

## h LACTOFERRIN CARD

*Per uso diagnostico in Vitro*

### Test immunocromatografico su card per la determinazione della lactoferrina umana nelle feci

#### **I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO**

La Lactoferrina (Lf) è una glicoproteina prodotta dalle cellule neutrofile, fagociti mononucleati e cellule epiteliali. E' contenuta nei fluidi secretori come la saliva e il latte materno. La sua funzione è di bloccare la crescita microbica limitando la disponibilità di ferro; questo effetto è amplificato dalla presenza di anticorpi specifici IgA secretorie diretti contro i batteri. La Lf ha anche un effetto battericida causando danno alla membrana cellulare in cooperazione con lisozima. Quando si sviluppa un'infezione nel tratto gastrointestinale le cellule neutrofile e i fagociti migrano nel centro infiammatorio e rilasciano granuli contenenti Lf. La Lf è stabile nelle feci ed è facilmente misurabile con metodi immunochimici.

Questo marcatore è elevato in pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD). La malattia infiammatoria intestinale (IBD), la colite ulcerativa (UC) e il morbo di Crohn, rappresentano uno spettro di malattie caratterizzato da una infiammazione cronica ed idiopatica a carico del tratto gastrointestinale. Pazienti pediatrici ed adulti con IBD possono presentare una varietà di sintomi clinici (incluso dolori addominali e diarrea) che possono essere non specifici.

h Lactoferrin Card è un test immunocromatografico rapido per la determinazione qualitativa di lactoferrina umana in campioni fecali che può riflettere infiammazione intestinale in IBD.

#### **II. PRINCIPIO DEL TEST**

h Lactoferrin Card è un test non invasivo utilizzato per differenziare pazienti con infiammazione (infezione batterica invasiva, IBD etc.) da quelli con malattie intestinali non infiammatorie (virale, tossigenica, etc.).

h Lactoferrin Card è un test immunocromatografico rapido per la determinazione qualitativa di lactoferrina umana in campioni fecali. Nella banda test (zona dei risultati) della membrana sono adesi anticorpi contro la lactoferrina.

Durante il test, il campione reagisce con il coniugato colorato prefissato sul gold pad (anticorpo anti-H.Lactoferrina / microsferi colorate di rosso). La miscela si muove verso l'alto lungo la membrana per azione capillare. Anche le particelle colorate migrano insieme al campione. L'eventuale presenza di Lactoferrina nelle feci determina la formazione di un ponte capace di legare l'anticorpo coniugato con le microsferi colorate portando alla formazione di una banda colorata. Il campione continua la migrazione lungo la membrana filtrante fino alla zona di controllo, dove è legato anche un anticorpo generico capace di legare l'anticorpo marcato con le microsferi colorate, dando luogo ad una banda verde che dimostra il corretto funzionamento dei reattivi.

#### **III. REAGENTI E MATERIALI**

##### **Ogni kit contiene:**

**1. Lactoferrin-card (20 cassette).** Le card sono conservate in buste sigillate, con essiccante.

**2. Extraction buffer-** Flaconi con tampone di estrazione **(20 pezzi x 1ml)**

**3. Istruzioni per l'Uso (1 pz)**

##### **MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO**

Dispositivi per la raccolta dei campioni;

Guanti monouso;

Cronometro;

Provette/fiale da saggio;

Pipette di plastica.

#### **IV. PRECAUZIONI PARTICOLARI**

- Tutte le operazioni indicate devono essere eseguite rispettando le regole di laboratorio.
- h Lactoferrin Card è un kit utilizzato esclusivamente per test in vitro.
- Evitare di toccare la striscia di nitrocellulosa con le dita.
- Indossare i guanti durante la manipolazione del campione.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le strips utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- Non utilizzare reagenti provenienti da altri kit.
- La card deve rimanere nella busta chiusa fino al suo utilizzo.
- Non usare la card se la busta è danneggiata.
- Scartare il diluente se è microbiologicamente contaminato.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita dopo la data di scadenza o se conservati in condizioni non adeguate.

#### **V. CONSERVAZIONE**

Conservare nella confezione sigillata in frigorifero o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione. I dispositivi devono rimanere nel flacone chiuso fino all'utilizzo. Non congelare.

#### **VI. RACCOLTA DEL CAMPIONE**

I campioni devono essere trasportati in un contenitore ermetico e conservati a +2°C - +8°C fino al loro utilizzo. Testare i campioni il prima possibile e comunque entro 72 ore se conservati a +2°C - +8°C. Per periodi di stoccaggio più lunghi i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato. I campioni possono essere congelati e scongelati per due volte.

