LACTOFERRIN EZ VUE ®

An immunochromatographic test for the qualitative detection
of elevated levels of fecal lactoferrin

Catalog No. 30353 (25 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL p. 7

Test inmunocromatográfico para la detección cualitativa
de niveles elevados de lactoferrina fecal

Prod. No. 30353 (25 Pruebas)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 13

Ein immunochromatographischer Test für den qualitativen Nachweis
erhöhter Lactoferrinkonzentrationen im Stuhl

Katalognummer 30353 (25 Tests)

IVD *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANCAISE p. 19

Dosage immunochromatographique de dépistage qualitatif de
concentrations accrues de lactoferrine fécale

Numéro de Catalogue 30353 (25 Analyses)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Pour les utilisateurs canadiens:
Pour usage en laboratoire seulement

U. S. Patent # 7,192,724

Made in the USA

Developed and Manufactured by:

TECHLAB®

2001 Kraft Drive
Blacksburg, VA 24060-6358 USA
www.techlab.com
TEL 1-800-832-4522 USA
TEL 1-540-953-1664 Outside USA

LACTOFERRIN EZ VUE ®

INTENDED USE

The LACTOFERRIN EZ VUE® test is an immunochromatographic test for the qualitative detection of elevated levels of lactoferrin, a marker for fecal leukocytes and an indicator of intestinal inflammation. The test can be used as an *in vitro* diagnostic aid to help identify patients with active inflammatory bowel disease (IBD) and rule out those with active noninflammatory irritable bowel syndrome (IBS).

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

EXPLANATION

Inflammatory bowel disease is considered a condition of chronic inflammation. Ulcerative colitis and Crohn's disease both exhibit large numbers of leukocytes that migrate to the mucosa and into the intestinal lumen. Endoscopic examination may be used to identify inflamed intestinal mucosa in patients with IBD (3). During the diagnosis of IBD, efforts must be made to rule out other more common etiologies such as infectious colitis (e.g., those caused by *Shigella, Campylobacter,* and *Clostridium difficile*) (2,7). Patients with active IBD but exhibiting mild signs and symptoms may be difficult to distinguish from patients with active IBS. Unlike IBD, IBS does not involve intestinal inflammation. In persons with IBS, the intestine appears normal upon endoscopic examination and leukocytes are not present in the mucosa or in fecal specimens (1).

Human lactoferrin is an 80 kilodalton glycoprotein detected by the LACTOFERRIN EZ VUE® test. This iron-binding protein is secreted by most mucosal membranes and is a major component of the secondary granules of leukocytes, a primary component of the acute inflammatory response. Other hematopoietic cells such as monocytes and lymphocytes do not contain lactoferrin whereas various bodily secretions contain levels in the mg/mL range. During intestinal inflammation, leukocytes infiltrate the mucosa, increasing the level of fecal lactoferrin (4-10). The LACTOFERRIN EZ VUE® test is a rapid noninvasive test that detects elevated fecal lactoferrin as a marker of intestinal inflammation. Test results may be used as an aid for the differentiation of active IBS from active IBD.

PRINCIPLE OF THE TEST

The LACTOFERRIN EZ VUE® test utilizes anti-lactoferrin antibodies that are conjugated directly to gold particles. The *Membrane Cassette* contains two stripes of immobilized antibodies. One stripe contains anti-lactoferrin antibodies. The other, representing a control stripe, contains anti-IgG antibodies. The diluted sample and gold conjugate migrate by capillary action when the sample is added to the well. If lactoferrin is present in the sample, gold conjugate-lactoferrin complexes form and are captured by the immobilized anti-lactoferrin antibodies in the stripe. The lactoferrin-conjugate-antibody complexes appear as a single red line in the test portion of the *Results Window*. In the control stripe, conjugate binds to the immobilized anti-IgG antibodies, demonstrating correct migration of the sample and conjugate along the membrane. The conjugate-anti-IgG antibodies appear as a single red line in the control portion of the *Results Window*.

REAGENTS

DIL | SPE ***Diluent***, 65 mL (Ready-to-use, contains phosphate-buffered saline, detergent and 0.05% ProClin® 300)

Signal Word: Warning
H317:May cause an allergic skin reaction
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

MEM | CAS ***Membrane Cassettes***, 25 (1 *Membrane Cassette* per pouch; each membrane is coated with anti-lactoferrin antibodies and contains antibodies conjugated to colloidal gold)

CONTROL + ***Positive Control***, 3.5 mL (phosphate-buffered saline containing purified human lactoferrin)

Transfer pipettes, 25 (flared section = 50 µL)

Disposable sample preparation devices, 25 (25 tubes and 25 filter tips)

PRECAUTIONS

1. Rx Only - Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Reagents from the kit box should be at room temperature before use.
4. The pouch containing the *Membrane Cassette* should be opened just before use.
5. Keep the *Membrane Cassettes* dry before use.
6. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use the kit past the expiration date.
7. Use the dilution of fecal specimen as recommended in the kit. Normal fecal specimens contain low levels of lactoferrin and the dilutions recommended in the kit are designed to detect an increase in lactoferrin over background levels.
8. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 30°C.
9. All *Membrane Cassettes* must be read promptly at 10 minutes.
10. To minimize the effects of static electricity, place all *Membrane Cassettes* with *Results Window* facing upwards on damp paper towels.
11. Specimens that are in transport media or that have been preserved in 10% formalin, merthiolate formalin, sodium acetate formalin, polyvinyl alcohol, or other fixatives cannot be used.
12. The *Positive Control* contains lactoferrin which is a human derived material. Material has been tested and found negative for antibody to HIV-1, HIV-2, HCV, and HbsAg. No known test method can offer complete assurance that infectious agents are absent. **All human source products should be handled as potentially infectious material.** A procedure for handling biohazards is published in the CDC/NIH *Manual of Biosafety in Microbiology & Biomedical Laboratories.*
13. Specimens and *Membrane Cassettes* should be handled and disposed of as potential biohazards after use.
14. Wear disposable gloves when doing the test.
15. The *Diluent* reagent contains 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support
16. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.

PRELIMINARY PREPARATIONS

1. All reagents must be removed from the kit box and allowed to reach room temperature prior to use in the assay.
2. ***Membrane Cassette preparation.*** Each pouch contains 1 *Membrane Cassette* coated with polyclonal antibody specific for lactoferrin. Each specimen or control will require one of these *Membrane Cassettes*. Avoid contact with the membrane located in the *Results Window*.

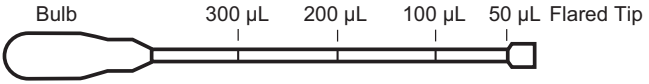
COLLECTION AND HANDLING OF FECAL SPECIMENS

NOTE: Collect fecal specimens into a clean, airtight container with no preservatives. Specimens should be stored between 2ºC and 8ºC or room temperature for up to 2 weeks from time of collection then stored frozen at -20ºC or lower. Diluted specimens should be stored between 2ºC and 8ºC or at room temperature for up to 48 hours then discarded. **Mix (vortex) specimens thoroughly prior to performing the assay. This includes**

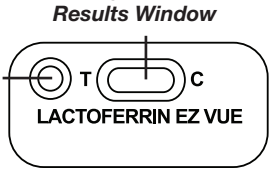
complete mixing of the specimen prior to transfer to *Diluent* as well as complete mixing of the diluted specimen prior to performing the assay.

1. **Prepare Diluted Specimen.**
   Fecal Specimens: Set up a single plastic tube for each specimen to be tested. For each specimen, add 2.5 mL of *Diluent* to a dilution tube. Use a transfer pipette to add 50 µL (flared section) of liquid fecal specimen. For formed/solid fecal specimens, use a transfer pipette to add 0.05 g (flared section) or weigh 0.05 g of fecal specimen and add to the tube containing *Diluent*. Next, place a filter tip onto the top of the tube containing diluted sample and insert the tip firmly. This represents a 1:50 dilution of the specimen.
2. Vortex the tubes for 10 seconds and store between 2° and 8°C until the test is performed. Vortex again before transferring 5 drops of diluted specimen to *Sample Well* indicated in the diagram of the *Membrane Cassette*.

Transfer Pipette:



***Membrane Cassette* Diagram**



PROCEDURE

1. Remove required number of *Membrane Cassettes*, one per specimen, from the foil bags.
2. Place *Membrane Cassettes* on damp paper towels with the *Results Window* facing upwards and label cassettes accordingly.
3. Holding each diluted specimen tube vertically, dispense **5 drops** (150 µL) into the *Sample Well* of a *Membrane Cassette*. If running external QC, add **3 drops** (150 µL) of the *Positive Control* or 150 µL of *Diluent* using the transfer pipette into the *Sample Well* of the cassette. (NOTE: *Diluent* is used as the negative external control)
4. Incubate each *Membrane Cassette* for 10 minutes at room temperature.
5. Read results: Observe the *Results Window* of each completed *Membrane Cassette* for the appearance of a red line at the "C" control portion and/or "T" test portion of the window. The red line may appear faint to dark in color (See Interpretation of Results).

