

# COLON PANEL FOR DETECTION OF INFLAMMATORY FACTORS IN THE BOWEL - SIMED S.R.L.

Il test Colon Panel è un dispositivo multitest di nuova generazione del genere "one step multiple" per la determinazione qualitativa di Hb, Calprotectina, E. Coli, Lactoferrina e Transferrina nelle feci umane. Il dispositivo è destinato solo per uso professionale per la diagnostica in vitro.

## INTRODUZIONE E PREMessa GENERALE

Il colon è un organo cavo, posto in sede addominale, lungo circa un metro e mezzo, che inizia a livello della valvola ileo-cecale, tratto terminale dell'intestino tenue, e termina con il retto e il canale anale. È formato da diverse parti: cieco, colon ascendente, colon trasverso, colon discendente e sigma. La sua funzione essenziale è quella di assorbire Sali minerali, nutrienti e acqua dal materiale che gli perviene dal tenue, ha un'importante attività secretoria, rappresentata principalmente dalla produzione di muco e immunoglobuline (anticorpi), che esplicano un ruolo lubrificante e un'azione protettiva dal punto di vista immunitario su tutta la mucosa del grosso intestino. Il transito del materiale fecale è assicurato da una serie di contrazioni a livello delle fasce muscolari che sono stimulate dal sistema nervoso centrale. La velocità di transito è in funzione della frequenza di tali contrazioni: aumenta con l'aumentare di quest'ultima. Più tempo il materiale rimane in transito nel colon, più secche e dure saranno le feci e più difficoltosa risulterà la loro espulsione. Il colon è soggetto a diverse patologie infiammatorie che ne condizionano il buon funzionamento, ad esempio la Colite è il termine generico con cui viene indicata una condizione del colon infiammato. Questa condizione può configurare un nutrito numero di patologie anche molto diverse tra loro per eziologia ma tutte unite dal tratto unificante della flogosi della mucosa intestinale e da una sintomatologia abbastanza simile. Tra le più comuni malattie di tale tipo possiamo identificare:

**Colite infettiva.** In questo caso l'infiammazione è causata dall'infezione di un agente patogeno, da virus, batteri e altri microorganismi.

**Colite ischemica.** Infiammazione causata da un ridotto apporto vascolare al tratto intestinale.

**Colite ulcerosa.** L'infiammazione si estende causando un'ulcerazione del colon.

La causa della malattia non è nota e si presume sia coinvolto il sistema immunitario.

**Morbo di Crohn.** Malattia caratterizzata da infiammazione e ulcerazioni della parete del colon a tratti ben distinti tra parti sane e malate.

**Sindrome del colon irritabile.** Malattia caratterizzata da una serie di disturbi del colon a cui non è possibile associare specifiche patologie riscontrabili. Si ritiene che possa essere causata da effetti di natura psicologica: stress, ansia, etc.

## Sintomi generali del colon infiammato

Dolore alla parte bassa dell'addome che può attenuarsi con la defecazione. Diarrea. Più di 3 scariche al giorno con alterata consistenza delle feci (non formate e liquide). Presenza di muco nelle feci. Presenza di tracce di sangue nelle feci. Stipsi. Meno di tre defecazioni a settimana con feci dure e caprine.

Tenesmo. Spasmo dell'ano accompagnato da sensazione incontenibile di dover defecare. Borborigmi, meteorismo e flatulenze. Dolore all'ano e nella zona circostante. Addome gonfio o disteso. Gonfiore dello stomaco accompagnato da: difficoltà digestive, mal di stomaco, senso di pesantezza, sazietà precoce, nausea. Bocca amara e metallica, alitosi, bruciori del cavo orale. A tale sintomatologia di natura prettamente intestinale possono anche associarsi i problemi urinari e ginecologici seguenti: Continua urgenza di minzione urinaria.

Dolori alla regione pubica. Continua necessità di urinare durante il sonno.

Rapporti sessuali problematici perché dolorosi. Dolori mestruali intensi. E ancora i seguenti disturbi generali: Dolori muscolari e/o alla testa. Vertigini. Spossatezza generalizzata. Dermatite di carattere nervoso. Ansia e depressione. Ovviamente i sintomi precedentemente descritti sono tutti i possibili del colon infiammato e di norma ne sono presenti solo alcuni di essi.

## Colon Panel

Il Colon Panel è un dispositivo diagnostico "One Step" con Risultato Visivo Immediato ed è un IVD (dispositivo medico diagnostico in vitro). Questo dispositivo è stato ideato per poter fornire all'utilizzatore importanti parametri qualitativi clinici essenziali per la valutazione dello stato infiammatorio del colon utilizzando un semplice campione fecale. Il dispositivo ha dimensioni contenute, è di semplice utilizzo e non necessita di alcuna attrezzatura dedicata; nelle finestrelle del dispositivo vengono visualizzati in pochi minuti i vari livelli qualitativi dello stato infiammatorio del colon.



## Principio del sistema

Il Colon Panel è composto da una serie di membrane sensibilizzate da specifici target che sfruttano il sistema immunocromatografico Lateral Flow Immuno Assay (LFIA) che fornisce all'utilizzatore un metodo semplice, accurato, riproducibile e di veloce esecuzione per ottenere un quadro complessivo dello stato patologico oggetto dell'indagine. Questa metodica, ormai ben collaudata, unisce la specificità e sicurezza del test sierologico ad un formato *user-friendly* che ne permette l'uso in pieno campo utilizzando un semplice prelievo da campione fecale. Ogni test presente sulle membrane del dispositivo Colon Panel utilizza una combinazione d'anticorpi monoclonali coniugati con un colorante specifico oro-colloidale che ne evidenzia la reazione. Dopo la raccolta del campione mediante l'apposita provetta contenente la soluzione di diluizione, il campione di feci viene disciolto e dispensato nel serbatoio del dispositivo. Esercitando una pressione sulle pareti della provetta il campione diluito riempirà il serbatoio del dispositivo e il campione per capillarità attraverso la membrana, l'anticorpo-gold coniugato si lega all'antigene specifico analizzato, eventualmente presente nel campione, formando un complesso antigene-anticorpo. Questo complesso si lega all'anticorpo presente sulla membrana nella finestra di reazione e produrrà una banda di colore rosa a

livello dell'area Test (T) nel caso sia una risposta positiva. In assenza della dell'antigene, non si visualizzerà alcuna banda livello dell'area Test (T).

Il campione continua a migrare per capillarità lungo il dispositivo assorbente, attraversando l'area Test (T) e giungendo nell'area di controllo (C). Il coniugato libero si lega al reagente nella zona del controllo producendo una banda colorata a riprova che i reagenti hanno funzionato correttamente.

## Interpretazione dei risultati

L'intensità della banda colorata nell'area Test (T) varia a seconda della concentrazione dell'antigene presente nel campione. Tuttavia, né il valore quantitativo, né il tasso di aumento in percentuale del parametro che stiamo analizzando può essere determinato da questo test qualitativo.

## Avvertenze

Colon Panel fornisce all'utilizzatore solo indicazioni qualitative dello stato patologico in esame, non possono essere determinati con questo sistema né i valori quantitativi e né la percentuale di incremento delle concentrazioni dei singoli test presenti; qualora il sistema fornisca esiti positivi è consigliabile approfondire il quadro generale delle indagini specifiche con altre tecniche diagnostiche e con ulteriori approfondimenti clinici. Questo dispositivo è dedicato solo all'uso professionale di laboratorio o dello studio medico.

