

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25LT
RTB25LTC
RTB25LTCN



biotical Lactoferrin Card

Rapid Test to detect
human lactoferrin in
card format

Prueba rápida para la
detección de lactoferrina
en formato de tarjeta.

biotical health
ready to test



IU RTB25LT-RTB25LTC-RTB25LTCN Rev. 02 / 2024-04

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical Lactoferrin Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL LACTOFERRIN CARD?

biotical Lactoferrin card is a coloured chromatographic immunoassay test (qualitative cut off test) for the detection of human Lactoferrin (hLf) in stool samples. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional will be able to make a presumptive diagnosis of Inflammatory Bowel Diseases (IBD) as well as a follow up of the treatment and to predict the risk of relapse.

GASTROINTESTINAL INFLAMMATION AND LACTOFERRIN

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

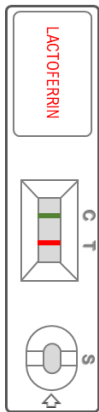
TABLE OF REFERENCES

In the following table will be able to find all the product references related to the acquired test.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25LT	biotical Lactoferrin Card	25 tests without positive or negative controls.
RTB25LTC	biotical Lactoferrin Card (+PC)	25 tests with positive control, without negative control.
RTB25LTCN	biotical Lactoferrin Card (+PC +NC)	25 tests with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL LACTOFERRIN CARD WORK?

The card contains inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously pre-coated with:



- In **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against human Lactoferrin (hLf).
- **Sample area (S)**: the pad where the sample is placed has been dispensed with a preparation of reagents of the T line (mouse monoclonal antibodies against human Lactoferrin) conjugated with latex of red polystyrene; and a control solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two conjugate-coloured complexes.

TEST LINE:

If the sample is positive: The antigens of the patient's sample will react with the red coloured conjugate complex (anti-human Lactoferrin monoclonal antibodies red latex microspheres for the line T) and advance by capillarity through the membrane. The anti-human Lactoferrin antibodies present in the T line will capture the coloured test complex resulting in the red line.

If the sample is negative: If the sample is negative and therefore does not contain antigens (or the antigen is present in a concentration below the detection limit), there is no reaction with the red coloured complex. The anti-human Lactoferrin antibodies present in the T line will not capture the red coloured antigen-complex (not formed) and the red line will not appear.

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or not, to verify that the test has been performed correctly (sufficient sample volume, appropriate flow, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue moving through the membrane towards the immobilized antibodies against the specific protein located in the control line (C). These specific anti-protein antibodies present in the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE AND STABILITY

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

GENERAL PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The test and samples should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.

- Components provided in the kit are approved for use in the test that are supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- Pale yellow or orange bands may appear in the test strip results window, at the positions where the coloured test and control lines should appear, before the test is performed. These bands are completely normal and correspond to the capture antibodies of the test. The existence of these bands does not alter the state of conservation and functionality of the kit.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Stool collection tubes with diluent.
- Positive Control (only RTB25LTC & RTB25LTCN references).
- Negative Control (only RTB25LTCN reference)

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container.
- Disposable gloves.
- Timer.

The kit contains materials for the analysis of a maximum of 25 samples or controls.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

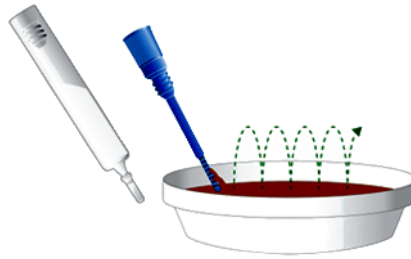
Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 7 days prior to testing. For longer storage, maximum 6 months, the specimen must be kept frozen (-20°C). In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before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

Specimen preparation (see illustration):

- Take out the cap of the stool collection tube and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample **1**, to collect faecal sample and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 20µL in the stool collection tube using a micropipette.
- Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion **2**. The stool collection vial with diluted sample can be stored for 7 days in the refrigerator (2-8°C) prior to testing.