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Result: Two red lines are visible, a single red line at the "T" test portion of the *Results Window* and a single red line at the "C" control portion of the *Results Window*, indicating the presence of elevated fecal lactoferrin and a properly reactive control.

Negative Result: A single red line is visible in only the "C" control portion of the *Results Window*. No red line should be visible at the "T" test portion of the *Results Window*, indicating the absence of elevated fecal lactoferrin and a properly reactive control.

Invalid Result: All completed reactions should have a visible red line at the "C" control portion of the *Results Window*. The test is invalid if a control line is not present or if no lines appear on completed *Membrane Cassette*.

QUALITY CONTROL

Internal: A red control line must be visible on the "C" side of the *Results Window* on every *Membrane Cassette* that is tested. The appearance of the red control line confirms that the sample and reagents were added correctly, that the reagents were active at the time of

performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Cassette*. A clear background in the result area is considered an internal negative control. If the test had been performed correctly and reagents are working properly, the background will be clear to give a discernible result.

External: The reactivity of the LACTOFERRIN EZ VUE® test should be verified on receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* is supplied with the kit (red-capped bottle). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay, and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. *Diluent* is used for the negative control.

Additional tests including External Controls should be performed to meet the requirements of local, state and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

The reactions expected with the external controls are described in the section on INTERPRETATION OF RESULTS. The test should not be used if control tests do not produce the correct results. Proper results obtained with the internal control line, the *Positive Control* and negative control (*Diluent*) serve as indicators that the test was performed correctly, that the antibodies striped on the membrane and the Conjugate are reactive at the time of testing, and that the device supports proper sample flow. Failure of the internal and/or external controls to produce the expected results suggests the test was not performed correctly (i.e., incorrect volume of reagents added, incorrect incubation temperature or times used, or that reagents were not brought to room temperature prior to testing). Repeat the control tests as the first step in determining the cause of the failure.

VISUAL INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Test Result

Negative Test Result

Invalid Test Result

Invalid Test Result

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is given on the outside of the box. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit containing the reagents should be stored between 2° and 30°C (refrigerated or room temperature). *Membrane Cassettes* should be kept in the sealed pouches until used.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

There were 23 ulcerative colitis patients, 70 Crohn's disease patients, 17 irritable bowel patients, and 27 healthy persons recruited from two different IBD referral centers and TECHLAB, Inc. All 12 patients with active ulcerative colitis (100%) were positive in the LACTOFERRIN EZ VUE® test. There were 11 patients with inactive ulcerative colitis and none of these were positive in the LACTOFERRIN EZ VUE® test. All 46 patients with active Crohn's disease (100%) were positive in the LACTOFERRIN EZ VUE® test. There were 24 patients with inactive Crohn's disease and of these 2 (8.3%) were positive. All

17 irritable bowel patients (100%) and all 27 healthy persons (100%) were negative in the LACTOFERRIN EZ VUE® test. The values when comparing the LACTOFERRIN EZ VUE® test to the LACTOFERRIN CHEK® test and for distinguishing active ulcerative colitis (UC) and active Crohn's disease (CD) from active irritable bowel syndrome (IBS) and healthy persons are shown in the following table.

Statistical analysis of the LACTOFERRIN EZ VUE®

Value	LACTOFERRIN EZ VUE® vs LACTOFERRIN CHEK®	Active UC vs IBS and healthy persons	Active CD vs IBS and healthy persons
Sensitivity	100%	100%	100%
Specificity	97.5%	100%	100%
Predictive Positive Value	96.7%	100%	100%
Predictive Negative Value	100%	100%	100%
Correlation	98.5%	100%	100%

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The LACTOFERRIN EZ VUE® test is a screening test that detects elevated levels of lactoferrin released from fecal leukocytes as a marker of intestinal inflammation. The test may not be appropriate in immunocompromised persons.
2. The 1:50 dilution of fecal specimen recommended in the brochure has been evaluated in clinical trials and found to be optimal for fecal dilutions. The use of lower dilutions may result in positive reactions due to the presence of normal lactoferrin levels. Therefore, only the dilution recommended in the brochure should be used.
3. At this time, the LACTOFERRIN EZ VUE® test has not been clinically evaluated for detecting leukocytes in other types of clinical specimens.
4. The intensity of a positive sample test line does not indicate the amount of lactoferrin or severity of disease.

CROSS-REACTIVITY

Various intestinal organisms were examined for cross-reactivity in the LACTOFERRIN EZ VUE® test. For the analysis, broth cultures mixed 1:50 with 1X *Diluent* were evaluated. Broth cultures at log phase containing $\geq 10^8$ bacteria per mL were used. No cross-reactivity was observed with any of the organisms tested.

EFFECT OF FECAL SAMPLE CONSISTENCY

The LACTOFERRIN EZ VUE® test detected lactoferrin in liquid, semi-solid, and solid fecal specimens at levels similar to those observed with purified lactoferrin prepared in kit *Diluent*.

REPRODUCIBILITY AND PRECISION

The inter-assay variation was determined by analyzing 9 lactoferrin-negative and 10 lactoferrin-positive fecal specimens over a 3-day period. There was 100% correlation for both the positive specimens and negative specimens. The intra-assay variation was determined by analyzing 19 fecal specimens using 6 replicates in a single kit lot. There was a 100% correlation between results for the intra-assay analysis. A total of 3 Physician's offices evaluated the LACTOFERRIN EZ VUE® test for reproducibility using 10 lactoferrin-positive and 10 lactoferrin negative fecal specimens. Overall correlations for test sites as compared to results generated at TECHLAB, Inc. ranged from 90 to 100%.

LACTOFERRIN EZ VUE® - ESPAÑOL

USO INDICADO

El test LACTOFERRIN EZ VUE® es un análisis inmunocromatográfico para la detección cualitativa de niveles elevados de lactoferrina fecal, un marcador de leucocitos fecales y un indicador de inflamación intestinal. Puede utilizarse como herramienta de ayuda diagnóstica *in vitro* para identificar a los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) activa y para descartar a los que padecen el síndrome del colon irritable (SCI) activo, que no es un proceso inflamatorio.

Precaución: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

La enfermedad inflamatoria intestinal es un trastorno inflamatorio crónico. Tanto en la colitis ulcerosa como en la enfermedad de Crohn hay un número elevado de leucocitos que migran hacia la mucosa y la luz intestinal. En los pacientes con EII puede utilizarse la exploración endoscópica para identificar la mucosa intestinal inflamada (3). Durante el diagnóstico de la EII se deben descartar otras etiologías más frecuentes, como las colitis infecciosas (p. ej., como las causadas por *Shigella, Campylobacter* y *Clostridium difficile*) (2,7). Puede ser complicado diferenciar a los pacientes con EII activa que presenten signos y síntomas leves de aquellos pacientes con SCI activo. A diferencia de la EII, en el SCI no se produce inflamación intestinal. En personas con SCI, la exploración endoscópica revela un intestino de aspecto normal, sin leucocitos presentes en la mucosa ni en las muestras fecales (1).

La lactoferrina humana es una glucoproteína de 80 kilodaltons que se detecta con el test LACTOFERRIN EZ VUE®. Esta proteína fijadora de hierro es segregada por la mayoría de las mucosas y es uno de los principales componentes de los gránulos secundarios de los leucocitos, un elemento esencial de la respuesta inflamatoria aguda. Otras células hematopoyéticas, como los monocitos y los linfocitos, no contienen lactoferrina mientras que varias secreciones corporales contienen niveles en el rango de mg/ml. Durante la inflamación intestinal, los leucocitos se infiltran en la mucosa, aumentando el nivel de lactoferrina fecal (4-10). El test LACTOFERRIN EZ VUE® es una prueba rápida y no invasiva que detecta niveles elevados de lactoferrina fecal como marcador de la inflamación intestinal. Los resultados de la prueba pueden utilizarse como ayuda para la diferenciación del SCI activo de la EII activa.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

En el test LACTOFERRIN EZ VUE® se utilizan anticuerpos frente a lactoferrina que se conjugan directamente con partículas de oro. El *Cassette de Membrana* contiene dos bandas de anticuerpos inmovilizados. Una banda contiene anticuerpos frente a lactoferrina. La otra, que es una banda de control, contiene anticuerpos frente a las IgG. La muestra diluida y el conjugado de oro migran por capilaridad cuando se añade la muestra al pocillo. Si la muestra contiene lactoferrina, se forman complejos de lactoferrina-conjugado de oro que son capturados por los anticuerpos inmovilizados frente a lactoferrina presentes en la banda. Los complejos lactoferrina-conjugado-anticuerpo aparecen como una línea roja única en la zona de análisis de la *Ventana de Resultados*. En la banda de control, el conjugado se une a los anticuerpos inmovilizados frente a IgG, demostrando la migración correcta de la muestra y del conjugado por la membrana. Los complejos conjugado-anticuerpos frente a IgG aparecen como una línea roja única en la zona de control de la *Ventana de Resultados*.