## Test presenti nel COLON PANEL E PERFORMANCE

1. Determinazione dell'Hb fecale: Human hemoglobin: 50ng/mL (5.1µg/g feces)
2. Determinazione della Calprotectina fecale: Human calprotectin: 438ng/mL (50µg/g feces)
3. Determinazione dell'Escherichia Coli: determina la presenza di E. coli O157:H7 direttamente nelle feci
4. Determinazione della Lactoferrina fecale: Human lactoferrin: 98ng/mL (10µg/g feces)
5. Determinazione della Transferrina fecale: Human transferrin: 4ng/mL (0.4µg/g feces)

## 1. Determinazione dell'Hb fecale:

La ricerca di sangue occulto nelle feci rappresenta un importante test di screening per il tumore del colon-retto. Come tutte le metodiche di screening, è bene sottolineare che la ricerca di sangue occulto nelle feci NON ha significato diagnostico, ma identifica semplicemente le persone a rischio per questa patologia e per poter dare indicazioni sull'eventuale presenza di polipi intestinali. E' consigliabile, nel caso fossero rinvenute tracce di sangue nelle feci del paziente, indirizzare il paziente verso accertamenti diagnostici più accurati come la colonscopia. Esistono possibili condizioni che rendono positiva la ricerca di sangue occulto nelle feci: ulcera duodenale e/o gastrica, varici esofagee, colite ulcerosa, morbo di Crohn, diverticolite, fistole anali, contaminazione del campione urinario con sangue mestruale o urinario, emorroidi, ragadi anali. Una dieta non adeguata nei giorni che precedono l'esecuzione del test Hb fecale non incide sui risultati del test. La ricerca di sangue occulto nelle feci rimane un'indagine preziosa per effettuare una diagnosi precoce, che a sua volta si traduce in una prognosi sensibilmente migliore. L'esame per la ricerca del sangue occulto è consigliato anche in assenza di disturbi, poiché i tumori del colon retto spesso non danno alcun sintomo particolare per anni. Pertanto, anche se un recente esame ha avuto esito negativo, è comunque opportuno rivolgersi al proprio medico in presenza dei seguenti disturbi: modificazioni persistenti delle abitudini intestinali; presenza di sangue nelle feci evidente a occhio nudo; sensazione di ingombro rettale persistente dopo l'evacuazione.

## Sensibilità e specificità

Un campione contenente emoglobina umana con concentrazione uguale o superiore a 50 ng/ml produce un risultato positivo all' Hb fecale. In alcuni casi i campioni contenenti emoglobina umana a concentrazioni inferiori a 50 ng/ml possono anche essere testati come positivi. Diverse diluizioni di emoglobina sono state provate direttamente nel tampone di estrazione o diluiti in un campione di feci negativo secondo le istruzioni del kit. Il rilevamento di emoglobina umana del test Hb fecale ha espresso una sensibilità > 99% rispetto al metodo del guaiaco. Il test Hb fecale è specifico per l'emoglobina umana e non mostra nessuna cross-reattività con altre emoglobine di origine animale. Il rilevamento di emoglobina umana del test ha espresso una specificità > 99% di rispetto al metodo del guaiaco. L'uso di anticorpi monoclonali murini assicura un elevato grado di specificità per il rilevamento dell'emoglobina umana.

## Interpretazione dei risultati

Una banda colorata deve apparire nel linea del test di controllo che certifica la buona performance del prodotto. Alte concentrazioni di antigeni O157:H7 possono dare una visualizzazione lieve della banda che può mettere in discussione l'accuratezza del test. Il test è negativo se appare una sola linea colorata nella sezione del test controllo. Se nella zona Test appare una colorazione, anche debole, il test deve essere considerato positivo. La presenza della banda nella zona Test è indice di positività indipendentemente dal tipo di evidenza della banda stessa. Il test è invalido se non compare nessuna colorazione o se appare la sola banda colorata nella zona Test.



fecal Hb positive



fecal Hb negative

## 2. Calprotectina fecale

La calprotectina è una proteina legante il calcio presente nei neutrofili, dove è largamente rappresentata nel citosol, e a più basse concentrazioni nei monociti e nei macrofagi. La calprotectina, in vitro, sembra possedere attività batteriostatiche e fungistatiche. Dal momento che la calprotectina è fondamentalmente presente nei neutrofili, la sua determinazione nelle feci viene attualmente utilizzata come marcatore dell'infiltrazione dei neutrofili nel lume intestinale e di conseguenza come marcatore indiretto dell'infiammazione intestinale. Studi a supporto di questa applicazione indicano che aumentati livelli di calprotectina fecale si riscontrano soprattutto nelle IBD – Inflammatory Bowel Disease (retto colite ulcerosa, Morbo di Crohn), in alcune neoplasie del tratto gastroenterico. Ovviamente livelli aumentati vengono riscontrati in tutte le patologie che implicano un processo infiammatorio, acuto o cronico, a carico dell'apparato gastroenterico includendo le patologie peptiche, le diverticoliti, le enterocoliti infettive, il trattamento con alcuni farmaci. La determinazione della calprotectina fecale non può rimpiazzare le attuali pratiche invasive per la diagnosi del Morbo di Crohn; infatti le tecniche endoscopiche di imaging e l'istologia rimangono il "gold standard" per la diagnosi definitiva di Crohn. La determinazione della calprotectina fecale è un utile marcatore dello stato della malattia, è semplice, non-invasivo e poco costoso. Le maggiori indicazioni per utilizzare il test sono: monitorare l'attività infiammatoria intestinale, è un indicatore di ricorrenza della patologia, è utile nell'utilizzo nel follow-up terapeutico, è utile per escludere le IBD in soggetti con diarrea cronica o dolore addominale cronico sconosciuto, è un ottimo markers neoplastico e per la maggior parte delle malattie infiammatorie gastrointestinali, è un ottimo rivelatore per l'infiammazione acuta, è un indicatore del danno infiammatorio gastrointestinale, è utile nel monitoraggio del morbo di Crohn, nella colite ulcerosa, nel monitoraggio di pazienti dopo rimozione di polipi intestinali, utilissimo nella differenziazione tra fase acuta morbo di Crohn, colite ulcerosa e sindrome del colon irritabile.

### Sensibilità e Specificità, interferenze e cross-reattività

Campioni contenenti livelli di calprotectina a concentrazioni pari o superiori a 50µg/g di feci produce risultati positivi. Differenti diluizioni di calprotectina sono stati testati direttamente nel buffer di estrazione o in un campione di feci negativo per determinare il limite di rilevazione del test. Il test calprotectina ha mostrato un livello di sensibilità >94% comparata ad altri test attualmente in commercio. Analogamente la rilevazione di calprotectina umana con questo dispositivo ha mostrato una specificità del 93%. Questo test è specifico per la calprotectina umana e non ha alcuna cross-reattività con altre calprotectine animali.

### VALORI ATTESI

Alti livelli di calprotectina nelle feci sono associati a un aumentato rischio di recidiva nei pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD). Alcuni studi hanno stabilito un cut-off uguale o superiore a 50-70 µg/g di calprotectina fecale che ha permesso di rilevare pazienti adulti con problemi infiammatori gastrointestinali.

### Interpretazione dei risultati

Vedi la sezione Interpretazione dei risultati riferiti al test Hb fecale.



negative Calprotectin



positive Calprotectin

## 3. Escherichia Coli

Con il termine "MTA" malattie trasmesse da alimenti si intende una qualsiasi malattia causata o trasmessa da alimenti contaminati da sostanze chimiche o agenti biologici. In questo ambito si riconoscono infezioni alimentari, tossinfezioni e intossicazioni. Le MTA si manifestano principalmente con una sintomatologia definita gastroenterite. La gastroenterite è un'infiammazione dell'apparato digerente che in forma acuta si manifesta tipicamente con comparsa improvvisa di diarrea, per lo più associata a febbre alta (38-39°C) e a dolori diffusi a tutto l'addome, che solo in parte si attenuano con la defecazione. Spesso coesistono vomito (specialmente in caso di intossicazione alimentare) e segni generali di infezione, per esempio dolori muscolari, cefalea, nausea e mancanza di appetito.

Le feci possono essere completamente liquide, molli o semi-formate, spesso mescolate a muco. In casi particolari le feci possono essere mescolate a sangue, in tal caso parliamo di dissenteria. Le infezioni alimentari più note sono quelle causate dai batteri Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli e dai virus Rotavirus, Adenovirus e virus Norwalk.

L'Escherichia coli è la specie più nota del genere Escherichia. Sebbene siano stati tipizzati oltre 50.000 sierotipi, la maggior parte di essi è costituita da microrganismi commensali (non patogeni) mentre solo un ristretto numero di ceppi è in grado di indurre malattia. I vari sierotipi sono caratterizzati da diverse combinazioni degli antigeni O, H, K, F (O: Somatico/parietale; K: capsulare; H: Flagellare; F: Fimbrie).

È una delle specie principali di batteri che vivono nella parte inferiore dell'intestino di animali a sangue caldo (inclusi gli uccelli e i mammiferi), contribuendo alla digestione corretta del cibo. La sua presenza nelle falde acquifere è un indicatore comune di contaminazione da feci. Dal punto di vista clinico, sono 5 i gruppi importanti di *Escherichia coli*: enteropatogeni, enterotossigeni, enteroinvasivi, enteroaderenti ed enteroemorragici.