Collection tube



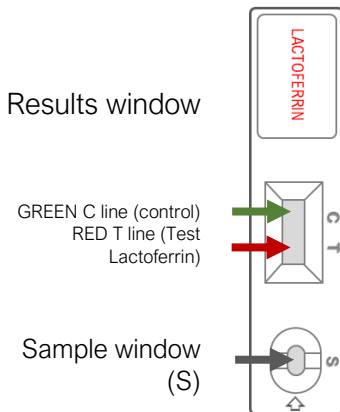
1 Stool sample



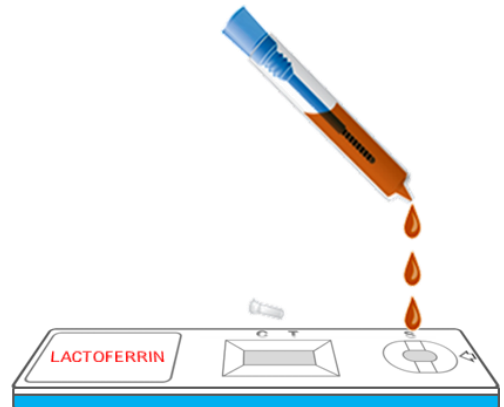
2 Shake vigorously

TEST PROCEDURE

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



3 Cut the end of the cap.



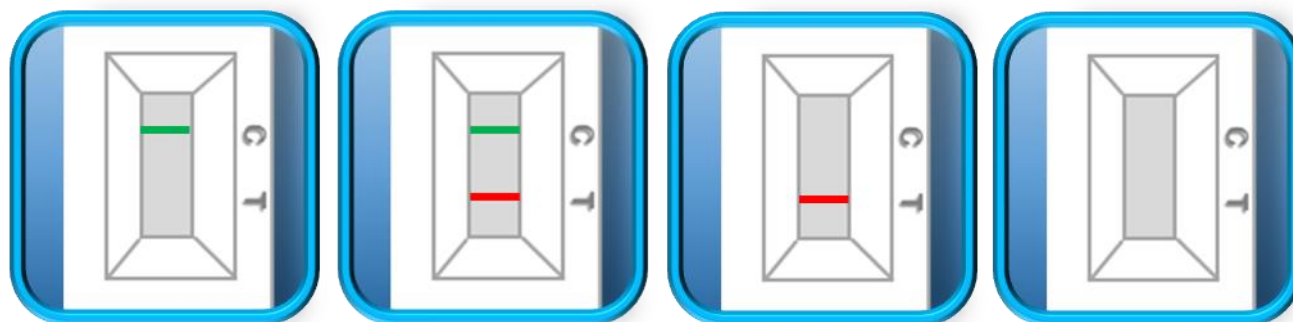
4 Add 4 drops in the circular window (S).

- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 3.
- **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 4. Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes.** The results will not be valid after 10 minutes.

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

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)



NEGATIVE

POSITIVE

INVALID

INVALID

	biotal Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of human lactoferrin is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED LINE	POSITIVE In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window. Human lactoferrin presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the result still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured bands in the test line (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

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

The following sections (**POSITIVE CONTROL** & **NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kits references ended with **RTB25LTC** & **RTB25LTCN**).

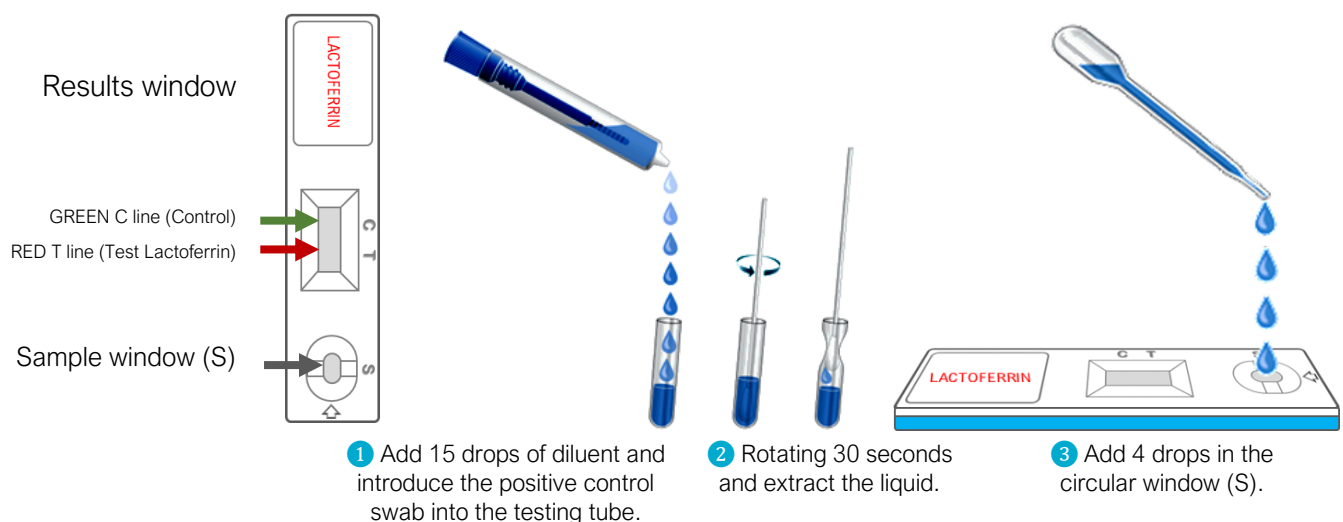
POSITIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotal Lactoferrin Positive Control is an external quality control for biotal Lactoferrin card. Use this control swab to check that the sample reagents and the test card are working properly.