REACTIVOS

DIL | SPE

Diluyente, 65 ml (listo para usar, contiene suero fisiológico tamponado con fosfato, detergente y ProClin® 300 al 0,05%)
Palabra de advertencia: Advertencia

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

MEM | CAS ***Cassettes de Membrana***, 25 (1 *Cassette de Membrana* por bolsa; cada membrana está recubierta con anticuerpos frente a lactoferrina y contiene anticuerpos conjugados con oro coloidal)

CONTROL | + ***Control positivo***, 3,5 ml (suero fisiológico tamponado con fosfato que contiene lactoferrina humana purificada)

Pipetas, 25 (sección ancha = 50 µl)

Dispositivos desechables para la preparación de la muestra, 25 (25 tubos y 25 puntas con filtro)

PRECAUCIONES

1. Rx Only - Solo con receta
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. Los reactivos de la caja del kit estarán a temperatura ambiente antes de su uso.
4. La bolsa que contiene el *Cassette de Membrana* debe abrirse inmediatamente antes del uso.
5. Mantenga secos los *Cassettes de Membrana* antes del uso.
6. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilizar los kits después de la fecha de caducidad.
7. Utilice la dilución de la muestra fecal recomendada en el kit. Las muestras fecales normales contienen niveles bajos de lactoferrina y las diluciones recomendadas en el kit se han diseñado para detectar un aumento de los niveles de lactoferrina con respecto a los niveles precedentes.
8. No congelar los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 ºC y 30 ºC.
9. Todos los *Cassettes de Membrana* deben leerse puntualmente a los 10 minutos.
10. Para reducir al mínimo los efectos de la electricidad estática, coloque todos los *Cassettes de Membrana* con la *Ventana de Resultados* mirando hacia arriba sobre toallitas de papel húmedas.
11. No se pueden utilizar las muestras conservadas en medios de transporte o en formol al 10%, formol mertiolado, acetato sódico-formol, alcohol polivinílico u otros fijadores.
12. El *Control Positivo* contiene lactoferrina, un material de origen humano. El material ha sido analizado y es negativo para los anticuerpos frente al VIH-1, VIH-2, VHC y HBsAg. Ningún método conocido de análisis puede garantizar completamente la ausencia de agentes infecciosos. **Todos los productos de origen humano deben manipularse como material potencialmente infeccioso.** En el Manual de Bioseguridad en Microbiología y Laboratorios Biomédicos (*Manual of Biosafety in Microbiology & Biomedical Laboratories*) de los CDC/NIH se publica un procedimiento para la manipulación de los materiales biológicos peligrosos.
13. Las muestras y los *Cassettes de Membrana* deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
14. Utilice guantes desechables para realizar el test.
15. El reactivo *Diluyente* contiene ProClin® 300 al 0,05% como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quítese las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
16. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

PREPARACIONES PRELIMINARES

1. Extraiga todos los reactivos de la caja del kit y permita que alcancen la temperatura ambiente antes de su uso en el análisis.

2. ***Preparación del Cassette de Membrana.*** Cada bolsa contiene 1 *Cassette de Membrana* recubierto de anticuerpo policlonal específico frente a lactoferrina. Se utilizará uno de estos *Cassettes de Membrana* para cada muestra o control. Evite el contacto con la membrana situada en la *Ventana de Resultados*.

RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS FECALES

NOTA: Recoja las muestras fecales en un recipiente hermético limpio sin conservantes. Las muestras deben conservarse a una temperatura de entre 2 ºC y 8 ºC o a temperatura ambiente durante un plazo máximo de 2 semanas desde el momento de la obtención, congelándolas posteriormente a una temperatura igual o inferior a -20 ºC. Las muestras diluidas se deben conservar a una temperatura de entre 2 ºC y 8 ºC o a temperatura ambiente durante un plazo máximo de 48 horas, desechándolas posteriormente. **Mezclar completamente (con vórtex) las muestras antes del análisis. Esto incluye el mezclado completo de la muestra antes de su transferencia al *Diluyente*, así como el mezclado completo de la muestra diluida antes de realizar el análisis.**

1. **Preparación de la muestra diluida.**
   Muestras fecales: Asignar un único tubo de plástico para cada muestra que se vaya a analizar. Para cada muestra, añadir 2,5 ml de *Diluyente* al tubo de dilución. Utilizar una pipeta para añadir 50 µl (sección ancha) de la muestra fecal líquida. Para muestras fecales con forma/sólidas, utilizar una pipeta para añadir 0,05 g (sección ancha) o pesar 0,05 g de la muestra fecal y añadir al tubo que contiene el *Diluyente*. A continuación, coloque una punta con filtro en la parte superior del tubo que contiene la muestra diluida y fíjela con firmeza. Esto equivale a una dilución 1:50 de la muestra.
2. Mezclar con un vórtex los tubos durante 10 segundos y almacenarlos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C hasta que realice el análisis. Volver a mezclar en un vórtex antes de transferir 5 gotas de la muestra diluida al pocillo de muestra indicado en el diagrama del *Cassette de Membrana*.

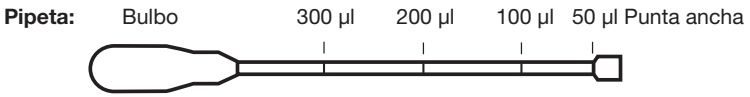
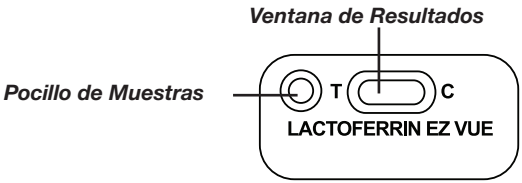


Diagrama del *Cassette de Membrana*



PROCEDIMIENTO

1. Extraiga el número especificado de *Cassettes de Membrana*, uno por muestra, de las bolsas de papel de aluminio.
2. Sitúe los *Casettes de membrana* sobre toallitas de papel húmedas con la *Ventana de resultados* mirando hacia arriba e identifique los casettes.
3. Sostenga verticalmente cada tubo con la muestra diluida y dispense **5 gotas** (150 µl) en el *Pocillo de Muestra* de un *Casette de Membrana*. Si se realiza un control de calidad externo deben añadirse al pocillo de muestra del cassette **3 gotas** (150 µl) del control positivo o 150 µl de *Diluyente* con la pipeta.
   (NOTA: el *Diluyente* es el control externo negativo)
4. Incube cada *Cassette de Membrana* durante 10 minutos a temperatura ambiente.

5. Lea los resultados: observe en la *Ventana de Resultados* de cada *Cassette de Membrana* completado la presencia de una línea roja en la zona del control "C" y/o en la zona de análisis "T" de la ventana. La línea roja puede tener un color pálido o intenso (véase Interpretación de los resultados).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado positivo: Se observan dos líneas rojas, una única línea roja en la zona de análisis "T" de la *Ventana de Resultados* y una única línea roja en la zona de control "C" de la *Ventana de Resultados*, que indican la presencia de un nivel elevado de lactoferrina fecal y un control del reactivo apropiado.

Resultado negativo: Sólo se observa una única línea roja en la zona de control "C" de la *Ventana de Resultados*. No se debe observar ninguna línea roja en la zona de análisis "T" de la *Ventana de Resultados*, lo que indica la ausencia de un nivel elevado de lactoferrina fecal y un control del reactivo apropiado.

Resultado no válido: Todas las reacciones completadas deben tener una línea roja visible en la zona de control "C" de la *Ventana de Resultados*. El test no es válido si no aparece una línea de control o si no aparece ninguna línea en un *Cassette de Membrana* completado.

CONTROL DE CALIDAD

Interno: Se debe visualizar una línea de color rojo en el lado "C" de la *Ventana de Resultados* de todos los *Cassettes de Membrana* analizados. La aparición de la línea azul de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *Cassette de Membrana*. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si el test se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será transparente para dar un resultado apreciable.

Externo: Verifique la reactividad de la prueba LACTOFERRIN EZ VUE® en el momento de la entrega utilizando el *Control positivo* y el control negativo (*Diluyente*). El Control Positivo se suministra con el kit (frasco con tapón rojo). El *Control Positivo* se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. El *Diluyente* se utiliza para el control negativo.

Deben realizarse tests adicionales con los controles externos para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y/o los de los organismos de acreditación.

Los resultados de los controles se describen en el apartado INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. El test no debe utilizarse si en los controles no se obtienen los resultados correctos. El resultado correcto en la línea de control interno, el *Control Positivo* y el control negativo (*Diluyente*) indican que el test se ha realizado correctamente, que los anticuerpos de la banda de la membrana y del *Conjugado* estaban activos en cuando se realizó el ensayo y que el flujo de la muestra en el dispositivo fue adecuado. Un resultado incorrecto de los controles internos y externos indica que el test no se realizó de la forma adecuada (es decir, se añadió un volumen incorrecto de reactivos, la temperatura o los tiempos de incubación no fueron adecuados o los reactivos no alcanzaron la temperatura ambiente antes de realizar el test). Para determinar la causa del error del test, en primer lugar deben repetirse los tests de control.

