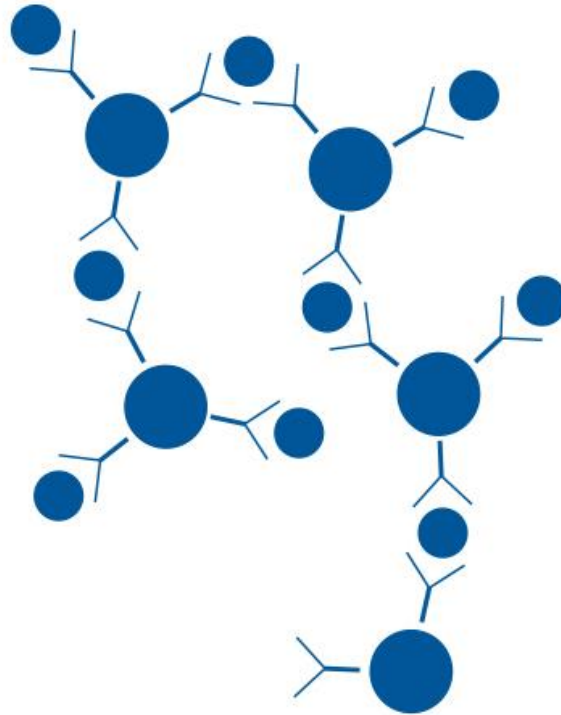


CerTest
BIOTEC

CerTest Turbilatex



TRANSFERRIN TURBILATEX® Combo

Transferrin latex turbidimetric assay

Cat.TL-022TF100ED, TL-022TF200ED

IU-TL -022TF100ED-200ED en-es v.0220

ENGLISH

INTENDED USE

Transferrin Turbilatex® is a latex turbidimetric assay **for the quantitative detection of transferrin in human stool samples.**

This assay is simple and widely applicable. This product is optimized for several automated analyser.

For professional *in vitro* diagnostic use only.

SYNTHESIS

Transferrin is a blood-derived component that may be leaked into gastrointestinal tract and then discharged with the faeces in gastrointestinal bleeding diseases. Transferrin is stable in faeces and a good marker to detect loss of blood from the upper and lower intestine (gastrointestinal bleeding).

When gastrointestinal blood is lost, the stool will contain a combination of intact or nearly intact haemoglobin, intact heme and heme-derived porphyrins in amounts that depend on the site, the amount of bleeding and the transit time through the gut.

PRINCIPLE

Transferrin Turbilatex® is a latex turbidimetric assay **for the quantitative detection of transferrin in human stool samples.** This assay is simple, widely applicable and test results are obtained in a very short time.

The intended use of the test is the detection of specific transferrin antigen at very low concentrations.

Transferrin latex turbidimetric assay is based on agglutination reactions. These involve *in vitro* aggregation of microscopic latex particles. This aggregation consists in the specific reaction between antigen and antibodies, antigen contained in the sample and the antibodies anti-antigen coated on polystyrene latex particles. The sample is mixed with a suspension containing antibodies against the antigen bound to latex particles. If antigen is present in the sample, it will react with the antibodies and form an aggregate. If no antigen is present in the sample the mixture will keep its appearance as a smooth suspension. Such turbidity is measured as an increase in absorbance at determinate wavelength and is proportional to the quantity of antigen contained in the sample.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- A trained person in Turbidimetric technique and autoanalyzer use is required.
- The analyser should be ready before performing any assay.
- Read and follow the instructions for use provided with the kit.
- If the result exceeds the measurement range, use the sample diluent to dilute the sample and repeat the assay again.
- Do not use after expiration date.
- Do not use the reagents if pack is damaged or opened.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.

STORAGE AND STABILITY

Kit components must be stored at refrigerated temperature (2-8°C). Do not freeze.

Reagents are stable up to the expiration date printed on the label, always considering that reagent containers must be properly closed to avoid any contamination, kept away from the sunlight and conserved at 2-8°C.