biotal Lactoferrin Positive Control is manufactured with inactivated Lactoferrin extract dried in swab containing a preservative.



POSITIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

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



- **Add 15 drops of diluent** and immediately introduce the positive control swab into the testing tube **1**.
- Mix the solution by **rotating the positive control swab** forcefully against the side of the testing tube at least **30 seconds** **2**. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotal device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S **3**.
- **Read the result at 10 minutes**. do not read the test result later than 10 minutes.

POSITIVE CONTROL – INTERPRETATION OF RESULTS

	biotal Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>

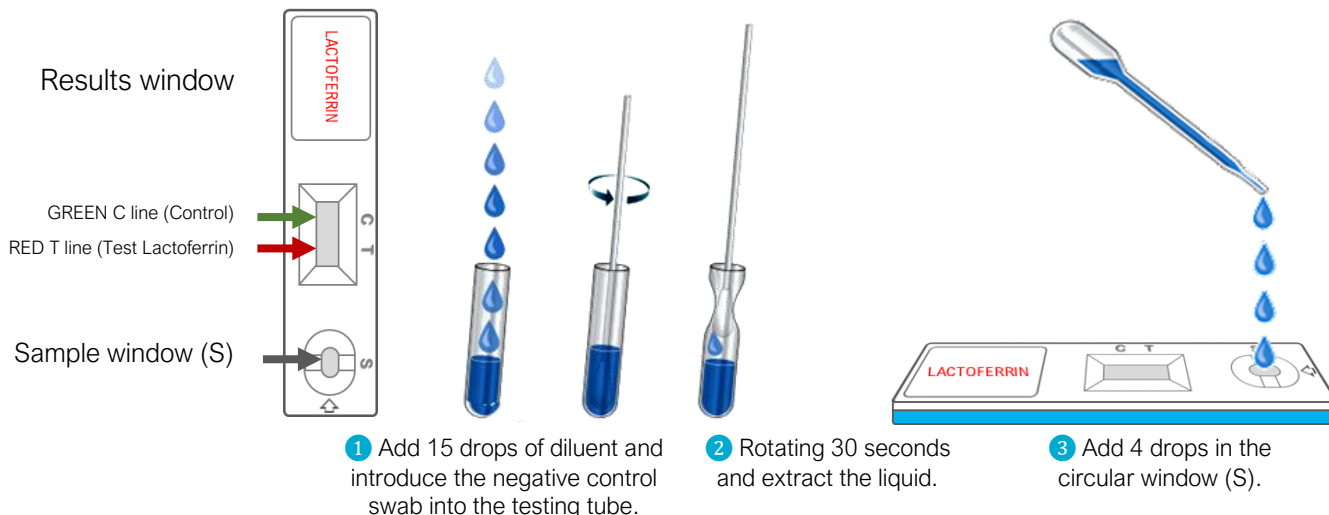
NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotal Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotal. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotal Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.



NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

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



- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the negative control swab into the testing tube ①.
- Mix the solution by rotating the negative control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds ②. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotical device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S ③.
- Read the result at 10 minutes. Do not read the test result later than 10 minutes.

