

Ein einstufiger Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Calprotectin und Lactoferrin in menschlichen Stuhlproben.  
*In-vitro-Diagnostikum.*

**【VERWENDUNGSZWECK】**

Der Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) ist ein chromatographischer Immunoassay-basierter Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Calprotectin und Lactoferrin in menschlichen Stuhlproben. Er dient als mögliches Hilfsmittel bei der Diagnose von entzündlichen Darmerkrankungen.

**【ZUSAMMENFASSUNG】**

Calprotectin ist ein 24-kDa-Dimer der Calcium bindenden Proteine S100A8 und S100A9.<sup>1</sup> Der Komplex macht etwa 60 % der gelösten Proteine im Zytosol von neutrophilen Granulozyten aus.<sup>2</sup> Calprotectin wird im Darmlumen freigesetzt durch Leukozyten-Ausscheidung,<sup>3</sup> aktive Sekretion,<sup>2</sup> Zellstörungen und Zelltod.<sup>3</sup> Dies führt zu erhöhten Spiegeln an fäkalem Calprotectin, die im Stuhl nachgewiesen werden können.<sup>3</sup> Erhöhte Spiegel an fäkalem Calprotectin deuten daher auf eine Migration von Neutrophilen in die Darmschleimhaut hin, was bei Darmentzündungen vorkommt.<sup>4</sup> Fäkales Calprotectin wird zur Erkennung von Darmentzündungen verwendet und kann als Marker für entzündliche Darmerkrankungen dienen.<sup>5</sup> Calprotectin ist ein brauchbarer Marker, da es resistent gegenüber enzymatischem Abbau ist und sich leicht im Stuhl nachweisen lässt.<sup>5</sup>

Lactoferrin ist einer der Bestandteile des Immunsystems des Körpers; es hat antimikrobielle Eigenschaften (bakterizid, fungizid) und ist Teil der angeborenen Abwehr, vor allem in den Schleimhäuten.<sup>7</sup> Insbesondere bietet Lactoferrin eine antibakterielle Wirkung bei Säuglingen.<sup>8,9</sup>

Humanes Lactoferrin, ein von neutrophilen Granulozyten produziertes Glykoprotein, kann in Stuhl und in der gesamten gastrointestinalen Lavage als Indikator für Darmentzündungen sowohl bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) als auch bei infektiöser Gastroenteritis gemessen werden. Aktuelle Studien haben gezeigt, dass fäkales Lactoferrin (FL) ein sensitiver Biomarker für pädiatrische CED ist. Darüber hinaus kann dieser Biomarker als Hilfsmittel zur Festlegung des diagnostischen und therapeutischen Verfahrens für CED bei Kindern und Erwachsenen dienen.

**【PRINZIP】**

Der Calprotectin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) ist ein qualitativer Lateral-Flow-Immunoassay zum Nachweis von Calprotectin in menschlichen Stuhlproben. Die Membran ist im Bereich der Testlinie mit Anti-Calprotectin-Antikörpern beschichtet. Während der Testung reagiert die Probe mit den Partikeln, die mit Calprotectin-Antikörpern behaftet sind. Das Gemisch durchdringt per Kapillarwirkung chromatographisch die Membran und reagiert ggf. mit den Anti-Calprotectin-Antikörpern auf der Membran und erzeugt eine farbige Linie. Bildet sich im Testlinienbereich eine farbige Linie, ist der Test positiv. Bildet sich keine farbige Linie, ist er negativ. Zur Kontrolle des Verfahrens erscheint immer eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich, die bestätigt, dass die Probenmenge und Membrandurchfeuchtung ausreichend waren.

Der Lactoferrin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) ist ein qualitativer Lateral-Flow-Immunoassay zum Nachweis von Lactoferrin in menschlichen Stuhlproben. Die Membran ist im Testlinienbereich mit Anti-Lactoferrin-Antikörpern beschichtet. Während der Testung reagiert Lactoferrin, sofern es in der Probe vorhanden ist, mit Anti-Lactoferrin-Antikörpern, die mit Farbpartikeln konjugiert sind. Das Gemisch durchdringt per Kapillarwirkung die Membran und reagiert ggf. mit den Anti-Lactoferrin-Antikörpern auf der Membran und erzeugt eine farbige Linie. Bildet sich im Testlinienbereich eine farbige Linie, ist der Test positiv. Bildet sich keine farbige Linie, ist er negativ. Zur Kontrolle des Verfahrens erscheint immer eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich, die bestätigt, dass die Probenmenge und Membrandurchfeuchtung ausreichend waren.

