
CERTEST Calprotectin- Lactoferrin

ONE STEP human calprotectin
and human lactoferrin
CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For Information Only Purposes





CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest Calprotectin-Lactoferrin one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous semi-quantitative detection of human calprotectin (hCp) and human lactoferrin (hLf) in stool samples that may reflect gastrointestinal inflammation caused by several pathologies (inflammatory bowel disease, colorectal cancer and some enteropathies).

CerTest Calprotectin-Lactoferrin card test offers a simple, a highly sensitive and non-invasive screening assay to determine intestinal inflammatory activity, to monitor treatment response and to predict risk of relapse.

INTRODUCTION

Calprotectin is a neutrophil cytosolic protein with antimicrobial properties, which is present at increased concentration in stool during bowel inflammation. The stability of the protein to degradation keeps it stable in faeces for up to 7 days at room temperature, making it an ideal analyte. Calprotectin is released by activation of leukocytes, giving increased levels in plasma, cerebral spinal fluid, synovial fluid, urine or stools as a consequence of disease in the relevant organ(s). Calprotectin inhibits zinc-dependent enzyme systems, as a result kills microbes and induces apoptosis in normal and cancer cells. In the presence of calcium, calprotectin is a remarkably resistant to proteolytic degradation and so is stable in stools kept at room temperature for 7 days.

Lactoferrin is a glycoprotein component of neutrophil secondary granules, a primary component of the acute inflammatory response and is released from fecal leukocytes. This protein is resistant to proteolysis in the faeces and may serve as a marker of inflammation in the intestine. The major cause of fecal neutrophils in patients with chronic diarrhoea is chronic inflammatory intestine disease of the colon (i.e., Crohn's Disease and ulcerative colitis). Lactoferrin has been also studied as a predictor of infection with invasive enteropathogens in children with diarrhoea. Bacterial inflammatory diarrhea may be caused by *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* and *Clostridium difficile*.

The hCp and hLf are non-invasive markers of intestinal inflammation (for example in Ulcerative Colitis (UC) and Crohn's Disease (CD)).

Suspicion of gastrointestinal inflammatory disorders is raised in patients with persistent (4 weeks) or recurrent (2 episodes in six months) abdominal pain and diarrhea. Additionally, rectal bleeding, weight loss or anemia increase the probability of the condition. Endoscopic evaluation with histopathological sampling is generally considered indispensable to diagnosis patients with gastrointestinal inflammation disorder suspicion.

TEST PRINCIPLE

CerTest Calprotectin-Lactoferrin is based on the principle of a semi-quantitative immunochromatographic assay for the determination of human calprotectin and human lactoferrin in stool samples.

The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test lines (T), in the results window, against human calprotectin and human lactoferrin and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with three test label solutions: mouse monoclonal antibodies anti-human calprotectin conjugated to red polystyrene latex, mouse monoclonal antibodies anti-human lactoferrin conjugated to blue polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming three coloured conjugate complexes.

If the sample is human calprotectin positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-human calprotectin monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) and if the sample is human lactoferrin positive, the antigens of the diluted sample react with the blue-coloured conjugate complex (anti-human lactoferrin monoclonal antibodies-blue polystyrene microspheres), which were previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane, by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-human calprotectin and the anti-human lactoferrin antibodies present on the membrane (test lines) will capture the coloured conjugate and the red and the blue line will be visible. These bands are used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no human calprotectin and human lactoferrin presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the cut-off value, for which the reaction will not take place with any coloured conjugate complex. The anti-human calprotectin and anti-human lactoferrin antibodies present on the membrane (test lines) will not capture the antigen-red/blue-coloured conjugate complex (not formed), for which the red and the blue lines will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appears. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.





CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

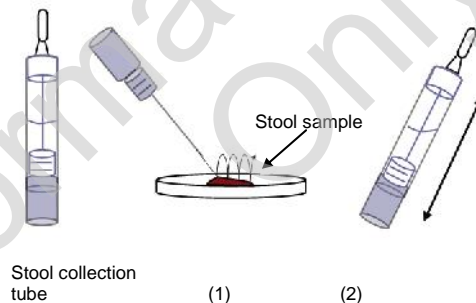
- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest Calprotectin-Lactoferrin test. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 7 days prior to testing. For longer storage, maximum 6 months, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Homogenise stool sample as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the stool collection tube and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (1), to collect faecal sample and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 15µL in the stool collection tube using a micropipette.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (2). The stool collection tube with dilute sample can be stored for 7 days in the refrigerator (2-8°C) prior to testing.



MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest Calprotectin-Lactoferrin card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

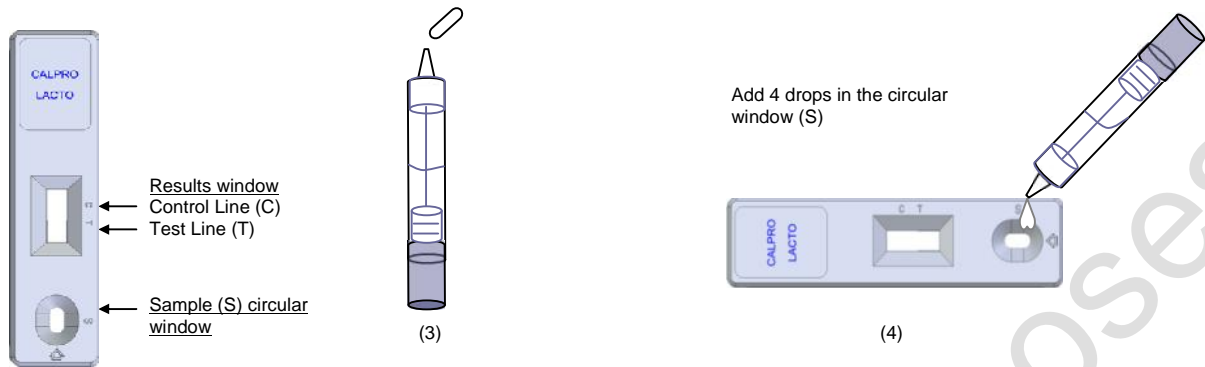
TEST PROCEDURE

Allow tests, stool samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

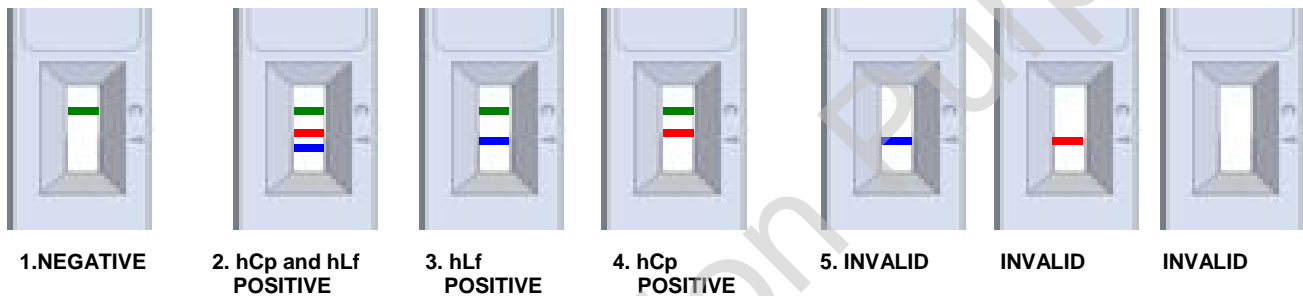
1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove CerTest Calprotectin-Lactoferrin card test from its sealed bag just before using it.
3. Take the stool collection tube, cut the end of the cap (3) and dispense 4 drops in the circular window marked with the letter S (4). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the result at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.