INTERPRETACIÓN VISUAL DE LOS RESULTADOS

Resultado positivo del test

Resultado negativo del test

Resultado no válido del test

Resultado no válido del test

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en el exterior de la caja. Las fechas de caducidad de cada componente se indican en las etiquetas individuales. El kit que contiene los reactivos debe conservarse entre 2 °C y 30 °C (refrigerado o a temperatura ambiente). Los *Cassettes de Membrana* deben conservarse en las bolsas selladas hasta el uso.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Se reclutó a 23 pacientes con colitis ulcerosa, 70 con enfermedad de Crohn, 17 con colon irritable y a 27 personas sanas de dos centros de referencia diferentes y especializados en EII y de TECHLAB, Inc. El resultado del test LACTOFERRIN EZ VUE® fue positivo en los 12 pacientes con colitis ulcerosa activa (100%). Hubo 11 pacientes con colitis ulcerosa inactiva y en ninguno se obtuvo un resultado positivo en el test LACTOFERRIN EZ VUE®. El resultado del test LACTOFERRIN EZ VUE® fue positivo en los 46 pacientes con enfermedad de Crohn activa (100%). Hubo 24 pacientes con enfermedad de Crohn inactiva y en 2 (8,3%) de estos pacientes se obtuvo un resultado positivo. El resultado del test LACTOFERRIN EZ VUE® fue negativo en los 17 pacientes con colon irritable (100%) y en las 27 personas sanas (100%). En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos cuando se comparan los tests LACTOFERRIN EZ VUE® e LACTOFERRIN CHEK® para diferenciar la colitis ulcerosa (CU) activa y la enfermedad de Crohn (EC) activa del síndrome de colon irritable (SCI) activo y de las personas sanas.

Análisis estadístico del test LACTOFERRIN EZ VUE®

Valor	LACTOFERRIN EZ VUE® frente a LACTOFERRIN CHEK®	CU activa fente a SCI y personas sanas	EC activa frente a SCI y personas sanas
Sensibilidad	100%	100%	100%
Especificidad	97,5%	100%	100%
Valor Predictivo Positivo	96,7%	100%	100%
Valor Predictivo Negativo	100%	100%	100%
Correlación	98,5%	100%	100%

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El test LACTOFERRIN EZ VUE® es una prueba de cribado que detecta niveles elevados de lactoferrina fecal procedentes de los leucocitos fecales como marcador de la inflamación intestinal. Es posible que la prueba no sea adecuada en personas inmunocomprometidas.
2. La dilución 1:50 de la muestra fecal recomendada en el folleto se ha evaluado en estudios clínicos y se ha determinado que es óptima para muestras fecales. El uso de diluciones menores puede generar reacciones positivas debido a la presencia de niveles normales de lactoferrina. Por tanto, sólo debe utilizarse la dilución recomendada en el folleto.
3. Hasta este momento no se ha evaluado clínicamente la detección de leucocitos en otros tipos de muestras clínicas con el test LACTOFERRIN EZ VUE®.

4. La intensidad de una línea positiva en la línea del análisis no indica la cantidad de lactoferrina ni la gravedad de la enfermedad.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se ha evaluado la reactividad cruzada de diferentes microorganismos intestinales con el test LACTOFERRIN EZ VUE®. En el análisis se evaluaron cultivos de caldo mixtos (1:50) con *Diluyente* 1x. Se utilizaron cultivos de caldo en fase logarítmica que contenían ≥10^8 bacterias por ml. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos analizados.

EFECTO DE LA CONSISTENCIA DE LA MUESTRA FECAL

El test LACTOFERRIN EZ VUE® detectó niveles de lactoferrina en muestras fecales sólidas, semisólidas y líquidas similares a los observados con lactoferrina purificada preparada en el *Diluyente* del kit.

REPRODUCIBILIDAD Y PRECISIÓN

Se determinó la variación interanalítica analizando 9 muestras fecales con resultado negativo para lactoferrina y 10 muestras fecales con resultado positivo para lactoferrina durante un periodo de 3 días. Se observó una correlación del 100% en las muestras con resultados positivos y negativos. La variación intranalítica se determinó analizando 19 muestras fecales utilizando 6 repeticiones con kits de un único lote. Se observó una correlación del 100% entre los resultados del análisis intraanalítico. La reproducibilidad del test LACTOFERRIN EZ VUE® fue evaluada en tres consultas médicas utilizando 10 muestras fecales con resultado positivo para lactoferrina y 10 muestras fecales con resultado negativo para lactoferrina. En comparación con los resultados obtenidos en TECHLAB, Inc., las correlaciones globales de los centros de análisis oscilaron entre el 90% y el 100%.

LACTOFERRIN EZ VUE® - DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der LACTOFERRIN EZ VUE® Test ist ein immunochromatographischer Test für den qualitativen Nachweis erhöhter Lactoferrinkonzentrationen, einem Marker für Leukozyten im Stuhl und Indikator für Darmentzündung. Der Test dient als Hilfsmittel zur *in vitro* Diagnose für die Identifizierung von Patienten mit aktiver chronisch entzündlichen Darmerkrankung (CED) und den Ausschluss von Patienten mit aktivem nicht entzündlichem Reizdarmsyndrom (RDS).

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt.

ERKLÄRUNG

CED ist eine chronische Entzündungskrankheit. Colitis ulcerosa und Morbus Crohn weisen beide eine hohe Anzahl an Leukozyten auf, die zur Schleimhaut und in das Darmlumen wandern. Eine endoskopische Untersuchung kann bei der Identifizierung einer entzündeten Darmschleimhaut bei Patienten mit CED helfen (3). Bei der Diagnose von CED ist darauf zu achten, andere, häufiger auftretende Ätiologien wie etwa infektiöse Colitis (z.B. durch *Shigella, Campylobacter* und *Clostridium difficile* verursacht) auszuschließen (2,7). Patienten mit aktiver CED, die jedoch nur leichte Anzeichen und Symptome aufweisen, sind möglicherweise schwer von Patienten mit aktivem RDS zu unterscheiden. Im Gegensatz zu CED steht RDS nicht mit einer Darmentzündung in Verbindung. Personen mit RDS weisen bei der endoskopischen Untersuchung einen normalen Darm auf und es sind keine Leukozyten in der Schleimhaut oder Stuhlproben vorhanden (1).

Menschliches Lactoferrin ist ein 80 Kilodalton schweres Glykoprotein, das vom LACTOFERRIN EZ VUE® Test nachgewiesen wird. Dieses eisenbindende Protein wird über die meisten Schleimhautmembrane ausgeschieden und ist ein Hauptbestandteil der sekundären Granula von Leukozyten, Hauptkomponente der akuten Entzündungsreaktion. Andere hämatopoetische Zellen wie etwa Monozyten und Lymphozyten enthalten kein Lactoferrin, während verschiedene Körpersekrete Konzentrationen im mg/ml-Bereich aufweisen. Bei einer Darmentzündung infiltrieren Leukozyten die Schleimhaut und erhöhen so die Lactoferrinkonzentration im Stuhl (4-10). Der LACTOFERRIN EZ VUE® Test ist ein nicht-invasiver Schnelltest für den Nachweis erhöhter Lactoferrinkonzentrationen im Stuhl als Marker einer Darmentzündung. Die Testergebnisse dienen als Hilfe bei der Unterscheidung von aktivem RDS und aktiver CED.

TESTPRINZIP

Der LACTOFERRIN EZ VUE® Test basiert auf Anti-Lactoferrin-Antikörpern, die direkt an Goldpartikel konjugiert sind. Die *Membrankassetten* verfügen über zwei Streifen mit immobilisierten Antikörpern. Ein Streifen enthält Anti-Lactoferrin-Antikörper. Der zweite, der als Kontrollstreifen dient, enthält Anti-IgG-Antikörper. Die verdünnte Probe und das Goldkonjugat migrieren mittels Kapillarwirkung, wenn die Probe in die Kavität gegeben wird. Ist Lactoferrin in der Probe vorhanden, so bilden sich Goldkonjugat-Lactoferrin-Komplexe, die von den immobilisierten Anti-Lactoferrin-Antikörpern auf dem Streifen eingefangen werden. Die Lactoferrin-Konjugat-Antikörper-Komplexe erscheinen als einzelne rote Linie im Testbereich des *Ergebnisfensters*. Auf dem Kontrollstreifen bindet Konjugat an die immobilisierten Anti-IgG-Antikörper, was auf eine korrekte Migration der Probe und des Konjugats entlang der Membran hinweist. Die Konjugat-Anti-IgG-Antikörper erscheinen als einzelne rote Linie im Kontrollbereich des *Ergebnisfensters*.

