

Quantitative determination of fecal occult blood IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

FOB-Turbilatex is a quantitative turbidimetric test for the measurement of human hemoglobin in human feces.

Latex particles coated with specific anti-human hemoglobin are agglutinated when mixed with samples containing hemoglobin or hemoglobin/haptoglobin complexes. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the hemoglobin contents of the patient sample that can be quantified by comparison from a calibrator of known hemoglobin concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

The presence of hemoglobin in stool is associated with lower intestinal tract like colon polyps, Crohn's disease, ulcerous colitis and colorectal cancer. An early diagnostic is the key for a successful therapy. FOB-Turbilatex allows detecting amounts of hemoglobin that are invisible to the naked eye. The test can be performed with an automatic analyzer using directly a stool sample collection tube. These features make this the ideal test for screening programs.

REAGENTS

Diluent (R1)	Buffered solution. Preservative
Latex (R2)	Latex particles coated with polyclonal antibody anti-human hemoglobin. Preservative.
FOB-CAL	Calibrator. Hemoglobin concentration is stated on the vial label.

PRECAUTIONS

Contains products of animal origin. Handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

Use FOB Calibrator Ref. 1107182. The value of the calibrator is traceable to Reference Material WHO International Standard Haemoglobinocyanide NIBSC (98/708). Recalibrate when control results are out of specified tolerances, when using different lot of reagent and when the instrument is adjusted.

PREPARATION

The reagents are ready to use. FOB Calibrator and controls: reconstitute (→) lyophilized products with 2 mL of purified water.

Calibration curve: Prepare the following FOB calibrator dilutions in NaCl 9 g/L. Multiply the concentration of the FOB calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the Hemoglobin concentration of each dilution:

Calibrator dilution	0	1/16	1/8	1/4	1/2	1
FOB Calibrator (µL)	--	25	50	100	200	400
NaCl 9 g/L (µL)	400	375	350	300	200	-
Factor	0	0,062	0,125	0,25	0,5	1,0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date. Do not freeze. Reagent deterioration: Presence of particles and turbidity.

Calibrator/controls stability: after reconstitution, 24h at 2-8°C or 1 month at -20°C.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- MINDRAY BS-120 / BS-200E autoanalyzer.
- Laboratory equipment.

SAMPLES

Use only Spinreact's sample collection tube, following the instructions included in the package. Store stool samples in collection tube during maximum 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Each laboratory should determine its own normal reference value. The sensitivity and specificity of the results with the cutoff of 100ng/mL was 76% and 95%, respectively.

QUALITY CONTROL

Control solutions are recommended to monitor the performance of assay procedures (Control 1 and Control 2). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

NOTES

The clinical diagnostic should not be based on a single test result; the complete medical history of the patient should be taken into consideration.

MINDRAY BS-120 / BS-200E APPLICATION

PARAMETERS

Test	FOB	R1	180
No.	**	R2	60
Full Name	FOB	Sample volume	8.5
Standard No.	6	R1 Blank	
Reac. Type	Fixed Time	Mixed Rgt Blank	
Pri. Wavelength	510 nm	Linearity Range	0 ng/mL 1100 ng/mL
Sec. Wavelength		Linearity Limit	*
Direction	Increase	Substrate Limit	*
Reac. Time	1 17	Factor	
Incuba. Time		Prozone check	*
Unit	ng/mL	q1	q2
Precision	0.01	q3	q4
		PC	Abs

CALIBRATION (Cal + Rgt BIK)

Rule	Spline
Sensitivity	1
Replicates	2
Interval (days)	0
Difference Limit	
SD	
Blank Response	
Error Limit	
Correlation Coefficient	

Blank parameter must be performed in order to get good results in CALIB screen from main menu. The blank calibration is stable until **30 days**. After this period the blank parameter must be performed again in order to validate the calibration.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Linearity limit:** Up to the maximum value of the calibrator (aprox. 1000 ng/mL), under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/5 in sample diluent (obtained from sample collection tube). The linearity limit depends on the sample/reagent ratio and the analyzer used.
- Detection limit:** Values less than 10 ng/mL give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 10000 ng/mL.
- Precision:** The reagent has been tested during 19 days on a Spintech240, using three different hemoglobin concentrations in a EP5 (CLSI)-based study.

	CV (%)	
	75 ng/mL	232 ng/mL
Total	5,2	5,0
Within Run	2,4	0,9
Between Run	3,4	2,2
Between Days	3,0	4,5

- Accuracy:** 108 fecal samples were tested, including 14 positives. All results were reported correctly, at the cutoff of 100 ng/mL. Results were compared against a validated immunocromatographic method.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

BIBLIOGRAPHY

1. Weizman AV. et al., Minerva Gastroenterol Dietol., 2010.
2. Burt RW et al., J. Natl. Compr. Canc. Netw., 2013
3. Kuipers EJ et al., Nat.Rev.Clin.Oncol., 2014.
4. Vilkin A et al., Am. J. Gastroent., 2005.

