

IDK® TurbiFIT®

*Zur quantitativen in-vitro-Bestimmung von
fäkalem Okkultblut in Stuhl*

*For the quantitative in vitro determination
of faecal occult blood in stool*

Gültig ab / Valid from 2022-09-08



TU1031.1
TU1031.2
TU1031.8



100/200/800



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DER TESTPACKUNG	2
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN	3
6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG	3
<i>Lagerung und Stabilität der Proben</i>	3
<i>Extraktion der Stuhlproben</i>	4
7. TESTDURCHFÜHRUNG	5
<i>Testprinzip</i>	5
<i>Testverfahren</i>	5
8. QUALITÄTSKONTROLLE	6
<i>Referenzbereich</i>	6
9. LEISTUNGSMERKMALE	7
<i>Analytische Sensitivität</i>	7
<i>Prozone</i>	7
<i>Klinische Sensitivität und Spezifität</i>	7
<i>Interferenzen</i>	7
<i>Kreuzreaktionen</i>	8
10. EINSCHRÄNKUNGEN	8
11. VORSICHTSMASSNAHMEN	8
12. ENTSORGUNG	9
13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	9
14. LITERATUR	10

1. VERWENDUNGSZWECK

Der **IDK® TurbiFIT®** Assay ist ein turbidimetrischer Latex-Assay für den quantitativen Nachweis von Hämoglobin (fäkalem Okkultblut) in humanen Stuhlproben.

Dieser Assay ist einfach anwendbar und für viele Analyseautomaten optimiert. Nur zur *in vitro* Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Dickdarmkrebs ist die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache in der westlichen Welt. Darmpolype (mögliche Krebsvorstufen) und Tumore bluten häufig in den Magen-Darm-Trakt; meist aber in zu geringer Menge, als dass es mit dem Auge erfasst werden könnte. Bei solchen gastrointestinalen Blutungen werden unter anderem auch rote Blutkörperchen mit dem Stuhl ausgeschieden. Diese roten Blutkörperchen enthaltenen Hämoglobin - ein eisenhaltiges Protein, zum Transport von Sauerstoff. Bei gastrointestinalen Blutverlusten enthält der Stuhl eine Kombination aus intaktem oder nahezu intaktem Hämoglobin, intaktem Häm und aus Häm abgeleiteten Porphyrinen. **IDK® TurbiFIT®** weist intaktes oder nahezu intaktes humanes Hämoglobin nach und ist damit ein sehr spezifisches Verfahren zum Nachweis von Blutverlusten aus dem unteren Darmbereich.

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Kit. Nr.		
		TU1031.1	TU1031.2	TU1031.8
Reagent 1	Reagenz 1, gebrauchsfertig	1 x 22 ml	2 x 22 ml	8 x 22 ml
Reagent 2	Reagenz 2, gebrauchsfertig	1 x 8 ml	1 x 13 ml	4 x 13 ml
CAL 0–5	Kalibratoren 0–5, gebrauchsfertig	6 x 1 ml	6 x 1 ml	6 x 1 ml
CTRL 1	Kontrolle 1, gebrauchsfertig	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml
CTRL 2	Kontrolle 2, gebrauchsfertig	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml

Die mitgelieferten Reagenzien befinden sich in neutralen Röhrchen, die nicht mit dem verwendeten Analysegerät kompatibel sind. Daher ist es notwendig, die entsprechenden Reagenzien in kompatible Reagenzgefäße umzufüllen.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Probensammelbehälter
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Zentrifuge, 3 000 g
- Vortex-Mixer
- Einweghandschuhe, laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Analysegerät (Liste mit kompatiblen Analysegeräten auf Anfrage erhältlich bei: tech.support@immundiagnostik.com)
- Reagenzgefäße, die für das verwendete Analysegerät zugelassen sind
- **IDK® TurbiTUBE®** zur Probenentnahme (Kat. Nr.: TU0091.A)

5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Alle Testreagenzien sind gebrauchsfertig und bei sachgerechter Lagerung (2–8 °C) bis zum Verfallsdatum (siehe Etikett) haltbar. Die Kitbestandteile vor direktem Sonnenlicht schützen und nicht einfrieren.
- Achten Sie darauf, dass die Reagenzienbehälter immer gut verschlossen sind, um eine Kontamination zu vermeiden.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Lagerung und Stabilität der Proben