REAGENZIEN

DIL | SPE

Verdünnungspuffer, 65 ml (gebrauchsfertig, enthält phosphatgepufferte Kochsalzlösung, Detergenz und 0,05 % ProClin® 300)

Signalwort: Warnung
H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

MEM | CAS ***Membrankassetten***, 25 (1 *Membrankassette* pro Beutel; jede Membran ist mit Anti-Lactoferrin-Antikörpern beschichtet und enthält an kolloidales Gold konjugierte Antikörper)

CONTROL | + ***Positive Kontrolle***, 3,5 ml (phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit gereinigtem menschlichem Lactoferrin)

Transferpipetten, 25 (konisch erweiterter Bereich = 50 µl)

Einweg-Vorrichtungen für Probenvorbereitung, 25 (25 Reagenzröhrchen und 25 Filterspitzen)

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Rx Only - Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Die Reagenzien aus dem Kit müssen vor Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
4. Der Beutel mit der *Membrankassette* darf erst unmittelbar vor dem Gebrauch geöffnet werden.
5. *Membrankassetten* vor Gebrauch trocken lagern.
6. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen. Verwenden Sie das Kit nicht nach dem Verfallsdatum.
7. Verwenden Sie die im Kit empfohlene Probenverdünnung. Normale Stuhlproben enthalten niedrige Lactoferrinkonzentrationen. Die im Kit empfohlenen Verdünnungen sind für den Nachweis eines Lactoferrinanstiegs über Hintergrundkonzentrationen vorgesehen.
8. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2° und 30 °C gelagert werden.
9. Alle *Membrankassetten* müssen unmittelbar nach 10 Minuten abgelesen werden.
10. Um elektrostatische Effekte zu minimieren, legen Sie alle *Membrankassetten* mit dem Reaktionsfenster nach oben auf feuchte Papiertücher.
11. Proben aus Transportmedien oder die in 10% Formalin, Merthiolat-Formalin, Natriumacetat-Formalin oder Polyvinylalkohol oder anderen Fixativa konserviert wurden, dürfen nicht verwendet werden.
12. Die positive Kontrolle enthält Lactoferrin aus menschlicher Quelle. Das Material wurde getestet und als negativ auf Antikörper gegen HIV-1, HIV-2, HCV und HbsAg befunden. Das Vorhandensein von Infektionsträgern kann jedoch mit keiner bekannten Testmethode vollständig ausgeschlossen werden. **Alle Produkte menschlichen Ursprungs sind als potenziell infektiös zu behandeln.** Im CDC/NIH-Handbuch für Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors ist die Verfahrensweise für den Umgang mit biologischen Gefahrstoffen veröffentlicht.
13. Proben und *Membrankassetten* nach dem Gebrauch als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandeln und entsorgen.
14. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
15. Das *Verdünnungspuffer*-Reagenz enthält 0,05 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
16. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung.

VORBEREITUNGEN

1. Alle Reagenzien müssen vor der Verwendung aus der Packung genommen werden und Raumtemperatur angenommen haben.
2. **Vorbereitung der *Membrankassette.*** Jeder Beutel enthält 1 *Membrankassette*, die mit Lactoferrin-spezifischem polyklonalem Antikörper beschichtet ist. Für jede Probe bzw. Kontrolle ist eine dieser *Membrankassetten* erforderlich. Vermeiden Sie eine Berührung der Membran im Ergebnisfenster.

ENTNAHME UND HANDHABUND DER STUHLPROBEN

BITTE BEACHTEN: Sammeln Sie die Stuhlproben in einem sauberen, luftdichten Behälter ohne Konservierungsstoffe. Lagern Sie die Proben zwischen 2° und 8ºC bzw. bei Raumtemperatur für bis zu 2 Wochen ab Entnahme. Danach müssen sie bei mindestens -20 ºC eingefroren werden. Verdünnte Proben können zwischen 2º und 8 ºC bzw. bei Raumtemperatur für bis zu 48 Stunden gelagert werden. Danach müssen sie entsorgt werden. **Mischen (vortexen) Sie die Proben gründlich vor der Durchführung des Tests. Sowohl die Probe vor der Übertragung in den *Verdünnungspuffer* als auch die verdünnte Probe vor Durchführung des Tests müssen vollständig gemischt werden.**

1. **Zubereitung der verdünnten Proben.**
   Stuhlproben: Bereiten Sie für jede zu testende Probe ein Kunststoffreagenzröhrchen vor. Geben Sie für jede Probe 2,5 ml *Verdünnungspuffer* in ein Verdünnungsreagenzröhrchen. Geben Sie mithilfe einer Transferpipette 50 µl (konisch erweiterter Bereich) der flüssigen Stuhlprobe. Feste Stuhlproben: Geben Sie mithilfe einer Transferpipette (konisch erweiterter Bereich) oder mittels Abwiegen 0,05 g Stuhlprobe in das Reagenzröhrchen mit dem *Verdünnungspuffer*. Nun setzen Sie eine Filterspitze auf das Reagenzröhrchen mit der verdünnten Probe und stecken die Spitze fest ein. Dies stellt eine 1:50 Verdünnung der Stuhlprobe dar.
2. Vortexen Sie die Reagenzröhrchen 10 Sekunden, und lagern Sie diese bis zur Testdurchführung zwischen 2 und 8 °C. Vortexen Sie nochmals, bevor Sie 5 Tropfen der verdünnten Stuhlprobe in die im Diagramm der *Membrankassette* angezeigte *Probenkavität* übertragen.

Transferpipette:

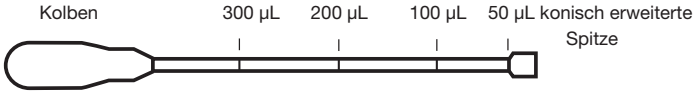
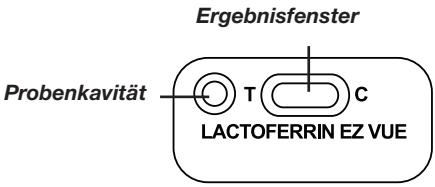


Diagramm der *Membrankassette*



VERFAHREN

1. Nehmen Sie die erforderliche Anzahl an *Membrankassetten* – eine pro Probe – aus den Folienbeuteln.
2. Legen Sie die *Membrankassetten* mit dem *Ergebnisfenster* nach oben auf feuchte Papiertücher und beschriften Sie die Kassetten ordnungsgemäß.
3. Halten Sie die Reagenzröhrchen mit den verdünnten Proben senkrecht und dispensieren Sie **5 Tropfen** (150 µl) in die *Probenkavität* einer *Membrankassette*. Wenn Sie eine externe Qualitätskontrolle mittesten, so geben Sie **3 Tropfen** (150 µl) positive Kontrolle oder 150 µl *Verdünnungspuffer* mithilfe der Transferpipette in die Probenvertiefung der Kassette.
   (BITTE BEACHTEN: Als externe negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet)

4. Inkubieren Sie jede *Membrankassette* 10 Minuten lang bei Raumtemperatur.
5. Lesen Sie die Ergebnisse ab: Prüfen Sie, ob im „C" Kontrollbereich und/oder „T" Testbereich des *Ergebnisfensters* jeder fertigen *Membrankassette* eine rote Linie sichtbar ist. Die Farbintensität der roten Linie kann schwach bis stark sein (Siehe Interpretation der Ergebnisse).

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis: Zwei rote Linien sind sichtbar: eine einzelne rote Linie im „T" Testbereich des *Ergebnisfensters* und eine einzelne rote Linie im „C" Kontrollbereich des *Ergebnisfensters*. Dies weist auf eine erhöhte Lactoferrinkonzentration und eine ordnungsgemäß reaktive Kontrolle hin.

Negatives Ergebnis: Es ist lediglich eine einzelne rote Linie im „C" Kontrollbereich des *Ergebnisfensters* sichtbar. Im „T" Testbereich des *Ergebnisfensters* sollte keine rote Linie sichtbar sein. Dies weist darauf hin, dass keine erhöhte Lactoferrinkonzentration im Stuhl und eine ordnungsgemäß reaktive Kontrolle vorhanden sind.

Ungültiges Ergebnis: Alle abgeschlossenen Reaktionen sollten eine sichtbare rote Linie im „C" Kontrollbereich des *Ergebnisfensters* aufweisen. Der Test ist ungültig, wenn keine Kontrolllinie sichtbar ist oder nach abgeschlossener Reaktion keine Linie auf der *Membrankassette* erscheint.

QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Auf jeder *Membrankassette* muss nach dem Test eine rote Kontrolllinie auf der „C" –Seite des *Ergebnisfensters* sichtbar sein. Die rote Kontrolllinie bestätigt, dass Probe und Reagenzien korrekt zugegeben wurden, die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und eine korrekte Probenmigration durch die *Membrankassette* stattgefunden hat. Ein farbloser Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle. Bei korrekt durchgeführtem Test und ordnungsgemäßer Funktion der Reagenzien ist der Hintergrund farblos, damit das Ergebnis erkennbar ist.

Extern: Die Reaktivität des LACTOFERRIN EZ VUE® Tests muss bei Erhalt anhand der *positiven Kontrolle* und negativen Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) überprüft werden. Die positive Kontrolle ist im Kit enthalten (Flasche mit rotem Verschluss). Die positive Kontrolle dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Verlässlichkeit beim Cut-off gedacht. Als negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet.

