



# FOB TURBILATEX<sup>®</sup> Combo

## FOB latex turbidimetric assay

Cat. TL-022FB100ED, TL-022FB200ED, TL-022FB400ED, TL-022FB800ED

IU-TL - 022FB100ED-200ED-400ED-800ED en-es v.05

## CONTENT/CONTENIDO

<b>ENGLISH</b> .....	<b>3</b>
Intended purpose .....	3
Synthesis .....	3
Principle .....	3
Precautions.....	4
Storage and stability .....	5
Reagents .....	5
Materials provided.....	5
Materials and instruments that could be required but no provided.....	5
Specimen collection and preparation.....	6
Analytical procedure.....	6
Quality control .....	7
Interpretation of results .....	7
Performance characteristics.....	7
Analytical sensitivity .....	7
Measuring range .....	8
Prozone .....	8
Clinical sensitivity and specificity.....	8
Interferences .....	9
Cross reactivity.....	10
Precision .....	10
Linearity .....	11
Limitations .....	11
Expected values.....	12
<b>ESPAÑOL</b> .....	<b>13</b>
Uso previsto .....	13
Introducción.....	13
Fundamento de la prueba .....	13
Precauciones.....	14
Condiciones de almacenamiento y estabilidad.....	15
Reactivos .....	15
Materiales suministrados.....	15
Materiales y equipos que podrían ser necesarios, pero no suministrados.....	16
Toma de muestras y su preparación.....	16
Procedimiento analítico .....	16
Control de calidad.....	17
Interpretación de resultados.....	18
Características de la prueba.....	18

Sensibilidad analítica.....	18
Rango de medición.....	18
Prozona.....	18
Sensibilidad y especificidad clínica.....	19
Interferencias.....	19
Reactividad cruzada.....	20
Precisión.....	20
Linealidad.....	21
Limitaciones.....	22
Valores esperados.....	22
<b>ENGLISH/ESPAÑOL.....</b>	<b>24</b>
References/bibliografía.....	24
Symbols for ivd components and reagents/Símbolos para reactivos y productos para diagnóstico in vitro.....	24
ANNEX COMPATIBILITY OF THE MOST COMMON TURBIDIMETRY EQUIPMENT/.....	25
ANEXO DE COMPATIBILIDAD CON LOS EQUIPOS MÁS COMUNES DE TURBIDIMETRÍA.....	25
Change control/Control de cambios.....	26

## ENGLISH

## INTENDED PURPOSE

**FOB Turbilatex® Combo** is a latex turbidimetric assay **for the quantitative detection of haemoglobin (faecal occult blood) 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

Colorectal cancer is the second leading cause of illness and death in Western world (1). The screening with faecal occult blood tests is based on the concept that important target colonic neoplasm, such as early-stage cancer and large adenomatous polyps (2). Colorectal cancer is also associated with local acute inflammatory reaction being visualized, in some cases, by white cell neutrophil scanning.

Haemoglobin is the iron-containing oxygen-transport protein in the red blood cells of all vertebrates that may be leaked into gastrointestinal tract and then discharged with the faeces in gastrointestinal bleeding diseases.

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 and amount of bleeding and the transit time through the gut (3). **FOB Turbilatex® Combo** test detect intact or nearly intact human haemoglobin, being a very specific technique for detecting loss of blood from the lower intestine.

## PRINCIPLE

**FOB Turbilatex® Combo** is a latex turbidimetric assay **for the quantitative detection of haemoglobin 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 to make a presumptive diagnosis of faecal occult blood (gastrointestinal bleeding).

FOB 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 wavelenght and is proportional to the quantity of antigen contained in the sample.

## PRECAUTIONS

---

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- The product is intended for use by qualified and trained clinical laboratory personnel specifically instructed and trained in Turbidimetric technique, autoanalyzer use and *in vitro* diagnostic procedures.
- The analyser should be ready before performing any assay.
- Read the instructions for use carefully before use the kit. Do not perform the test without fully understanding the information on procedures, safely precautions and limitations described in this instruction for use.
- Do not use after expiration date.
- Do not use the reagents if pack is damaged or opened.
- Do not freeze to maintain the integrity and performance of the test.
- Do not mix screw caps from different reagent vials.
- The kit does not contain materials of human origin.
- Components provided in the kit are approved for use in **FOB Turbilatex® Combo**. Do not mix or use with components from other product kit or lots. Do not use with other commercial kit components (from another supplier). The test's satisfactory performance is ensured only when components from the same lot of **FOB Turbilatex® Combo** are used.
- 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 as well as all the materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the local or national safety regulations. Must be handled in the same manner as an infectious agent. Use proper infection control practices. These practices should include, but are not limited to, personal protective equipment (PPE), such as laboratory coat, surgical or appropriate mask, or face shield, disposable gloves, and eye protection. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, handling, and disposal of the samples.
- **FOB Turbilatex® Combo** do not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) or which are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their

declaration. Material Safety Data Sheet are not included with this device, nevertheless it could be consulted upon request to Certest Biotec.