REAGENTS

Materials provided

References	Cat.: TL-022TF100ED	Cat.: TL-022TF200ED
- TL-022TF01 Transferrin Turbilatex® Reagent 1	1x22mL	2 x 22mL
- TL-022TF02 Transferrin Turbilatex® Reagent 2	1 x 8mL	1 x 13mL
- TL-022TF70/ TL-022TF71/ TL-022TF72- TL-022TF73/ TL-022TF74/ TL-022TF75 Transferrin Turbilatex® Calibrators	6 x 1mL	

<u>References</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022TF100ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022TF200ED</u>
- TL-022TF08/ TL-022TF09 Transferrin Turbilatex® Control 1&2	4 x 1mL	

Materials and instruments that could be required but no provided

- Specimen collection container.
- TL-022UN03E Universal Turbilatex® Sample Diluent (Required for the Procedure A).
- TL-0221213E Microtubes.
- Disposable gloves and laboratory equipment.
- Automated analyser.
- MST-0018MU Universal Turbilatex® Sample Collection Vial (Required for the Procedure B).
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial (Required for the Procedure B).

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect enough quantity of human solid stool samples. These samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 3 days prior to testing. If not immediately tested, freeze the stored samples at -20 °C maximum 6 months. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature (15-30°C) before testing. Homogenize stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

To process the collected stool samples:

Procedure A: using catalogue reference TL-022UN03E

Use a microtube for each sample to be tested. Label microtube with name or number of patient.

1. Homogenize the sample. Add 20 mg of sample into microtube.
2. Add 2mL of sample diluent (TL-022UN03E).
3. Shake vigorously the microtube in order to assure good sample dispersion (vortex) until sample is completely dissolved.
4. Centrifuge for 15 minutes at 10000 g or 10 minutes at 15000 g.

- Take the supernatant to automated analyser vial. Diluted sample can be stored for 7 days in the refrigerator (2-8 °C).

Procedure B: using catalogue reference MST-0018MU/MST-0019U.

Follow the indication of the instruction for use of the product.

ANALYTICAL PROCEDURE

R1 and R2 are ready to use.

Preparation of the calibration curve

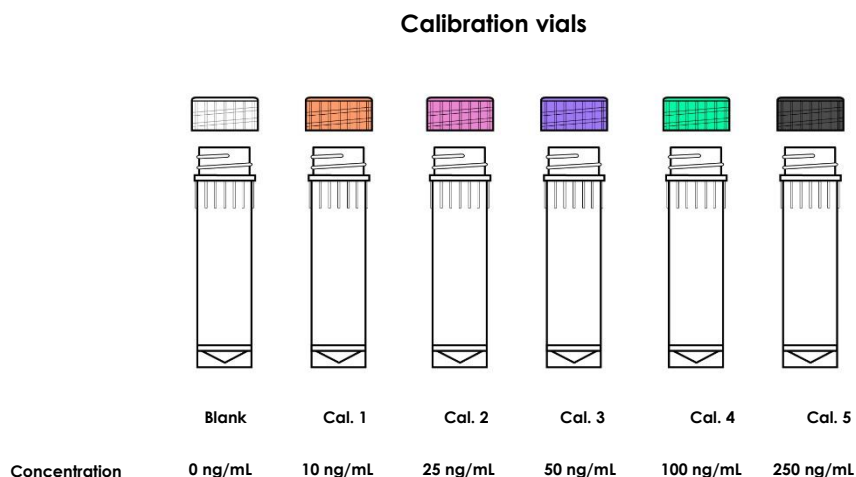
For calibration use only the following materials:

TL-022TF70, TL-022TF71, TL-022TF72, TL-022TF73, TL-022TF74 and TL-022TF75, Transferrin Turbilatex® Calibrator vials: liquid calibrator containing recombinant transferrin antigen at different concentrations.

Concentration is indicated on the label of each vial.

Calibrate the system at least once a month is extremely recommended. Recalibrate the system when reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range given on the control label or certificate of analysis provided with the kit.

Transferrin Turbilatex® Calibrator vials (calibrator 0 to 5) are ready to use.