- Sammeln Sie eine ausreichende Menge menschlichen Stuhl in einem sauberen und trockenen Gefäß (es sind keine besonderen Konservierungsmittel oder Transportmedien erforderlich).
- Die rohen Stuhlproben können bei 2–8 °C einen Tag gelagert werden. Wenn sie nicht sofort getestet werden, können die Stuhlproben eingefroren und bei -20 °C für maximal 6 Monate gelagert werden. In diesem Fall muss die Probe vor der Untersuchung vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur (15–30 °C) gebracht werden.
- Die Stuhlproben müssen vor der Aufbereitung so gründlich wie möglich homogenisiert werden.
- Extrahierte Stuhlproben sind 7 Tage bei 2–8 °C, sowie 7 Tage bei Raumtemperatur stabil.

Extraktion der Stuhlproben

Stuhlproben-Applikationssystem (IDK® TurbiTUBE®) (Kat. Nr.: TU0091.A)

Stuhlprobenröhrchen - Gebrauchsanweisung

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der endgültigen Stuhlsuspension von der Menge der verwendeten Stuhlprobe und dem Volumen des Puffers abhängt.

IDK® TurbiTUBE® mit 1,5 ml Probenextraktionspuffer:

Aufgetragene Stuhlmenge:	15 mg
Puffervolumen:	1,5 ml
Verdünnungsfaktor:	1:100

Bitte befolgen Sie die Anweisungen zur Vorbereitung von Stuhlproben mit den **IDK® TurbiTUBE®** wie folgt:

- Die rohe Stuhlprobe muss aufgetaut werden. Bei besonders heterogenen Proben empfehlen wir eine mechanische Homogenisierung mit einem Applikator, einer Impföse oder einem geeigneten Gerät.
- Schrauben Sie den gelben Teil der Kappe ab, um das Röhrchen zu öffnen. Führen Sie den gelben Messstab in die Probe ein. Der untere Teil des Messstabs hat Einkerbungen, die nach dem Einführen in die Probe vollständig mit Stuhl bedeckt sein müssen. Führen Sie das Stäbchen dann wieder in das Röhrchen ein. Beim Zurückstecken des Stäbchens in das Röhrchen wird überschüssiges Probenmaterial abgestreift, so dass exakt 15 mg der Probe zum Verdünnen übrig bleibt. Schrauben Sie das Röhrchen fest zu.

Tipp: Bei flüssigen Stuhlproben empfehlen wir, 15 µl der flüssigen Probe in das Röhrchen zu pipettieren.

- Vortexen Sie das Röhrchen bis keine Stuhlprobe mehr in den Einkerbungen verbleibt. **Wichtig:** Achten Sie darauf, dass Sie nach dem Schütteln eine möglichst homogene Suspension haben. Insbesondere bei festeren Proben verbessert ein Einweichen der Probe im Röhrchen mit Probenextraktionspuffer für ~ 10 Minuten das Ergebnis.
- Die Proben sollten ~10 Minuten bei 3 000 g zentrifugiert werden, um eine sedimentfreie Probe zu erhalten. Schwebendes Material wie z. B. Getreidehülsen können vernachlässigt werden.
- Schrauben Sie den kompletten Deckel des Röhrchens -einschließlich des blauen Rings und des Messstabs- vorsichtig ab. Entsorgen Sie Deckel und Messstab. Achten Sie darauf, dass das Sediment nicht wieder aufgewirbelt wird.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

IDK® TurbiFIT® ist ein latex-turbidimetrischer Assay für den quantitativen Nachweis von Hämoglobin (fäkal-okkultes Blut) in menschlichen Stuhlproben.

Der **IDK® TurbiFIT®** Assay basiert auf einer Agglutinationsreaktion. Dabei handelt es sich um eine *in-vitro*-Aggregation von mikroskopisch kleinen, mit spezifischen Antikörpern beschichteten, Latexpartikeln. Diese Aggregation entsteht dann, wenn das Antigen in der Probe vorhanden ist und an die spezifischen Antikörpern auf den Latexpartikeln bindet. Ist kein Antigen in der Probe vorhanden, behält die Mischung ihr klares Aussehen.