- **FOB Turbilatex® Combo** has been validated with the analyser Biolis from Tokyo Boeki. For different analysers, Haemoglobin should be measured according to the specific application parameters for each specific chemistry analyzer. More information about the application notes available can be found on our website.
- Homogenise the reagents before use, make sure that the reagents are free of bubbles.
- Evaporation of calibrators and controls can lead to incorrect results. Follow the storage recommendations detailed in the following section.
- If the values obtained for the controls are not valid, repeat the quality control measurement with new controls. If the control values are still invalid, recalibrate the equipment.
- If the result exceeds the measurement range, use the sample diluent to dilute the sample and repeat the assay again.
- 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

<u>References</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB100ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB200ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB400ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB800ED</u>
- TL-022FB01 FOB Turbilatex® Reagent 1	1x22mL	2 x 22mL	4 x 22mL	8 x 22mL
- TL-022FB02 FOB Turbilatex® Reagent 2	1 x 8mL	1 x 13mL	2 x 13mL	4 x 13mL
- TL-022FB70/ TL-022FB71/ TL- 022FB72- TL-022FB73/ TL- 022FB74/ TL-022FB75 FOB Turbilatex® Calibrators		6 x 1mL		
- TL-022FB08/ TL-022FB09 FOB Turbilatex® Control 1&2		4 x 1mL		

### Materials and instruments that could be required but no provided

- Specimen collection container.

- Disposable gloves and laboratory equipment.
- Automated analyser.
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial.

## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect enough quantity of human 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 using catalogue reference 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

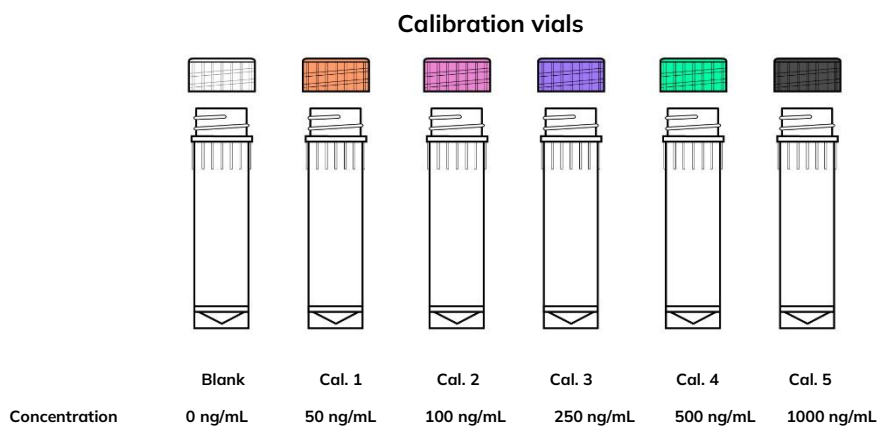
For calibration use only the following materials:

TL-022FB70, TL-022FB71, TL-022FB72, TL-022FB73, TL-022FB74 and TL-022FB75, FOB Turbilatex® Calibrator vials: liquid calibrator containing human haemoglobin at different concentrations.

Concentration is indicated on the label of each vial.

Calibrate the system at least once a week 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.

FOB 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

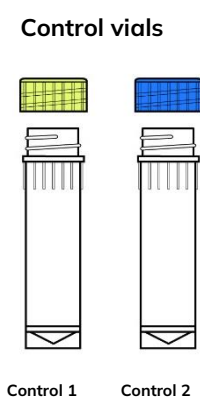
For quality control only use the following materials:

TL-022FB08 FOB Turbilatex® Control 1 and TL-022FB09 FOB Turbilatex® Control 2: liquid controls at two different concentrations of human haemoglobin. 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.

**FOB Turbilatex® Combo** Control vials (Control 1 and Control 2) are ready to use.



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

## INTERPRETATION OF RESULTS

It is recommended that each laboratory/end-user establish their own cut-off value based on specific clinical and demographic needs, as well as the operational requirements of their screening programs. Adjusting the cut-off enables programs to optimize the trade-off between detecting significant neoplasia and minimizing unnecessary colonoscopies.

Therefore, the following reference values are to be considered as recommendations.

Recommended cut-off value: 10 µg hHb/g in stool samples (4).

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### Analytical sensitivity

The Limit of Detection (LOD) and Quantification (LOQ) were determined in accordance with the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A requirements.

Limit of detection (LOD): 32.33 ng hHb/mL.



Limit of quantification (LOQ): 34.60 ng hHb/mL. The lower limit of quantification is defined as the lowest actual amount of analysis that can be reliably detected. The Upper Limit of Quantification, it has not been determined since the LOQ experiment has proved that there is good quantification up to the 1000 ng hHb/mL point, which is the maximum point of the **FOB Turbilatex® Combo** calibration curve. This point can be quantified with a coefficient of variation lower than the %CV goal (13%).