##### **Nota**

Non utilizzare campioni conservati con un terreno di trasporto, su tampone o miscelati con conservanti.

Miscelare i campioni prima di dispensare.

#### **Campioni liquidi o semi-solidi**

Usare una pipetta (inclusa nel kit) per ciascun campione. Dispensare 10 µl di campione in un tubo di estrazione. Miscelare su vortex per 15 secondi.

Prestare attenzione quando si pipettano feci semi-solide. L'aggiunta di quantità di campione inferiore a quella indicata potrebbe dare luogo a risultati falsi negativi. Mentre l'aggiunta di una quantità superiore potrebbe originare risultati non validi a causa della difficoltosa migrazione del campione lungo la membrana.

## Campioni solidi

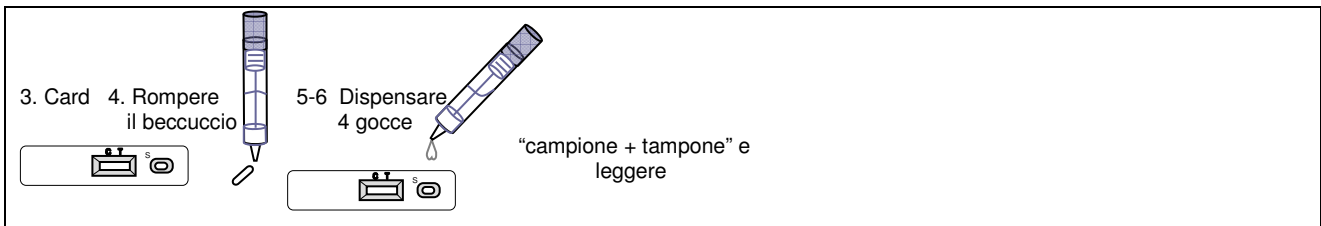
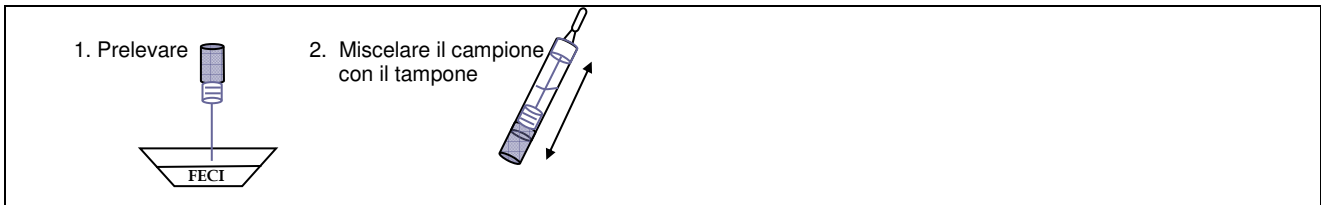
Aprire la parte superiore del tubo di estrazione. Prelevare il campione con il bastoncino del tappo, toccando le feci in tre punti diversi. Verificare di trasferire all'interno del tubo di estrazione una piccola quantità di feci (circa 10 mg). Riavvitare il tappo con il bastoncino e miscelare per ottenere una soluzione omogenea. Attendere almeno 3 minuti. Se necessario ripetere queste operazioni fino ad ottenere una soluzione giallo scuro-bruna.

Trasferire poche feci, miscelare poco la soluzione o lasciare le feci in sospensione nel tubo di estrazione può dare origine a risultati falsi negativi. Verificare di trasferire la quantità giusta di feci nel tubo di estrazione. Miscelare il campione su vortex prima dell'uso. L'aggiunta di una quantità superiore di feci potrebbe dare luogo a risultati non validi per la migrazione difficoltosa del campione lungo la membrana.

## VII. PROCEDURA DEL TEST

**Prima di effettuare il test lasciare che i campioni di feci e il tampone raggiungano temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). Non aprire le buste con le card fino a quando non si è pronti ad effettuare l'analisi.**

1. Togliere la card dalla busta e usare il prima possibile. Porre la card su una superficie piana e pulita.
2. Miscelare la soluzione nel tubo con il tampone di estrazione e il campione. Rompere il beccuccio sul tappo.
3. Usare una card per ciascun campione. Dispensare 4 gocce o 100 µL nel pozzetto indicato dalla lettera S. Far partire il cronometro.
4. Leggere il risultato dopo **10 minuti** aver dispensato il campione.



## VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati devono essere interpretati nel seguente modo:

**POSITIVO:** oltre alla banda di controllo verde, compare una seconda banda rossa (lattoferrina test line) in corrispondenza della lettera T. Interpretazione: probabile IBD.

