

VITASSAY

Transferrin -Turbidimetric Assay-

Test rápido de detección cuantitativa de Transferrina en muestras de heces humanas.

IU-7115004 Ed04 Abril 2024



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

USO PREVISTO

Vitassay Transferrin-Turbidimetric Assay- es una prueba rápida turbidimétrica para la detección cuantitativa de transferrina en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una infección por transferrina. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador.

INTRODUCCIÓN

Transferrina (Tf) es una proteína transportadora de hierro (peso molecular= 76.500 Da) que se sintetiza principalmente en el hígado y está presente en una concentración de 2.0-3.0 g/L en suero. La concentración en sangre de transferrina es 1%-2% que de Hemoglobina (Hb), siendo la transferrina altamente estable y considerándose como un indicador más sensible de sangrado que la Hb, incluso cuando el tiempo de retención intestinal de las heces es largo.

PRINCIPIO

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

Transferrin 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
- 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 Transferrin -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">▪ Reactivo R1 (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: 1-2 g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

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).

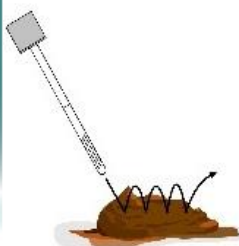
Nota: los viales de muestra no se deben usar directamente en el analizador.



Vial de dilución de muestra.



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



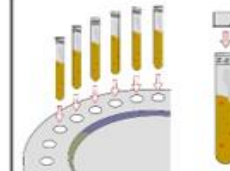
Toma de muestra en 4 zonas distintas.



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

Los reactivos y las heces deben alcanzar la temperatura ambiente (15-30°C) antes de probarse. Reactivo R1 y Reactivo R2 están listos para usar.

Curva de calibración

Para la calibración utilizar únicamente Transferrin Calibrador: Cal0, Cal1, Cal2, Cal3, Cal4 y Cal5. Contienen antígeno de transferrina 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	10 ng/mL	25 ng/mL	50 ng/mL	100 ng/mL	250 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: 5 – 250 ng HTf/mL.

Procedimiento	Pasos	
Adición R1	200 µL	0 s
Adición Muestra	30 µL	10 s
Adición R2	55 µL	300 s
Medida de blanco	450 nm – 800 nm	310 s
Medida principal	450 nm – 800 nm	610 s

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

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados positivos: concentraciones mayores o iguales al valor de cut off fijado por el laboratorio clínico.

Resultado recomendado: 10 ng de transferrina/mL (1 µg de transferrina/g de heces) para protocolos de diagnóstico clínico.

Los resultados positivos determina la presencia anormal de transferrina en muestras de heces humanas.

El valor de cut off:

Valores de concentración de transferrina menores a 10 ng hTf/mL son considerados normales y no son indicativos de sangrado del tracto gastrointestinal.

Valores de concentración de transferrina iguales o superiores a 10 ng hTf/mL son consideradas como anormales siendo indicativos de sangrado del tracto gastrointestinal.

CONTROL DE CALIDAD

Transferrin C1 & C2 Controls están listos para usar.

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

Transferrin Control 2: es un control líquido a una determinada concentración de transferrina (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 Transferrin -Turbidimetric Assay** debería usarse únicamente para la detección de transferrina en muestras de heces humanas.
- La calidad de la prueba **Vitassay Transferrin -Turbidimetric Assay** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestra.
- Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas invasivas (endoscopia) para confirmar los resultados.
- Resultados negativos no excluyen las hemorragias causadas por pólipos o cancer colorrectal ya que pueden aparecer de forma intermitente. Además de que la muestra es heterogénea en cuanto a la distribución de la sangre en la misma.
- Las muestras de paciente durante su periodo menstrual, con hemorroides sangrantes, sangre en orina o estreñimiento no serán válidos.

VALORES ESPERADOS

La incidencia del cáncer colorrectal (CRC) ha incrementado rápidamente y sigue siendo una amenaza a la salud pública en todo el mundo. Es el tercer cáncer más común globalmente, causando aproximadamente 1.4 millones de nuevos casos y 700.000 muertes al año. Existe amplia evidencia para apoyar que la detección temprana reduce la mortalidad del cáncer colorrectal.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica:

Límite de detección: 5 ng hTf/mL.

Prozonia:

Concentraciones inferiores a 10 µg hTf/mL no muestran efecto prozonia y no se observan resultados falsos negativos.

Within-Run Precision:

	Baja (15 ng/mL)	Media (80 ng/mL)	Alta (200 ng/mL)
N	20	20	20
Media (ng/mL)	16.1	80.6	197.2
DS (ng/mL)	1.2	3.6	10.3
CV (%)	7.4	4.7	5.2

*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:

Hemoglobina humana	Calprotectina humana
Hemoglobina bovina	Lactoferrina humana
Hemoglobina de cerdo	Transferrina bovina

BIBLIOGRAFÍA

1. Takashima Y., Shimada T. and Yokozawa T. Clinical benefit of measuring both haemoglobin and transferrin concentrations in faeces: demonstration during a large-scale colorectal cancer screening trial in Japan. *Diagnosis* 2015; 2(1): 53-59.
2. Jin P., Wu Z., Meng M., Wang X., Wang X., Gong L., Yu D., Xie H., Li A., Li S., Yen L., Rao J. and Sheng J. *Journal of Cancer Science & Therapy* 2012, 4.8. DOI: 10.4172/1948-5956.1000149.

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

- Biolis 24i/Biolis 50i (Tokio Boeki)
- BS200E (Mindray)
- ChemwellT (Awareness)
- TC220 (Tecom)