## Measuring range

**FOB Turbilatex® Combo** assay measuring range is 34.60-1953 ng hHb/mL. Samples more concentrated than 1000 ng hHb/mL must be diluted for proper quantification by the user, using additional sample buffer.

## Prozone

Studies have been made up to a concentration of 1 mg of hHb/mL of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Samples with concentrations up to 1953 ng hHb/mL can be measured without inhibitory prozone effect.

## Clinical sensitivity and specificity

An evaluation was performed comparing **FOB Turbilatex® Combo** against another commercially available turbidimetric assay, which was considered as a gold standard. This evaluation has undergone with cut-off 10 µg of hHb/g of stool:

	Evaluation criteria			Total
		+	-	
FOB Turbilatex® Combo	+	28	1	29
	-	4	46	50
	Total	32	47	79

Table 1 **FOB Turbilatex® Combo** performance versus Evaluation criteria.

FOB Turbilatex® vs Evaluation criteria		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity	87.5%	71.0-96.5%
Specificity	97.9%	88.7-99.9%
PPV	96.6%	82.2-99.9%
NPV	92.0%	80.8-97.8%
LR+	41.13	5.89-287.2

FOB Turbilatex® vs Evaluation criteria		
	Mean Value	95% confidence interval
LR-	0.128	0.051-0.320

Table 2 **FOB Turbilatex® Combo** clinical results. True positive (TP), false positive (FP), false negative (FN), true negative values (TN), and total samples (N). Sensitivity (Sens), specificity (Spec), Predictive Positive Values (PPV), Predictive Negative Values (NPV), 95% interval of confidence (CI), Likelihood positive ratio (LR+), Likelihood negative ratio (LR-) for **FOB Turbilatex® Combo**.

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human haemoglobin (hHb) using **FOB Turbilatex® Combo**.

## Interferences

An evaluation was carried out to determine the interferences of **FOB Turbilatex® Combo** taking into account the recommendations of the CLSI EP07 and EP37 guidelines. No interferences were founded against the exogenous or endogenous substances tested:

Substance	Concentration
Acenocoumarol	1.20·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Amitriptilin	4.80·10 <sup>-2</sup> mg/dL
Biotin	51·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Ciprofloxacin	1.20 mg/dL
Diazepam	3.00 mg/dL
Macrogol 3350	3.00 mg/dL
Naproxen	3.60·10 <sup>1</sup> mg/dL
Omeoprazol (gastric protector)	8.40·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Rifaximin	4.05·10 <sup>-4</sup> mg/dL
Oral saline solution	1.30·10 <sup>2</sup> mg/dL
Sulfasalazine	7.50 mg/dL
Barium sulfate	6.30·10 <sup>1</sup> mg/dL
Tetracycline Hydrochloride	1.20·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Vancomycin	1.20·10 <sup>1</sup> mg/dL
Ascorbic acid	5.25 mg/dL
Glucose	1.00·10 <sup>3</sup> mg/dL
Triglycerides	1.00·10 <sup>2</sup> mg/dL
Hemin	1.00·10 <sup>-2</sup> mmol/L
Albumin	3.50·10 <sup>1</sup> g/L
Bilirubin	4.00·10 <sup>1</sup> mg/dL
Leukocytes	2.00·10 <sup>7</sup> cell/mL
Mucin	5.00%
Urea	4.29·10 <sup>1</sup> mmol/L
Uric acid	1.40·10 <sup>3</sup> µmol/L

Table 3 Possible interference substances evaluated.

## 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:

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

The cross reactions with bovine, pig haemoglobins and bovine transferrin are not present at concentrations below 0.20 µg/mL, 0.90 µg/mL and 250 µg/mL respectively. Take note that these concentrations are higher than the concentrations that could be found on the faecal samples.

## Precision

An evaluation was performed to determine the accuracy of **FOB Turbilatex® Combo**. Within-laboratory and repeatability were determined according to CLSI EP05 using a standardised study design of 80 replicates per sample were evaluated (5 days x 4 runs x 4 replicates) and with an acceptance criterion of 20% CV.

Sample	N	Mean (ng/mL)	Repeatability		Total	
			Sd	CV%	Sd	CV%
1	80	50.37	4.83	9.6%	5.62	11.15%
2	80	124.40	13.57	10.8%	18.62	14.87%
3	80	232.78	3.46	1.5%	11.46	4.92%
4	80	320.80	3.97	1.2%	18.44	5.75%
5	80	403.55	6.57	1.6%	43.52	10.78%
6	80	561.96	8.78	1.6%	13.16	2.34%
7	80	992.05	50.49	5.1%	51.22	5.16%

Table 4 Repeatability results for **FOB Turbilatex® Combo** including mean, standard deviation (Sd) and the coefficient of variation (CV%).

Similarly, following the CLSI EP05 recommendations for reproducibility analysis, 80 replicates per sample were evaluated with three lots (5 days x 4 runs x 4 replicates) and with an acceptance criterion of 20% CV.