If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



INTERPRETATION OF THE RESULTS (please refer to the illustration below)



	Calprotectin (hCp)- Lactoferrin (hLf)	Interpretation of the results
1.	- GREEN	There is no human calprotectin and/or human lactoferrin presence which might mean neither active gastrointestinal inflammation, nor risk of relapse (CD or UC relapse).
2.	+/+ GREEN-RED-BLUE	There is human calprotectin and human lactoferrin presence which might mean an inflammatory intestinal disease (caused by ulcerative colitis (UC), Crohn's disease (CD), some type of carcinomas or an enteropathy caused by <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> or <i>Clostridium difficile</i>) or risk of relapse in clinical remission.
3.	-/+ GREEN-BLUE	There is human lactoferrin presence which might mean an inflammatory intestinal disease.
4.	+/- GREEN-RED	There is human calprotectin presence which might mean active gastrointestinal inflammation or risk of relapse in clinical remission.
5.	Any other result	Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

NEGATIVE: Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

Human calprotectin and human lactoferrin POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line (hCp test line) and a BLUE line (hLf test line) also appear in the site marked with the letter T (test lines) in the results window.

Human lactoferrin POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a BLUE line (hLf test line) also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

Human calprotectin POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line (hCp test line) also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test lines (BLUE/RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persist, discontinue using the test kit and contact your local distributor.



CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the blue and red coloured bands in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of human calprotectin and human lactoferrin present in the specimen.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high human calprotectin/human lactoferrin concentration to faint when the human calprotectin/ human lactoferrin concentration is close to cut-off value of the test.
4. CerTest Calprotectin-Lactoferrin should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
5. Positive results determine the presence of human calprotectin and/or human lactoferrin in faecal samples; nevertheless, it can be due to several causes (Inflammatory bowel disease, colorectal cancer and some other enteropathies). A positive result should be followed up with additional diagnostic invasive procedures, a colonoscopy and a biopsy in order to confirm the diagnosis and to establish the inflammation extent.
6. A negative result is not meaningful because of it is possible the human calprotectin and/or human lactoferrin concentration in the stool sample is lower than cut-off values. If symptoms or situation still persist, calprotectin and lactoferrin determination should be carried out invasive techniques. Negative results do not exclude inflammation, some diseases such as celiac sprue and microscopic colitis polyps that involve mainly monocuclear inflammation.
7. Stool from patients with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) treatment could show positive calprotectin result.
8. Lactoferrin is a component of breast milk; the test will be positive in breast fed children and should not be used to evaluate neonates receiving breast milk.
9. Neonatal fecal calprotectin levels have been reported higher than normal children with a median of 167µg/g (range 22-860µg/g).
10. Stool from patients with active inflammatory bowel diseases that usually involve significant neutrophilic inflammation of the intestine, such as Crohn's disease and ulcerative colitis, would be positive for fecal calprotectin (the level of calprotectin in Crohn's disease is higher than in ulcerative colitis) and would be positive for faecal lactoferrin. CerTest Calprotectin-Lactoferrin could be sensitive for this diagnosis in patients with chronic diarrhea.

EXPECTED VALUES

Some studies established equal or higher 50µg hCp/g faeces and 10µg hLf/g faeces as cut-off values to allow detect adult patients with gastrointestinal inflammatory pathology that will require to diagnosis additional diagnostic invasive procedures.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Cut-off values of CerTest Calprotectin-Lactoferrin are 500ng/mL (50µg hCp/g faeces) for human calprotectin and 100ng/mL (10µg hLf /g faeces) for human lactoferrin.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest Calprotectin-Lactoferrin, CerTest) and others commercial immunoassays (Calprest®, Eurospital, and IBD EZ VUE®, TechLab®). The results were as follows:

		ELISA test: Calprest®		
		+	-	Total
IC test: CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Calprotectin)	+	34	2	36
	-	2	26	28
	Total	36	28	64





CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Calprotectin) vs Calprest®	>94%	93%	>94%	93%

		IC test: IBD EZ VUE®		
		+	-	Total
IC test: CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Lactoferrin)	+	20	0	20
	-	0	44	44
	Total	20	44	64

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Lactoferrin) vs IBD EZ VUE®	>99%	>99%	>99%	>99%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human calprotectin and human lactoferrin using CerTest Calprotectin-Lactoferrin.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest Calprotectin-Lactoferrin; no cross reactivity against other faecal markers occasionally present in faeces:

- Bovine and pig haemoglobin
- Bovine lactoferrin
- Bovine and pig transferrin
- Human haemoglobin
- Human transferrin



CerTest
BIOTEC

For Information Only

For Information Purposes



CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

ESPAÑOL

USO PREVISTO

CerTest Calprotectin-Lactoferrin card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección semi-cuantitativa simultánea de calprotectina (hCp) y lactoferrina (hLf) humana en muestras de heces como indicativo de inflamación gastrointestinal presente en diversas patologías (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorectal y algunas enteropatías).

