

Utilità diagnostica del dosaggio della calprotectina fecale in età pediatrica

ROBERTO BERNI CANANI, MARIA PASSARO, CUONO PUZONE

Dipartimento di Pediatria e Laboratorio Europeo per lo Studio delle Malattie Indotte da Alimenti
Università degli Studi Federico II, Napoli

La diagnosi differenziale tra patologia organica e disturbi funzionali dell'intestino è sempre delicata. Il dosaggio nelle feci di proteine prodotte dai leucociti, oggi semplice e nel prossimo domani semplicissimo, verosimilmente ambulatoriale, fornisce informazioni dirette sulla presenza o meno di una flogosi in qualunque punto del tratto gastrointestinale.

Le affezioni gastrointestinali ricoprono un ruolo importante nella pratica quotidiana del pediatra. Nonostante il gran numero di possibili entità nosologiche, lo spettro sintomatologico è piuttosto esiguo, e questo rende spesso difficile l'approccio diagnostico al bambino con sintomi gastrointestinali, specie nella diagnosi differenziale tra disordini organici e funzionali. Per tale motivo, negli ultimi anni, sono stati proposti diversi marcatori non invasivi di danno infiammatorio intestinale; tra questi, il dosaggio dei livelli di calprotectina fecale (CF) ha raggiunto un ampio grado di diffusione in pediatria, ma alcune nozioni sono importanti da ricordare per un uso appropriato di questo test diagnostico.

CHE COS'È LA CALPROTECTINA E COME SI DOSA

La CF è una proteina di 36 kD legante il calcio e lo zinco, che rappresenta il 5% delle proteine totali e il 60% del contenuto proteico solubile del citoplasma dei granulociti neutrofili¹. È anche prodotta da monociti, macrofagi e, in minima parte, dalle cellule epi-

DIAGNOSTIC VALUE OF FAECAL CALPROTECTIN IN PAEDIATRIC AGE

(Medico e Bambino 2009;28:239-242)

Key words

Faecal calprotectin, Inflammatory bowel diseases, Mucosal inflammation, Gastroenterology

Summary

Determination of the faecal calprotectin (FC), a leucocyte-derived protein, is becoming a valuable tool in paediatric clinical practice for the diagnosis and monitoring of several diseases of the gastrointestinal tract. FC is a sensitive, but not specific, marker to easily detect inflammation throughout the whole gastrointestinal tract. It may help in identifying an organic disease characterized by mucosal inflammation and in the differential diagnosis of functional bowel disorders. FC is increasingly used to monitor the efficacy of treatments in inflammatory bowel diseases and to assess the severity of mucosal inflammation.

teliali ed endoteliali². Le principali funzioni biologiche della CF sono riassunte in *Tabella I*. Viene secreta a livello extracellulare dai leucociti attivati oppure viene rilasciata in seguito a morte cellulare; la sua forma solubile è dosabile in diversi campioni biologici quali plasma, urine, feci, saliva, liquor, liquido sinoviale e anche in biopsie intestinali. In ogni situazione di flogosi a carico di questi distretti si assiste a un aumento dei livelli di CF. È un peptide dell'immunità innata in grado di svolgere una serie di attività immunoregolarie, anti-microbiche e pro-apoptoti-

che³. Sequestrando lo zinco, la CF inibisce la crescita di microrganismi patogeni. A concentrazioni comprese tra 50 e 250 µg/ml il peptide inibisce la crescita di *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus epidermidis*, mentre sono sufficienti concentrazioni ancora minori (4-32 µg/ml) per inibire la crescita di *Candida albicans*⁴.

L'ottima stabilità a temperatura ambiente nei campioni fecali (sino a 7 giorni) e la semplicità delle procedure di estrazione e di dosaggio hanno favorito l'utilizzo di questo marcatore per lo studio delle condizioni flogistiche

PRINCIPALI FUNZIONI BIOLOGICHE DELLA CALPROTECTINA

Attività antimicrobica nei confronti di:

- Batteri
- Miceti

Inibizione della crescita di:

- Macrofagi
- Cellule mieloidi
- Linfociti
- Fibroblasti
- Cellule tumorali

Attività citotossica e pro-apoptica nei confronti di:

- Linfociti
- Fibroblasti
- Cellule tumorali

Tabella I

del tratto gastrointestinale. Attualmente sono presenti in commercio diversi kit ELISA, dotati di un'accuratezza diagnostica largamente sovrapponibile, che permettono di determinare facilmente le concentrazioni di CF. Sono anche in fase avanzata di sperimentazione nuovi test rapidi, che permetteranno presto di ottenere i risultati dopo soli 10 minuti con costi molto più contenuti⁵.