Testverfahren

Anwendungshinweise mit Informationen zur gerätespezifischen Testdurchführung, Leistungsmerkmalen und Anwendungsparameter stellt unser Technischer Support gerne zur Verfügung. Bei technischen Fragen zur Anwendung sowie bei der Validierung der Assays kontaktieren Sie bitte tech.support@immundiagnostik.com.

Erstellung der Kalibrierkurve

Verwenden Sie zur Kalibrierung ausschließlich die mitgelieferten **IDK® TurbiFIT®**-Kalibratoren. Hierbei handelt es sich um gebrauchsfertige Flüssigkalibratoren, die humanes Hämoglobin in verschiedenen Konzentrationen enthalten. Die genauen Konzentrationen sind auf dem Etikett jedes Fläschchens angegeben.

Es wird dringend empfohlen, das System mindestens einmal im Monat neu zu kalibrieren. Auf jeden Fall muss das System neu kalibriert werden, wenn die Reagenziencharge gewechselt wird oder wenn die Kontrollen außerhalb des zugewiesenen Bereichs liegen (siehe das dem Kit beiliegende Qualitätskontrollprotokoll).

Bezeichnung	Konzentration	Deckelfarbe
CAL 0	0 ng/ml	Transparent
CAL 1	50 ng/ml	Rosa
CAL 2	100 ng/ml	Lila
CAL 3	250 ng/ml	Blau
CAL 4	500 ng/ml	Braun
CAL 5	1 000 ng/ml	Weiss
CTRL 1	Kontrolle 1*	Grün
CTRL 2	Kontrolle 2*	Rot

* Die chargenabhängige Konzentration ist dem beiliegenden Qualitätskontrollprotokoll zu entnehmen.

8. QUALITÄTSKONTROLLE

Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle nur **IDK® TurbiFIT®** Kontrolle 1 (CTRL 1) und **IDK® TurbiFIT®** Kontrolle 2 (CTRL 2). Hierbei handelt es sich um zwei gebrauchsfertige Flüssigkontrollen, die unterschiedliche Konzentrationen von menschlichem Hämoglobin enthalten. Die entsprechende Konzentration ist für jedes Fläschchen auf dem Produktdatenblatt angegeben.

Die Verwendung von Kontrollmaterialien in zwei verschiedenen Konzentrationen wird empfohlen, um die Testgenauigkeit zu überprüfen.

Die Kontrollmessungen sollten jeden Tag, vor der Messung von extrahierten Patientenproben, durchgeführt werden, um die Kalibrierungskurve zu validieren.

Wenn die dabei erzielten Ergebnisse außerhalb des Toleranzbereichs liegen, müssen die Geräte, die Reagenzien und die Testdurchführung überprüft werden.

Da die Probenverdünnung bereits in der Kalibrierkurve berücksichtigt ist, beträgt der Verdünnungsfaktor 1.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

Referenzbereich

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

Referenzbereich in Stuhlproben

Für die Darmkrebsvorsorge wird der folgende Cut-off-Wert geschätzt:

negativ	< 100 ng/ml bzw. < 10 µg/g
positiv	≥ 100 ng/ml bzw. ≥ 10 µg/g

Bei einem Verdünnungsfaktor 100 ist der Umrechnungsfaktor:

1 ng/ml = 0,1 µg/g

10 ng/ml = 1 µg/g

9. LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Nachweisgrenze (LoD): **Siehe Anwendungshinweis.**

Prozone

Es wurden Studien bis zu einer Konzentration von 1 mg menschliches Hämoglobin/g Stuhl durchgeführt, und dabei keine falsch negativen Ergebnisse beobachtet. Studien mit höheren Konzentrationen wurden nicht durchgeführt.

Die Daten wurden mit dem Analysegerät Biolis 24i (Tokyo Boeki) ermittelt.