CerTest Calprotectin-Lactoferrin card test ofrece un ensayo de cribado sencillo, de alta sensibilidad y no invasivo para determinar actividad inflamatoria intestinal, para el seguimiento de un tratamiento y para predecir el riesgo de recaídas.

INTRODUCCIÓN

La calprotectina es una proteína del citosol de los neutrófilos con propiedades antimicrobianas, que se encuentra presente en las heces en una concentración muy elevada durante la inflamación intestinal. La proteína una vez liberada hasta su degradación se mantiene estable a temperatura ambiente durante 7 días en las heces, siendo por ello el analito ideal. La calprotectina se libera por activación de los leucocitos, lo que conlleva un aumento de su nivel en plasma, líquido cerebro espinal, líquido sinovial, orina y heces como consecuencia de una enfermedad asociada al órgano u órganos correspondientes. Esta proteína inhibe el sistema enzimático dependiente del zinc, ocasionando con ello la muerte de ciertos microbios e induciendo la apoptosis de células sanas y cancerígenas. La calprotectina en presencia de calcio es extremadamente resistente a la degradación proteolítica (proteólisis) y por ello es tan estable en las heces almacenadas a temperatura ambiente durante 7 días.

La lactoferrina es un componente glicoproteico de los gránulos neutrofílicos secundarios, componente primario de la respuesta aguda inflamatoria y es liberada a partir de los leucocitos fecales. Esta proteína es resistente a la proteólisis en las heces y puede servir como marcador de inflamación en el intestino. La causa más frecuente de la presencia de neutrófilos en heces en pacientes con diarrea crónica es la enfermedad crónica inflamatoria intestinal localizada en el colon (como la Enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa).

Se ha estudiado la lactoferrina como marcador de infección por enteropatógenos invasivos en niños con diarrea. La diarrea inflamatoria bacteriana puede ser causada por *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Clostridium difficile*.

hCp y hLf son marcadores no invasivos que indican inflamación intestinal (por ejemplo en Colitis Ulcerosa (UC) y en la Enfermedad de Crohn (CD)).

Pacientes con dolor abdominal y diarrea persistente (4 semanas) o recurrente (2 episodios en 6 meses) son sospechosos de padecer estas enfermedades. Además de estos síntomas, el sangrado rectal, la pérdida de peso o la aparición de anemia aumentan la probabilidad de la presencia de estas enfermedades. En este caso, es indispensable una evaluación endoscópica tomando una muestra histopatológica para poder diagnosticar estos pacientes sospechosos.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Calprotectin-Lactoferrin es una prueba semi-quantitativa inmunocromatográfica para la determinación de calprotectina y lactoferrina humanas en muestras de heces.

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a calprotectina y lactoferrina humanas en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se han dispensado tres preparaciones de reactivos: una preparación para la línea de test anticuerpos monoclonales de ratón frente a calprotectina humana conjugada con látex de poliestireno rojo, una preparación para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a lactoferrina humana conjugada con látex de poliestireno azul y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando tres complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es calprotectina positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-calprotectina humana-microesferas rojas de látex) y si la muestra es lactoferrina positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado azul (anticuerpos monoclonales anti-lactoferrina humana-microesferas azules de látex) los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-calprotectina humana y anti- humana presentes en la membrana (líneas de test) capturarán los complejos coloreados del test y las líneas roja y azul aparecerán. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de calprotectina ni de lactoferrina humanas o los antígenos están presentes en una concentración inferior al valor de cut-off y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo/azul. Los anticuerpos anti-calprotectina humana y anti-lactoferrina humana presentes en la membrana (líneas de test) no capturarán los antígenos-complejos coloreados rojo/azul (no formados) y no aparecerán las líneas roja ni azul.



Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

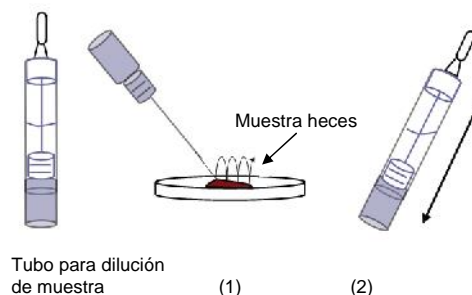
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest Calprotectin-Lactoferrin test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8° C), máximo durante 7 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 6 meses, deben mantenerse congeladas a -20° C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogenizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (1), tomando una cantidad de heces y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadida aprox. 15µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (2). Este tubo que contiene la muestra diluida puede conservarse en frío (2-8°C) durante 7 días antes de realizar la prueba.



MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest Calprotectin-Lactoferrin card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

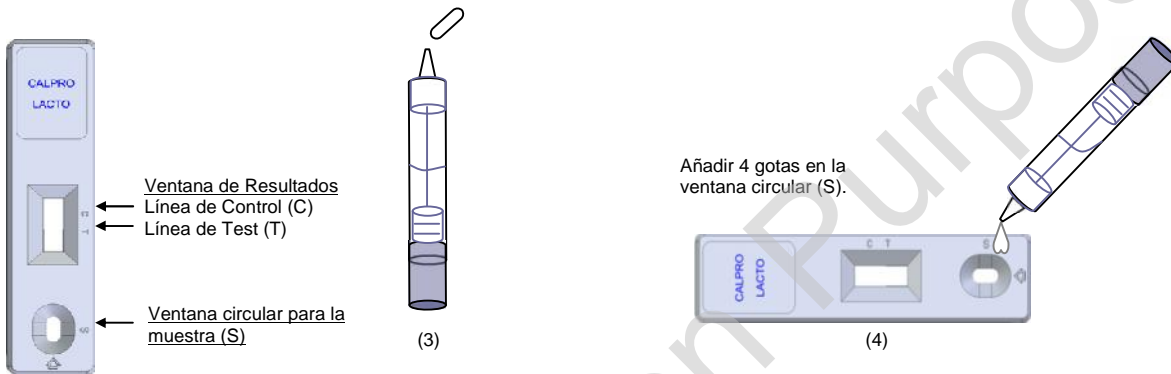
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30° C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest Calprotectin-Lactoferrin de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de la muestra, cortar la punta del tapón (3) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra S (4), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado pasados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



INTERPRETACION DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



	Calprotectina (hCp)- Lactoferrina (hLf)	Interpretación de resultados
1.	- VERDE	No existe presencia de calprotectina humana y/o lactoferrina humana en la muestra puede significar que no hay inflamación gastrointestinal activa, ni riesgo de recidiva (de CD o UC).
2.	+/+ VERDE-ROJO-AZUL	Existe presencia de calprotectina humana y lactoferrina humana, lo que podría significar que hay una inflamación gastrointestinal activa (causada por colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn's o algún tipo de carcinoma o enteropatía causada por <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> o <i>Clostridium difficile</i>) o un riesgo de recidiva en la recuperación.
3.	-/+ VERDE-AZUL	Existe presencia de lactoferrina humana, lo que puede indicar la presencia de una enfermedad inflamatoria intestinal.
4.	+/- VERDE-ROJO	Existe presencia de calprotectina humana, lo que podría significar que hay una inflamación gastrointestinal activa o un riesgo de recidiva en la recuperación.
5.	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.



CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

Calprotectina humana y Lactoferrina humana POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de test de hCp) y una línea AZUL (línea de test de hLf) en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

Lactoferrina humana Positivo: Además de la línea de color VERDE, aparece otra línea AZUL (línea de test de hLf) en la ventana de resultados.