Picture 1. Prepared calibrators for performing the calibration curve (5 points and blank)

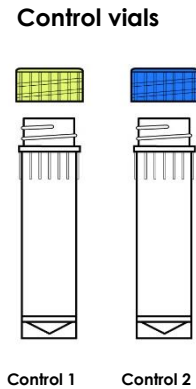
Quality control

For quality control only use the following materials:

TL-022TF08 Transferrin Turbilatex® Control 1 and TL-022TF09 Transferrin Turbilatex® Control 2: liquid controls at two different concentrations of recombinant transferrin antigen. Concentration is indicated on the label of the vial. The use of control materials at two different concentrations is recommended in order to verify test precision.

Controls should be assayed every day before running patient faecal samples extract to validate the calibration curve.

If the obtained results are out of the tolerance range, the equipment, the reagents or the technique must be reviewed. Transferrin Turbilatex® Control vials (Control 1 and Control 2) are ready to use.



Picture 2. Prepared controls C1 and C2 (check control concentration on the label)

Analytical procedure, see annex information.

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive results: higher or equal than the cut-off fixed by the clinical lab.

Recommended: 10 ng of transferrin/mL (1 µg of transferrin/g of stool) for diagnostic procedures.

Positive results determine the abnormal presence of transferrin in stool samples.

Transferrin Turbilatex® cut-off value:

Transferrin concentration values lower than 10 ng of hTf/mL are considered normal values and that is not indicative of bleeding in the gastrointestinal tract.

Transferrin concentration values equal or higher than 10 ng hTf/mL are considered abnormal values and that is indicative of bleeding in the gastrointestinal tract.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Limit of Detection (LOD): **see annex information.**

Prozone

Studies have been made up to a concentration of 10 µg of transferrin/mL of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation was performed comparing a turbidimetric assay (Transferrin Turbilatex[®], CerTest) and an immunochromatographic test (CerTest Transferrin, CerTest). The results were as follows:

	Sensitivity	Specificity
Transferrin Turbilatex [®] vs CerTest Transferrin	95%	>99%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect transferrin using Transferrin Turbilatex[®].

Interferences

An evaluation was performed to determine the interferences of Transferrin Turbilatex[®]. No interferences were founded against other substances tested: BSA, Hemin, Ascorbic acid.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity; no cross reactivity was founded against other faecal markers occasionally present in faeces, such as:

bovine and pig haemoglobin, bovine transferrin, human haemoglobin, calprotectin and lactoferrin.

LIMITATIONS

1. Transferrin Turbilatex[®] should **only be used in human stool samples**. The use of other samples has not been established. Proper faecal specimens must be obtained.
2. Positive results determine the presence of transferrin in faecal samples. A positive result should be followed up with additional invasive procedures to determine the exact cause and source of the blood in the stool.
3. If symptoms or situation still persist, transferrin determination should be carried out invasive techniques. Negative results do not exclude bleeding, as some polyps and colorectal cancers may bleed intermittently or not during certain stages of the disease. Moreover, blood may not be uniformly distributed in stool samples.

4. Patients should not collect samples during their menstrual period, if they have bleeding haemorrhoids, blood in urine or if they have strained during bowel movement.

EXPECTED VALUES

Colorectal cancer affects both men and women of all racial and ethnic groups, being most often found in people aged 50 years or older. Regarding men, colorectal cancer is the third most common cancer after prostate and lung cancers. Regarding women, colorectal cancer is the third most common cancer after breast and lung cancers.

USO PREVISTO

Transferrin Turbilatex® es una prueba turbidimétrica **para la detección cuantitativa de transferrina en muestras fecales humanas.**

Es una prueba sencilla de realizar y con múltiples aplicaciones. Este producto ha sido optimizado para utilizar con cualquier auto analizador.

Sólo para uso profesional diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La transferrina es un componente derivado de la sangre que puede llegar al tracto gastrointestinal y eliminarse mediante las heces, provocado por algunas enfermedades gastrointestinales con pérdida de sangre. La transferrina es estable en las heces y es un buen marcador para detectar pérdidas de sangre en la zona alta y baja del intestino (en sangrado gastrointestinal).

Cuando se elimina sangre gastrointestinal, las heces contienen una mezcla de hemoglobina no degradada o poco degradada, grupos hemo y porfirina hemo-derivada en cantidades que dependen del lugar, de la cantidad de sangrado y del tiempo de tránsito a través del intestino.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

Transferrin Turbilatex es una prueba turbidimétrica para **la detección cuantitativa de transferrina en muestras fecales humanas.** Esta prueba sencilla de realizar, con múltiples aplicaciones y los resultados se obtienen en un corto espacio de tiempo.