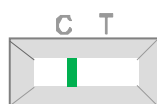
**NEGATIVO:** Nella finestra di lettura appare 1 sola banda verde colorata nella zona di controllo. Questa è la banda di controllo, che garantisce il corretto funzionamento del test. Interpretazione: probabile IBD non attiva.

**NON VALIDO:** Nessuna banda appare nella zona controllo. In nessun caso un campione deve essere identificato come positivo se non si ha la formazione della banda di controllo. Se la banda di controllo non si forma, il test non è valido e deve essere ripetuto. La causa di questo risultato potrebbe essere dovuta a un volume insufficiente di campione o ad un errore nell'esecuzione del test o ad un deterioramento dei reagenti.

L'intensità della banda test (T) può variare in funzione della concentrazione della lattoferrina umana presente nel campione. Tuttavia, con questo test non è possibile effettuare una determinazione quantitativa.



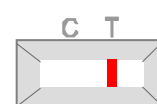
**POSITIVO**



**NEGATIVO**



**INVALIDO**



**INVALIDO**

## IX. CONTROLLO QUALITA' INTERNO

In ogni striscia reattiva è inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. La formazione della banda di controllo "C" conferma che la tecnica procedurale è corretta e che il volume del campione è sufficiente.

## X. CARATTERISTICHE

### A. Valori attesi

Nelle malattie infettive intestinali, i neutrofili circolanti migrano nel tessuto infetto e rilasciano diverse specie di granuli. La Lattoferrina è associata ai granuli secondari (specifici) che sono rilasciati in simultaneamente ad altre proteine lisomiali durante la fagocitosi. Si è così pensato alla Lattoferrina nelle feci come marcatore di attività leucocitaria nelle infezioni intestinali.

L'aumento di leucociti fecali suggerisce una risposta infiammatoria a un'infezione batterica, includendo le specie di *Salmonella*, le specie di *Shigella*, *Campylobacter jejuni* e *Clostridium difficile*, mentre nella maggior parte delle infezioni virali sembra essere un processo infiammatorio invasivo con scarsa migrazione di neutrofili.

## B. Sensibilità-Specificità (correlazione)-

Un campione contenente Lactoferrina a concentrazione uguale o superiore a 10ug hLf/g feci risulta positivo quando testato con h Lactoferrin Card.

Differenti diluizioni di lactoferrina sono state testate direttamente nel tampone di estrazione o addizionate ad un campione fecale negativo e testate in accordo alle istruzioni del kit per valutare il limite di rilevabilità del test.

La determinazione di lactoferrina con h Lactoferrin Card mostra una sensibilità >99% rispetto ad un altro test immunologico in commercio.

## C. Interferenze e cross-reattività

Il kit h Lactoferrin Card mostra una specificità >99% rispetto ad un altro test immunologico in commercio. Il kit h Lactoferrin Card è specifico per la lactoferrina umana, non ci sono cross-reazioni con la Lactoferrina bovina.












## XI. LIMITI DEL TEST

- Il test deve essere fatto entro due ore dall'apertura della card.
- Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo).
- Feci di pazienti con malattie infiammatorie acute intestinali che solitamente coinvolgono i neutrofili, come il morbo di Crohn e colite ulcerativa, dovrebbero essere positivi per la Lactoferrina fecale. Il kit h Lactoferrin Card dovrebbe essere sensibile per la diagnosi in pazienti con diarrea cronica.
- I risultati positivi confermano la presenza di Lactoferrina in campioni fecali; tuttavia potrebbero esserci cause diverse dalla IBD per la presenza di Lactoferrina fecale. I risultati positivi devono essere confermati da procedure diagnostiche aggiuntive. Endoscopia e campioni biotici istologici sono i metodi per la diagnosi e la quantificazione dell'infiammazione intestinale.
- Un risultato negativo non esclude un'infiammazione, alcune malattie come morbo celiaco e colite microscopica ulcerosa che implicano principalmente un'infiammazione mononucleata.
- La Lactoferrina è un componente del latte materno; il test risulta positivo durante l'allattamento al seno e non dovrebbe essere fatto ai neonati con tale nutrimento.

## XII. BIBLIOGRAFIA

- Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and  $\alpha$ -1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections, Pathophysiology. Vol 3; 1996, p. 87-90.

- 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.

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 Limiti di temperatura	 LOT	Codice del lotto (EXXX)	 Fabbricante	 Mantenere asciutto	 Non sterile
 Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo	 Non riutilizzare	 Fragile, maneggiare con cura	 Tenere lontano dal calore	

## CONFEZIONE (20 test)

Lactoferrin card  
Tampone di Estrazione  
Istruzioni per l'uso

## COD. ODZ-085

20pezzi  
20 flaconi x 1.0ml  
1 pezzo

Codice Ramo CND W0102010304