Sample	N	Mean (ng/mL)	Repeatability		Within lot		Reproducibility	
			Sd	CV%	Sd	CV%	Sd	CV%
1	80	49.466	4.067	8.2%	7.111	14.4%	7.111	14.4%
2	80	124.443	8.666	7.0%	16.788	13.5%	17.241	13.9%
3	80	238.002	9.261	3.9%	15.706	6.6%	15.868	6.7%
4	80	323.423	2.936	0.9%	17.057	5.3%	17.372	5.4%
5	80	411.280	4.693	1.1%	39.011	9.5%	39.180	9.5%

Sample	N	Mean (ng/mL)	Repeatability		Within lot		Reproducibility	
			Sd	CV%	Sd	CV%	Sd	CV%
6	80	590.760	6.462	1.1%	29.908	5.1%	48.175	8.2%
7	80	1011.871	33.099	3.3%	43.607	4.3%	45.049	4.5%

Table 5 Reproducibility results for **FOB Turbilatex® Combo** including mean, standard deviation (Sd) and the coefficient of variation (CV%).

**FOB Turbilatex® Combo** shows high in its reproducibility results on known concentration of haemoglobin.

## Linearity

The linearity study was performed following CLSI EP06 using samples with assigned values. The allowable deviation from linearity (ADL) is  $\pm 10\%$  considering indications of EP06 CLSI guideline regarding ADL.

**FOB Turbilatex® Combo** using calibrator kit is linear in the calibration range of 40-1000 ng hHb/mL.

The analytical performance of **FOB Turbilatex® Combo** has been validated using the Tokyo Boeki Biolis 24i analyser. For more information about other compatible equipment, please refer to the corresponding application. The different turbidimetric equipment with which our turbidimetric products are compatible can be found in **Annex I**.

## LIMITATIONS

1. **FOB Turbilatex® Combo** should **only be used in human stool samples**. Proper faecal specimens must be obtained.
2. Positive results determine the presence of human haemoglobin in faecal samples. A positive result should be followed up with additional diagnostic invasive procedures to determine the exact cause and source of the blood in the stool.
3. If symptoms or situation still persist, haemoglobin 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. This test may be less sensitive for detecting upper gastrointestinal bleeding because blood degrades as it passes through the gastrointestinal tract.
5. 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 (CRC) is a leading cause of cancer incidence and mortality globally. According to the World Health Organization, it is the third most common cancer worldwide, accounting for approximately 10% of all cancer cases and is the second leading cause of cancer-related deaths worldwide (1). In Europe, it ranks as the second most common cancer after breast cancer, with over 500,000 new cases reported annually (5). The increasing incidence among individuals under 50 has prompted a shift in screening recommendations, with guidelines now advocating routine screening starting at age 45 (6).

Fecal immunochemical tests (FIT) are commonly employed as a non-invasive screening method, detecting hemoglobin (hHb) in stool samples. Globally, enhancing early detection through these screening strategies is crucial, as early-stage CRC is more treatable, leading to better patient outcomes (2). Implementing standardized screening protocols can significantly reduce CRC-related morbidity and mortality across diverse populations.

ESPAÑOL

## USO PREVISTO

**FOB Turbilatex® Combo** es una prueba turbidimétrica **para la detección cuantitativa de hemoglobina (sangre oculta en heces) en muestras de heces 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

El cáncer colorrectal es la segunda causa principal de enfermedad y muerte en el mundo occidental (1). Los test de sangre oculta en heces se aplican al diagnóstico de neoplasmas colónicos, como el cáncer en su fase inicial y algunos pólipos adenomatosos (2). El cáncer colorrectal también está asociado con una reacción inflamatoria local y aguda que en algunos casos puede determinarse mediante la detección de neutrófilos.

La hemoglobina es una proteína presente en los glóbulos rojos que contiene hierro y cuya función es transportar oxígeno en todos los vertebrados. Puede ser liberada en el tracto gastrointestinal y eliminada en las heces en las enfermedades asociadas a un sangrado intestinal (3).

El test de diagnóstico, **FOB Turbilatex® Combo**, detecta hemoglobina humana no degradada o casi intacta, siendo una técnica muy específica para detectar pérdidas de sangre producidas en la parte final del intestino.

## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

**FOB Turbilatex® Combo** es una prueba turbidimétrica **para la detección cuantitativa de hemoglobina únicamente en muestras de heces de origen humano.** Es una prueba sencilla de realizar, con múltiples aplicaciones y los resultados se obtienen en un corto espacio de tiempo.

Su uso previsto es un posible diagnóstico de sangre oculta en heces (sangrado intestinal).

