

VITASSAY

FOB

-Turbidimetric Assay-

Test rápido de detección cuantitativa de hemoglobina humana en muestras de heces humanas.

IU-7115001 Ed08 Abril 2024



Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*, personal entrenado en técnicas turbidimétricas.

USO PREVISTO

Vitassay FOB –Turbidimetric Assay- es una prueba rápida turbidimétrica para la detección cuantitativa de hemoglobina humana en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad para la detección de hemoglobina humana en heces que sirve de ayuda en la búsqueda de problemas de sangrado gastrointestinal. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la cantidad de hemoglobina (hHb) en heces es el principal síntoma de enfermedades acompañadas de lesiones hemorrágicas en el tracto digestivo, particularmente en el tracto digestivo inferior. Por lo tanto, medir la cantidad de hemoglobina en heces es un método eficaz para la detección precoz y en el tratamiento de cáncer de colon y otras enfermedades del tracto digestivo inferior que van acompañadas de hemorragia.

PRINCIPIO

Vitassay FOB –Turbidimetric Assay- es una prueba turbidimétrica, cuantitativa para la detección de hemoglobina humana en muestras de heces humanas.

FOB Turbidimetric Assay, se basa en las reacciones de aglutinación antígeno-anticuerpo fijados a las partículas de látex de poliestireno. El aumento de la absorbancia (proporcional a la aglutinación producida) está relacionado con la cantidad de antígeno contenida en la muestra.

La utilización de dos controles externos Control 1 y Control 2, sirve para verificar el correcto funcionamiento de la prueba.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- Es necesario que el usuario esté entrenado en técnicas turbidimétricas y en el uso de autoanalizadores.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar la prueba si los envases primarios se encuentran dañados.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Evitar errores de contaminación, seguir procedimiento adecuado de trabajo.

- Los reactivos tras su utilización deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Vitassay FOB-Turbidimetric Assay-**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.
- Si el rango de medición excede, utilizar el diluyente de muestra para diluir la muestra y repetir el ensayo de nuevo.
- Leer y seguir las instrucciones de uso proporcionadas en el kit.
- Preparar y ajustar el analizador antes de empezar las medidas.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 8°C (35.6-46.4°F) para los reactivos y el diluyente de muestra puede conservarse refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/35.6-86°F) en su envase original.

El producto es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta siempre que se hayan conservado en las condiciones recomendadas.

No congelar y mantener alejado de la exposición solar.

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
<ul style="list-style-type: none">▪ ReactivoR1 (tampón potenciador)▪ Reactivo R2 (partículas de latex)▪ Calibrador 0▪ Calibrador 1▪ Calibrador 2▪ Calibrador 3▪ Calibrador 4▪ Calibrador 5▪ Control 1▪ Control 2▪ Viales universales con diluyente para dilución de muestra.▪ Instrucciones de uso.▪ Tapones adicionales.	<ul style="list-style-type: none">▪ Recipiente para recogida de muestras.▪ Guantes desechables y equipamiento de laboratorio.▪ Vortex.▪ Analizador automático.▪ Microcentrifuga (10000g)

RECOGIDA DE MUESTRAS

La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco y deben protegerse de la luz solar.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C / 35.6-46.4°F) como máximo 3 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 6 meses, debe congelarse a -20°C (-4°F). En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse. Homogeneizar la muestra lo máximo posible antes de su dilución en el vial.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Etiquetar el vial con la identificación del paciente.
2. Abrir el tapón del vial de toma de muestra (en sentido anti horario) sin retirar el separador azul y usar el palito de toma de muestra para recoger la cantidad suficiente (figura 1).
3. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas. Para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra y girar repetidamente para que la muestra sea homogénea y asegurándose de que todas las ranuras están llenas de muestra (figura 2).
4. Eliminar el exceso de heces girando la varilla en la pared interna del recipiente.
5. Insertar el palito con la muestra en el vial a través del separador azul. Mientras cierra el tapón en sentido horario, mantenga sujeto el separador azul para evitar que se abra.
6. Agitar cada dispositivo (30-60 segundos), en un vortex para asegurar una buena dispersión del contenido (figura 3). Proceda al paso 7 si las ranuras no contienen muestra, de lo contrario repetir la agitación hasta un máximo de 120 segundos y proceder al paso 7 sin importar si hay alguna muestra residual en las ranuras. La muestra diluida en el vial puede ser almacenada en el frigorífico (2-8°C) hasta 7 días antes de realizar el ensayo y debe de llevarse a temperatura ambiente antes de ser analizada.
7. Centrifugar el vial durante 10 minutos a 1000-3000 x g con el fin de eliminar los posibles residuos de muestra. Alternativamente, puede dejar reposar el vial en posición vertical durante un mínimo de 15 minutos.
8. Coger el vial con la muestra diluida, quitar el tapón blanco y el separador azul (en sentido horario). La muestra fecal está lista para ser analizada. Insertar el dispositivo abierto directamente en el analizador o transferir el sobrenadante a un dispositivo adaptado (no suministrado) (figura 4).