**【REAGENZIEN】**

Der Test enthält Anti-Calprotectin-Antikörperpartikel, Anti-Lactoferrin-Antikörperpartikel, Anti-Calprotectin-Antikörper, die auf die Membran aufgebracht sind, und Anti-Lactoferrin-Antikörper, die auf die Membran aufgebracht sind.

**【VORSICHTSMASSNAHMEN】**

- *In-vitro*-Diagnostikum. Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Der Test ist bis zum Gebrauch in der versiegelten Folienverpackung aufzubewahren.
- In Bereichen, in denen Probenmaterial und/oder Tests gehandhabt werden, nicht trinken, essen oder rauchen.
- Alle Proben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Bei allen Abläufen sind die vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren und die Standardverfahren zur ordnungsgemäßen Entsorgung von Probenmaterialien einzuhalten.
- Beim Testen der Proben ist Schutzkleidung, wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille, zu tragen.
- Gebrauchte Tests sind gemäß den örtlich geltenden Bestimmungen zu entsorgen.
- Luftfeuchtigkeit und Temperatur können die Testergebnisse verfälschen.

**【LAGERUNG UND HALTBARKEIT】**

Das Kit kann bei Raumtemperatur oder gekühlt (2–30 °C) aufbewahrt werden. Die Testkassette ist bis zum Ablauf des auf die versiegelte Folienverpackung aufgedruckten Verfallsdatums stabil. Die Testkassette ist bis zum Gebrauch in der versiegelten Folienverpackung aufzubewahren. **NICHT TIEFKÜHLEN.** Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

**【PROBENAHEME UND VORBEREITUNG】**

1. Die Stuhlproben müssen in einem sauberen, trockenen und wasserdichten Gefäß gesammelt werden, das keine Reinigungsmittel, Konservierungsstoffe oder Transportmedien enthält.
2. Bringen Sie die benötigten Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur.
3. Wenn Proben versendet werden, müssen sie gemäß den örtlich geltenden Vorschriften für die Beförderung ansteckungsgefährlicher Stoffe verpackt werden.

**【MATERIALIEN】**

**Materialien im Lieferumfang**

- Testkassetten
- Packungsbeilage
- Probenentnahmeröhrchen mit Extraktionspuffer

**Nicht mitgelieferte, aber erforderliche Materialien**

- Probenbehälter
- Zeitmesser
- Tropfpipetten

**【GEBRAUCHSANWEISUNG】**

**Warten Sie vor dem Test, bis Testmaterial, Probe, Puffer und/oder Kontrollen Raumtemperatur (15–30 °C) erreicht haben.**

1. Gewinnung von Stuhlproben:  
Sammeln Sie eine ausreichende Menge Stuhlmaterial (1–2 ml oder 1–2 g) in einem sauberen, trockenen Probenbehälter, um eine ausreichend große Menge an Antigenen (falls vorhanden) zu erhalten. Die verlässlichsten Ergebnisse werden erzielt, wenn der Assay innerhalb von 6 Stunden nach der Probengewinnung durchgeführt wird. Wenn der Test nicht innerhalb von 6 Stunden durchgeführt wird, können die Proben 3 Tage lang bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Lagerung sind die Proben bei unter -20 °C aufzubewahren.
2. Durchführung des Tests mit Stuhlproben:

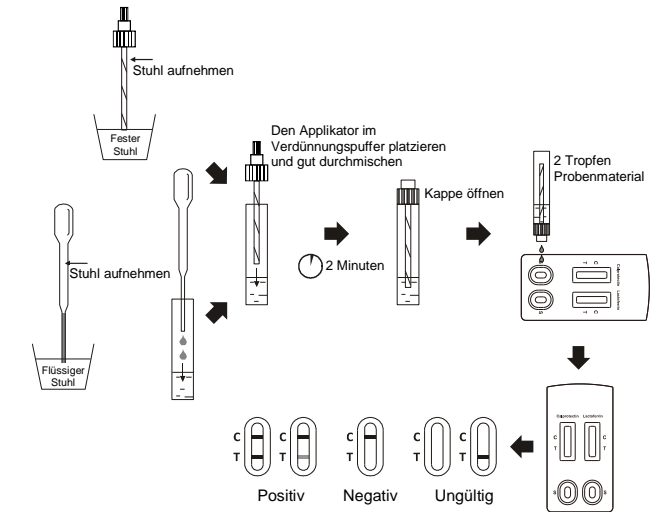
**• Bei festen Proben:**

Schrauben Sie die Kappe des Probenentnahmeröhrchens ab, dann stechen Sie mit dem Applikatorröhrchen an mindestens 3 verschiedenen, zufällig ausgewählten Stellen in die Stuhlprobe und nehmen ca. 50 mg Stuhl auf (Menge, die etwa 1/4 einer Erbse entspricht). Die Stuhlprobe nicht durch „Schaufeln“ aufnehmen.