La prueba de látex turbidimétrico para la detección hemoglobina 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 de diagnóstico *in vitro*.
- El producto está destinado a ser utilizado por personal de laboratorio clínico cualificado y capacitado, instruido y entrenado específicamente en las técnicas turbidimétricas, en el uso de autoanalizadores y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- El analizador debe estar listo antes del ensayo.
- Leer las instrucciones de uso cuidadosamente antes de usar el kit
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No usar los reactivos si el envase estuviera dañado o abierto.
- No congelar para mantener la integridad y el rendimiento de la prueba.
- No mezclar tapones de rosca de diferentes viales de reactivo.
- El kit no contiene materiales de origen humano.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **FOB Turbilatex® Combo**. No mezclar o utilizar componentes de otros kits o lotes. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados (de otros proveedores). La correcta realización de la prueba solo está garantizada cuando se usan componentes del mismo lote de **FOB Turbilatex® Combo**.
- 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 así como los materiales que han estado en contacto con las muestras y deben ser manipuladas de acuerdo con las normas locales o nacionales de seguridad. Deben tratarse de la misma forma que un agente infeccioso. Utilice prácticas adecuadas de control de infecciones al recolectar y manipular las muestras. Estas prácticas deben incluir, pero no se limitan a, equipo de protección personal (EPP), bata de laboratorio, mascarilla quirúrgica u otro tipo de máscara que se considere apropiada, guantes desechables y protección para los ojos.

Tome las precauciones necesarias durante la recogida, almacenamiento, tratamiento y eliminación de muestras.

- **FOB Turbilatex® Combo** no contiene sustancias y/o mezclas que cumplan los criterios de clasificación de peligro disponibles en el Reglamento (CE) No 1272/2008 (CLP) o que se encuentren en concentraciones superiores al valor establecido en dicho reglamento para su declaración. Las fichas de datos de seguridad no se incluyen con este dispositivo, no obstante, podrán ser consultadas previa solicitud a Certest Biotec.
- **FOB Turbilatex® Combo** ha sido validado con el analizador Biolis de Tokyo Boeki. Para diferentes analizadores, la hemoglobina debe ser medida de acuerdo con los parámetros de aplicación específicos para cada analizador químico específico. Encontrará más información sobre las notas de aplicación disponibles en nuestro sitio web.
- Homogeneizar los reactivos antes de utilizarlos, asegúrese que los reactivos no tengan burbujas.
- La evaporación de calibradores y controles pueden producir resultados incorrectos. Siga las recomendaciones de almacenaje detalladas en el siguiente apartado.
- Si el resultado excede el rango de medición, utilice el diluyente de muestra para diluir la muestra y repita el ensayo nuevamente.
- 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

Referencias			Cat.: TL-022FB100ED	Cat.: TL-022FB200ED	Cat.: TL-022FB400ED	Cat.: TL-022FB800ED
- TL-022FB01	FOB	Turbilatex® Reagent 1	1x22mL	2 x 22mL	4 x 22mL	8 x 22mL
- TL-022FB02	FOB	Turbilatex® Reagent 2	1 x 8mL	1 x 13mL	2 x 13mL	4 x 13mL



<u>Referencias</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB100ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB200ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB400ED</u>	<u>Cat.:</u> <u>TL-022FB800ED</u>
- TL-022FB70/ TL-022FB71/ TL-022FB72- TL-022FB73/ TL-022FB74/ TL-022FB75 FOB Turbilatex® Calibrators			6 x 1mL	
- TL-022FB08/ TL-022FB09 FOB Turbilatex® Control 1&2			4 x 1mL	

## Material es y equipos que podr ían ser necesarios, pero no suministrados

- Recipiente para la recogida de muestra.
- Guantes desechables y equipos de laboratorio.
- Analizador autom ático.
- MST-0019U Universal Turbilatex® Sample Collection Vial.

## 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 pueden 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(2-8°C) para poder utilizarse en la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

**Para procesar la muestra de heces utilizando la referencia MST-0019U siga 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-022FB70, TL-022FB71, TL-022FB72, TL-022FB73, TL-022FB74 y TL-022FB75, FOB Turbilatex® Calibrator vials: calibrador líquido que contiene hemoglobina humana a distintas concentraciones.

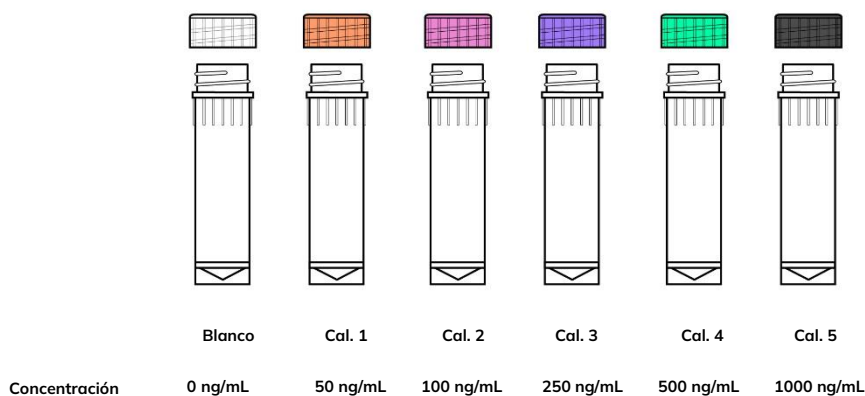
La concentración está indicada en la etiqueta de cada vial.