Klinische Sensitivität und Spezifität

Es wurde ein Vergleich zwischen einem turbidimetrischen Test (**IDK® TurbiFIT®**) und einem anderen kommerziellen Immunoassay (Eiken FOB Latex®, EIKEN Chemicals, CO. LTD.) mit 100 Stuhlproben durchgeführt. Die Ergebnisse waren wie folgt:

	Sensitivität	Spezifität
IDK® TurbiFIT® vs Eiken FOB Latex®	95,7 %	90 %

Zudem wurde ein Vergleich von **IDK® TurbiFIT®** und **IDK®** Hämoglobin ELISA mit 45 Stuhlproben durchgeführt. Die Ergebnisse waren wie folgt:

	Sensitivität	Spezifität
IDK® TurbiFIT® vs IDK® Hämoglobin ELISA	100 %	94 %

Die Ergebnisse zeigten eine hohe Sensitivität und Spezifität beim Nachweis von menschlichem Hämoglobin (hHb) mit **IDK® TurbiFIT®**.

Interferenzen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Interferenzen von **IDK® TurbiFIT®** zu bestimmen. Es wurden keine Interferenzen mit anderen getesteten Substanzen festgestellt: BSA, Hämin, Ascorbinsäure.

Kreuzreaktionen

Es wurde eine Evaluierung durchgeführt, um die Kreuzreaktivität mit anderen fäkalen Markern zu bestimmen, die gelegentlich in Fäkalien vorkommen, wie z. B.: Human-Calprotectin, Rinder- und Schweinehämoglobin, Rinder- und Human-Transferrin.

Es wurden **keine** Kreuzreaktivitäten für Rinder- und Schweinehämoglobin bei Konzentrationen unter 0,2 µg/ml, 0,9 µg/ml bzw. 250 µg/ml festgestellt. Somit wurden keine Kreuzreaktivitäten bei physiologischen Konzentrationen festgestellt.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

IDK® TurbiFIT® sollte nur für menschliche Stuhlproben verwendet werden. **IDK® TurbiFIT®** muss mit ordnungsgemäß extrahierten Stuhlproben verwendet werden (siehe Anleitung).

Die erhaltenen Ergebnisse bestimmen die Konzentration von menschlichem Hämoglobin in fäkalen Proben. Ein positives Ergebnis sollte mit zusätzlichen diagnostischen Verfahren abgeglichen werden, um die Ursache und Quelle des okkulten Blutes im Stuhl zu bestimmen.

Wenn bestehende Symptome weiter anhalten, sollten weitere diagnostische Verfahren durchgeführt werden. Negative Ergebnisse schließen eine Blutung nicht aus, da einige Polypen und Arten von Darmkrebs intermittierend oder in bestimmten Stadien der Krankheit nicht bluten können.

Dieser Test ist möglicherweise weniger empfindlich für den Nachweis von Blutungen im oberen Magen-Darm-Trakt, da das Blut während der Magen-Darm-Passage abgebaut wird.

Patientenproben sollten nicht während des Menstruationszyklus, bei blutenden Hämorrhoiden, Blut im Urin oder Verstopfung entnommen werden.

11. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Eine geschulte Person für die turbidimetrische Technik und den Gebrauch des Analysegerätes ist erforderlich. Eine manuelle Anwendung des Testkits ist nicht möglich.
- Das Analysegerät sollte vor Beginn der Testdurchführung bereit sein.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.

- Wenn das Ergebnis den Messbereich überschreitet, verwenden Sie den Probenextraktionspuffer, um die Probe zu verdünnen, und wiederholen Sie den Test.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien sollten nicht verwendet werden, wenn die Primärverpackung beschädigt oder bereits geöffnet wurde.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Es müssen ausschließlich **neue**, leere Reagenzgefäße verwendet werden, da gewaschene oder recycelte/wiederverwendete Reagenzgefäße das Testergebnis beeinflussen können.
- Als Vorsichtsmaßnahme wird empfohlen, das verwendete Humanmaterial immer als potentiell infektiös zu betrachten.

12. ENTSORGUNG

- Flüssige Testkomponenten, Pipettenspitzen, Röhrchen usw. sind wie gewöhnlicher Laborabfall zu behandeln, sofern nicht anders angegeben. Die Lösungen sollten nach dem Test in einem dafür geeigneten Behälter, gemäß den örtlichen Vorschriften, entsorgt werden.
- Alle Proben sind als potentiell gefährlich zu betrachten und sollten daher wie ein infektiöses Agens behandelt werden. Andere potentiell infektiöse Materialien (z. B. Probensammelbehälter) müssen entsprechend den offiziellen Vorschriften entsorgt werden.

