

VERWENDUNGSZWECK

Der D.D. FOB Kassettentest ist ein visueller, immunochromatographischer Schnelltest für den qualitativen Nachweis von menschlichem Hämoglobin in Stuhlproben (fecal occult blood = FOB). Der Test dient als diagnostisches Hilfsmittel, um Krankheiten des unteren Gastrointestinaltrakts zu untersuchen. Er ist ausschließlich für die professionelle In-vitro-diagnostische Anwendung vorgesehen.

HINTERGRUND

Der D.D.FOB Test dient dem Screening von Patienten auf Krankheiten des unteren Gastrointestinaltrakts wie Darmkrebs oder größere blutende Adenome mit einer Nachweisgrenze von 60 ng/ml (6 µg/g Stuhl). Darmkrebs ist einer der am häufigsten diagnostizierten Krebsarten und eine der häufigsten Ursachen für Krebsstod. Durch Tests auf okkultes Blut im Stuhl kann man Darmkrebs frühzeitig erkennen und somit die Sterblichkeitsrate vermindern.

Frühere Tests auf okkultes Blut im Stuhl benutzen die Guajak Methode, die eine spezielle Diät erfordert, um falsch positive und falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Der hochspezifische D.D. FOB Test ist deshalb entwickelt worden, um menschliches Hämoglobin in Stuhlproben ohne eine vorausgehende Diät nachzuweisen. Der Test basiert auf einer immunochemischen Methode, die durch höhere Sensitivität und Spezifität den Nachweis von Krankheiten im Dickdarmbereich (z.B. Darmkrebs und Adenome) gegenüber den klassischen Guajak-Tests verbessert.

TESTPRINZIP

Der D.D. FOB Test ist ein immunologischer Sandwichimmunoassay, der für den Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben entwickelt wurde. Die Anwesenheit von Hämoglobin ab einer Nachweisgrenze von 60ng/ml wird durch eine spezifische Farbentwicklung angezeigt, die visuell ausgewertet werden kann.

In diesem Test wird FOB mit Hilfe spezifischer Antikörper gegen Hämoglobin nachgewiesen.

Nach Zugabe der Probe (Stuhl in Puffer verdünnt) bindet ein farbmarkierter Antikörper spezifisch an das Hämoglobin, wenn es in der Probe vorhanden ist. Während der Komplex durch Kapillarkräfte auf der Membran entlang wandert, wird er mit Hilfe eines anderen spezifischen Antikörpers auf der Testergebnislinie des Tests abgefangen. Eine rote Testergebnislinie bildet sich. Enthält das Probenmaterial kein Hämoglobin, bildet sich in der T-Region keine Linie aus, weil der farbmarkierte Antikörper nicht reagieren kann. Deswegen zeigt eine rote Linie in der Testregion ein positives Ergebnis an, während sie bei einem negativen Ergebnis nicht auftaucht. Zusätzlich bildet sich in der Kontrolllinienregion C jedes Tests eine rote Linie aus, die unabhängig von der Hämoglobinkonzentration des Probenmaterials gebildet wird. Sie dient als Funktionskontrolle für einen korrekten Testablauf und zeigt an, dass Probenzugabe und Probenwanderung korrekt erfolgt sind.

AUFBAU DER TESTKASSETTE

In dem Plastikgehäuse der Testkassette befindet sich der Teststreifen. Auf der rechten Seite der Abbildung ist die runde Probenaufnahmeöffnung zu erkennen, in die das Probenmaterial getropft wird. Das Reaktionsfeld befindet sich in der Mitte der Kassette. Sie können die weiße Membran erkennen, auf der die Linie(n) nach Zugabe der Probe erscheinen wird. In der Abbildung sind die Testergebnislinienregion (T) und die Kontrolllinienregion (C) durch Ellipsen markiert.



Probenaufnahmeöffnung für in Puffer gelöste Stuhlprobe

Reaktionsfeld mit der Testergebnislinienregion- (T) und der Kontrolllinienregion (C) mit Ellipsen markiert

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- einzeln verpackte Testkassetten
- Probennahmeröhrchen mit ca. 2 ml Extraktionspuffer
- Bedienungsanleitung
- Stuhlfänger
- Patientenanleitungen
- Druckverschlussbeutel

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Saugfähiges Papiertuch um Spritzer beim Abrechen der Röhrenspitze zu vermeiden
- Stoppuhr