9. Cerrar el vial mediante el tapón de rosca adicionalmente suministrado (figura 4).

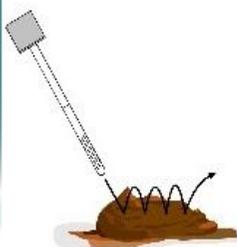
Nota: los viales de muestra no se deben usar directamente en el analizador.



Vial de dilución de muestra.



Sacar el palito girando la rosca del tapón (sentido antihorario).



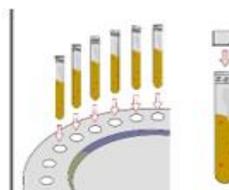
Toma de muestra en 4 zonas distintas.



Agitar en un vortex el vial de dilución de la muestra con diluyente+muestra. Centrifugar



Retirar el tapón blanco y el separador azul, girando en sentido horario.



Introducir los viales en el analizador. Después del análisis, cerrar el vial con el tapón adicional.

PROCEDIMIENTO

Reactivo R1 y Reactivo R2 están listos para usar.

Curva de calibración

Para la calibración utilizar únicamente FOB Calibrator: Cal0, Cal1, Cal2, Cal3, Cal4 y Cal5. Contienen hemoglobina humana a distintas concentraciones indicada en la etiqueta de cada uno de los viales.

	Referencia	Calibrador 1	Calibrador 2	Calibrador 3	Calibrador 4	Calibrador 5
Conc.	0 ng/mL	50 ng/mL	100 ng/mL	250 ng/mL	500 ng/mL	1000 ng/mL
Vol.	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL

Estos reactivos están listos para usar. La frecuencia en la realización de la recta de calibración la debe establecer el usuario final en función de los criterios establecidos por el laboratorio clínico.

Nota: ver apartado control de calidad.

Procedimiento analítico

Rango de medida: 10 – 1000 ng hHb/mL.

Procedimiento	Pasos	
Adición R1	200 µL	0 s
Adición Muestra	20 µL	10 s
Adición R2	55 µL	300 s
Medida de blanco	505 nm – 800 nm	310 s
Medida principal	505 nm – 800 nm	610 s

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki)

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados positivos: Superiores o iguales a valor límite fijado por fijado por el laboratorio clínico.

Valores de cut-off recomendados: 5 µg de hHb/g de heces (50 ng/mL) para procedimientos de diagnóstico y 20 µg de hHb/g de heces (200 ng/mL) para procedimientos de cribado/detección

Resultados positivos determinan la presencia anormal de hemoglobina humana (hHb) en la muestra de heces.

Valor de Cut-off Vitassay FOB Turbidimetric Assay:

Valores de concentración de hemoglobina menores a 50 ng hHb/mL de heces son considerados normales y no son indicativos de sangrado en tracto gastrointestinal.

Valores de concentración de hemoglobina entre 50 y 200 ng hHb/mL de heces no son considerados normales y son indicativos de un ligero sangrado en el tracto gastrointestinal, por lo que es necesario la monitorización y el seguimiento del paciente.

Valores de concentración de hemoglobina mayores a 200 ng hHb/mL de heces son considerados indicativos de un fuerte sangrado en el tracto gastrointestinal.

Valor de cut-off para **Vitassay FOB-Turbidimetric Assay**:- 50-200 ng hHb/mL (:10 factor de dilución, 5-20 µg hHB/g de muestra.

CONTROL DE CALIDAD

FOB C1 & C2 Controls están listos para usar.

FOB Control 1: es un control líquido a una determinada concentración de hemoglobina humana (menor que Control 2). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

FOB Control 2: es un control líquido a una determinada concentración de hemoglobina humana (mayor que Control 1). Dicha concentración es indicada en la etiqueta del reactivo.

El uso de controles a dos concentraciones distintas se recomienda para verificar la precisión del test.

Si los resultados obtenidos están fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el procedimiento, equipo, los reactivos y/o repetir la prueba. Si el problema persiste, dejar de utilizar los reactivos y contactar con su distribuidor.