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- **IDK® TurbiFIT®** ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu befolgen, verwenden Sie Schutzkleidung, Einmalhandschuhe, Augenschutz und Maske. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken oder rauchen.

- Bei Gewährleistungsansprüchen, Beschwerden oder schwerwiegenden Vorkommnissen ist unverzüglich die Immundiagnostik AG zu benachrichtigen; spätestens jedoch innerhalb von 14 Tagen nach Auftreten des Problems. Bitte senden Sie das Produkt zusammen mit einer schriftlichen Stellungnahme (mit E-Mail, Adresse und Telefonnummer) an die Immundiagnostik AG.
- Bei sachgerechter Lagerung (2–8°C) garantiert die Immundiagnostik AG, nach dem ersten Öffnen, für die folgenden drei Monate und mindestens 20 Öffnungs-/Schließzyklen, keinen Aktivitätsverlust der Kitkomponenten.
- Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Schwerwiegende Vorfälle sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.

14. LITERATUR

1. Towler BP, Irwig L, Glasziou P, Weller D, Kewenter J. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2)CD001216.
2. Quail, M.A. et al. Fecal Calprotectin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756–759.
3. Ransohoff DF and Lang CA. Screening for colorectal cancer with the Fecal Occult Blood Test: a background paper. *Ann Intern Med.* 1997; 126: 811–822.
4. Ransohoff DF and Lang CA. Suggested technique for Faecal Occult Blood testing and interpretation in colorectal cancer screening. *Ann Intern Med.* 1997; 126: 808–810.

Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		

Manual

IDK[®] TurbiFIT[®]

*For the quantitative in vitro determination
of faecal occult blood in stool*

Valid from 2022-09-08



TU1031.1
TU1031.2
TU1031.8



100/200/800



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	15
2. INTRODUCTION	15
3. MATERIAL SUPPLIED	15
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED	16
5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS	16
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	16
<i>Sample storage and stability</i>	16
<i>Extraction of the stool samples</i>	17
7. ASSAY PROCEDURE	18
<i>Principle of the test</i>	18
<i>Test Procedure</i>	18
8. QUALITY CONTROL	19
<i>Reference Range</i>	19
9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	19
<i>Analytical sensitivity</i>	19
<i>Prozone</i>	20
<i>Clinical sensitivity and specificity</i>	20
<i>Interferences</i>	20
<i>Cross reactivity</i>	20
10. LIMITATIONS	21
11. PRECAUTIONS	21
12. DISPOSAL	22
13. GENERAL NOTES ON THE TEST	22
14. REFERENCES	23

1. INTENDED USE

IDK® TurbiFIT® assay 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 optimised for several automated analyser. For professional *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Colorectal cancer is the second leading cause of illness and death in the Western world. 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 can be detected. Colorectal cancer is also associated with local acute inflammatory reaction being visualised, 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. IDK® TurbiFIT® detects intact or nearly intact human haemoglobin, being a very specific technique for detecting loss of blood from the lower intestine.

3. MATERIAL SUPPLIED

Label	Kit components	Quantity for cat. no.		
		TU1031.1	TU1031.2	TU1031.8
Reagent 1	Reagent 1, ready-to-use	1 x 22 ml	2 x 22 ml	8 x 22 ml
Reagent 2	Reagent 2, ready-to-use	1 x 8 ml	1 x 13 ml	4 x 13 ml
CAL 0–5	Calibrators 0–5, ready-to-use	6 x 1 ml	6 x 1 ml	6 x 1 ml
CTRL 1	Control 1, ready-to-use	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml
CTRL 2	Control 2, ready-to-use	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml

The supplied reagents are in neutral tubes that are not compatible with the used analyser. Therefore, it is necessary to fill the corresponding reagents into compatible reagent vessels.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Sample collection container.
- Centrifuge, 3 000 g
- Vortex
- Calibrated precision pipettors (adjustable volume) and 10–1 000 µl single-use tips
- Disposable gloves and laboratory equipment.
- Automated analyser (list of compatible analysers on request from tech.support@immundiagnostik.com)
- Reagent vessels that are approved for the used analyser
- **IDK® TurbiTUBE®** for sample collection (cat. no.: TU0091.A)

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- All test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at 2–8 °C. Do not freeze any component of the kit. Keep away from direct sunlight.
- Always consider that the reagent containers must be properly closed to avoid any contamination.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Sample storage and stability

Collect a sufficient amount of human stool in a clean and dry container (no preservatives or transport media is necessary).