El uso previsto es la detección y cuantificación de transferrina a muy bajas concentraciones.

La prueba de látex turbidimétrico para la detección de transferrina se basa en unas reacciones de aglutinación. Estas reacciones implican una agregación *in vitro* de partículas de látex microscópicas. Esta agregación consiste en la reacción específica entre antígeno y anticuerpos, el antígeno presente en la muestra y los anticuerpos anti-antígeno unidos a las partículas de látex de poliestireno. La muestra debe ser mezclada con una suspensión que contiene anticuerpos frente al antígeno unido a las partículas de látex. Si el antígeno está presente en la muestra, reaccionará con los anticuerpos y se formará un agregado. Si no hay antígeno presente en la muestra, la mezcla mantendrá una apariencia de suspensión sin agregación. Esta turbidez se mide como

un incremento en la absorbancia a una determinada longitud de onda y será proporcional a la cantidad de antígeno que contenga la muestra.

PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional *in vitro*.
- Es necesario que el usuario esté entrenado en técnicas turbidimétricas y en el uso de autoanalizadores
- El analizador debe estar listo antes del ensayo.
- Leer y seguir las instrucciones de uso proporcionadas en el kit.
- Si los resultados exceden el rango de medida, use el diluyente de muestra para diluir la muestra y repita el ensayo de nuevo.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No usar los reactivos si el envase estuviera dañado o abierto.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, beber o fumar en la zona de trabajo
- Las muestras deben considerarse como potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que los agentes infecciosos.
- Las mezclas preparadas una vez añadida la muestra deben ser gestionados como residuos sanitarios según reglamentaciones locales.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los componentes del kit deben ser almacenados y refrigerados (2-8°C). No congelar.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase, siempre que los frascos estén bien cerrados para evitar su contaminación, protegidos de la luz y se conserven a 2-8°C.

REACTIVOS

Materiales suministrados

<u>Referencias</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022TF100ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022TF200ED</u>
- TL-022TF01 Transferrin Turbilatex® Reagent 1	1x22mL	2 x 22mL
- TL-022TF02 Transferrin Turbilatex® Reagent 2	1 x 8mL	1 x 13mL
- TL-022TF70/ TL-022TF71/ TL-022TF72- TL-022TF73/ TL-022TF74/ TL-022TF75 Transferrin Turbilatex® Calibrators		6 x 1mL
- TL-022TF08/ TL-022TF09 Transferrin Turbilatex® Control 1&2		4 x 1mL

Materiales y equipos que podrían ser necesarios pero no suministrados

- Recipiente para la recogida de muestra.
- TL-022UN03E Universal Turbilatex® Sample Diluent (requerido para el procedimiento A).
- TL-0221213E Microtubos.
- Guantes desechables y equipos de laboratorio.
- Analizador automático.
- MST-0018MU Universal Turbilatex® Sample Collection Vial (requerido para el procedimiento B).
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial (requerido para el procedimiento B).

TOMA DE MUESTRAS Y SU PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestras de heces sólidas de origen humano. Estas muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y seco (sin conservantes ni medios de transporte). Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 3 días hasta el momento de utilizarlas. Si no se prueba en el momento, congelar las muestras a -20°C como máximo 6 meses. En este caso la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente (15-30°C) para poder utilizarse en la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Para procesar la muestra de heces:

Procedimiento A: utilizando la referencia TL-022UN03E

Usar un microtubo para cada muestra que vaya a evaluarse. Se debe identificar el microtubo con el nombre o número del paciente.

1. Homogeneizar la muestra. Añadir 20 mg de muestra en el microtubo.
2. Añadir 2 mL de diluyente de muestra (TL-022UN03E).
3. Agitar de forma vigorosa el microtubo para asegurar una buena dispersión de la muestra (vortex) hasta que la muestra se disuelva completamente.
4. Centrifugar durante 15 minutos a 10000 g ó 10 minutos a 15000 g.
5. Añadir el sobrenadante al vial del analizador automático. La muestra diluida puede almacenarse hasta 7 días refrigerada (2-8°C).