**• Bei flüssigem Probenmaterial:**

Halten Sie die Pipette senkrecht, saugen Sie etwas Probe auf, und füllen Sie 2 Tropfen (ca. 80 µl) in das Probenentnahmeröhrchen mit dem Extraktionspuffer.

3. Verschließen Sie das Probenentnahmeröhrchen fest mit der Kappe, und schütteln Sie es kräftig, um die Probe mit dem Extraktionspuffer zu vermischen. Röhrchen 2 Minuten lang stehenlassen.
4. Vor dem Öffnen der versiegelten Folienverpackung warten, bis die Folienverpackung Raumtemperatur erreicht hat. Die Testkassette aus der Folienverpackung entnehmen und Test innerhalb einer Stunde durchführen. Die verlässlichsten Ergebnisse werden erzielt, wenn der Test sofort nach Öffnen der Folienverpackung durchgeführt wird.
5. Das Probensammelröhrchen senkrecht halten und Kappe vom Probensammelröhrchen nehmen. Drehen Sie das Probenentnahmeröhrchen um, und geben Sie **2 volle Tropfen der extrahierten Probe** (ca. 80 µl) in jede Probenmulde der Testkassette. Starten Sie dann den Zeitmesser. Vermeiden Sie Luftblasen in der Probenmulde (S). Siehe Abbildung unten.
6. **Lesen Sie das Ergebnis 5 Minuten nach Auftragen der Proben ab.** Nach Ablauf von 10 Minuten dürfen Ergebnisse nicht mehr ausgewertet werden.
7. **Hinweis:** Wenn die Probe den Teststreifen nicht durchfeuchtet (Vorhandensein von Partikeln), zentrifugieren Sie die extrahierten Proben, die im Fläschchen mit Extraktionspuffer enthalten sind. Nehmen Sie dann 80 µl des Überstands auf, und geben Sie diese in jede Probenmulde einer neuen Testkassette. Führen Sie dann einen neuen Test nach den oben stehenden Anweisungen durch.



**【INTERPRETATION VON ERGEBNISSEN】**

(Bitte beachten Sie die Abbildung oben.)

**POSITIV:** \* **Zwei farbige Linien sind sichtbar.** Eine farbige Linie sollte im Kontrolllinienbereich (C) und eine andere farbige Linie im Testlinienbereich (T) zu sehen sein.

\* **HINWEIS:** Die Farbintensität der Testlinie (T) kann abhängig von der Calprotectin- und Lactoferrin-Konzentration in der Probe variieren. Daher muss jegliche Färbung im Testlinienbereich (T) als positives Ergebnis betrachtet werden.

**NEGATIV:** **Eine farbige Linie ist im Kontrolllinienbereich (C) sichtbar.** Im Testlinienbereich (T) ist keine Linie sichtbar.

**UNGÜLTIG:** **Es ist keine Kontrolllinie sichtbar.** In den meisten Fällen liegt dies an einem unzureichenden Volumen der Probe oder Abweichungen von der Testanleitung. Lesen Sie sich die Testanleitung erneut durch, und wiederholen Sie das Verfahren mit einem neuen Test. Wenn das Problem erneut auftritt, verwenden Sie das Test-Kit nicht mehr, und kontaktieren Sie Ihren Händler.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Im Test ist eine integrierte Verfahrenskontrolle enthalten. Eine Färbung der Kontrolllinie (C) dient als interne Verlaufskontrolle. Sie bestätigt einen ausreichenden Probenauftrag und die korrekte Testdurchführung. Standardisierte Kontrolllösungen sind nicht im Testkit enthalten; es wird jedoch als gute Laborpraxis empfohlen, Positiv- und Negativkontrolltests durchzuführen, um das Verfahren und die ordnungsgemäße Leistung des Tests zu bestätigen.

## EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

- Der Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) ist nur zur *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Der Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) gibt nur an, ob in der Probe Calprotectin und Lactoferrin vorhanden ist. Die genaue Konzentration von Calprotectin und Lactoferrin kann mit dem Schnelltest nicht ermittelt werden.
- Wie bei allen diagnostischen Tests müssen die Ergebnisse im Zusammenhang mit anderen klinischen Informationen, die dem Arzt vorliegen, interpretiert werden.
- Bei unsicherem Ergebnis müssen andere klinische Testmethoden angewendet werden.

## ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

Der Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) wurde mit einem anderen handelsüblichen, führenden Calprotectin-Schnelltest und Lactoferrin-Schnelltest verglichen. Die Korrelation zwischen zwei Systemen beträgt 98,5 % für Calprotectin und 98,1 % für Lactoferrin.

## LEISTUNGSMERKMALE

### Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenzwerte für den Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform betragen 50 µg/g oder 140 ng/ml für Calprotectin und 100 ng/ml für Lactoferrin.

### Sensitivität und Spezifität

Der Calprotectin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) wurde unter Verwendung klinischer Stuhlproben mit einem anderen handelsüblichen, führenden Schnelltest verglichen.

Methode		Anderer Schnelltest		Gesamtergebnis
Calprotectin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl)	Ergebnisse	Positiv	Negativ	
		Positiv	133	2
	Negativ	3	198	201
<b>Gesamtergebnis</b>		136	200	336

Relative Sensitivität: 97,8 % (95 % KI\*: 93,7 % bis ~99,5 %);

Relative Spezifität: 99,0 % (95 % KI\*: 96,4 % bis ~99,9 %);

Genauigkeit: 98,5 % (95 % KI\*: 96,6 % bis ~99,5 %).

\* Konfidenzintervalle

Der Lactoferrin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) wurde unter Verwendung klinischer Stuhlproben mit einem anderen handelsüblichen, führenden Schnelltest verglichen.

Methode		Anderer Schnelltest		Gesamtergebnis
Lactoferrin-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl)	Ergebnisse	Positiv	Negativ	
		Positiv	41	2
	Negativ	1	118	119
<b>Gesamtergebnis</b>		42	120	162

Relative Sensitivität: 97,6 % (95 % KI\*: 87,4 %–99,9 %)

Relative Spezifität: 98,3 % (95 % KI\*: 94,1 %–99,8 %)

Genauigkeit insgesamt: 98,1 % (95 % KI\*: 94,7 %–99,6 %)

\* Konfidenzintervall

### Präzision Intra-Assay

Die Präzision innerhalb einer Analyseserie wurde anhand von drei Replikaten von vier verschiedenen Proben mit verschiedenen Konzentrationen an Calprotectin und Lactoferrin bestimmt. Die Proben wurden zu > 99 % korrekt identifiziert.

## Inter-Assay

Die Präzision zwischen Analyseserien wurde in drei unabhängigen Assays derselben vier unterschiedlichen Proben mit verschiedenen Konzentrationen von Calprotectin und Lactoferrin bestimmt. Drei verschiedene Chargen des Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltests in Kassettenform (Stuhl) wurden mit diesen Proben geprüft. Die Proben wurden zu > 99 % korrekt identifiziert.

## Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit folgenden Organismen wurde mit  $10^7$  Organismen/ml untersucht. Folgende Organismen führten beim Testen mit dem Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform (Stuhl) zu negativen Ergebnissen.

<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>H. Pylori</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Salmonella Infantis</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		

## Störsubstanzen

Die folgenden Verbindungen wurden ebenfalls mit dem Calprotectin- und Lactoferrin-Kombi-Schnelltest in Kassettenform getestet und es wurden keine Störungen beobachtet.

Oxalsäure: 60 mg/dl	Aspirin: 20 mg/dl
Albumin: 2000 mg/dl	Harnstoff: 2000 mg/dl
Ascorbinsäure: 20 mg/dl	Glukose: 2000 mg/dl
Bilirubin: 100 mg/dl	Koffein: 40 mg/dl

## Bedeutung der Symbole

	Vorsicht		Ausreichend für <n> Tests		Bevollmächtigter
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum		Verwendbar bis		Zum Einmalgebrauch
	Bei 2–30 °C lagern		Chargennummer		Artikelnummer
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden		Hersteller		Gebrauchsanweisung beachten

Hangzhou AllTest Biotech Co.,Ltd.  
#550, Yin Hai Street,  
Hangzhou Economic & Technological Development Area,  
Hangzhou, Zhejiang, 310018 P.R. China  
Web: www.alltests.com.cn Email: info@alltests.com.cn



MedNet GmbH  
Borkstrasse 10  
48163 Muenster  
Germany

Nummer: 14601152000  
Revisionsdatum: 2022-10-27