L' E. coli O157:H7 fu identificato per la prima volta come patogeno in U.S.A. e Canada nell'anno 1982, a seguito di un'epidemia di diarrea emorragica associata al consumo di hamburger nei fast food. Sua peculiarità è l'elevata resistenza alle basse temperature; infatti, può resistere per nove mesi alla temperatura di -80°C. Altra importante caratteristica, che può incidere sulla capacità di colonizzare l'intestino umano, è la resistenza all'acidità dello stomaco.

Fortunatamente, tale patogeno è molto sensibile alle alte temperature (44-45°C); fondamentale quindi l'adeguata cottura degli alimenti per renderli sicuri. Principali fattori di virulenza di Escherichia coli O157:H7 sono le due tossine prodotte Stx1 e Stx2 che

causano prima un danno alle cellule della mucosa intestinale (enterociti) e poi, entrando in circolo, danneggiano soprattutto i reni, compromettendone la funzionalità. La terapia, nell'adulto come nel bambino, è fondata sulla reidratazione e sulla correzione di alterazioni elettrolitiche, dell'equilibrio acido-base e delle eventuali perdite ematiche.

La terapia antibiotica non è raccomandata in quanto può aumentare il rilascio di tossina e aggravare le condizioni generali dei pazienti ai quali è stata somministrata. I pazienti più critici richiedono un trattamento intensivo basato su dialisi, trasfusioni di sangue fino ad arrivare al trapianto di reni. Il test presente sul Colon Panel è di tipo qualitativo e determina la presenza o meno dell' E. coli O157:H7

### Interpretazione dei risultati

Vedi la sezione Interpretazione dei risultati riferiti al test Hb fecale.



E. Coli negative



E. Coli positive

## 4. Lactoferrina

La lactoferrina è una proteina legante il ferro presente come scorta nei granuli dei neutrofili. Gli esami di laboratorio possono servire per definire la patogenesi e la eziologia della diarrea. La presenza nelle feci di lactoferrina, leucociti e sangue occulto può suggerire, in un paziente febbrile, la presenza di un'intensa reazione infiammatoria intestinale e quindi supportare l'indicazione a un'eventuale terapia antibiotica empirica o all'effettuazione di un esame colturale delle feci. Lactoferrina e leucociti sono presenti nelle feci soprattutto in pazienti con infezione da Salmonella, Shigella, Campylobacter, Yersinia, Vibrio noncholerae, Aeromonas e Clostridium difficile. Nella amebiasi intestinale anche in presenza di sangue, vi sono pochi leucociti. La ricerca dei leucociti nelle feci fresche è un esame economico, ma deve essere effettuato da un microscopista esperto. Il dosaggio della lactoferrina nelle feci con il metodo immunocromatografico, è più riproducibile, è più semplice e immediato. La lactoferrina fecale apparirà significativamente elevata nelle coliti ulcerative attive e nel morbo di Crohn. Una diretta comparazione tra il lisozima, lactoferrina, mieloperossidasi e leucociti polimorfonucleati umani (PMN), elastase nelle malattie attive infiammatorie intestinali mostra che la lactoferrina è il miglior marker infiammatorio derivato dai neutrofili. Le maggiori indicazioni cliniche di questo test sono: l'utilizzo come verifica dell'infiammazione intestinale, delle infezioni batteriche, delle infezioni parassitarie e per il monitoraggio del morbo di Crohn e colite ulcerosa in stretta associazione con la calprotectina.

### PERFORMANCE

È stato osservato che nelle malattie infettive intestinali, la maggior parte dei neutrofili circolanti tendono a migrare nei tessuti oggetto dell'infezione ove rilasciano diversi componenti. La lactoferrina è stata associata ad alcuni specifici componenti secondari che durante la fagocitosi vengono rilasciati in simultanea ad altre proteine lisosomiali. A questo proposito la lactoferrina è stata identificata come marcatore di attività leucocitaria nelle infezioni intestinali.

Il corrispettivo aumento della presenza di leucociti fecali ha dato l'indicazione di una risposta infiammatoria alle infezioni batteriche, di contro la maggior parte delle infezioni virali appare come un processo infiammatorio invasivo con una bassa migrazione di neutrofili.

### Sensibilità e Specificità, interferenze e cross-reattività

Un campione di feci contenente lactoferrina a concentrazione uguale o superiore a 10ug hLf/g fornisce un risultato positivo. A titolo di verifica sono state testate diverse diluizioni di lactoferrina direttamente nel tampone di estrazione o addizionate a un campione fecale negativo e testate per valutare il limite di rilevabilità del test. La determinazione di lactoferrina del Colon Panel ha evidenziato una sensibilità >99% in confronto con quanto attualmente è presente sul mercato. La determinazione di lactoferrina del Colon Panel ha evidenziato una specificità >99 % rispetto ad altri test in commercio. Il test è specifico per la lactoferrina umana, non si sono evidenziate cross-reattività con altre lactoferrine di origine animale.

### Interpretazione dei risultati

Vedi la sezione Interpretazione dei risultati riferiti al test Hb fecale.



Lactoferrin negative



Lactoferrin positive

## 5. Transferrina

# COLON PANEL FOR DETECTION OF INFLAMMATORY FACTORS IN THE BOWEL - SIMED S.R.L.

La transferrina è una proteina plasmatica che trasporta il ferro nel torrente circolatorio. Sintetizzata dal fegato e dal sistema monolitico macrofagico, la transferrina è in grado di legare in modo molto stabile, ma reversibile, il ferro assorbito a livello intestinale e quello proveniente dalla degradazione dei globuli rossi, veicolandolo alle sedi di utilizzo (in particolare il midollo osseo) e di deposito (in particolare il fegato). Dal punto di vista strutturale, si tratta di una glicoproteina formata da una catena polipeptidica di 679 aminoacidi, con peso molecolare di circa 80 KD ed emivita di circa 8 giorni. Sebbene il ferro associato alla transferrina sia meno dello 0,1% del ferro corporeo totale, questa percentuale rappresenta la frazione dinamicamente più importante, caratterizzata da un'alta velocità di turnover (25 mg/24 h). La transferrina è la principale proteina con capacità legante per i metalli, tra l'altro in maniera meno costosa rispetto alla determinazione diretta. Un interessante studio di proteomica ha identificato la transferrina come un potenziale biomarcatore per il cancro del colon retto. I campioni fecali di 110 pazienti tra cui 40 tumori del colon-retto, 36 soggetti con presenza di lesioni precancerose (di cui 16 ad alto rischio adenomi e 20 con colite ulcerosa), e 34 a basso rischio, sono stati raccolti prima dell'esame colonscopico. Rispetto al test del sangue occulto, la transferrina fecale ha registrato un tasso significativamente più alto esprimendo la positività in pazienti con cancro del colon-retto anche verso le lesioni precancerose (rispettivamente del 76% per la transferrina fecale rispetto al 61% per test del sangue occulto). La differenza di positività è stata principalmente osservata nei pazienti con lesioni precancerose, mentre i tassi positivi nel gruppo con il cancro e nel gruppo a basso rischio erano simili. Combinando il test della transferrina fecale con il test del sangue occulto si è ottenuto il 90% di positività nei pazienti oncologici, 78% nei pazienti pre-maligne e il 29% in soggetti a basso rischio. Il dosaggio della transferrina fecale sembra essere un test altamente sensibile anche nelle lesioni precancerose, e fornisce un ulteriore strumento per lo screening del cancro del colon-retto. Inoltre la determinazione di eventuali patologie cancerose del tratto superiore gastrointestinale viene di fatto falsata dal solo dosaggio dell'Emoglobina nelle feci in quanto l'emoglobina umana proveniente dal tratto superiore dell'apparato digerente viene digerita nel tratto intestinale con conseguente perdita dell'azione antigenica. La transferrina fecale, che risulta essere più stabile nelle feci rispetto all'emoglobina, dà modo di essere un metodo per la diagnosi della malattia del tratto superiore dell'apparato digerente.

## Indicazioni

L'applicazione del sistema è particolarmente indicata per le cause più comuni di sanguinamento del tratto gastroenterico superiore e inferiore quali:

Tratto Superiore	Tratto inferiore
ulcera duodenale	ragadi anali
ulcera gastrica	angiodisplasia
erosioni duodenali	(ectasia vascolare)
varici	coliti
ulcera gastrica	(ischemiche, infettive)
esofagite erosiva	carcinoma del colon
angioma	polipi del colon
malformazioni arterovenose	malattia diverticolare del colon
Tumori stromali gastrointestinali	malattia infiammatoria intestinale
interveduodenal Ulcer	proctite/colite
	morbo di Crohn
	emorroidi interne

## Sensibilità e Specificità

Il limite di rivelazione della transferrina fecale è 0.4 mg/g. Il sistema della transferrina fecale ha una specificità >99% ed una sensibilità >99% rapportando i dati con il test per il sangue occulto al guaiaco. Un campione contenente transferrina umana a concentrazione uguale o superiore a 0,4 mg/g nelle feci produce risultati positivi quando si utilizza il Colon Panel. Sono state effettuate diverse diluizioni di transferrina direttamente nel tampone di estrazione o diluiti in un campione di feci negativo per determinare il limite di rivelazione del test. Valori limite di rilevamento riscontrati : 4 ng/ml di transferrina umana.