Calprotectina humana Positivo: Además de la línea de color VERDE, aparece otra línea ROJA (línea de test de hCp) en la ventana de resultados.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA/AZUL). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color azul y rojo en las líneas de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de calprotectina o lactoferrina humanas presentes en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto el envase, el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
3. La intensidad de la línea de test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de calprotectin/lactoferrina humana a débil cuando la concentración de calprotectina/lactoferrina humana está cerca del valor de cut-off del test.
4. CerTest Calprotectin-Lactoferrin debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
5. Los resultados positivos determinan la presencia de calprotectina y/o lactoferrina humanas en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorectal y algunas otras enteropatías). Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas invasivas diagnósticas: la endoscopia y la biopsia son los métodos más adecuados para detectar y cuantificar la inflamación en el intestino.
6. Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de calprotectina y/o lactoferrina humanas en la muestra de heces sea inferior a los valores de cut-off. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de calprotectina y lactoferrina humanas, se debería repetir la prueba con técnicas invasivas. Los resultados negativos no excluyen de la presencia de inflamación, algunas enfermedades como la enfermedad celíaca y los pólipos microscópicos de colitis pueden presentar principalmente una inflamación mononuclear.
7. Heces de pacientes que sigan un tratamiento con anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) podrían dar resultados positivos.
8. La lactoferrina es un componente de la leche materna, este test dará positivo en lactantes y no debería utilizarse para evaluar neonatos lactantes.
9. Se han descrito niveles más elevados de calprotectina fecal en neonatos comparado con los niveles normales en niños. Nivel medio de 167µg/g (en un rango de 22-860µg/g).
10. Las muestras de heces de pacientes que presenten la enfermedad inflamatoria intestinal que normalmente lleva asociada una inflamación neutrofílica del intestino, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, deberían dar resultados positivos para calprotectina fecal (el nivel de calprotectina en la enfermedad de Crohn es mayor que en la colitis ulcerosa) y debería dar resultados positivos para lactoferrina. CerTest Calprotectin-Lactoferrin puede ser sensible para el diagnóstico en pacientes con diarrea crónica.





CERTEST Calprotectin-Lactoferrin

One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

VALORES ESPERADOS

En varios estudios se ha determinado que el valor de cut-off de calprotectina humana sea de 50µg hCp/g en heces y de lactoferrina humana 10µg hLf/g en heces, para permitir detectar pacientes adultos con una patología inflamatoria gastrointestinal los cuales requerirán para su diagnóstico procedimientos adicionales invasivos.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica

Los valores de cut-off de CerTest Calprotectin-Lactoferrin son 500ng/mL (50µg/g heces) para calprotectina humana y 100ng/mL (10µg/g heces) para lactoferrina humana.

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (CerTest Calprotectin-Lactoferrin, CerTest) y otros inmunoensayos comercializados (Calprest®, Eurospital y IBD EZ VUE®, TechLab®). Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Calprotectin)	ELISA test: Calprest®		
	+	-	Total
+	34	2	36
-	2	26	28
Total	36	28	64

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Calprotectin) vs Calprest®	>94%	93%	>94%	93%

IC test: CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Lactoferrin)	IC test: IBD EZ VUE®		
	+	-	Total
+	20	0	20
-	0	44	44
Total	20	44	64

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest Calprotectin-Lactoferrin (Lactoferrin) vs IBD EZ VUE®	>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que CerTest Calprotectin-Lactoferrin presentan una alta sensibilidad y especificidad para detectar calprotectina y lactoferrina humanas.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas del test CerTest Calprotectin-Lactoferrin; no se detectó reacción cruzada con otros marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces:

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





CERTEST Calprotectin-Lactoferrin











One step test to detect human calprotectin and human lactoferrin in card format/
Prueba de un solo paso para detección de calprotectina y lactoferrina humanas en formato cassette

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. Angriman I. et al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. *Clinica Chimica Acta* 381 Feb 2007, p. 63-68
2. 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
3. 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.
4. Langhorst, M.D. et al. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Fecal Lactoferrin, Calprotectin and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; Vol 103, p. 162-169.
5. Gisbert, J.P. et al. Role of Biological Markers in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol. Hepatol.* May 2007, 30(3), p. 117-29.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico in vitro	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	 DIL Sample diluent Diluyente de muestra	 REF Catalogue number Número de referencia



CerTest
BIOTEC

For Information Only
Purposes

For Information Only Purposes



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