UTILITÀ DIAGNOSTICA DEL DOSAGGIO DEI LIVELLI FECALI DI CALPROTECTINA IN GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA

Nei soggetti sani di età compresa tra i 2 e i 17 anni i valori normali di CF sono sempre inferiori a 100 µg/g di feci, senza differenze significative a seconda di età, sesso e tipo di alimentazione⁶. Sempre in tale fascia di età sono stati determinati i percentili dei valori di CF: 95° percentile pari a 95,3 µg/g, mediana di 28,0 µg/g (Figura 1)⁷. Al contrario, nelle feci dei neonati e dei soggetti di età inferiore ai 12 mesi, sono stati descritti valori molto più elevati di CF (anche sino a 400-500 µg/g), indipendentemente dal tipo di allattamento⁸. Ciò potrebbe essere legato a un'aumentata permeabilità intestinale, a modificazioni della microflora intestinale e a un'immaturità dell'immunità mucosale che si osserva in questa fascia di età⁹. Per tali motivi è molto im-

portante riferire il valore di CF all'età del piccolo paziente per evitare di interpretare come positivo un valore assolutamente normale perché ottenuto in un soggetto di età inferiore ai 12 mesi.

Il dosaggio dei livelli di CF è ormai considerato il marcatore non invasivo più affidabile per lo studio di un processo flogistico a carico di ogni segmento del tratto gastrointestinale: dall'esofago al retto (sensibilità 73,5%, specificità 97,9%, valore predittivo positivo 97,9%, valore predittivo negativo 73,5%)⁶; eventuali falsi positivi possono essere riscontrati in corso di terapia con steroidi, farmaci antinfiammatori non steroidei, inibitori della pompa protonica, in corso di epistassi, mestruazioni, presenza di ragadi anali, o dopo procedure endoscopiche^{6,8}. In tutte queste condizioni è buona norma attendere almeno due settimane prima di praticare la raccolta del campione di feci da analizzare. Inoltre, come nel caso di tutti i dosaggi da effettuare su feci, è bene non raccogliere il campione direttamente dal pannolino per evitare il rischio di un'eccessiva concentrazione. In Tabella II sono riassunti i principali fattori in grado di determinare falsi positivi nella misurazione dei livelli di CF. Processi flogistici a carico di altri distretti corporei, quali ad esempio in-

fezioni urinarie o del tratto respiratorio o cutanee, non influenzano i livelli di CF.

Esofagiti, gastriti, enterocoliti infettive o allergiche, celiachia, malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) sono tutte condizioni in cui è possibile riscontrare valori di CF patologici (superiori a 100 µg/g di feci). Al contrario, in tutti i disordini di natura funzionale i livelli di CF sono sempre nel range di normalità e comunque ben al di sotto dei 100 µg/g di feci^{6,7}. È importante ricordare che anche in presenza di processi emorragici a carico di qualsiasi segmento intestinale si possono avere livelli aumentati di CF: polipi/poliposi, diverticolo di Meckel, sanguinamento in corso di ragadi anali o di patologia emorroidaria, angiomatosi dell'intestino (Tabella III). L'esperienza di diversi centri di gastroenterologia pediatrica suggerisce la possibilità che, nei casi di linfangectasia intestinale caratterizzati da perdita oltre che di proteine anche di leucociti, si possa riscontrare un aumento dei valori di CF. Recentemente, è stato dimostrato che valori patologici di CF si ritrovano in bambini affetti da fibrosi cistica, e ciò apre nuove prospettive nella conoscenza del danno intestinale presente in questa condizione¹⁰. Nei bambini af-

