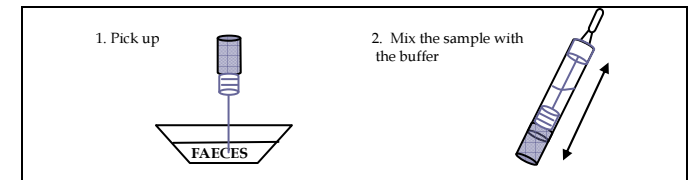
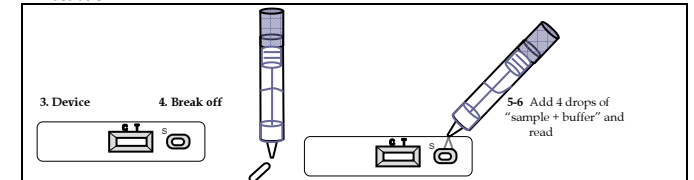


Illustration 2



#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Illustration 3



**Calprotectina Positivo** - Due linee appaiono nella finestra centrale: una linea rossa del test segnata con la lettera T nella zona del risultato e una linea verde indicata con la lettera C nella

regione del controllo. Un risultato calprotectina positivo può indicare la presenza di patologia infiammatoria gastrointestinale.

**Lactoferrina Positivo** - Oltre alla banda del controllo di colore verde, apparirà anche un'altra banda rossa (banda della lactoferrina) nella zona del test (T): interpretazione probabile IBD (malattia infiammatoria intestinale)

**Calprotectina (FCP) e Lactoferrina (FLF) Positivo** - Tre linee nella finestra centrale: una linea rossa e una blu indicate con la lettera T nella zona del risultato e un'alinea verde indicata con la lettera C nella zona del controllo. I risultati positivi per la calprotectina (CP) e per lactoferrina (LF) possono indicare la presenza di infiammazione intestinale (malattia organica) nel paziente.

**Negativo** - Appare solo una banda verde nella finestra centrale nella zona indicata con la lettera C (linea del controllo). Un risultato negativo indica che non è presente nessuna infiammazione gastrointestinale.

**Invalido** - Totale assenza della linea verde del controllo indipendentemente dalla presenza o meno della linea rossa e/o di quella blu del risultato. Insufficiente volume di campione, procedura non corretta o deterioramento dei reagenti sono le ragioni principali per la non comparsa della linea del controllo. Rivedere la procedura e ripetere la seduta con un nuovo test. Se il problema persiste smettere l'utilizzo del kit e contattare il distributore.

#### NOTE SULL'INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'intensità della banda colorata rossa e di quella blu nella regione del test (T) varieranno in base alla concentrazione della calprotectina e della lactoferrina nel campione.

#### CONTROLLO QUALITÀ

I controlli procedurali interni sono inclusi nel kit

Una linea verde apparirà sempre nella regione del controllo (C). Ciò conferma il sufficiente volume di campione e la corretta procedura. Un fondo chiaro può essere un controllo negativo interno. Se il test funziona correttamente, lo sfondo nella zona del test sarà chiaro e non interferirà con la lettura dei risultati.

#### LIMITAZIONI

- 1 Un eccesso di quantitativo di campione di feci può portare risultati errati (comparsa di bande marroni o mancanza della linea del controllo). Diluire il campione col tampone e ripetere il test.
- 2 Alcuni campioni possono far decrescere l'intensità della linea del controllo.
- 3 I campioni di feci derivati da pazienti con malattie intestinali infiammatorie in corso (che di solito coinvolgono infiammazione neutrofila dell'intestino come il morbo di Chron e coliti ulcerose) saranno positivi per la calprotectina fecale. Calprotectina-

Lactoferrina card potrebbe essere sensibile per queste diagnosi in pazienti con diarrea cronica.

- 4 I risultati positivi per la calprotectina confermano la sua presenza nei campioni di feci, tuttavia essa può essere dovuta a diverse cause oltre all'IBD (sindrome da intestino infiammato, cancro colo rettale e altre enteropatie). Un risultato positivo deve essere seguito da ulteriori accertamenti diagnostici e dal medico per determinare l'esatta causa dell'infiammazione.
- 5 I livelli di calprotectina fecale neonatale sono stati riportati essere a livelli più alti dei bambini normali con una mediana di 167µg/g
- 6 I risultati positivi confermano la presenza di lactoferrina umana nei campioni di feci, tuttavia essa può essere dovuta a diverse cause oltre all'IBD. Un risultato positivo deve essere seguito da ulteriori accertamenti diagnostici come endoscopia, e analisi istologica su biopsia, che sono tra i metodi più qualificati per rilevare e quantificare infiammazioni intestinali.
- 7 La lactoferrina è un componente del latte materno, il test sarà positivo nei bambini allattati e non deve essere usato nei neonati.

#### VALORI ATTESI

Alti livelli di Calprotectina nelle feci sono associate con aumento del rischio di ricaduta nei pazienti sindrome da intestino infiammato (IBD). Alcuni studi indicano come cut-off un valore uguale o maggiore di 50µg hCP/g come valore per permettere di rilevare pazienti con problemi di infiammazione GI. Il test rileva campioni contenenti lactoferrina con concentrazione uguale o maggiore a 10µg hLf/g.

#### CARATTERISTICHE DI ESECUZIONE

**Sensibilità:** Il test da risultati positivi con campioni contenenti calprotectina con concentrazione uguale o maggiore a 50µg/g di feci e lactoferrina con concentrazione uguale o maggiore a 10µg hLf/g di feci. Differenti diluizioni di calprotectina e lactoferrina sono state testate direttamente nel tampone di estrazione o fornite in un campione di feci negativo, in accordo con le istruzioni riportate in metodica, per determinare il limite diagnostico del test.

Riguardo la calprotectina il test ha dimostrato una sensibilità > del 94% in correlazione con un altro kit commerciale (calprest - eurospital), mentre quella della lactoferrina ha evidenziato una sensibilità > 99%











**Specificità:** Il test ha evidenziato una specificità del 93% riguardo la calprotectina in correlazione con un altro kit commerciale (calprest-eurospital), mentre per la lactoferrina la specificità riscontrata è del 99% in correlazione con un altro kit disponibile in commercio (IBD EZ VUE - techlab).

Il test no ha mostrato cross-reattività con altre calprotectine o lactoferrine bovine.

#### REFERENCES

- o 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.

- o 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.
- o BONNIN TOMAS, A, et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patologia gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.
- o Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and  $\alpha$ -1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.
- o Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS			
	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Authorized representative		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by
	Sample diluent		