Weitere Tests einschließlich externer Kontrollen sollten durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

Die mit den externen Kontrollen erwarteten Reaktionen sind im Abschnitt INTERPRETATION DER ERGEBNISSE beschrieben. Der Test darf nicht verwendet werden, wenn die Kontrolltests inkorrekte Ergebnisse liefern. Korrekte Ergebnisse mit der internen Kontrolllinie, der *positiven Kontrolle* sowie negativen Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) zeigen an, dass der Test richtig durchgeführt wurde, die Antikörper auf der Membran und das *Konjugat* während der Testzeit reaktiv sind und die *Membrankassette* einen korrekten Probenfluss zulässt. Falsche Ergebnisse bei der internen und/oder externen Kontrolle zeigen an, dass der Test nicht korrekt durchgeführt wurde (d. h. falsche Menge der zugegebenen Reagenzien, falsche Inkubationstemperatur- oder Zeit, Reagenzien wurden vor Testbeginn nicht auf Raumtemperatur gebracht). Wiederholen Sie die Kontrolltests als ersten Schritt zur Feststellung der Fehlerursache.

VISUELLE INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Positives Testergebnis

Negatives Testergebnis

Ungültiges Testergebnis

Ungültiges Testergebnis

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Kits ist auf der Packungsaußenseite angegeben. Das jeweilige Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den einzelnen Etiketten angegeben. Das Kit mit den Reagenzien muss zwischen 2° und 30°C (im Kühlschrank oder bei Raumtemperatur) gelagert werden. Die *Membrankassetten* müssen bis zur Verwendung in den verschlossenen Beuteln verwahrt werden.

LEISTUNGSDATEN

23 Patienten mit Colitis ulcerosa, 70 mit Morbus Crohn, 17 mit Reizdarm sowie 27 gesunde Personen wurden von zwei verschiedenen CED-Referenzzentren und TECHLAB, Inc. aufgenommen. Alle 12 Patienten mit aktiver Colitis ulcerosa (100%) lieferten ein positives Ergebnis beim LACTOFERRIN EZ VUE® Test. Von den 11 Patienten mit inaktiver Colitis ulcerosa war keiner positiv beim LACTOFERRIN EZ VUE® Test. Alle 46 Patienten mit aktivem Morbus Crohn (100%) waren positiv beim LACTOFERRIN EZ VUE® Test. Von den 24 Patienten mit inaktivem Morbus Crohn waren 2 (8,3%) positiv. Alle 17 Patienten mit Reizdarm (100%) sowie alle 27 gesunden Personen (100%) lieferten ein negatives Ergebnis beim LACTOFERRIN EZ VUE® Test. Die Werte beim Vergleich des LACTOFERRIN EZ VUE® Tests mit dem LACTOFERRIN CHEK® Tests und zur Unterscheidung aktiver Colitis ulcerosa (CU) und aktivem Morbus Crohn (MC) von aktivem Reizdarmsyndrom (RDS) sowie gesunden Personen sind in folgender Tabelle aufgeführt.

Statistische Analyse des LACTOFERRIN EZ VUE®

Wert	LACTOFERRIN EZ VUE® vs LACTOFERRIN CHEK®	Aktive CU im Vgl. Zu RDS und gesunden Personen	Aktive MC im Vgl. Zu RDS und gesunden Personen
Sensitivität	100%	100%	100%
Spezifität	97,5%	100%	100%
Positiver Vorhersagewert	96,7%	100%	100%
Negativer Vorhersagewert	100%	100%	100%
Korrelation	98,5%	100%	100%

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Der LACTOFERRIN EZ VUE® Test ist ein Screeningtest für den Nachweis erhöhter Lactoferrinkonzentrationen aus Leukozyten im Stuhl als Marker eine Darmentzündung. Der Test ist möglicherweise nicht für immungeschwächte Personen geeignet.
2. Die in der Gebrauchsanweisung empfohlene 1:50 Verdünnung für Stuhlproben wurde in klinischen Studien geprüft und erwies sich als optimal für Stuhlverdünnungen. Die Verwendung niedrigerer Verdünnungen kann aufgrund des Vorhandenseins normaler Lactoferrinwerte zu positiven Reaktionen führen. Daher sollte nur die empfohlene Verdünnung verwendet werden.
3. Bis dato wurde der LACTOFERRIN EZ VUE® Test noch nicht klinisch für den Nachweis von Leukozyten in anderen klinischen Probenformen evaluiert.
4. Die Intensität der Testlinie einer positiven Probe ist kein Hinweis für die Lactoferrinmenge bzw. den Schweregrad der Erkrankung.

KREUZREAKTIVITÄT

Verschiedene im Darm angesiedelte Organismen wurden mit dem LACTOFERRIN EZ VUE® Test auf Kreuzreaktivität untersucht. Für die Analyse wurden mit 1x-*Verdünnungspuffer* im Verhältnis 1:50 vermischte Bouillonkulturen evaluiert. Es wurden Bouillonkulturen in der Protokollphase mit $\geq 10^8$ Bakterien/ml verwendet. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit den getesteten Organismen beobachtet.

AUSWIRKUNGEN DER STUHLPROBENKONSISTENZ

Der LACTOFERRIN EZ VUE® Test wies Lactoferrin in flüssigen, halbfesten und festen Stuhlproben in ähnlichen Konzentration wie jene nach, die bei gereinigtem, in *Verdünnungspuffer* zubereitetem Lactoferrin beobachtet wurden.

REPRODUZIERBARKEIT UND PRÄZISION

Die Inter-Assay-Variation wurde mittels Analyse von 9 Lactoferrin-negativen und 10 Lactoferrin-positiven Stuhlproben in einem Zeitraum von 3 Tagen bestimmt. Es ergab sich eine Korrelation von 100% für die positiven Proben wie auch negativen Proben. Die Intra-Assay-Variation wurde mittels Analyse von 19 Stuhlproben unter Verwendung von 6 Replikaten in einer Kitcharge bestimmt. Es ergab sich eine Korrelation von 100% zwischen den Ergebnissen der Intra-Assay-Analyse. Insgesamt 3 Arztpraxen evaluierten die Reproduzierbarkeit des LACTOFERRIN EZ VUE® Test anhand 10 Lactoferrin-positiver und 10 Lactoferrin-negativer Stuhlproben. Die Gesamtkorrelation für die Teststandorte im Vergleich zu bei TECHLAB® erzielten Ergebnissen lag zwischen 90 und 100%.

LACTOFERRIN EZ VUE® - FRANCAIS

UTILISATION PRÉVUE

Le test LACTOFERRIN EZ VUE® est un dosage immunochromatographique de dépistage qualitatif des concentrations accrues de lactoferrine, marqueur de leucocytes fécaux et indicateur d'inflammation intestinale. Ce test peut être utilisé comme outil diagnostique *in vitro* pour identifier les patients atteints de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) active et exclure les patients souffrant du syndrome du côlon irritable (SCI) actif, qui n'est pas d'origine inflammatoire.

Attention: la loi fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux médecins ou sur prescription médicale.

EXPLICATION

La maladie inflammatoire chronique de l'intestin est considérée comme une pathologie d'inflammation chronique. La recto-colite hémorragique et la maladie de Crohn présentent toutes deux un grand nombre de leucocytes qui migrent de la muqueuse vers la lumière intestinale. L'examen endoscopique peut être utilisé pour identifier la muqueuse enflammée chez les patients souffrant de MICI (3). Lors du diagnostic de la MICI, il faut veiller à exclure d'autres étiologies plus fréquentes comme la colite infectieuse (par ex. provoquée par *Shigella, Campylobacter* ou *Clostridium difficile*) (2,7). Les patients atteints de MICI active mais dont les signes et symptômes sont modérés peuvent être difficiles à distinguer des patients souffrant de syndrome du côlon irritable actif. Contrairement aux MICI, le syndrome du côlon irritable n'implique pas d'inflammation intestinale. Chez les personnes atteintes du syndrome du côlon irritable, les intestins semblent normaux lors de l'examen endoscopique et les leucocytes sont absents de la muqueuse ou des échantillons de selles (1).

La lactoferrine humaine est une glycoprotéine de 80 kilodaltons détectée par le test LACTOFERRIN EZ VUE®. Cette protéine liée au fer et sécrétée par la plupart des membranes muqueuses est un composant majeur des granulations secondaires des leucocytes, composant principal de la réponse inflammatoire aiguë. D'autres cellules hématopoïétiques comme les monocytes et les lymphocytes ne contiennent pas de lactoferrine alors que diverses sécrétions corporelles contiennent des taux qui atteignent plusieurs mg/ml. En cas d'inflammation intestinale, les leucocytes infiltrent la muqueuse, augmentant le taux de lactoferrine fécale (4-10). Le test LACTOFERRIN EZ VUE® est un test rapide non-invasif qui détecte les taux accrus de lactoferrine fécale comme marqueur de l'inflammation intestinale. Les résultats du test peuvent être utilisés comme outil de diagnostic différentiel entre le syndrome du côlon irritable actif et la MICI active.