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
- An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
- The intensity of test line may vary from very strong at high human lactoferrin concentration to faint when the human lactoferrin concentration is close to the cut-off value of the test.
- biotical Lactoferrin Card should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
- Positive results determine the presence of human lactoferrin in faecal samples; nevertheless, it can be also due to several causes besides inflammatory bowel disease (IBD). A positive result should be followed up with additional diagnostic procedures. Endoscopy and histology on biopsy specimens are the methods for detecting and quantifying bowel inflammation.
- A negative result is not meaningful because of it is possible the human lactoferrin concentration in the stool sample is lower than the cut-off value. Negative results do not exclude inflammation, some diseases such as celiac sprue and microscopic colitis polyps that involve mainly mononuclear inflammation.



- Lactoferrin is a component of breast milk; the test will be positive in breast fed children and should not be used to evaluate neonates receiving breast milk.
- Stool from patients with active inflammatory bowel diseases that usually involve significant neutrophilic inflammation of the intestine, such as Crohn’s disease and ulcerative colitis, would be positive for faecal lactoferrin. biotical Lactoferrin Card could be sensitive for this diagnosis in patients with chronic diarrhoea.
- Bloody stool samples can contain components that may cause non-specific reactions in the test. Every bloody stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.
- Mucous stool samples may cause non-specific reactions in the test. Every mucous stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity:

Cut-off value of biotical Lactoferrin Card is 100ng/mL (10µg hLf/g faeces) for human lactoferrin.

Clinical sensitivity and specificity:

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (biotical Lactoferrin, biotical) and other commercial ELISA tests (Human Lactoferrin ELISA kit, ICL).

The results were as follows:

		ELISA test: Human Lactoferrin ELISA kit		
		+	-	Total
Biotical Lactoferrin Card	+	27	13	40
	-	3	47	50
	Total	30	60	90

<i>Biotical Lactoferrin Card vs Human Lactoferrin ELISA kit</i>	MEAN VALUE	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	90.00%	73.5% – 97.9%
SPECIFICITY	78.3%	65.8% – 87.9%
PPV	67.5%	50.9% – 81.4%
NPV	94.0%	83.5% – 98.0%
ACCURACY	82.2%	72.7% – 89.4%

Specificity for a cut-off value of 2.5 µg hLf/g: 100.0% (mean value); 83.9-100.0% (95% confidence interval).

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human lactoferrin using biotical Lactoferrin Card.

CROSS REACTIVITY

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

<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba dispar</i>	Bovine lactoferrin	<i>Shigella boydii</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
Human calprotectin	<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> O26	Norovirus G1	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	Norovirus GII	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>C. difficile</i> antigen GDH	<i>Giardia</i>	Rotavirus	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	Bovine transferrin
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	Bovine haemoglobin	<i>Salmonella paratyphi</i> A	Human transferrin
<i>Clostridium perfringens</i>	Pig haemoglobin	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Cryptosporidium</i>	Human haemoglobin	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Consult instructions for use



Keep dry



Use by



Temperature limitation



Manufacturer



Contains sufficient for <n> test

DIL

Sample diluent

LOT

Batch code

REF

Catalogue number

biotical Lactoferrin Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL LACTOFERRIN CARD?

biotical Lactoferrin Card es una prueba inmunocromatográfica (test cualitativo de cut-off) de un solo paso para la detección cualitativa de lactoferrina humana (hLf) en muestras de heces como indicativo de inflamación gastrointestinal presente en diversas patologías (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorrectal y algunas enteropatías). biotical Lactoferrin Card ofrece un ensayo de cribado sencillo, de alta sensibilidad y no invasivo para determinar actividad inflamatoria intestinal, para el seguimiento de un tratamiento y para predecir el riesgo de recaídas.

INFLAMACIÓN INTESTINAL Y LACTOFERRINA

La lactoferrina es un componente glicoproteico de los gránulos neutrofílicos secundarios, componente primario de la respuesta aguda inflamatoria y es liberada a partir de los leucocitos fecales. Esta proteína es resistente a la proteólisis en las heces y puede servir como marcador de inflamación en el intestino. La causa más frecuente de la presencia de neutrófilos en heces en pacientes con diarrea crónica es la enfermedad crónica inflamatoria intestinal localizada en el colon (como la Enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa). Se ha estudiado la lactoferrina como marcador de infección por enteropatógenos invasivos en niños con diarrea. La diarrea inflamatoria bacteriana puede ser causada por *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Clostridium difficile*.