Procedimiento B: utilizando la referencia MST-0018MU/MST-0019U

Seguir las instrucciones de uso del producto.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

R1 y R2 están listos para usar.

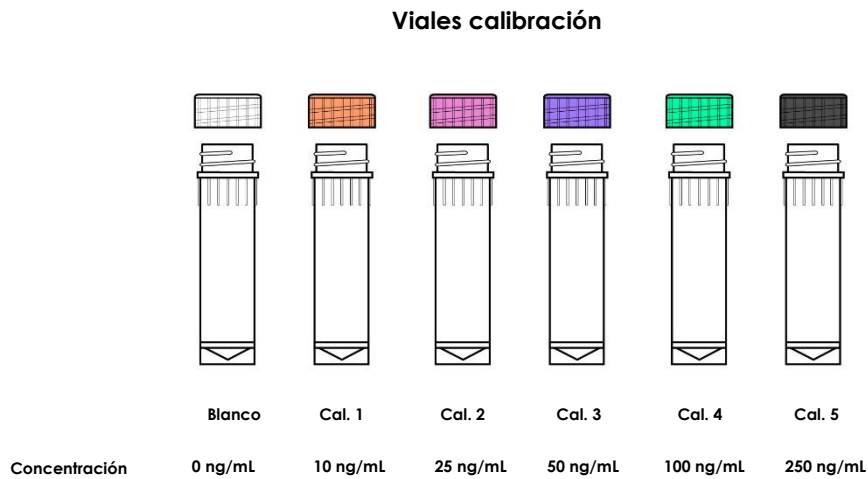
Preparación de la curva de calibración.

Para la calibración únicamente utilizar los siguientes materiales:
TL-022TF70, TL-022TF71, TL-022TF72, TL-022TF73, TL-022TF74 y TL-022TF75, Transferrin Turbilatex® Calibrator vials: calibrador líquido que contiene antígeno recombinante de transferrina a distintas concentraciones.

La concentración está indicada en la etiqueta de cada vial.

Calibrar el sistema al menos una vez al mes es altamente recomendado. Recalibrar el sistema cuando los lotes de reactivos hayan cambiado o cuando los controles estén fuera del rango indicado en las etiquetas de los controles o en el certificado de análisis suministrado con el kit.

Los viales de calibrador líquido de Transferrin Turbilatex® (calibrador 0 al 5) están listos para su uso.



Dibujo 1. Calibradores preparados para realizar una curva de calibración (5 puntos y el blanco)

Control de calidad

Para el control de calidad únicamente utilizar los siguientes materiales:

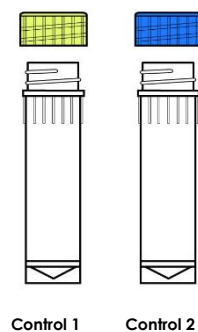
TL-022TF08 Transferrin Turbilatex® Control 1 y TL-022TF09 Transferrin Turbilatex® Control 2: controles líquidos a dos concentraciones distintas de antígeno recombinante de transferrina. La concentración se indica en la etiqueta del vial. Se recomienda el uso de materiales de control en dos puntos diferentes de análisis para verificar la precisión del test.

Los controles deben ser probados cada día antes de analizar las muestras fecales de pacientes para validar la curva de calibración.

Si los valores obtenidos están fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el equipo, los reactivos o la técnica

Los viales de control líquido de Transferrin Turbilatex® (Control 1 y Control 2) están listos para su uso.

Viales control



Dibujo 2. Controles preparados C1 and C2 (comprobar la concentración en la etiqueta)

Procedimiento analítico, ver información del anexo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

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

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

Resultados positivos revelan la presencia anormal de transferrina en muestras de heces humanas.

El valor de referencia de Transferrin Turbilatex®:

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.

CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

Sensibilidad analítica

Límite de detección (LDD): **ver información del anexo.**

Prozona

Se han realizado estudios hasta una concentración de 10 µg de transferrina/mL de heces y no se han observado falsos negativos. No se han realizado estudios con concentraciones de transferrina mayores.