**Sensibilità:** Il test della transferrina ha espresso una sensibilità > 99% rispetto al classico dosaggio al guaiaco. Il test è specifico per transferrina umana e non ha evidenziato alcuna cross-reattività con altre transferrine di origine animale.

**Specificità:** Il test della transferrina ha espresso una specificità > 99% rispetto al classico dosaggio al guaiaco. L'utilizzo di anticorpi monoclonali di topo nel test garantisce un alto grado di specificità per la rivelazione della transferrina umana.

## Cross - reattività ed interferenze

È stata condotta una valutazione per determinare eventuali cross-reattività e interferenze e si è appurato che non si sono riscontrate cross-reattività con i comuni patogeni gastrointestinali, e nemmeno con altri organismi e sostanze occasionalmente presenti nelle feci. Nessuna interferenza è stata verificata con alimenti e con integratori come il ferro.

## Limiti della procedura

Il test per la determinazione della transferrina fecale fornisce indicazioni relative sulla presenza di transferrina nel campione di feci (ricerca qualitativa). Non possono essere determinati con questo test né il valore quantitativo né la percentuale di aumento della concentrazione di transferrina.

## Interpretazione dei risultati

Vedi la sezione Interpretazione dei risultati riferiti al test Hb fecale.



negative Transferrin



positive Transferrin

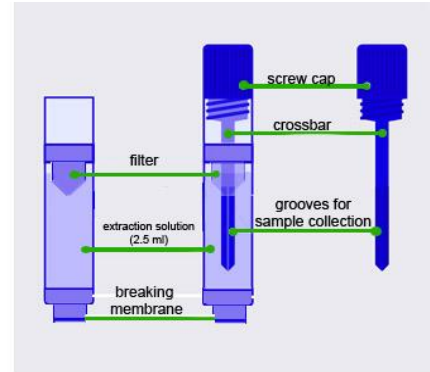
## RACCOLTA DEI CAMPIONI FECALI

Ai fini di un corretto utilizzo del sistema e al fine di ottenere le migliori prestazioni vi consigliamo di seguire attentamente le varie fasi procedurali qui evidenziate.

- La raccolta del campione fecale va eseguita prelevando una sufficiente quantità di feci (1-2 g o ml per campioni liquidi).
- I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti e asciutti (nessun conservante o terreno di trasporto).
- I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C/4°F. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato.

## Protocollo d'uso

Utilizzare la provetta di plastica contenente il tampone di conservazione per ciascun campione che trovate nella confezione.



La prima fase operativa consiste nella raccolta di un campione di feci utile per la determinazione qualitativa dei 5 test presenti nel dispositivo Colon Panel. Questa è una operazione estremamente facile e agevole. Il dispositivo per il prelievo delle feci, contiene al suo interno il quantitativo di soluzione di diluizione necessario per eseguire il test. Una volta eseguita la raccolta del campione, intingendo e ruotando il bastoncino inserito nel tappo di chiusura in 4-5 punti differenti delle feci, il campione va inserito nel dispositivo diagnostico. Lo sviluppo del test del Colon Panel direttamente dal contenitore primario senza dover effettuare la pesata del campione. Il dispositivo per il prelievo è costituito da una provetta contenente 2,0 ml di soluzione di estrazione e da un'astina sagomata con quattro scanalature radiali per la raccolta del campione. L'estremità intermedia è dotata di un filtro per trattenere le quantità in eccesso del campione e le impurità più grossolane e può essere rimossa con una torsione orizzontale.

## CONFEZIONE

Ciascuna confezione contiene 10 Piastra Colon Panel corredate dei rispettivi prelevatori contenenti la soluzione di estrazione. La Piastra Colon Panel e il prelevatore sono monouso.

## CONSERVAZIONE PRIMA DELL'UTILIZZO

Conservare le piastrine e i prelevatori a 2-8°C.

## Modalità di prelievo standard per feci di consistenza normale:

1. Raccogliere un campione di feci in un contenitore sterile.
2. Estrarre l'astina sagomata del dispositivo ruotando il tappo a vite in senso antiorario.
3. Immergere la parte sagomata dell'astina in 4-5 punti del campione di feci, precedentemente raccolto.
4. Ruotare ripetutamente l'astina nel campione di feci finché tutte le scanalature siano riempite di materiale fecale.
5. Prima di inserire l'asticella nel dispositivo, rimuovere l'eccesso grossolano di materiale ruotando l'asticella sulla parete interna del contenitore primario delle feci.
6. Inserire completamente l'astina sagomata, con materiale fecale, all'interno della provetta contenente il liquido di diluizione e ruotare il tappo in senso orario fino alla completa chiusura.

## Modalità di prelievo per feci liquide:

Questa modalità richiede che venga prelevato un campione di 60 µl (microlitri) di feci liquide ed è quindi necessario avere a disposizione una pipetta da laboratorio, procedere come segue :

- Estrarre l'astina sagomata del dispositivo ruotando il tappo vite in senso antiorario.
- Dispensare direttamente le feci liquide all'interno del dispositivo di raccolta.
- Reinscrivere completamente l'astina sagomata all'interno della provetta (che non conterrà le feci) e ruotare il tappo in senso orario fino alla completa chiusura.

## Modalità di prelievo per feci dure:

- Raccogliere un campione di feci in un contenitore sterile.
- Trasferire 50-100 µl di soluzione fisiologica salina all'interno del contenitore di feci.
- Il contenitore con le feci e la soluzione fisiologica deve rimanere a temperatura ambiente per almeno 60 minuti.



# COLON PANEL FOR DETECTION OF INFLAMMATORY FACTORS IN THE BOWEL - SIMED S.R.L.

- Procedere dal punto 2 secondo le "Modalità di prelievo standard per feci di consistenza normale".

## Modalità di prelievo per feci in assenza del dispositivo

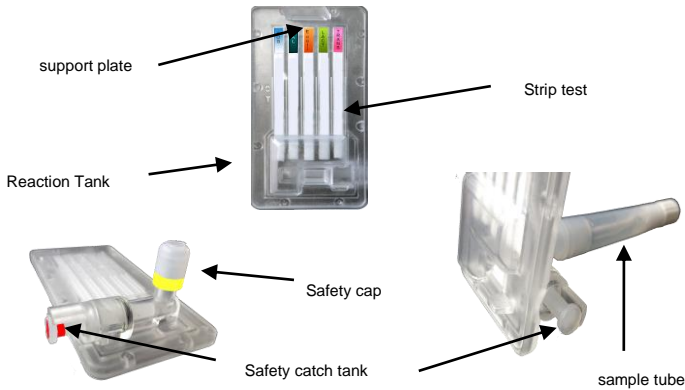
Se il Centro non dispone temporaneamente del dispositivo di raccolta delle feci, raccogliere il campione in un contenitore sterile e mantenerlo per non oltre 2 giorni a 2-4°C. Se il periodo di conservazione a 2-4°C supera i 2 giorni, il campione deve essere congelato a -20°C. Quando il dispositivo è nuovamente disponibile, si potrà procedere al prelievo del campione secondo le modalità descritte precedentemente. Se il campione è stato congelato, lasciare che il campione raggiunga la temperatura ambiente prima di procedere al prelievo con il dispositivo. Procedere dal punto 2 secondo la "Modalità di prelievo standard per feci di consistenza normale".

## Conservazione del dispositivo dopo aver effettuato la raccolta del campione di feci:

Il dispositivo di raccolta contenente le feci deve essere conservato in frigorifero (2-4°C) e inviato al laboratorio per il test entro le 48 ore successive al prelievo.

### Consegna del dispositivo contenente il campione al laboratorio analisi:

Se il tempo necessario al trasferimento del dispositivo contenente le feci dal centro di raccolta al laboratorio analisi non eccede i 60 minuti, non è necessaria alcuna cura particolare. Se il tempo di consegna al laboratorio è superiore ai 60 minuti, è necessario che il campione venga messo in un contenitore termico in presenza di elementi refrigeranti per garantirne l'opportuna conservazione.