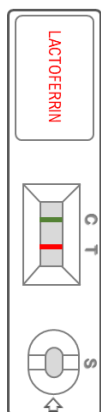
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25LT	biotical Lactoferrin Card	25 Test sin control positivo ni control negativo.
RTB25LTC	biotical Lactoferrin Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25LTCN	biotical Lactoferrin Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL LACTOFERRIN CARD?

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:



- **En la línea VERDE de control (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- **En la línea ROJA de test (T):** con anticuerpos monoclonales de ratón frente a Lactoferrina humana (hLf).
- **En la zona de muestra (S):** se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea T (anticuerpos monoclonales de ratón frente a Lactoferrina humana) conjugados con látex de poliestireno rojo; y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

Si la muestra es positiva: Los antígenos de la muestra de heces del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-Lactoferrina humana-microesferas rojas de látex para la línea T) y avanzarán por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti-Lactoferrina humana presentes en la membrana de la línea de test (T) capturarán el complejo coloreado del test dando lugar a la línea roja.

Si la muestra es negativa: Si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección), no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-Lactoferrina humana presentes en la línea T no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, para verificar que se ha realizado correctamente el test (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

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

PRECAUCIONES GENERALES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área de trabajo.
- Es posible que aparezcan bandas color amarillo o naranja pálido en la ventana de resultados de las tiras de test, en las posiciones donde deberán aparecer las bandas coloreadas de test y control, antes de que se realice la prueba. Estas bandas son completamente normales y corresponde a los anticuerpos de captura de la prueba. La existencia de estas bandas no altera el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) de test.
- Instrucciones de uso.
- Tubos para dilución de muestra con diluyente.
- Control positivo (solo en las referencias RTB25LTC & RTB25LTCN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25LTCN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

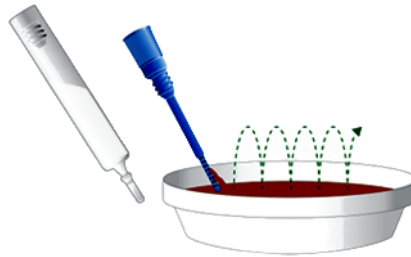
Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 7 días hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 6 meses, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra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

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra **1**, tomando una pequeña cantidad de heces y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadir aprox. 20µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
- Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra **2**. Este tubo que contiene la muestra diluida puede conservarse en frío (2-8°C) durante 7 días antes de realizar la prueba.



Tubo para dilución de muestra



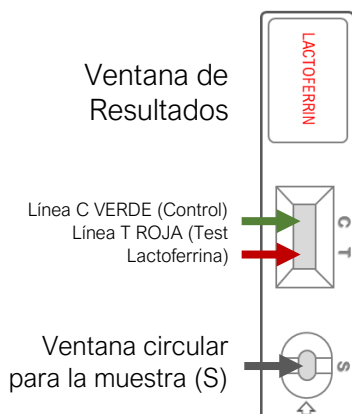
1 Muestra de heces



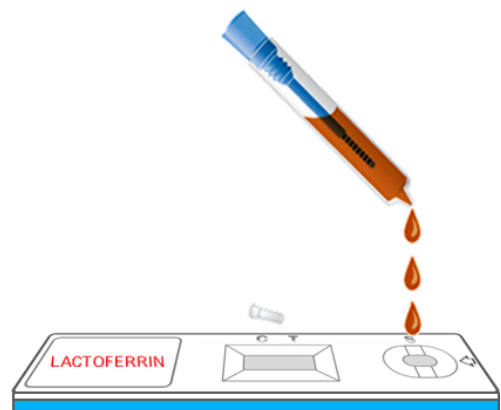
2 Agite vigorosamente

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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