Calibrar el sistema al menos una vez a la semana 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 **FOB Turbilatex® Combo** (calibrador 0 al 5) están listos para su uso.

#### Viales calibración



*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:

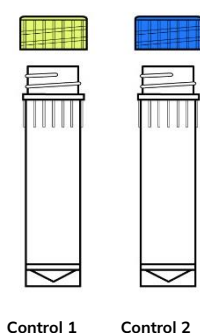
TL-022FB08 FOB Turbilatex® Control 1 y TL-022FB09 FOB Turbilatex® Control 2: controles líquidos a dos concentraciones distintas de hemoglobina humana. La concentración se indica en la etiqueta del vial. Se recomienda el uso de materiales de control en dos puntos diferentes de análisis para verificar 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 **FOB Turbilatex® Combo** (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)

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

---

Se recomienda que cada laboratorio/usuario final establezca su propio valor de corte en función de las necesidades clínicas y demográficas específicas, así como de los requisitos operativos de sus programas de cribado. El ajuste del valor de corte permite a los programas optimizar el compromiso entre la detección de neoplasias significativas y la minimización de colonoscopias innecesarias.

Por lo tanto, los siguientes valores de referencia deben considerarse como recomendaciones.

Valor de corte recomendado: 10 µg hHb/g en muestras de heces (4).

## CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

---

### Sensibilidad analítica

El Límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) fueron determinados de acuerdo con los requisitos de la guía del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A.

Límite de detección (LOD): 32.33 ng hHb/mL.

Límite de cuantificación (LOQ): 34.60 ng hHb/mL. El límite inferior de cuantificación se define como la cantidad real más baja de análisis que puede detectarse de forma fiable. El Límite Superior de Cuantificación, no ha sido determinado ya que el experimento LOQ ha demostrado que existe una buena cuantificación hasta el punto de 1000 ng/mL, que es el punto máximo de la curva de calibración **FOB Turbilatex® Combo**. Este punto puede cuantificarse con un coeficiente de variación inferior al objetivo de %CV (13%).

### Rango de medición

El rango de medición del ensayo **FOB Turbilatex® Combo** es de 34.60-1953 ng hHb/mL. Las muestras concentradas superiores a 1000 ng hHb/ml deben diluirse para una cuantificación adecuada por parte del usuario, utilizando tampón de muestra adicional.

### Prozona

Se han realizado estudios hasta una concentración de 1 mg de hHb/mL de heces y no se han observado resultados falsos negativos. No se han realizado estudios con concentraciones superiores.

Las muestras con concentraciones de hasta 1953 ng hHb/mL pueden medirse sin efecto inhibidor de prozona.

## Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación clínica comparando **FOB Turbilatex® Combo** contra otro ensayo turbidimétrico disponible comercialmente, el cuál fue considerado como técnica de referencia. Esta evaluación se ha realizado con un cut-off de 10 µg de hHb/g de heces:

	Criterio de Evaluación			Total
		+	-	
FOB Turbilatex® Combo	+	28	1	29
	-	4	46	50
	Total	32	47	79

Tabla 1 Desempeño de **FOB Turbilatex® Combo** frente a Evaluation criteria.

FOB Turbilatex® vs Criterio de Evaluación		
	Valor medio	95% Intervalo de confianza
Sensibilidad	87.5%	71.0-96.5%
Especificidad	97.9%	88.7-99.9%
VPV	96.6%	82.2-99.9%
VPN	92.0%	80.8-97.8%
LR+	41.13	5.89-287.2
LR-	0.128	0.051-0.320

Tabla 2 Evaluaciones clínicas y resultados globales. Valores de verdadero positivo (TP), de falso positivo (FP), falso negativo (FN) y número total de muestras (N). Sensibilidad (Sens), especificidad (Spec), valor predictivo positivo (PPV), valor predictivo negativo (NPV), 95% intervalo de confianza (CI), cociente de probabilidad positivo (LR+), cociente de probabilidad negativo (LR-) de r **FOB Turbilatex® Combo**.

Los resultados mostraron que **FOB Turbilatex® Combo** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar hemoglobina humana (hHb).