NOTA: El rango de valores de los controles del kit se encuentra indicado en las etiquetas de los tubos correspondientes, tanto para el Control 1 como para el Control 2. Para más información, solicite y consulte el certificado de análisis (no incluido).

LIMITACIONES

- **Vitassay FOB-Turbidimetric Assay** debería usarse únicamente para la detección de hemoglobina humana en muestras de heces humanas.
- La calidad de la prueba **Vitassay FOB-Turbidimetric Assay** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestra.
- Los resultados positivos determinan la presencia de niveles anormales de hemoglobina humana en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas (como hemorroides, sangre en orina o irritaciones estomacales). Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para determinar la causa exacta y el origen de la sangre en heces.
- Si el resultado del ensayo es negativo y los síntomas clínicos o situación continúan, se recomienda realizar otro método de detección. Un resultado negativo no excluyen las hemorragias

causadas por algunos pólipos ni el cáncer colorrectal, ya que pueden provocar hemorragias de forma intermitente o no provocarlas durante alguna fase de la enfermedad. Además, la sangre podría no haberse distribuido de manera uniforme en la muestra de heces.

- No se deben obtener muestras de pacientes durante su periodo menstrual, si presentan hemorroides sangrantes, sangre en orina o estreñimiento.
- Este test puede ser menos sensible para la detección de sangrado gastrointestinal superior.
- Este test no ha sido validado en pacientes con hemoglobinopatías.
- Todos los resultados deben ser interpretados junto con el resto de información clínica y otros resultados obtenidos en el laboratorio por un médico especialista.

VALORES ESPERADOS

El valor de corte comúnmente establecido es de 5.1 µg de hemoglobina por g de heces. Sin embargo, no en todos los estudios se establece este valor. Los programas CRC españoles establecen un valor de 20 µg/g para estudiar la conveniencia de realizar colonoscopias. Por tanto, son interesantes aquellos test que sean capaces de cuantificar en el rango entre 5.1 y 20 µg/g de heces. Cabe destacar que la conversión entre µg/g a ng/mL es dependiente del proceso de toma de muestra de cada producto, en este caso se debe multiplicar por un factor de 10.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica:

Límite de detección: 8 ng hHb/mL.

Prozona:

Concentraciones inferiores a 1 mg de hHb/mL no muestran efecto prozona y no se observan resultados falsos negativos.

Precisión intra-análisis:

	Baja (20 ng/mL)	Media (80 ng/mL)	Alta (250 ng/mL)
N	20	20	20
Media (ng/mL)	21.2	82.7	255.9
DS (ng/mL)	1.3	4.9	9.1
CV (%)	6.1	5.9	3.5

*Datos obtenidos mediante el analizador Biolis i24 (Tokio Boeki

Reacciones cruzadas:

No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces:

Calprotectina humana	Ninguna	Hemoglobina bovina	Concentraciones inferiores a 0.2 µg/mL
Lactoferrina humana	Ninguna	Hemoglobina de cerdo	Concentraciones inferiores a 0.9 µg/mL
Transferrina humana	Ninguna	Transferrina bovina	Concentraciones inferiores a 250 µg/mL

BIBLIOGRAFÍA

1. Vilkin A, Rozen P, Levi Z, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, Niv Y. Performance characteristics and evaluation of an automated-developed and quantitative, immunochemical, fecal occult blood screening test. Am. J. Gastroent. 2005 Nov; 100(11):2519-25.
2. Burt RW. Colon cancer screening continues as pivotal to cancer prevention. J Natl Compr Canc Netw. 2013 Dec 1;11(12):1457-8.
3. Fenocchi E, Martínez L, Tolve J, Montano D, Rondán M, Parra-Blanco A, Eishi Y. Screening for colorectal cancer in Uruguay with an immunochemical faecal occult blood test. Eur J Cancer Prev. 2006 Oct;15(5):384-90.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
	Número de lote		Contiene <n> test
	Diluyente de muestra		Número de referencia
	Manténgase fuera de la luz del sol		

EQUIPOS ADAPTADOS

- A15 (Biosystems)
- Alinity (Abbot)
- Architect 4000/8000 (Abbott)

- AU680 (Beckman Coulter)
- Biolis 24i/Biolis 50i (Tokio Boeki)
- BS200E (Mindray)
- CA800 (Furano)
- ChemwellT (Awareness)
- Cobas c501 (Roche)
- Cobas c111 (Roche)
- Respons 910 (DiaSys)
- Vitros 5600 (Ortho)
- TC220 (Tecom)
- XL-180 & XL-200 (Erba)