## Procedura di utilizzo del COLON PANEL:

- Prendere una confezione di COLON PANEL, accertarsi che la confezione sia integra
- Verificare la data di scadenza del prodotto, non utilizzare il test oltre tale data
- Leggete attentamente le istruzioni e le avvertenze prima di aprire la confezione e di eseguire il test e attenetevi scrupolosamente ad esse.
- Non usate componenti diversi da quelli forniti nel kit
- Prima di iniziare il test abbiate cura di portare tutti i reagenti inclusi nel kit a una temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima dell'uso (la piastra, il flacone di prelievo del campione, il campione e/o i controlli).
- Non fumare, e non assumere cibo nelle aree di utilizzo dei test.
- laddove richiesto Compilate la scheda del paziente avendo cura di segnalare la data di scadenza e il numero di lotto del kit utilizzato.

### Second step

Quando si è pronti per effettuare il test prelevare il campione da testare (le feci raccolte precedentemente in un contenitore pulito e asciutto. Per avere risultati ottimali, si consiglia di effettuare il test entro 6 ore dalla raccolta del campione. Il campione può essere conservato per 1/2 giorni a 2-4°C.

1. Prendere il flacone con il buffer, svitare il tappo contenente il bastoncino estrattore con la calotta campione nelle feci, intingerlo con moto rotatorio in senso orario in almeno 3 punti diversi del campione.

2. Non scavare il campione di feci.

3. Una volta avvenuta la raccolta del campione, avvitare il tappo/estrattore sul flacone di prelievo e agitarlo energicamente per miscelare il campione con il tampone di estrazione/diluizione presente nel flacone di prelievo.

4. Aprire la busta e prelevare dalla confezione il Colon Panel.

5. Posizionare il Colon Panel sul tavolo e togliere il cappuccio protettivo

6. Inserire sul puntuale privo del tappo di protezione del colon panel il flacone di prelievo

7. Svitare il tappo/estrattore e tenerlo alzato per un paio di secondi fino al completo travaso del campione dentro il serbatoio, **eventualmente** esercitare una **LEGGERISSIMA** pressione con le dita sui lati del flacone di prelievo per far fuoriuscire il campione diluito

8. Riavvitare il tappo/estrattore e inserire il fermo laterale.

9. Posizionare il test in posizione verticale. **Entro pochi minuti il risultato sarà visibile.**

## NON CAPOVOLGERE IL DISPOSITIVO



NO

Osservare il rilascio del complesso oro colloidale sulla membrana. Questo dovrebbe essere osservabile come una linea colorata che si muove verso la parte frontale della membrana e dovrebbero essere necessari dai 20 ai 30 secondi, a seconda del campione, affinché essa appaia.

Leggere i risultati del test dopo 5 minuti.

L'attesa dei risultati oltre i 10 minuti potrebbe fornire un dato errato anche se il risultato definitivo rimane stabilmente impresso per un periodo molto lungo. E' sconsigliato eseguire il test in ambiente troppo ventilato.



## REAGENTI E MATERIALI

Ogni kit contiene:

- ✓ N.10 card Colon Panel
- ✓ N.10 tubi di estrazione contenenti tampone+etichette paziente
- ✓ N.1 Istruzioni per l'uso.

Materiale necessario non fornito:

- a) Guanti monouso
- b) Cronometro
- c) pipette di plastica

## Avvertenze

Sistema solo per diagnostica in vitro e per solo uso professionale.

- ❖ Non usare il prodotto oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.
- ❖ Il Colon Panel deve restare sigillato nella sua confezione originale fino al momento dell'uso.
- ❖ Non utilizzare il Colon Panel se la confezione è danneggiata.
- ❖ Seguire le buone regole di laboratorio, indossando occhiali protettivi, usando guanti monouso, non mangiare, bere o fumare durante l'esecuzione del test.
- ❖ Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente infettivi e maneggiati come infettivi.
- ❖ Eliminare in appositi contenitori i guanti, i tamponi, le provette e le card utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- ❖ Il test deve essere eseguito entro 2 ore dall'apertura delle buste.

## STOCCAGGIO E STABILITA'

Conservare il dispositivo ben sigillato sia che sia refrigerato che a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F).

Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso.

Non congelare.

## NOTE

Il Colon Panel fornisce esclusivamente esiti temporanei, che sarebbe opportuno confermare mediante l'applicazione di altre tecniche diagnostiche invasive (endoscopia, colonoscopia).

Ulteriori considerazioni cliniche insieme ad una valutazione professionale devono essere prese in considerazione in particolare modo quando il test fornisce un esito positivo. Il Colon Panel è concepito per uso professionale e non deve essere affidato o venduto se non a specialisti.