## Interferencias

Se llevó a cabo una evaluación para determinar las interferencias de **FOB Turbilatex® Combo** teniendo en cuenta las recomendaciones de las directrices EP07 y EP37 del CLSI. No se encontraron interferencias frente a las sustancias exógenas o endógenas ensayadas:

Sustancia	Concentración
Acenocumarol	1.20·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Amitriptilina	4.80·10 <sup>-2</sup> mg/dL
Biotina	51·10 <sup>-1</sup> mg/dL
Ciprofloxacino	1.20 mg/dL
Diazepam	3.00 mg/dL
Macrogol 3350	3.00 mg/dL
Naproxeno	3.60·10 <sup>1</sup> mg/dL

Sustancia	Concentración
Omeprazol (protector gástrico)	$8.40 \cdot 10^{-1}$ mg/dL
Rifaximina	$4.05 \cdot 10^{-4}$ mg/dL
Suero oral salino	$1.30 \cdot 10^2$ mg/dL
Sulfasalazina	7.50 mg/dL
Sulfato de bario	$6.30 \cdot 10^1$ mg/dL
Clorhidrato de tetraciclina	$1.20 \cdot 10^{-1}$ mg/dL
Vancomicina	$1.20 \cdot 10^1$ mg/dL
Ácido ascórbico	5.25 mg/dL
Glucosa	$1.00 \cdot 10^3$ mg/dL
Triglicéridos	$1.00 \cdot 10^2$ mg/dL
Hemín	$1.00 \cdot 10^{-2}$ mmol/L
Albúmina	$3.50 \cdot 10^1$ g/L
Bilirrubina	$4.00 \cdot 10^1$ mg/dL
Leucocitos	$2.00 \cdot 10^7$ cell/mL
Mucina	5.00%
Urea	$4.29 \cdot 10^1$ mmol/L
Ácido úrico	$1.40 \cdot 10^3$ $\mu$ mol/L

Tabla 3 Posibles sustancias interferentes evaluadas.

## Reactividad cruzada

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

La reacción cruzada con la hemoglobina bovina, hemoglobina de cerdo y transferrina bovina no se encuentran hasta concentraciones superiores a 0.20  $\mu$ g/mL, 0.90  $\mu$ g/mL y 250  $\mu$ g/mL respectivamente.

Estas concentraciones son superiores a las concentraciones a las que se podrían encontrar en las muestras fecales.

## Precisión

Se realizó una evaluación para determinar la precisión de **FOB Turbilatex® Combo**. **FOB Turbilatex® Combo**. La repetibilidad intralaboratorio se determinó de acuerdo con CLSI EP05 utilizando un diseño de estudio estandarizado de 80 réplicas por muestra evaluadas (5 días x 4 series x 4 réplicas) y con un criterio de aceptación del 20% CV.

Muestra	N	Media (ng/mL)	Repetibilidad		Total	
			Sd	CV%	Sd	CV%
1	80	50.37	4.83	9.6%	5.62	11.15%
2	80	124.40	13.57	10.8%	18.62	14.87%
3	80	232.78	3.46	1.5%	11.46	4.92%
4	80	320.80	3.97	1.2%	18.44	5.75%
5	80	403.55	6.57	1.6%	43.52	10.78%
6	80	561.96	8.78	1.6%	13.16	2.34%
7	80	992.05	50.49	5.1%	51.22	5.16%

Tabla 4 Resultados del ensayo de repetibilidad para **FOB Turbilatex® Combo** incluyendo la media, la desviación estándar (Sd) y el coeficiente de variación (CV%).

Del mismo modo, siguiendo las recomendaciones CLSI EP05 para el análisis de reproducibilidad, se evaluaron 80 réplicas por muestra con tres lotes (5 días x 4 series x 4 réplicas) y con un criterio de aceptación del 20% CV.

Muestra	N	Media (ng/mL)	Repetibilidad		Intra lote		Reproducibilidad	
			Sd	CV%	Sd	CV%	Sd	CV%
1	80	49.466	4.067	8.2%	7.111	14.4%	7.111	14.4%
2	80	124.443	8.666	7.0%	16.788	13.5%	17.241	13.9%
3	80	238.002	9.261	3.9%	15.706	6.6%	15.868	6.7%
4	80	323.423	2.936	0.9%	17.057	5.3%	17.372	5.4%
5	80	411.280	4.693	1.1%	39.011	9.5%	39.180	9.5%
6	80	590.760	6.462	1.1%	29.908	5.1%	48.175	8.2%
7	80	1011.871	33.099	3.3%	43.607	4.3%	45.049	4.5%

Tabla 5 Resultados del ensayo de reproducibilidad para **FOB Turbilatex® Combo** incluyendo la media, la desviación estándar (sd) y el coeficiente de variación (CV%).

**FOB Turbilatex® Combo** muestra una alta reproducibilidad de los resultados en concentraciones conocidas de hemoglobina.

## Linealidad

El estudio de linealidad se realizó siguiendo CLSI EP06 utilizando muestras con valores asignados. La desviación admisible de la linealidad (DAL) es de  $\pm 10\%$  teniendo en cuenta las indicaciones de la directriz EP06 del CLSI con respecto a la DAL.

**FOB Turbilatex® Combo** utilizando el kit de calibradores es lineal en el rango de calibración de 40-1000 ng hHb/mL.

El desempeño analítico de **FOB Turbilatex® Combo** ha sido validado utilizando el analizar Biolis 24i de Tokyo Boeki. Para más información acerca de otros equipos compatibles, consulte la aplicación correspondiente. Los diferentes equipos de turbidimetría con los que son compatibles nuestros productos turbidimétricos podrían consultarse en el **Anexo I**.