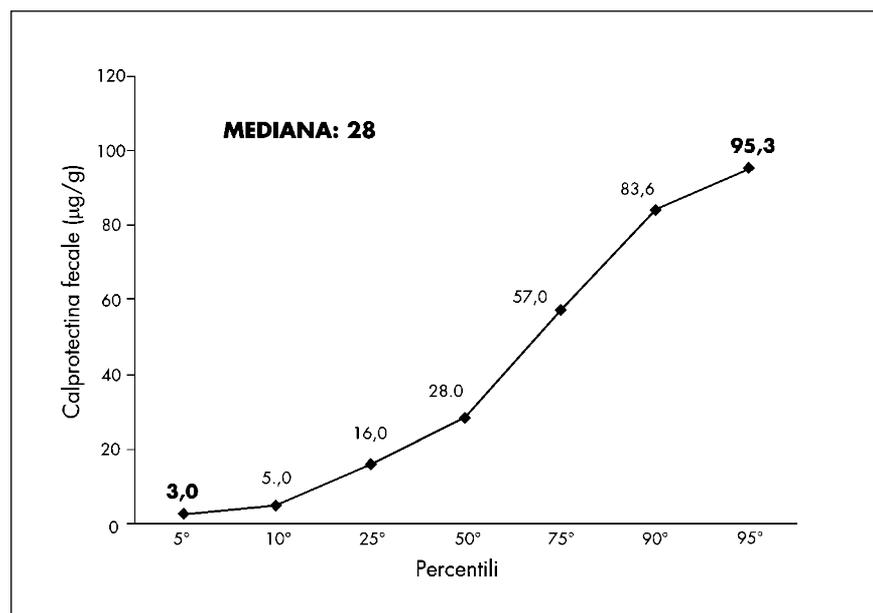


Figura 1. Percentili di riferimento per la valutazione dei livelli di calprotectina fecale osservati in bambini sani di età compresa tra 13 e 216 mesi (modificata da voce bibliografica 7).

PRINCIPALI FATTORI IN GRADO DI DETERMINARE UN FALSO POSITIVO DEI VALORI DI CALPROTECTINA FECALE

- Età (< 12 mesi)
- Metodi di raccolta (pannolino) e conservazione dei campioni fecali
- Epistassi, mestruazioni
- Farmaci (inibitori di pompa protonica, FANS)

Tabella II

fetti da celiachia o da enterocolite allergica sottoposti a dieta di esclusione, i valori di CF rientrano entro 2-6 settimane nel range di normalità. Ciò rende possibile l'utilizzo della CF nel follow-up di queste patologie allo scopo di monitorare la risposta alla dieta di esclusione⁶.

Uno dei campi di maggior utilizzo della CF è sicuramente rappresentato dalle MICI. I marcatori sierici di flogosi più tradizionali quali VES, PCR, conta dei leucociti, conta piastrinica, anche se ampiamente utilizzati, non possiedono un'alta sensibilità e specificità per evidenziare uno stato di infiammazione della mucosa intestinale¹¹. La forza della CF è quella di riuscire a misurare direttamente l'attività infiammatoria mucosale, anche quando questa non è in grado di determinare alterazioni dei

valori di VES o di PCR. Il dosaggio della CF può essere utile nell'approccio iniziale al bambino con sospetta MICI e sintomatologia sfumata per svelare la presenza di flogosi a livello del tratto digerente¹². Utilizzando contemporaneamente CF, sierologia specifica per malattie infiammatorie croniche intestinali (IgG anti-citoplasma perinucleare di neutrofilo, pANCA; IgG e IgA anti-*Saccharomyces cerevisiae*, ASCA) e valutazione ecografia dello spessore parietale delle anse intestinali, è possibile individuare agevolmente i pazienti ad alto rischio di MICI da sottoporre quanto prima a un'attenta valutazione endoscopica e istologica del tratto gastrointestinale. Al contrario, la contemporanea negatività di questi 3 test permette di escludere con un alto grado di probabilità (99,3%) il rischio di essere affetto da MICI, evitando un inutile esame endoscopico e suggerendo l'opportunità di ricercare la presenza di altre affezioni¹². I valori di CF correlano meglio di ogni altro marcatore non invasivo o score clinico con il grado di infiammazione mucosale determinato dal punto di vista endoscopico e istologico. Questo dato rende il test molto utile nel follow-up di questi pazienti. Infatti, attraverso una misurazione periodica dei livelli di CF, è possibile evidenziare stadi subclinici di flogosi intestinale e valutare in maniera assolutamente non invasiva l'anda-

MESSAGGI CHIAVE

- La diagnosi differenziale tra disturbi funzionali e malattie organiche dell'intestino, in particolare le enteropatie infiammatorie croniche, si basa, inizialmente, sul sospetto clinico e sugli esami generali della flogosi; entrambi gli approcci sono obbligatori ma anche relativamente fallaci.
- Il dosaggio di alcuni enzimi leucocitari nelle feci fornisce informazioni dirette sulla presenza o meno di una flogosi in qualunque tratto della mucosa intestinale.
- Tra le proteine prodotte dai leucociti, la calprotectina ha dimostrato di rappresentare un indicatore molto sensibile, anche se non strettamente specifico (e di dosaggio relativamente facile, potenzialmente trasferibile nella pratica ambulatoriale), di patologie organiche di carattere flogistico.
- La determinazione dei livelli di calprotectina è utile sia nella diagnosi differenziale tra disturbo gastrointestinale funzionale e patologia flogistica, sia nel monitoraggio dell'efficacia terapeutica e nella valutazione della gravità della flogosi mucosale nei bambini affetti da malattia infiammatoria cronica dell'intestino.

mento della malattia, la risposta al trattamento e predire eventuali riacutizzazioni¹³.