The raw stool samples can be stored at 2–8 °C for one day. If not immediately tested, stool samples can be frozen and stored at -20 °C for a maximum of 6 months. In this case, the sample must be totally thawed, and brought to room temperature (15–30 °C) before testing.

Stool samples must be homogenised as thoroughly as possible prior to preparation.

Extracted stool samples are stable at 2–8 °C for 7 days, as well as 7 days at room temperature.

Extraction of the stool samples

Stool Sample Application System (IDK® TurbiTUBE®) (cat. no.: TU0091.A)

Stool sample tube – Instructions for use

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

IDK® TurbiTUBE® with 1.5 ml sample extraction buffer:

Applied amount of stool:	15 mg
Buffer Volume:	1.5 ml
Dilution Factor:	1:100

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the **IDK® TurbiTUBE®** as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed. For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.
Hint: In case of liquid stool samples we recommend to pipette 15 µl of liquid sample into the tube.
- c) Vortex the tube well until no stool sample remains in the notches.
Important: Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with sample extraction buffer for ~ 10 minutes improves the result.
- d) Samples should be centrifuged for ~10 minutes at 3000g to obtain a sediment-free sample. Floating material such as grain shells can be neglected.
- e) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

IDK® TurbiFIT® is a latex turbidimetric assay for the quantitative detection of haemoglobin (faecal occult blood) in human stool samples.

The IDK® TurbiFIT® 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. Antigens contained in the sample bind with 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 maintain its clear appearance.

Test Procedure

Application notes with information on instrument-specific assay set-up, performance characteristics and application parameters will be provided by our Technical Support. For technical questions regarding the application as well as assay validation, please contact tech.support@immundiagnostik.com.

Preparation of the calibration curve

For calibration use only IDK® TurbiFIT® calibrator vials. They are ready-to-use liquid calibrators containing human haemoglobin at different concentrations. The exact concentrations are indicated on the label of each vial.

Calibration of the system at least once a month is highly recommended. The system must be recalibrated when the reagent lot is changed or when the controls are out of the assigned range (see the quality control protocol provided with the kit).

Label	Concentration	Lid Colour
CAL 0	0 ng/ml	Transparent
CAL 1	50 ng/ml	pink
CAL 2	100 ng/ml	purple
CAL 3	250 ng/ml	blue
CAL 4	500 ng/ml	brown
CAL 5	1 000 ng/ml	white
CTRL 1	Control 1*	green
CTRL 2	Control 2*	red

*The batch-dependent concentration is given by the quality control protocol.

8. QUALITY CONTROL

For quality control use only **IDK® TurbiFIT®** Control 1 (CTRL 1) and **IDK® TurbiFIT®** Control 2 (CTRL 2). These are two ready-to-use liquid controls containing different concentrations of human haemoglobin. The respective concentration for each vial is given by the product specification sheet.

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 extracted patient samples to validate the calibration curve.

If the obtained results are out of the tolerance range, the equipment, the reagents and the technique must be reviewed.

Since the sample dilution is already considered in the calibration curve, the dilution factor is 1.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

Reference Range

We recommend each laboratory to establish its own reference concentration range.

Reference range in stool samples

For colorectal cancer screening the following cut-off is estimated:

negative < 100 ng/ml bzw. < 10 µg/g

positive ≥ 100 ng/ml bzw. ≥ 10 µg/g

If the dilution factor is 100, the conversion factor is:

1 ng/ml = 0.1 µg/g

10 ng/ml = 1 µg/g

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity

Limit of Detection (LoD): **See application note.**

Prozone

Studies have been carried out to a concentration of 1 mg of human haemoglobin/g of stool and no false negative results have been observed. Studies using higher concentrations have not been carried out.