PRINCIPE DU TEST

Le test LACTOFERRIN EZ VUE® utilise les anticorps anti-lactoferrine conjugués directement à des particules d'or. La *Cassette-membrane* contient deux bandes d'anticorps immobilisés. Une bande contient des anticorps anti-lactoferrine. L'autre bandelette, qui correspond à une ligne de contrôle, comporte des anticorps anti-IgG. L'échantillon dilué et le conjugué d'or migrent par capillarité lorsque l'échantillon est ajouté dans le puits. Si la lactoferrine est présente dans l'échantillon, les complexes lactoferrine-conjugué d'or se forment et sont capturés par les anticorps anti-lactoferrine immobilisés dans la bande. Les complexes lactoferrine-conjugué-anticorps apparaissent comme une ligne rouge simple dans la partie test de la *Fenêtre résultats*. Dans la bande de contrôle, le conjugué se lie avec les anticorps anti-IgG immobilisés, ce qui montre la migration correcte de l'échantillon et du conjugué le long de la membrane. Les complexes conjugué-anticorps anti-IgG apparaissent comme une ligne rouge simple dans la partie de contrôle de la *Fenêtre résultats*.

REACTIFS

DIL | SPE ***Diluant,*** 65 ml (prêt à l'emploi, contient une solution saline tamponnée au phosphate, un détergent et du ProClin® 300 0,05 %)
Mot indicateur : Avertissement
H317 : Risque de réactions cutanées allergiques
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

MEM | CAS ***Cassettes-membranes***, 25 (1 *Cassette-membrane* par sachet ; chaque membrane est enduite d'anticorps anti-lactoferrine et contient des anticorps marqués à l'or colloïdal)

CONTROL | + ***Contrôle Positif***, 3,5 ml (solution saline tamponnée au phosphate contenant de la lactoferrine humaine purifiée)

Pipettes de transfert, 25 (élément évasé = 50 µl)

Dispositifs jetables de préparation des échantillons, 25 (25 tubes et 25 embouts de filtration)

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Rx uniquement - Sur ordonnance uniquement
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Les réactifs du kit doivent être à température ambiante avant utilisation.
4. Le sachet contenant la *Cassette-membrane* doit être ouvert juste avant emploi.
5. Maintenir les *Cassettes-membranes* au sec avant de les utiliser.
6. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser le kit si la date d'expiration est dépassée.
7. Utiliser la dilution des échantillons fécaux selon les recommandations du kit. Les échantillons de selles normaux contiennent de faibles concentrations de lactoferrine et les dilutions recommandées dans le kit sont conçues pour dépister l'augmentation de lactoferrine par rapport aux concentrations habituelles.
8. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2° et 30°C.
9. Toutes les *Cassettes-membranes* doivent être rapidement lues à 10 minutes.
10. Pour minimiser les effets de l'électricité statique, placer toutes les *Cassettes-membranes* avec la *Fenêtre résultats* vers le haut sur des serviettes en papier humides.
11. Les échantillons conservés dans un milieu de transport ou 10 % de formol, de formol thimérosal, de formol d'acétate de sodium, d'alcool polyvinylique ou d'autres fixateurs ne peuvent pas être utilisés.
12. Le contrôle positif contient de la lactoferrine qui est un produit humain dérivé. La substance a été testée et a présenté des résultats négatifs pour les anticorps anti-VIH-1, VIH-2, HCV et HbsAg. Aucune méthode de test connue ne garantit l'absence totale d'agents infectieux. Tous les produits d'origine humaine doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Un procédé de protection contre les risques biologiques est publié dans le Manual of Biosafety in Microbiology & Biomedical Laboratories du CDC/NIH.
13. Après leur utilisation, les échantillons et les *Cassettes-membranes* doivent être manipulés et jetés de la même façon que des matières présentant un danger biologique.
14. S'équiper de gants jetables pendant le test.
15. Le *Diluant* contient du ProClin® 300 0,05 % comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
16. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets.

PREPARATIONS PRELIMINAIRES

1. Tous les réactifs doivent être retirés de la boîte et laissés à température ambiante avant d'être utilisés dans un essai.
2. ***Préparation de la Cassette-membrane.*** Chaque sachet contient 1 *Cassette-membrane* enduite d'anticorps polyclonaux spécifiques de la lactoferrine. Chaque échantillon ou contrôle nécessite une de ces *Cassettes-membranes*. Éviter le contact avec la membrane située dans la *Fenêtre résultats*.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

REMARQUE : recueillir les échantillons de selles dans un récipient propre et hermétique, sans agent de conservation. Les échantillons doivent être conservés entre 2° et 8°C ou à température ambiante jusqu'à 2 semaines après le prélèvement puis congelés à -20°C ou plus bas. Les échantillons dilués doivent être conservés entre 2° et 8°C ou à température ambiante pendant 48 heures maximum, après quoi ils seront jetés. **Bien mélanger (mixer) les échantillons avant l'essai. Ceci inclut le mélange complet de l'échantillon avant de le transférer sur le *Diluant* ainsi que le mélange complet de l'échantillon dilué avant de réaliser l'essai.**

1. **Préparer un échantillon dilué.**
   Échantillons fécaux : Préparer un tube plastique pour chaque échantillon à tester. Pour chaque échantillon, ajouter 2,5 ml de *Diluant* à chaque tube de dilution. Utiliser une pipette de transfert pour ajouter 50 µl (élément évasé) d'échantillon fécal liquide. Pour les échantillons de selles formés ou solides, utiliser une pipette de transfert pour ajouter 0,05 g (partie évasée) ou peser 0,05 g de l'échantillon fécal et l'ajouter dans le tube contenant le *Diluant*. Puis placer un embout de filtration en haut du tube contenant l'échantillon dilué et insérer fermement l'embout. On obtient ainsi une dilution de l'échantillon au 1/50.
2. Agiter les tubes pendant 10 secondes et les conserver à une température comprise entre 2° et 8°C jusqu'à réalisation du test. Agiter à nouveau avant de transférer 5 gouttes de l'échantillon dilué dans le micropuits d'échantillon indiqué dans la figure *Cassette-membrane*.

Pipette de transfert :

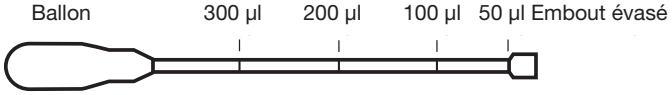
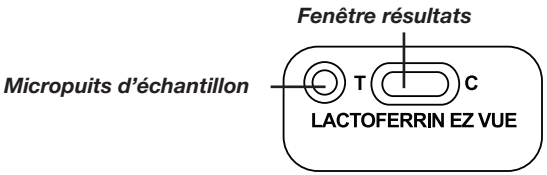


Figure *Cassette-membrane*



PROCÉDURE

1. Prélever le nombre nécessaire de *Cassettes-membranes*, un par échantillon, dans les sachets aluminisés.
2. Placer les *Cassettes-membranes* sur des serviettes en papier humides, avec la fenêtre résultats dirigée vers le haut, et les étiqueter en conséquence.
3. Tout en maintenant chaque tube d'échantillon dilué vertical, ajouter **5 gouttes** (150 µl) dans le Puits à échantillon d'une *Cassette-membrane*. En cas de contrôle de qualité externe, ajoutez **3 gouttes** (150 µl) du controle positif ou 150 µl de *Diluant* en utilisant

la pipette de transfert dans le puits à échantillon de la cassette.
(REMARQUE : le *Diluant* est utilisé comme contrôle externe négatif)

4. Incuber chaque *Cassette-membrane* pendant 10 minutes à la température ambiante.
5. Lire les résultats : observer la *Fenêtre résultats* de chaque *Cassette-membrane* terminée pour détecter l'apparition d'une ligne rouge dans la partie contrôle « C » et/ou la partie test « T » de la fenêtre. La ligne rouge peut avoir une couleur allant de faible à foncée (voir Interprétation des résultats).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif : Deux lignes rouges sont visibles, l'une dans la partie de test « T » de la *Fenêtre résultats* et l'autre dans la partie de contrôle « C » de la *Fenêtre résultats*, ce qui indique la présence de taux accrus de lactoferrine fécale et un contrôle correctement réactif.

Résultat négatif : Une seule ligne est visible uniquement du côté contrôle « C » de la *Fenêtre résultats*. Aucune ligne ne doit apparaître dans la partie de test « T » de la *Fenêtre résultats*, ce qui indique l'absence d'élévation du taux de lactoferrine fécale et un contrôle correctement réactif.

Résultat nul : Toutes les épreuves réalisées doivent présenter une ligne rouge visible dans la partie de contrôle « C » de la *Fenêtre résultats*. Le test n'est pas valable si la ligne de contrôle est absente ou qu'aucune ligne n'apparaît sur la *Cassette-membrane* terminée.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Interne : Une ligne de contrôle rouge doit être visible dans la partie « C » de la *Fenêtre résultats* de chaque *Cassette-membrane* testée. L'apparition de la ligne de contrôle rouge confirme que l'échantillon et les réactifs ont été correctement ajoutés, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a bien migré dans la *Cassette-membrane*. Un fond clair dans la zone résultat est considéré comme un contrôle interne négatif. Si le test a été réalisé correctement et que les réactifs fonctionnent bien, le fond sera clair afin de fournir un résultat discernable.