## RIEPILOGO

Il Colon Panel rivela contemporaneamente la presenza di varie patologie gastrointestinali. Le tecniche di screening dei campioni di feci per questo tipo di esame partono dai semplici metodi immunochimici per arrivare a metodi analitici più complessi. La breve durata e l'elevata sensibilità hanno fatto dei test immunochimici le tecniche più affermate finalizzate a questo tipo di esame. I test presenti sul Colon Panel si basano sulla reazione anticorpo-antigene per rilevare i vari antigeni e/o metaboliti presenti nelle feci.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ransohoff DF and Lang CA. Screening for colorectal cancer with the Fecal Occult Blood Test: a background paper. Ann Intern Med. 1997; 126: 811-822.
2. Towler BP, Irwig L, Glasziou P, Weller D, Kewenter J. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2): CD001216.
3. Ransohoff DF and Lang CA. Suggested technique for Faecal Occult Blood testing and interpretation in colorectal cancer screening. Ann Intern Med. 1997; 126: 808-810.
4. Chien-Hua Chiang et al., "A Comparative Study of Three Fecal Occult Blood Test in Upper Gastrointestinal Bleeding". Kaohsiung J. Med. Sci. May 2006, 22; 223-228.
1. Virtanen et al., "Higher concentrations of serum transferrin receptor in children than in adults", Am. J. Clin. Nutr. 1999; 69: 256-60.
2. Angriman I. et al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68
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
5. Gaya D.R., et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. *Q J Med* 2005; Vol 98, May 2005, p. 435-441.
  6. Langhorst, M.D. et al. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Faecal Lactoferrin, Calprotectin and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; Vol 103, p. 162-169.
  8. Berntzen HB, Olmez U, Fagerhol MK, Munthe E. The leukocyte protein L1 in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Scand J Rheumatol* 1991; 20(2): 74-82.
  9. Bjerke K, Halstensen TS, Jahnsen F, Pulford K, Brandtzaeg P. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut* 1993; 34(10): 1357-63.
  10. Bjarnason I, Sherwood R. Faecal calprotectin: a significant step in the noninvasive assessment of intestinal inflammation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 11.
  11. Brandtzaeg P, Gabrielsen TO, Dale I, Muller F, Steinbakk M, Fagerhol MK. The leukocyte protein L1 (calprotectin): a putative nonspecific defence factor in epithelial surfaces. *Adv Exp Med Biol* 1995; 371A: 201-6.
  12. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Golden BE. Faecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32(2): 171-7
  13. Campeotto F, Baldassarre M, Butel MJ, Viallon V, Nganzali F, Soulaïnes P, Kalach N, Lapillonne A, Laforgia N, Moriette G, Dupont C, Kapel N. Faecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 Apr;48(4):507-10.
  14. Campeotto F, Baldassarre M, Butel MJ, Viallon V, Nganzali F, Soulaïnes P, Kalach N, Lapillonne A, Laforgia N, Moriette G, Dupont C, Kapel N. Faecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009 Apr;48(4):507-10.
  15. Campeotto F, Kalach N, Lapillonne A, Butel MJ, Dupont C, Kapel N. Time course of faecal calprotectin in preterm newborns during the first month of life. *Acta Paediatr.* 2007 Oct;96(10):1531-3. Epub 2007 Aug 20. No abstract available.
  16. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derriex S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, Francoal C, Dupont C, Kapel N. High faecal calprotectin concentrations in newborn infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Jul;89(4):F353-5.
  17. Canani RB, Terrin G, Rapacciuolo L, Miele E, Siani MC, Puzone C, Cosenza L, Staiano A, Troncone R. Faecal calprotectin as reliable non-invasive marker to assess the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis.* 2008 Jul;40(7):547-53. Epub 2008 Mar 20.
  18. Canani RB, de Horatio LT, Terrin G, Romano MT, Miele E, Staiano A, Rapacciuolo L, Polito G, Bisesti V, Manguso F, Vallone G, Sodano A, Troncone R. Combined use of noninvasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006 Jan;42(1):9-15.
  19. Carroccio A, Iacono G, Cottone M, Di Prima L, Cartabellotta F, Cavataio F, Scalici C, Montalto G, Di Fede G, Rini G, Notarbartolo A, Averna MR. Diagnostic accuracy of faecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem.* 2003 Jun;49(6 Pt 1):861-7.
  20. Carroccio A, Rocco P, Rabitti PG, Di Prima L, Forte GB, Cefalà AB, Pisello F, Geraci G, Uomo G. Plasma calprotectin levels in patients suffering from acute pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 2006 Oct;51(10):1749-53.
  21. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, Ricchiuti A, Marchi S, Bottai M. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut.* 2005 Mar;54(3):364-8.
  22. Costa F, Mumolo MG, Bellini M, Romano MR, Ceccarelli L, Arpe P, Sterpi C, Marchi S, Maltinti G. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Dig Liver Dis.* 2003 Sep;35(9):642-7.
  23. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Benazzato L, Martinato M, Lamboglia F, Oliva L, Sturmiolo GC. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol.* 2008 Aug;103(8):2007-14.
  24. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Ferronato A, Fries W, Vettorato MG, Marines D, Sturmiolo G. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis.* 2007 Apr;22(4):429-37. Epub 2006 Jul 13.
  25. Dale I, Fagerhol MK, Naesgaard I. Purification and partial characterization of a highly immunogenic human leukocyte protein, the L1 antigen. *Europ J Biochem* 1983; 134(1): 1-6.
  26. Fagerhol MK. Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality. *Lancet* 2000; 356(9244):1783-4.
  27. Fagerhol MK, Andersson KB, Naess-Andresen CF, Brandtzaeg P, Dale I. Calprotectin (The L1 Leukocyte Protein) In: VL Smith & JR Dedman (Eds): Stimulus Response Coupling, The Role of Intracellular Calcium-Binding Proteins. CRC Press, Boca Raton, Fla., USA, 1990, pp. 187-210.
  28. Gilbert JA, Ahlquist DA, Mahoney DW, Zinsmeister AR, Rubin J, Ellefson RD. Faecal marker variability in colorectal cancer: calprotectin versus hemoglobin. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(10):1001-5.
  29. John B, Kronborg O, Ton HI, Kristinsson J, Fuglerud P. A new faecal calprotectin test for colorectal neoplasia. Clinical results and comparison with previous method. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(3): 291-6.
  30. John B, Fagerhol MK, Lyberg T, Prydz H, Brandtzaeg P, Naess-Andresen CF, Dale I. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Molecular Pathology* 1997; 50(3):113-23.
  31. Josefsson S, Bunn SK, Domellåf M. Faecal calprotectin in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007 Apr;44(4):407-13.
  32. Kristinsson J, Armbruster CH, Ugstad M, Kriwanek S, Nygaard K, Ton H, Fuglerud P. Faecal excretion of calprotectin in colorectal cancer; relationship to tumor characteristics. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(2):202-7.
  33. Kristinsson J, Roseth A, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H, Bormer OP, Raknerud N, Nygaard K. Faecal calprotectin concentration in patients with colorectal carcinoma. *Disease of the Colon & Rectum*1998; 41(3):316-21.
  34. Kronborg O, Ugstad M, Fuglerud P, John B, Hardcastle J, Scholefield JH, Vellacott K, Moshakis V, Reynolds JR. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000; 46(6):795-800.
  35. Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassarre M, Butel MJ, Dupont C. Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Nov;51(5):542-7. Review.
  36. Kapel N, Roman C, Caldari D, Sieprath F, Canioni D, Khalifoun Y, Goulet O, Ruemmele FM. Faecal tumor necrosis factor-alpha and calprotectin as differential diagnostic markers for severe diarrhea of small infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005 Oct;41(4):396-400.