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación clínica con dos técnicas distintas, test turbidimetría (Transferrin Turbilatex®, CerTest) y un test inmunocromatográfico (CerTest Transferrin CerTest). Los resultados se muestran a continuación:

	Sensibilidad	Especificidad
Transferrin Turbilatex® vs CerTest Transferrin	95%	>99%

Los resultados mostraron que Transferrin Turbilatex® presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar transferrina.

Interferencias

Se realizó una evaluación para determinar posibles interferencias de Transferrin Turbilatex®. No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias probadas: BSA, Hemin, ácido ascórbico.

Reactividad cruzada

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de Transferrin Turbilatex®; no se detectó reacción cruzada con otros marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces: hemoglobina bovina y de cerdo, transferrina bovina, hemoglobina, calprotectina y lactoferrina humana.

LIMITACIONES

1. Transferrin Turbilatex® se debería usar **únicamente para muestras de heces de origen humano**. El uso de otras muestras no ha sido establecido. Se debe de utilizar con muestras fecales extraídas debidamente.
2. Los resultados positivos deberán ser contrastados con otras técnicas invasivas diagnósticas para determinar la fuente y la causa de la presencia de transferrina en la muestra de heces.
3. Los resultados negativos no excluyen las hemorragias causadas por pólipos o cáncer colorrectal ya que pueden aparecer de forma intermitente. Además, la muestra puede no ser homogénea en cuanto a la distribución de la sangre en la misma.
4. Las muestras de pacientes durante su ciclo menstrual, con hemorroides sangrantes, sangre en orina o estreñimiento no serán válidas.











VALORES ESPERADOS

El cáncer colorrectal afecta tanto a hombres como a mujeres pertenecientes a todos los grupos raciales, aunque con mayor incidencia en personas a partir de los 50 años y en ancianos. En hombres, el cáncer colorrectal es el tercero más común después del cáncer de próstata y de pulmón. En mujeres, es también el tercer cáncer más común después del cáncer de mama y pulmón.

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. Chen JG, Cai J, Wu HL, Xu H, Zhang YX, Chen C, Wang Q, Xu J, Yuan XL. Colorectal cancer screening: Comparison of transferrin and immune fecal occult blood test". World Journal of Gastroenterology. 2012;17 (21): 2682-2688.
2. Jin P, Wu Zt, Meng Mn, Wang X, Wang Xwm Gong Lj, Yu Dl, Xie H, Li Aq, Li Sr, Yen L, Rao J, Sheng Jq. "Combined Fecal Transferrin Test and Immuno Fecal Occult Blood Test for Detecting Colorectal Cancer and Advanced Adenoma in Asymptomatic and Symptomatic Populations". Journal of Cancer Science & Therapy 2012; 4,8.
3. Takashima Y, Shimada T, 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 (Berl).2015. Feb 1; 2(1): 53-59.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT	Batch code Número de lote	
 i	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	 REF	Catalogue number Número de referencia
	Keep out of the sunlight Manténgase fuera de la luz del sol						

**ANNEX COMPATIBILITY OF THE MOST COMMON TURBIDIMETRY EQUIPMENT/
ANEXO DE COMPATIBILIDAD CON LOS EQUIPOS MÁS COMUNES DE TURBIDIMETRÍA**

<u>MODEL/MODELO</u>	<u>MANUFACTURER/FABRICANTE</u>
Alinity c-series	Abbott
Architect c1000/c4000/c8000/c16000	Abbott
BS200E	Mindray
Chemwell-T	Awareness
TC220	Tecom
Biolis 24i/Biolis 50i	Tokyo Boeki

The application notes for use our turbidimetric products with the different equipments could be consulted in our website: www.certest.es

Note/Nota: Turbilatex® registered brand name/ Turbilatex® marca registrada
Nº: CTM-010179299; community (OAMI)/ Nº: CTM-010179299; comunitaria (OAMI)
Nº: 4,650,387 ; EEUU (UPSTO)





CerTest Turbilatex

CerTest
BIOTEC

One step ahead

CerTest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

Tel. (+34) 976 520 354

Fax (+34) 976 106 268

certest@certest.es | turbilatex@certest.es

www.certest.es