Externe : La réactivité du test LACTOFERRIN EZ VUE® doit être vérifiée à réception en utilisant le *Contrôle Positif* et le contrôle négatif (*Diluant*). Le *Contrôle Positif* est fourni avec le kit (flacon à capsule rouge). Le *Contrôle Positif* permet de confirmer la réactivité des autres réactifs associés à l'essai mais il ne permet pas de garantir la précision à la limite de détection de l'essai analytique. Le *Diluant* est utilisé pour le contrôle négatif.

Des tests supplémentaires avec contrôles externes doivent être réalisés pour répondre aux exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales et/ou des organismes d'accréditation.

Les réactions attendues avec les contrôles externes sont décrites dans la section INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. Le test ne doit pas être utilisé si les tests de contrôle ne donnent pas les bons résultats. De bons résultats obtenus avec la ligne de contrôle interne, le *Contrôle Positif* et le contrôle négatif (*Diluant*) indiquent que le test a été correctement réalisé, que les anticorps étalés sur la membrane et le Conjugué sont réactifs au moment du test et que le dispositif permet un écoulement correct de l'échantillon. Si les contrôles internes et externes ne donnent pas les résultats attendus, ceci indique que le test n'a pas été correctement réalisé (volume des réactifs ajoutés incorrect, température ou durées d'incubation non respectées ou température des réactifs différente de la température ambiante au moment du test). Recommencer les tests de contrôle, car ceci est la première chose à faire pour déterminer l'origine de l'échec.

INTERPRÉTATION VISUELLE DES RÉSULTATS

Résultat de test positif

Résultat de test négatif

Résultat de test non valable

Résultat de test non valable

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du kit est indiquée sur l'extérieur de l'emballage. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit contenant les réactifs doit être stocké entre 2° et 30°C (au réfrigérateur ou à température ambiante). Les *Cassettes-membranes* doivent être conservées dans les sachets fermés jusqu'à utilisation.

EFFICACITÉ DU TEST

23 patients atteints de recto-colite hémorragique, 70 patients souffrant de maladie de Crohn, 17 patients avec un syndrome du côlon irritable et 27 sujets sains ont été inclus dans deux centres de référence sur les MICI et TECHLAB, Inc. Les 12 patients dont la recto-colite hémorragique était active (100 %) ont été testés positifs au test LACTOFERRIN EZ VUE®. Sur les 11 patients avec une recto-colite hémorragique inactive, aucun n'a été testé positif avec le test LACTOFERRIN EZ VUE®. Les 46 patients dont la maladie de Crohn était active (100 %) ont été testés positifs au test LACTOFERRIN EZ VUE®. Sur les 24 patients souffrant de maladie de Crohn inactive, 2 (8,3 %) ont été testés positifs. Les 17 patients atteints du syndrome du côlon irritable (100 %) et les 27 sujets sains (100 %) ont été testés négatifs avec le test LACTOFERRIN EZ VUE®. Les valeurs de comparaison entre les tests LACTOFERRIN EZ VUE® et LACTOFERRIN CHEK® et de diagnostic différentiel entre, d'une part, la recto-colite hémorragique (RCH) active et la maladie de Crohn (MC) active et, d'autre part, le syndrome du côlon irritable (SCI) et les sujets sains sont présentées au tableau suivant.

Analyse statistique du test LACTOFERRIN EZ VUE®

Valeur	LACTOFERRIN EZ VUE® contre LACTOFERRIN CHEK®	RCH Active contre SCI et sujets sains	MC Active contre SCI et sujets sains
Sensibilité	100%	100%	100%
Spécificité	97,5%	100%	100%
Valeur Prédictive Positive	96,7%	100%	100%
Valeur Prédictive Négative	100%	100%	100%
Correlation	98,5%	100%	100%

LIMITES DE LA PROCÉDURE

1. Le test LACTOFERRIN EZ VUE® est un test de dépistage qui détecte les taux accrus de lactoferrine libérée par les leucocytes fécaux comme marqueur de l'inflammation intestinale. Le test peut ne pas être approprié aux personnes immunodéficitaires.
2. La dilution d'échantillons de selles au 1/50 recommandée par la brochure a été évaluée lors d'essais cliniques et s'est montrée optimale pour les dilutions fécales. L'utilisation de dilutions plus faibles peut entraîner des faux positifs en raison de la présence de taux normaux de lactoferrine. Ainsi, seule la dilution recommandée dans la brochure doit être appliquée.
3. À ce jour, le test LACTOFERRIN EZ VUE® n'a pas été évalué cliniquement pour la détection des leucocytes dans d'autres types d'échantillons cliniques.
4. L'intensité d'une ligne de test d'échantillon positif n'indique pas la quantité de lactoferrine ou la gravité de la maladie.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Différents organismes retrouvés dans les intestins ont été examinés afin de déceler une réactivité croisée dans le test LACTOFERRIN EZ VUE®. L'analyse a porté sur des cultures en milieu liquide mélangées avec le *Diluant* 1X au 1/50. Les cultures sur milieu liquide utilisées en phase logarithmique contenaient ≥10^8 bactéries par ml. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec les organismes testés.

EFFET DE LA CONSISTANCE DE L'ÉCHANTILLON DE SELLES

Le test LACTOFERRIN EZ VUE® a détecté la présence de lactoferrine dans les échantillons de selles solides, semi-solides et liquides, à des taux équivalents à ceux obtenus avec de la lactoferrine purifiée préparée avec le *Diluant* du kit.

REPRODUCTIBILITÉ ET PRÉCISION

La variation inter-essais a été déterminée par l'analyse de 9 échantillons de selles négatifs pour la lactoferrine et 10 échantillons positifs sur une période de 3 jours. Il existait une corrélation de 100 % pour tous les échantillons, positifs ou négatifs. La variation intra-essai était déterminée par l'analyse de 19 échantillons de selles, chaque échantillon étant testé 6 fois avec un même lot de kits. Une corrélation de 100 % a été trouvée entre les résultats pour l'analyse intra-essai. Au total, 3 cabinets médicaux ont évalué la reproductibilité du test LACTOFERRIN EZ VUE® à l'aide de 10 échantillons de selles positifs et 10 échantillons négatifs pour la lactoferrine. Les corrélations globales pour les sites de test par rapport aux résultats générés à TECHLAB, Inc. s'échelonnaient de 90 à 100 %.

REFERENCES

1. Camilleri, M. 2001. Management of the irritable bowel syndrome. Gastroenterol. 120:652-668.
2. Everhart, J. E. 1994. Digestive diseases in the United States: epidemiology and impact. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. U.S. Government Printing Office, NIH Publication no. 94-1447.
3. Fine, K. D., F. Ogunji, J. George, M. Niehaus, and R. Guerrant. 1998. Utility of a rapid fecal latex agglutination test detecting the neutrophil protein lactoferrin, for diagnosing inflammatory causes of chronic diarrhea. Am. J. Gastroenterology. 93:1300-1305.
4. Guerrant, R.L., V. Araujo, E. Soares, K. Kotloff, A. Lima, W. Cooper, and A. Lee. 1992. Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. J. Clin. Microbiol. 30:1238-1242.
5. Harris, J. C., H. L. DuPont, and B. R. Hornick. 1971. Fecal leukocytes in diarrheal illness. Ann. Intern. Med. 76:697-703.
6. Kayazawa, M., O. Saitoh, K. Kojima, K. Nakagawa, S. Tanaka, K. Tabata, R. Maysuse, K. Uchida, M. Hoshimoto, I. Hirata, and K. Katsu. 2002. Lactoferrin in whole gut lavage fluid as a marker for disease activity in inflammatory bowel disease: Comparison with other neutrophil-derived proteins. Am. J. Gastroenterology. 97:360-369.
7. Riley, L. W. 1995. Acute inflammatory diarrhea. In M. Blaser (ed.), P. Smith, J. Ravdin, H. Greenberg, and R. Guerrant, Infections of the Gastrointestinal Tract. Raven Press, New York, NY.
8. Sartor, R. B. 1995. Microbial agents in pathogenesis, differential diagnosis, and complications of inflammatory bowel disease. In M. Blaser (ed.), P. Smith, J. Ravdin, H. Greenberg, and R. Guerrant, Infections of the Gastrointestinal Tract. Raven Press, New York, NY.
9. Sugi, K., O. Saitoh, I. Hirata, and K. Katsu. 1996. Fecal lactoferrin as a marker for disease activity in inflammatory bowel: comparison with other neutrophil derived proteins. Am. J. Gastroenterology. 91:927-934.
10. Uchida, K., R. Matsuse, S. Tomita, K. Sugi, O. Saitoh, and S. Ohshiba. 1994. Immunochemical detection of human lactoferrin in feces as a new marker for inflammatory gastrointestinal disorders and colon cancer. Clin. Biochem. 27:259-264.
11. Washington, J. A., and G. V. Doern. 1991. Assessment of new technology. In A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy (ed.), Manual of Clinical Microbiology, pp. 44-48. American Society for Microbiology.

Technical Support
Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support:

US	+1 800 TECHLAB
Phone	(540) 953-1664
Fax	(540) 953-1665
Email	ts@techlab.com

© 2023 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

LACTOFERRIN EZ VUE, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc.
Proclin is a trademark of Rohm and Haas Company.
All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.

RMS #91-353-04-TL **Issued: 07/2023**