  37. Kapel N, Barbot L, Gobert JG. New faecal markers: recent developments and perspectives. *Ann Pharm Fr.* 2004 Nov;62(6):371-5. Review. French.
  38. Kapel N. Faecal inflammatory markers in nutrition and digestive Disease in children. *Arch Pediatr.* 2004 May;11(5):403-5. Review. French. No abstract available.
  39. Laforgia N, Baldassarre ME, Pontrelli G, Indrio F, Altomare MA, Di Bitonto G, Mautone A. Calprotectin levels in meconium. *Acta Paediatr.* 2003 Apr;92(4):463-6.
  40. Limburg PJ, Ahlquist DA, Sandborn WJ, Mahoney DW, Devens ME, Harrington JJ, Zinsmeister AR. Faecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *American Journal of Gastroenterology* 2000; 95(10):2831-7.
  41. Meucci G, D'Inca R, Maieron R, Orzes N, Vecchi M, Visentini D, Minoli G, Dal Pont E, Zilli M, Benedetti E, Virgilio T, Tonutti E. Diagnostic value of faecal calprotectin in unselected outpatients referred for colonoscopy: A multicenter prospective study. *Dig Liver Dis.* 2010 Mar;42(3):191-5. Epub 2009 Aug 19.
  42. Montalto M, Gallo A, Ferrulli A, Visca D, Campobasso E, Cardone S, D'Onofrio F, Santoro L, Covino M, Mirijello A, Leggio L, Gasbarrini G, Addolorato G. Faecal calprotectin concentrations in alcoholic patients: a longitudinal study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Jan;23(1):76-80.
  43. Montalto M, Gallo A, Ianiro G, Santoro L, D'Onofrio F, Ricci R, Cammarota G, Covino M, Vastola M, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Can chronic gastritis cause an increase in faecal calprotectin concentrations? *World J Gastroenterol.* 2010 Jul 21;16(27):3406-10
  44. Montalto M, Gallo A, Curigliano V, D'Onofrio F, Santoro L, Covino M, Dalvai S, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Clinical trial: the effects of a probiotic mixture on non-steroidal anti-inflammatory drug enteropathy - a randomized, double-blind, cross-over, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010 Jul;32(2):209-14. Epub 2010 Apr 7.
  45. Montalto M, Santoro L, Dalvai S, Curigliano V, D'Onofrio F, Scarpellini E, Cammarota G, Panunzi S, Gallo A, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Faecal calprotectin concentrations in patients with small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis.* 2008;26(2):183-6. Epub 2008 Apr 21.
  46. Montalto M, Santoro L, Curigliano V, D'Onofrio F, Cammarota G, Panunzi S, Ricci R, Gallo A, Grieco A, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Faecal calprotectin concentrations in untreated coeliac patients. *Scand J Gastroenterol.* 2007 Aug;42(8):957-61.
  47. Montalto M, Curigliano V, Santoro L, Armuzzi A, Cammarota G, Covino M, Mentella MC, Ancarani F, Manna R, Gasbarrini A, Gasbarrini G. Faecal calprotectin in first-degree relatives of patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2007 Jan;102(1):132-6. Epub 2006 Nov 13.
  48. Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, Berstad A. Faecal calprotectin 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.
  - Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1992; 27(9):793-8.
  - Roseth AG, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion*1997; 58(2):176-80.
  49. Roseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1999; 34(1):50-4.
  50. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27(9):793-8.
  51. Roseth AG, Kristinsson J, Fagerhol MK, Schjonsby H, Aadland E, Nygaard K, Roald B. Faecal calprotectin: a novel test for the diagnosis of colorectal cancer? *Scand J Gastroenterol* 1993; 28(12):1073-6.
  52. Roseth AG, Aadland E, Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004 Oct;39(10):1017-20.
  53. Scarpa M, D'Inca R, Basso D, Ruffolo C, Polese L, Bertin E, Luise A, Frego M, Plebani M, Sturmiolo GC, D'Amico DF, Angriman I. Faecal lactoferrin and calprotectin after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* 2007 Jun;50(6):861-9.
  54. Tibble JA, Bjarnason I. Department of Medicine, Guy's, King's, St Thomas's Medical School, Bessemer Road, London SE5 9PJ, UK. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease.
  55. Tibble JA, Bjarnason I. Department of Medicine, Guy's, King's, St. Thomas's Medical School, London, UK. Faecal calprotectin as an index of intestinal inflammation.
  56. 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. [Journal Article] *Gastroenterology* 2000; 119(1):15-22.
  57. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, Bjarnason I. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut* 1999; 45(3):362-6.
  58. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47(4):506-13.
  59. Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Fagerhol MK, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut* 2001; 49: 402.
  60. Tibble JA, Bjarnason I. Markers of intestinal inflammation and predictors of clinical relapse in patients with quiescent IBD. *Medscape Gastroenterol* 2001; 3 (2).
  61. Ton H, Brandsnes, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjonsby H, John B. Improved assay for faecal calprotectin. *Clinica Chimica Acta* 2000; 292(1-2):41-54.
  62. Kane, S., Sandborn, W., Rufo, P., Zhoulev, A., Boone, J., Lyster, D., Camilleri, M., and S. Hanauer. 2003. Faecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker in Identifying Intestinal Inflammation. *Am. J. Gastroenterol.* 98:1309-1314.
  63. Parsi, M., Shen, B., Achkar, J., Remzi, F., Goldblum, J., Boone, J., Lin, D., Connor, J., Fazio, V., and B. Lashner. 2004. Faecal Lactoferrin for the Diagnosis of Symptomatic Patients with Ileal Pouch-anal Anastomosis. *Gastroenterology* 126:1280-1286.
  64. Buderus, S., Boone, J., Lyster, D., and M. Lentze. 2003. Faecal Lactoferrin: New Parameter to Monitor Infliximab Therapy. *Dig. Dis. and Sciences.* 49:1036-1039.
  65. Langhorst, J., Elsenbruch, S., Mueller, T., Rueffer, A., Spahn, G., Michalsen, A., and G. Dobos. 2005. A Comparison Among Four Neutrophil-derived Proteins in Feces as an Indicator of Disease Activity in Ulcerative Colitis. *Inflamm. Bowel Dis.* 11(12):1085-1091.
  66. Kayazawa M, Saitoh O, Kojima K et al. Lactoferrin in whole gut lavage fluid as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 360-369
  67. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 506-513. van der Sluys Veer A, Brouwer J, Biemond I et al. Faecal lysozyme in assessment of disease activity in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 590-595
  68. Saitoh O, Sugi K, Matsue R et al. The forms and the levels of faecal PMN-elastase in patients with colorectal diseases. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 388-393
  69. Rachmilewitz D and International Study Group. Coated mesalazine versus sulfasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomized trial. *Br Med J* 1989; 298: 82-86
  70. WALKER C.W., "Faecal occult blood tests reduce colorectal cancer mortality.", *Am Fam Physician.* 2007 Jun 1;75(11):1652-3.
  71. CHIEN-HUA CHIANG, et al. «A comparative study of three faecal occult blood tests in upper gastrointestinal bleeding»; *Kaohsiung J. Med. Sci* May 2006, Vol 22, No 5: 223-228
  72. HIROFUMI MIYOSHI, et al. «Accuracy of Detection of Colorectal Neoplasia using an Immunohistochemical Occult Blood Test in Symptomatic Referred Patients: Comparison of Retrospective and Prospective Studies. *Internal Medicine* Sept. 2000 Vol. 39, No. 9: 701-706.
  73. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249
  74. Wei YS, Lu JC, Wang L, Lan P, Zhao HJ, Pan ZZ, Huang J, Wang JP. Risk factors for sporadic colorectal cancer in southern Chinese. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2526-2530