## LIMITACIONES

---

1. **FOB Turbilatex® Combo** se debería usar **únicamente en 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 sangre en la muestra de heces.
3. Los resultados negativos no excluyen las hemorragias causadas por pólipos o el 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. La sensibilidad del test será menor en caso de hemorragias sufridas en la parte superior del tracto intestinal, debido a la degradación que sufre la hemoglobina en el sistema digestivo.
5. Las muestras de pacientes durante su ciclo menstrual, con hemorroides sangrantes, sangre en orina o estreñimiento no serán válidos.

## VALORES ESPERADOS

---

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las principales causas de incidencia y mortalidad por cáncer a nivel global. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, es el tercer tipo de cáncer más frecuente en el mundo, representando aproximadamente el 10% de todos los casos de cáncer y la segunda causa de muertes relacionadas con esta enfermedad en el mundo (1).

En Europa, ocupa el segundo lugar como cáncer más común, después del cáncer de mama, con más de 500,000 nuevos casos reportados anualmente (5). El incremento de la incidencia entre personas menores de 50 años ha llevado a un cambio en las recomendaciones de detección, con pautas que ahora abogan por comenzar la detección de rutina a partir de los 45 años (6).

Las pruebas inmunoquímicas fecales (FIT) se utilizan comúnmente como un método de detección no invasivo, que detecta hemoglobina (hHb) en muestras de heces. A nivel global,

mejorar la detección temprana a través de estas estrategias de detección es crucial, ya que el CCR en etapas iniciales es más tratable, lo que conduce a mejores resultados para los pacientes (2). Implementar protocolos de detección estandarizados puede reducir significativamente la morbilidad y mortalidad relacionadas con el CCR en diversas poblaciones.














## ENGLISH/ESPAÑOL

## REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. **Colorectal cancer. Fact sheet.** [Internet]. 2023 [cited 2024 Oct 29]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/colorectal-cancer>
2. Young GP, Symonds EL, Allison JE, Cole SR, Fraser CG, Halloran SP, et al. **Advances in Fecal Occult Blood Tests: The FIT Revolution.** Dig Dis Sci. 2015 Mar 1;60(3):609–22.
3. Ransohoff DF, Lang CA. **Screening for Colorectal Cancer with the Fecal Occult Blood Test: A Background Paper.** 1997;
4. NICE. **Quantitative faecal immunochemical testing to guide colorectal cancer pathway referral in primary care** [Internet]. 2023 Aug [cited 2024 Nov 26]. Available from: [www.nice.org.uk/guidance/dg56](http://www.nice.org.uk/guidance/dg56)
5. International Agency for Research on Cancer. **Cancer Today. Absolute numbers, Incidence, Both sexes, in 2022** [Internet]. 2022 [cited 2024 Oct 29]. Available from: [https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group\\_populations=1&populations=908](https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&populations=908)
6. American Cancer Society. **Colorectal Cancer Early Detection, Diagnosis, and Staging** [Internet]. 2024. Available from: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2016/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/),

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

 In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	 Sample diluent Diluyente de muestra	 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**

Model / Modelo	Manufacturer / Fabricante
A15	Biosystems
Alinity c-series	Abbott
Advia 1800, Advia 2400	Siemens
Architect c1000/c4000/c8000/c16000	Abbott
Atellica	Siemens
AU680	Beckman Coulter
Bioassays 240PLUS	Snibe
Biolis 24i/Biolis 50i	Tokyo Boeki
BK-200 mini	Biobase
BS-200/200E, BS-380	Mindray
CA800	Furano
Chemwell-T	Awareness
Cobas c111, c311, c501, c702	Roche
InCCA/InCCA bit	Diconex
Indiko	Thermo Fisher Scientific
Optilite	Binding Site
Respons 910	DiaSys
Selectra PRO S, Selectra PRO M	Elitech
TC220	Tecom
Vitros 5600	Ortho Clinical Technologies
XL-180 & XL-200	Erba

The application notes for use our turbidimetric products with the different equipments could be consulted in our website: [www.certest.es](http://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)

## CHANGE CONTROL/CONTROL DE CAMBIOS

Version / Version n°	Changes / Cambios	Date / Fecha
04	Instruction updating including new sections. Procedure A is deleted. / Actualización de la instrucción incluyendo nuevos apartados. Se elimina el procedimiento A.	02/12/2024
05	Revision of the sections Measurement range, prozone and linearity due to drafting error./Revisión de los apartados de Rango de medición, prozona y linealidad por fallo de redacción	10/02/2025



**Certest Biotec, S.L.**

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1  
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)  
Tel. (+34) 976 520 354  
[salesidx@certest.es](mailto:salesidx@certest.es) · [www.certest.es](http://www.certest.es)