PACKAGING

Ref: MI1107180	R1: 2 x 15 mL
	R2: 1 x 10 mL
Cont.	FOB-CAL :1 x 2 mL
Ref: MI1107181	R1: 4 x 30 mL
	R2: 2 x 20 mL
	FOB-CAL :1 x 2 mL

Determinación cuantitativa de sangre oculta en heces IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

FOB-Turbilátex es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de hemoglobina humana en heces. Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-hemoglobina humana son aglutinadas por hemoglobina o complejos hemoglobina/haptoglobina, presentes en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de hemoglobina de la muestra, y por comparación con un calibrador de hemoglobina de concentración conocida se puede determinar el contenido de hemoglobina en la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La presencia de hemoglobina en heces está asociada a patologías del tracto intestinal inferior como pólipos de colon, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y cáncer de colon. El diagnóstico temprano es fundamental para un tratamiento efectivo. El FOB-turbilátex permite detectar cantidades invisibles de hemoglobina. El test puede realizarse con analizadores automáticos usando directamente un tubo de recolección de muestras de heces. Estas ventajas permiten su aplicación en programas de cribado o como test previo a pruebas como la colonoscopia.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Solución tamponada, conservante.
Látex (R2)	Partículas de látex recubiertas con anticuerpo policlonal anti-hemoglobina humana, conservante.
FOB-CAL	Calibrador. La concentración de hemoglobina viene indicada en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

Contiene productos de origen animal. Manipular con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

Usar el Calibrador FOB Ref. 1107182. El valor del Calibrador es trazable al WHO International Standard Haemoglobinocyanide NIBSC (98/708).

Recalibrar cuando los resultados del control están fuera de especificaciones, cuando se usa diferente lote de reactivo y cuando se ajusta el instrumento.

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso. Reconstituir (→) el calibrador y los controles con 2 mL de agua purificada.

Curva de calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador de FOB en NaCl 9 g/L. Para obtener las concentraciones de cada dilución de Hemoglobina, multiplicar la concentración del Calibrador de FOB por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	0	1/16	1/8	1/4	1/2	1
Calibrador FOB (µL)	--	25	50	100	200	400
NaCl 9 g/L (µL)	400	375	350	300	200	-
Factor	0	0,062	0,125	0,25	0,5	1,0

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada. No congelar el reactivo.

Indicadores de deterioro de los reactivos: presencia de partículas y turbidez.

Estabilidad de calibrador/controles: una vez reconstituidos, 24h a 2-8°C, 1 mes a -20°C.

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador MINDRAY BS-120 / BS-200E.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Para la recolección de muestras utilizar el Tubo de recolección de Muestras, siguiendo las instrucciones de la metódica incluida en el kit. Almacenar la muestra de heces en tubo colector a 2-8°C por un período máximo de 7 días desde su recolección.

VALORES DE REFERENCIA

Es recomendable que cada laboratorio establezca su propio valor normal de referencia. La sensibilidad y especificidad de los resultados con el valor discriminante de 100ng/mL fueron de 76% y 95%, respectivamente⁴.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras soluciones control valoradas (Control 1 y Control 2). Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos o la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

APLICACIÓN AL MINDRAY BS-120 / BS-200E

PARAMETROS

Nombre Abrev	FOB	R1	180
Numero	**	R2	60
Nombre	FOB	Volúmen muestra	8.5
Num standard	6	Blanco R1	
Modo	Tiempo Fijo	Blanco mezcla reactivo	
Long onda primaria	510 nm	Rango linealidad	0 ng/mL 1100 ng/mL
Long onda secund		Límite linealidad	*
Dirección	Aumentar	Límite sustrato	*
Tiempo reacción	1 17	Factor	
Tiempo incubación		Efecto prozona	*
Unidades	ng/mL	q1	q2
Precisión	0.01	q3	q4
		PC	Abs

CALIBRACIÓN (Cal + BI reactivo)

Tipo curva	Spline
Sensibilidad	1
Replicados	2
Intervalos (días)	0
Límite aceptación	
SD	
Respuesta del bl.	
Error Límite	
Coefficiente correlación	

Es necesario solicitar el blanco en este parámetro para obtener resultados correctos en la pantalla principal de CALIB. La Calibración junto al blanco de reactivo es estable hasta 30 días. Pasado este período es necesario solicitar de nuevo el blanco de reactivo para hacer validar la calibración

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Límite de linealidad:** hasta valor máximo de calibrador, aprox. 1000 ng/mL en las condiciones descriptas del ensayo. Muestras con concentraciones superiores deben diluirse 1/5 en diluyente de muestras (obtenido de los tubos de recolección de muestra). La linealidad puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado, así como de la relación muestra/reactivo.
- Límite de detección:** Valores por debajo de 10 ng/mL dan lugar a resultados poco reproducibles.
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 10.000 ng/mL.
- Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 19 días en Spintech240 con dos concentraciones diferentes de Hemoglobina en un estudio basado en las normas EP5 (CLSI).

	% CV	
	75 ng/mL	232 ng/mL
Total	5,2	5,0
Intra-series	2,4	0,9
Entre-series	3,4	2,2
Entre-días	3,0	4,5

5. Exactitud: Se analizaron 108 muestras fecales incluyendo 14 positivos. Todos los resultados fueron clasificados correctamente como positivo/negativo, respecto al cutoff de 100ug/mL. Los resultados fueron comparados con un método inmunocromatográfico validado.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Weizman AV. et al., Minerva Gastroenterol Dietol., 2010.
2. Burt RW et al., J. Natl. Compr. Canc. Netw., 2013
3. Kuipers EJ et al., Nat.Rev.Clin.Oncol., 2014.
4. Vilkin A et al., Am. J. Gastroent., 2005.

PRESENTACION

Ref: MI1107180	R1: 2 x 15 mL
	R2: 1 x 10 mL
	FOB-CAL: 1 x 2 mL
Cont.	
Ref: MI1107181	R1: 4 x 30 mL
	R2: 2 x 20 mL
	FOB-CAL :1 x 2 mL