3 Cortar el extremo de la tapa.



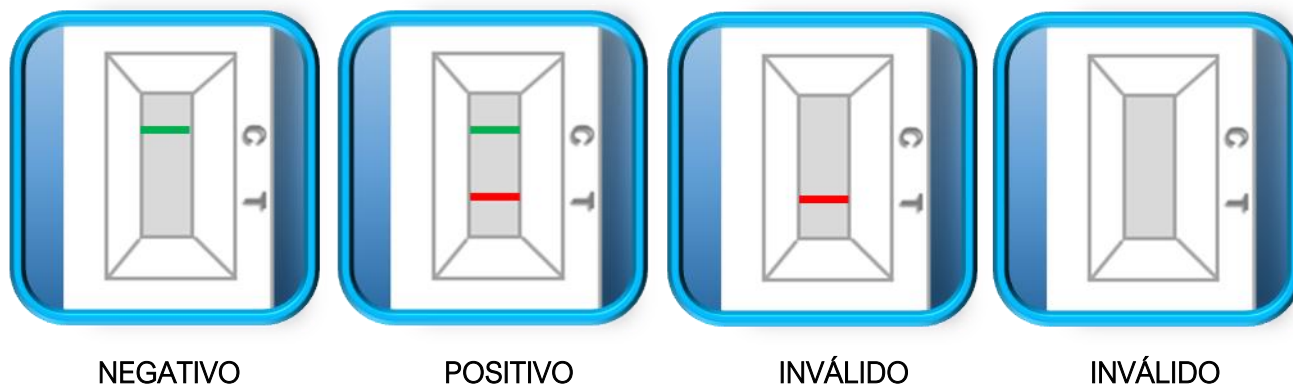
4 Añadir 3 gotas en la ventana circular (S).

- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de muestra, **cortar la punta del tapón** 3.
- **Añadir 3 gotas** del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra S 4. Evite añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer los resultados a los 10 minutos.** Los resultados no serán válidos después de 10 minutos.

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

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de lactoferrina humana en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana Resultados. Se detecta presencia de lactoferrina humana en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

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

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO & CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente están disponibles (vendidos por separado o con kits con referencias **RTB25LTC & RTB25LTCN**).

CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotal Lactoferrina Positive Control es un control de calidad externo para el test biotal Lactoferrin Card. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de la muestra y la tarjeta de prueba funcionen correctamente.

biotal Lactoferrina Positive Control está fabricado con extracto de Lactoferrina secado en hisopo que contiene un conservante.



CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotal correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra **S** **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	 <p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana Resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>

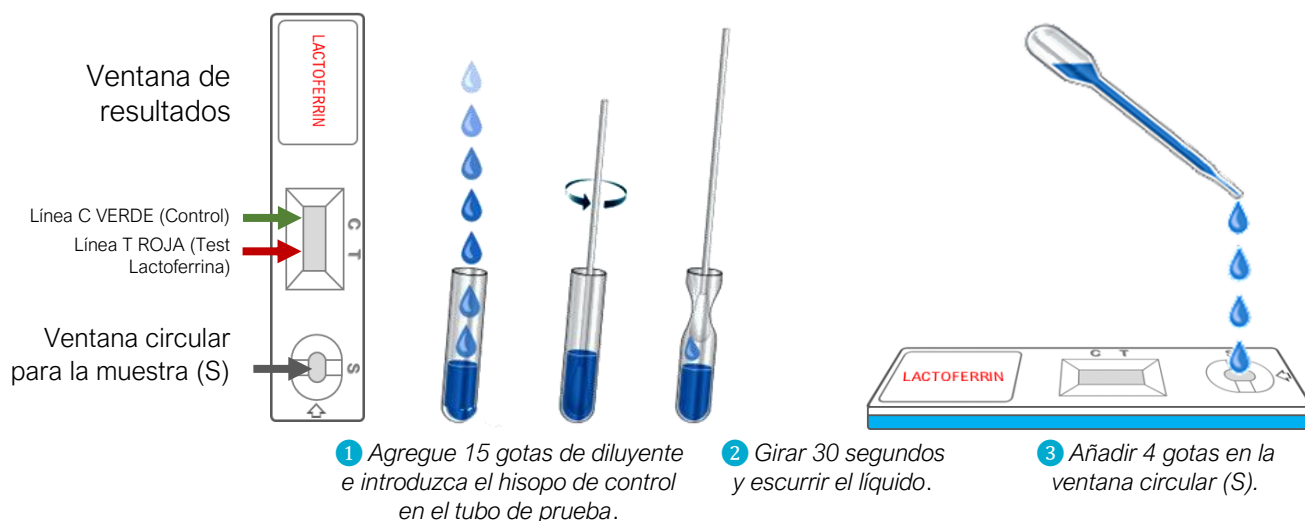
CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente.

biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.



CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	 <p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO</p> <p>Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control.</p> <p>Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- Una vez abierto el envase, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea de test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de lactoferrina humana a débil cuando la concentración de lactoferrina humana está cerca del valor de cut-off del test.
- El test debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de lactoferrina humana en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas además de enfermedad inflamatoria del intestino (EII). Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas. La endoscopia y la histología a partir de biopsia son los métodos más adecuados para detectar y cuantificar una inflamación en el intestino.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de lactoferrina humana en la muestra de heces sea inferior al valor de cut-off. Los resultados negativos no excluyen de la presencia de inflamación, algunas enfermedades como la enfermedad celiaca y los pólipos microscópicos de colitis pueden presentar principalmente una inflamación mononuclear.



- La lactoferrina es un componente de la leche materna, este test dará positivo en lactantes y no debería utilizarse para evaluar neonatos lactantes.
- Las muestras de heces de pacientes que presenten la enfermedad inflamatoria intestinal que normalmente lleva asociada una inflamación neutrofílica del intestino, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, deberían dar resultados positivos para lactoferrina fecal. biotical Lactoferrin Card puede ser sensible para el diagnóstico en pacientes con diarrea crónica.
- Las muestras de heces sanguinolentas contienen componentes de la sangre. Estos componentes podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra sanguinolenta cuyo resultado es positivo debe confirmarse con otras técnicas.
- Muestra de heces mucosas podrían provocar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra de heces mucosas cuyo resultado sea positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para confirmar el resultado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica:

El valor de cut-off de CerTest Lactoferrin es 100ng/mL (10µg hLf/g heces) para lactoferrina humana.

Sensibilidad clínica y especificidad:

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos con un test inmunocromatográfico (biotical Lactoferrin, biotical) y un test ELISA (Human Lactoferrin ELISA kit, ICL).

Los resultados fueron los siguientes:

		ELISA test: Human Lactoferrin ELISA kit		
		+	-	Total
Biotical Lactoferrin Card	+	27	13	40
	-	3	47	50
	Total	30	60	90

<i>Biotical Lactoferrin Card vs Human Lactoferrin ELISA kit</i>	VALOR MEDIO	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	90.00%	73.5% – 97.9%
ESPECIFICIDAD	78.3%	65.8% – 87.9%
VPP	67.5%	50.9% – 81.4%
VNP	94.0%	83.5% – 98.0%
PRECISIÓN	82.2%	72.7% – 89.4%

Especificidad para un valor de cut-off de 2.5 µg hLf/g: 100.0% (valor medio); 83.9-100.0% (95% intervalo de confianza).

Los resultados mostraron que biotical Lactoferrin Card presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar lactoferrina humana.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de biotical Lactoferrin Card; no se detectó reacción cruzada con otros patógenos gastrointestinales, otros organismos, sustancias y/o marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba dispar</i>	Lactoferrina bovina	<i>Shigella boydii</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
Calprotectina humana	<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> O26	Norovirus G1	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	Norovirus GII	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>C. difficile</i> antígeno GDH	<i>Giardia</i>	Rotavirus	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	Transferrina bovina
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	Hemoglobina bovina	<i>Salmonella paratyphi</i> A	Transferrina humana
<i>Clostridium perfringens</i>	Hemoglobina de cerdo	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Cryptosporidium</i>	Hemoglobina humana	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia





REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA /

1. Angriman I. et al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68.
2. Quail, M.A. et al. Fecal Lactoferrin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756-759.
3. Gaya D.R., et al. Faecal lactoferrin in the assessment of Crohn's disease activity. Q J Med 2005, Vol 98, May 2005, p. 435-441.
4. Langhorst, M.D. et al. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Fecal Lactoferrin, Lactoferrin and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. Am. J. Gastroenterol. 2008; Vol 103, p. 162-169.



Sierra de Guadarrama, 1. Ed. Dublín.
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