COMPORTEMENTO DEI VALORI DI CALPROTECTINA FECALE IN VARIE SITUAZIONI DELLA PRATICA PEDIATRICA

Livelli normali

- Bambini sani
- Disordini funzionali intestinali
- Patologie intestinali organiche non caratterizzate da flogosi mucosale (intolleranza al lattosio, malassorbimento di sali biliari, difetti congeniti del trasporto transepiteliale di fluidi e nutrienti, disordini della motilità)
- Patologie sistemiche con sintomatologia almeno in parte gastrointestinale non su base infiammatoria (febbre mediterranea familiare, sindrome di Schwachman ecc.)

Livelli patologici

- Malattie infiammatorie croniche intestinali
- Emorragie del tratto gastrointestinale
- Angiomatosi del tratto gastrointestinale
- Enterocolite allergica in fase attiva
- Malattia celiaca in fase attiva
- Malattia da reflusso gastroesofageo
- Infezioni intestinali
- Polipi e poliposi
- Fibrosi cistica
- Linfangectasia intestinale con perdita di leucociti

Tabella III

CONCLUSIONI

Da quanto sopra riportato è possibile sintetizzare le principali nozioni per un uso "appropriato" del dosaggio dei livelli di CF nei seguenti punti:

- l'indicazione principale dell'utilizzo del test è l'individuazione di un processo flogistico a carico di un qualsiasi segmento del tratto gastrointestinale (diagnosi differenziale tra disordini funzionali e organici su base infiammatoria);
- è possibile un dosaggio su campioni fecali anche conservati a temperatura ambiente per 7 giorni (possibilità di spedire i campioni da un centro a un altro senza rischio di altera-

re il risultato del test); il dosaggio è relativamente semplice ed economico;

- a partire dall'età di un anno i valori normali di CF non differiscono a seconda del sesso, dell'età e del tipo di alimentazione. Attenzione all'interpretazione del test quando applicato a bambini di età inferiore ai 12 mesi;
- attenzione ai possibili falsi positivi (vedi *Tabella II*);
- la CF è il marcatore non invasivo più affidabile per monitorare l'andamento della malattia nei pazienti affetti da colite ulcerosa o malattia di Crohn, perché meglio di ogni altro test correla con il *grading* endoscopico e istologico delle lesioni.

Indirizzo per corrispondenza:

Roberto Berni Canani
e-mail: berni@unina.it

Bibliografia

1. Ito H, Yao M, Fujita I, et al. The crystal structure of human MRP14 (S100A9), a Ca(2+)-dependent regulator protein in inflammatory process. *J Mol Biol* 2002;316:265-76.
2. Doussiere J, Bouzidi F, Vignais PV. The S100A8/A9 protein as a partner for the cytosolic factors of NADPH oxidase activation in neutrophils. *Eur J Biochem* 2002;269:3246-55.
3. Robinson MJ, Tessier P, Poulosom R, Hogg N. The S100 family heterodimer, MRP-8/14, binds with high affinity to heparin and heparan sulfate glycosaminoglycans on endothelial cells. *J Biol Chem* 2002;277:3658-65.
4. Loomans HJ, Hahn BL, Li QQ, Phadnis SH, Sohnle PG. Histidine-based zinc-binding sequences and the antimicrobial activity of calprotectin. *J Infect Dis* 1998;177:812-4.
5. Damms A, Bischoff SC. Validation and clinical significance of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases. *Int J Colorectal Dis* 2008;23:985-92.
6. Berni Canani R, Rapacciuolo L, Romano MT, et al. Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice. *Dig Liver Dis* 2004;36:467-70.
7. Berni Canani R, Romano MT, Terrin G, et al. Faecal calprotectin in a useful diagnostic tool in pediatric gastroenterology. *Ital J Pediatr* 2005;31:89-94.
8. Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, et al. Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatr* 2002;91:45-50.

cal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatr* 2002;91:45-50.

9. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, et al. High faecal calprotectin concentration in newborn infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2004;89:F353-5.
10. Bruzzese E, Raia V, Gaudiello G, et al. Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:813-9.
11. Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World J Gastroenterol* 2007;13:2028-36.
12. Berni Canani R, de Horatio LT, Terrin G, et al. Combined use of non invasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006;42:9-15.
13. Berni Canani R, Terrin G, Rapacciuolo L, et al. Faecal calprotectin as reliable non-invasive marker to assess the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008;40:547-53.