Data obtained by the analyser Biolis 24i (Tokyo Boeki).

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation with 100 stool samples was performed comparing a turbidimetric assay (**IDK® TurbiFIT®**) and another commercial immunoassay (Eiken FOB Latex®, EIKEN Chemicals, CO.LTD.). The results were as follows:

	Sensitivity	Specificity
IDK® TurbiFIT® vs Eiken FOB Latex®	95.7 %	90 %

In addition, a comparison of **IDK® TurbiFIT®** and **IDK® Hemoglobin ELISA** was performed, with 45 stool samples. The results were as follows:

	Sensitivity	Specificity
IDK® TurbiFIT® vs IDK® Hemoglobin ELISA	100 %	94 %

The results showed a high sensitivity and specificity to detect human haemoglobin (hHb) using **IDK® TurbiFIT®**.

Interferences

An evaluation was performed to determine the interferences of **IDK® TurbiFIT®**. No interferences were founded against other substances tested: BSA, Hemin, Ascorbic acid.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity against other faecal markers occasionally present in faeces, such as: human calprotectin, bovine and pig haemoglobin, bovine and human transferrin.

Cross reactivities were not found for bovine and pig haemoglobin at concentrations below 0.2 µg/ml, 0.9 µg/ml and 250 µg/ml, respectively. Thus, no cross reactivities were found at physiological concentrations.

10. LIMITATIONS

IDK® TurbiFIT® should only be used in human stool samples. IDK® TurbiFIT® must be used with properly extracted faecal samples.

The results obtained determine the concentration of human haemoglobin in faecal samples. A positive result should be contrasted with additional diagnostic procedures to determine the cause and source of the occult blood in stool.

If symptoms persist further diagnostic procedures should be carried out. Negative results do not exclude bleeding, as some polyps and types of colorectal cancer may bleed intermittently or not during certain stages of the disease.

This assay may be less sensitive for the detection of upper gastrointestinal bleeding as blood is degraded during the gastrointestinal passage.

Patients samples should not be collected during the menstrual cycle, if they have bleeding haemorrhoids, blood in urine or constipation.

11. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- A trained person in the turbidimetric technique and the use of the auto-analyser is required. Manual application of the test kit is not possible.
- 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.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- Reagents should not be used if the primary packaging is damaged or opened.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Only **new** empty reagent vessels are strictly recommended, because washed or recycled/reused reagent vessels may influence the test result.
- As a precaution, it is recommended that the human material used is always considered potentially infectious.

12. DISPOSAL

- Liquid test components, pipets tips, tubes etc. are to be treated as ordinary laboratory waste, unless otherwise stated. The solutions should be discarded in a proper container after testing following local regulations.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. Other potentially infectious materials (e.g. sample collection container) must be disposed in accordance with official regulations.

13. GENERAL NOTES ON THE TEST

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, eye protection and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- In the event of warranty claims, notifications of defects or serious incidents, notify Immundiagnostik AG immediately, but at the latest within 14 days after the problem occurring. Please send the product together with a written complaint (including e-mail, address and telephone number) to Immundiagnostik AG.
- If stored properly (2–8°C), Immundiagnostik AG guarantees, after the first opening, no loss of activity of the kit components for the following three months and at least 20 opening-closing cycles.
- Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- **IDK® TurbiFIT®** is a trademark of Immundiagnostik AG.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.

14. REFERENCES

1. Towler BP, Irwig L, Glasziou P, Weller D, Kewenter J. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2)CD001216.
2. Quail, M.A. et al. Fecal Calprotectin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756–759.
3. Ransohoff DF and Lang CA. Screening for colorectal cancer with the Fecal Occult Blood Test: a background paper. Ann Intern Med. 1997; 126: 811–822.
4. Ransohoff DF and Lang CA. Suggested technique for Faecal Occult Blood testing and interpretation in colorectal cancer screening. Ann Intern Med. 1997; 126: 808–810.

Used symbols:



Temperature limitation



Catalogue number



In Vitro Diagnostic Medical Device



To be used with



Manufacturer



Contains sufficient for <n> tests



Lot number



Use by



Attention



Consult instructions for use



Consult specification data sheet

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