75. Lei T, Mao WM, Yang HJ, Chen XZ, Lei TH, Wang X, Ying Q, Chen WQ, Zhang SW. [Study on cancer incidence through the Cancer Registry Program in 11 Cities and Counties, China.]. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2009; 30: 1165-1170
76. Hewitson P, Glasziou P, Watson E, Towler B, Irwig L. Cochrane systematic review of colorectal cancer screening using the fecal occult blood test (hemoccult): an update. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1541-1549
77. Logan RF. Review: faecal occult blood test screening reduces risk of colorectal cancer mortality. *Evid Based Med* 2009; 14: 15
78. Smith RA, Cokkinides V, Brooks D, Saslow D, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2010: a review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 99-119
79. Mandel JS, Church TR, Bond JH, Ederer F, Geisser MS, Mongin SJ, Snover DC, Schuman LM. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000; 343: 1603-1607
80. Labianca R, Beretta GD, Kildani B, Milesi L, Merlin F, Mosconi S, Pessi MA, Prochilo T, Quadri A, Gatta G, de Braud F, Wils J. Colon cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 74: 106-133
81. Levin B, Brooks D, Smith RA, Stone A. Emerging technologies in screening for colorectal cancer: CT colonography, immunochemical fecal occult blood tests, and stool screening using molecular markers. *CA Cancer J Clin* 2003; 53: 44-55
82. Collins JF, Lieberman DA, Durbin TE, Weiss DG. Accuracy of screening for fecal occult blood on a single stool sample obtained by digital rectal examination: a comparison with recommended sampling practice. *Ann Intern Med* 2005; 142: 81-85
83. Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, Tucker JP, Tekawa IS, Cuff T, Pauly MP, Shlager L, Palitz AM, Zhao WK, Schwartz JS, Ransohoff DF, Selby JV. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1462-1470
84. Oort FA, Terhaar Sive Droste JS, Van Der Hulst RW, Van Heukelem HA, Loffeld RJ, Wesdorp IC, Van Wanrooij RL, De Baaij L, Mutsaers ER, van der Reijt S, Coupe VM, Berkhof J, Bouman AA, Meijer GA, Mulder CJ. Colonoscopy-controlled intra-individual comparisons to screen relevant neoplasia: faecal immunochemical test vs. guaiac-based faecal occult blood test. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 432-439
85. Parra-Blanco A, Gimeno-García AZ, Quintero E, Nicolás D, Moreno SG, Jiménez A, Hernández-Guerra M, CarrilloPalau M, Eishi Y, López-Bastida J. Diagnostic accuracy of immunochemical versus guaiac faecal occult blood tests for colorectal cancer screening. *J Gastroenterol* 2010; 45: 703-712
86. Young GP, Cole S. New stool screening tests for colorectal cancer. *Digestion* 2007; 76: 26-33
87. Kronborg O, Regula J. Population screening for colorectal cancer: advantages and drawbacks. *Dig Dis* 2007; 25: 270-273
88. Uchida K, Matsuse R, Miyachi N, Okuda S, Tomita S, Miyoshi H, Hirata I, Tsunoto S, Ohshiba S. Immunochemical detection of human blood in feces. *Clin Chim Acta* 1990; 189: 267-274
89. Burton RM, Landreth KS, Barrows GH, Jarrett DD, Songster CL. Appearance, properties, and origin of altered human hemoglobin in feces. *Lab Invest* 1976; 35: 111-115
90. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature* 1997; 386: 623-627
91. Tagore KS, Lawson MJ, Yucaitis JA, Gage R, Orr T, Shuber AP, Ross ME. Sensitivity and specificity of a stool DNA multitarget assay panel for the detection of advanced colorectal neoplasia. *Clin Colorectal Cancer* 2003; 3: 47-53
92. Woolf SH. A smarter strategy? Reflections on fecal DNA screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2755-2758
93. Hakama M, Coleman MP, Alexe DM, Auvinen A. Cancer screening: evidence and practice in Europe 2008. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1404-1413
94. Hoff G, Grotmol T, Thiis-Evensen E, Bretthauer M, Gondal G, Vatn MH. Testing for faecal calprotectin (PhiCal) in the Norwegian Colorectal Cancer Prevention trial on flexible sigmoidoscopy screening: comparison with an immunochemical test for occult blood (FlexSure OBT). *Gut* 2004; 53: 1329-1333
95. McDonald S, Lyall P, Israel L, Coates R, Frizelle F. Why COMMENTS Chen JG et al. Colorectal cancer screening[WJG]www.wjgnet.com 2688 June 7, 2012[Volume 18]Issue 21[barium enemas fail to identify colorectal cancers. *ANZ J Surg* 2001; 71: 631-633
96. Kahi CJ, Imperiale TF, Juliar BE, Rex DK. Effect of screening colonoscopy on colorectal cancer incidence and mortality. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 770-775; quiz 711
97. Rabeneck L, Paszat LF, Hilsden RJ, Saskin R, Leddin D, Grunfeld E, Wai E, Goldwasser M, Sutradhar R, Stukel TA. Bleeding and perforation after outpatient colonoscopy and their risk factors in usual clinical practice. *Gastroenterology* 2008; 135: 1899-1906, 1906.e1
98. Smith RA, Cokkinides V, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2008: a review of current American Cancer Society guidelines and cancer screening issues. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 161-179
99. Pox CP, Schmiegel W. Role of CT colonography in colorectal cancer screening: risks and benefits. *Gut* 2010; 59: 692-700
100. Chiang CH, Jeng JE, Wang WM, Jheng BH, Hsu WT, Chen BH. A comparative study of three fecal occult blood tests in upper gastrointestinal bleeding. *Kaohsiung J Med Sci* 2006; 22: 223-228
101. Sugi K, Saitoh O, Hirata I, Katsu K. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: comparison with other neutrophil-derived proteins. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 927-934
102. Ward DG, Suggett N, Cheng Y, Wei W, Johnson H, Billingham LJ, Ismail T, Wakelam MJ, Johnson PJ, Martin A. Identification of serum biomarkers for colon cancer by proteomic analysis. *Br J Cancer* 2006; 94: 1898-1905
103. Ahmed N, Oliva KT, Barker G, Hoffmann P, Reeve S, Smith IA, Quinn MA, Rice GE. Proteomic tracking of serum protein isoforms as screening biomarkers of ovarian cancer. *Proteomics* 2005; 5: 4625-4636
104. Saitoh O, Kojima K, Kayazawa M, Sugi K, Tanaka S, Nakagawa K, Teranishi T, Matsuse R, Uchida K, Morikawa H, Hirata I, Katsu K. Comparison of tests for fecal lactoferrin and fecal occult blood for colorectal diseases: a prospective pilot study. *Intern Med* 2000; 39: 778-782
105. Hirata I, Hoshimoto M, Saito O, Kayazawa M, Nishikawa T, Murano M, Toshina K, Wang FY, Matsuse R. Usefulness of fecal lactoferrin and hemoglobin in diagnosis of colorectal diseases. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1569-1574
106. Sheng JQ, Li SR, Wu ZT, Xia CH, Wu X, Chen J, Rao J. Transferrin dipstick as a potential novel test for colon cancer screening: a comparative study with immuno fecal occult blood test. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2182-2185
107. Lönnnerdal B, Iyer S. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu Rev Nutr* 1995; 15: 93-110
108. Chew MH, Suzanah N, Ho KS, Lim JF, Ooi BS, Tang CL, Eu KW. Colorectal cancer mass screening event utilising quantitative faecal occult blood test. *Singapore Med J* 2009; 50: 348-353
109. Mandel JS, Church TR, Ederer F, Bond JH. Colorectal cancer mortality: effectiveness of biennial screening for fecal occult blood. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 434-437
110. Allerberger F, et al. 2003. Hemolytic-uremic syndrome associated with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H infection and consumption of unpasteurized cow's milk. *Int. J. Infect. Dis.* 7:42-45. [PubMed]
111. Bastian S. N., Carle I., Grimont F. 1998. Comparison of 14 PCR systems for the detection and subtyping of stx genes in Shiga-toxin-producing *Escherichia coli*. *Res. Microbiol.* 149:457-472.[PubMed]
112. Bavaro M. F. 2009. *Escherichia coli* O157: what every internist and gastroenterologist should know. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 11:301-306. [PubMed]
113. Belanger S. D., Boissinot M., Menard C., Picard F. J., Bergeron M. G. 2002. Rapid detection of Shiga toxin-producing bacteria in feces by multiplex PCR with molecular beacons on the Smart cyclor. *J. Clin. Microbiol.* 40:1436-1440. [PMC free article] [PubMed]
114. Bischoff C., Luthy J., Altwegg M., Baggi F. 2005. Rapid detection of diarrheagenic *E. coli* by real-time PCR. *J. Microbiol. Methods* 61:335-341. [PubMed]
115. 6. Chui L., et al. 2010. Comparison of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* detection methods using clinical stool samples. *J. Mol. Diagn.* 12:469-475. [PMC free article] [PubMed]
116. 7. Cornu G., et al. 1999. Hemolytic uremic syndrome in Belgium: incidence and association with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clin. Microbiol. Infect.* 5:16-22. [PubMed]
117. 119. Eklund M., Leino K., Siitonen A. 2002. Clinical *Escherichia coli* strains carrying stx genes: stx variants and stx-positive virulence profiles. *J. Clin. Microbiol.* 40:4585-4593. [PMC free article] [PubMed]
118. 120. Ethelberg S., et al. 2009. Outbreak of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection from consumption of beef sausage. *Clin. Infect. Dis.* 48:e78-81. [PubMed]
119. 121. Fey P. D., Wickert R. S., Rupp M. E., Safranek T. J., Hinrichs S. H. 2000. Prevalence of non-O157:H7 shiga toxin-producing *Escherichia coli* in diarrheal stool samples from Nebraska. *Emerg. Infect. Dis.* 6:530-533. [PMC free article] [PubMed]
120. 122. Gannon V. P., King R. K., Kim J. Y., Thomas E. J. 1992. Rapid and sensitive method for detection of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef using the polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:3809-3815. [PMC free article] [PubMed]
121. 123. Gilmour M. W., et al. 2009. Isolation and detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in clinical stool samples using conventional and molecular methods. *J. Med. Microbiol.* 58:905-911.[PubMed]
122. 124. Gould L. H., et al. 2009. Recommendations for diagnosis of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. *MMWR Recomm. Rep.* 58:1-14.
123. 125. Griffin P. M. 1995. *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, p. 739-761 In Blaser M. J., Smith P. D., Ravdin J. I., Greenberg H. B., Guerrant R. L., editors. (ed.), *Infections of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York, NY.
124. 126. Hanna S. S., Atkinson R. M., Jones T. F., Dunn J. R. 2010. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Tennessee: surveillance and current clinical laboratory practices. *Tenn. Med.* 103:39-42.[PubMed]
125. 127. Jelacic J. K., et al. 2003. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Montana: bacterial genotypes and clinical profiles. *J. Infect. Dis.* 188:719-729. [PubMed]
126. 128. Johnson K. E., Thorpe C. M., Sears C. L. 2006. The emerging clinical importance of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Infect. Dis.* 43:1587-1595. [PubMed]
127. 129. Karch H., Bielaszewska M. 2001. Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H- strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 39:2043-2049. [PMC free article] [PubMed]
128. 130. Lockary V. M., Hudson R. F., Ball C. L. 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Idaho. *Emerg. Infect. Dis.* 13:1262-1264.
129. 131. Manning S. D., et al. 2007. Surveillance for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Michigan, 2001-2005. *Emerg. Infect. Dis.* 13:318-321. [PMC free article] [PubMed]
130. 132. McCarthy T. A., et al. 2001. Hemolytic-uremic syndrome and *Escherichia coli* O121 at a lake in Connecticut, 1999. *Pediatrics* 108:E59. [PubMed]
131. 133. Misselwitz J., et al. 2003. Cluster of hemolytic-uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22:349-354. [PubMed]
132. 134. Nataro J. P., Kaper J. B. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:142-201.[PMC free article] [PubMed]
133. 135. Nielsen E. M., Andersen M. T. 2003. Detection and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* by automated 5' nuclease PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 41:2884-2893.[PMC free article] [PubMed]
134. 136. Paton A. W., Paton J. C. 2002. Direct detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by multiplex PCR for stx1, stx2, eae, ehxA, and saa. *J. Clin. Microbiol.* 40:271-274.[PMC free article] [PubMed]
135. 137. Schimmer B., et al. 2008. Outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Norway caused by stx2-positive *Escherichia coli* O103:H25 traced to cured mutton sausages. *BMC Infect. Dis.* 8:41.[PMC free article] [PubMed]
136. 138. Spitzer M. D. 2002. Viral causes of diarrhea. *Pediatr. Rev.* 23:257-258. [PubMed]
137. 139. Thompson L. H., Giercke S., Beaudoin C., Woodward D., Wylie J. L. 2005. Enhanced surveillance of non-O157 verotoxin-producing *Escherichia coli* in human stool samples from Manitoba. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 16:329-334. [PMC free article] [PubMed]
138. 140. Wang G., Clark C. G., Rodgers F. G. 2002. Detection in *Escherichia coli* of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157:H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 40:3613-3619. [PMC free article] [PubMed]
139. 141. Werber D., et al. 2002. A multistate outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 infections in Germany, detected by molecular subtyping surveillance. *J. Infect. Dis.* 186:419-422.[PubMed]
140. 142. Wilhelmli I., Roman E., Sanchez-Fauquier A. 2003. Viruses causing gastroenteritis. *Clin. Microbiol. Infect.* 9:247-262. [PubMed]