BITTE BEACHTEN

- Nur für den professionellen in-vitro-diagnostischen Gebrauch
- Nur zum Einmal-Gebrauch
- Den Test nicht nach Ablauf des Verfallsdatum verwenden oder wenn der Schutzbeutel Beschädigungen aufweist.
- Keine Probennahmeröhrchen verschiedener Chargen vermischen.
- Die Verpackung des Tests erst öffnen, wenn der Test tatsächlich durchgeführt wird. Luftfeuchtigkeit kann den Test negativ beeinflussen.
- Berührungen der Membran auf der Testkassette mit den Fingern oder mit Flüssigkeiten vermeiden.
- Vermeiden Sie Kreuzkontaminationen, indem sie für jede Stuhlprobe ein eigenes Sammelbehältnis und Probennahmeröhrchen verwenden.
- Alle Proben von Patienten sollten so behandelt werden, als ob sie Krankheiten übertragen könnten. Geeignete Schutzmaßnahmen zum Umgang und zur Entsorgung der Proben sollten getroffen werden. Laborkleidung, Handschuhe und Augenschutz werden empfohlen. Essen, Trinken und Rauchen sind in dem Bereich, in dem Probenmaterial bearbeitet wird, untersagt.
- Die Extraktionslösung enthält geringe Mengen von Natriumazid. Um bei Kupfer- oder Bleileitungen einen Aufbau explosiver Metallazide zu vermeiden, sollte mit reichlich Wasser nachgespült werden, falls die Lösung über den Abfluss entsorgt wird.
- Stellen sie sicher, dass die Patienten den Anweisungen für die Probengewinnung genauestens folgen.
- Bitte folgen Sie der Gebrauchsanleitung, um zuverlässige Testergebnisse zu erhalten.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Der Test sollte im geschlossenen Beutel gekühlt (2-8 °C) oder bei Raumtemperatur (maximal 30 °C) bis zum angegebenen Verfallsdatum aufbewahrt werden. Einfrieren und Lagerung oberhalb von 30 °C sollte vermieden werden.

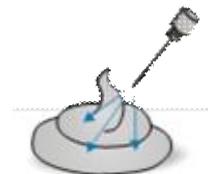
PROBENNAHME, -VORBEREITUNG UND -LAGERUNG

Patientinnen sollten während der Menstruation keine Stuhlproben nehmen. Bei blutenden Hämorrhoiden, Blut im Urin, rektal verabreichten Medikamenten oder Verstopfung mit sehr hartem Stuhl, der Verletzungen verursachen kann, sollten ebenfalls keine Stuhlprobe genommen werden. Bitte beachten Sie, dass die Einnahme von Medikamenten zur „Blutverdünnung“ oder die Einnahme eisenhaltiger Präparate ebenfalls zu erhöhten Hämoglobinwerten im Stuhl führen kann.

1. Sammeln Sie den Stuhl mit Hilfe eines Stuhlfängers oder eines trockenen sauberen Behältnisses, um die Vermischung mit Bestandteilen des Toilettenwassers (Putzmittel) oder Urin zu vermeiden.
2. Halten Sie das Probennahmeröhrchen aufrecht, mit der weißen Kappe nach unten, und schrauben Sie die blaue Verschlusskappe auf. Entnehmen Sie die Kappe mit dem daran befestigten Probennehmer. Vergewissern Sie sich, dass keine Pufferlösung aus dem Röhrchen ausläuft.



3. Stechen Sie den Spiralstab an drei verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe. Benutzen sie das Stäbchen nicht, um Stuhl in das Röhrchen zu schaufeln. Die Menge Stuhl, die an den Rillen des Stäbchens kleben bleibt, ist ausreichend.



4. Geben Sie den Probennehmer mit der Stuhlprobe ins Röhrchen und verschließen dieses gut.
5. Die Probe ist nun bereit, um aufbewahrt, transportiert oder untersucht zu werden. Die Probe sollte so schnell wie möglich untersucht werden, kann aber bei Bedarf gekühlt bis zu 7 Tage gelagert werden. Die Probe sollte in einem luftdichten Behältnis (z.B. Plastikbeutel) aufbewahrt werden.

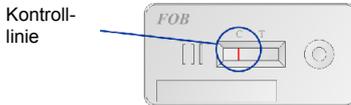
Schnelltest zum Nachweis von menschlichem Hämoglobin im Stuhl. (fecal occult blood=FOB)
Produkt-# 21.022

Es wird empfohlen die Probe bis zur Testdurchführung bei 2-8 °C zu lagern. Eine kurze Erwärmung auf Temperaturen bis zu 30 °C, z.B. während des Transports, führt zu keiner Beeinträchtigung des Probenmaterials.

DURCHFÜHRUNG DES TESTS

Qualitätskontrolle/ interne Verfahrenskontrolle

Der Test beinhaltet eine Verfahrenskontrolle. Eine farbige Linie, die in der Kontrollregion erscheint zeigt an, dass der Test richtig durchgeführt wurde.



Hinweis

Beim Testen von Kontrollmaterial in Puffer entfärbt sich der Hintergrund des Tests in der Regel innerhalb von 5 Minuten. Beim Testen von Stuhlproben kann der Hintergrund auf Grund der Färbung des Stuhls gelblich erscheinen. Dies ist akzeptabel, solange es nicht die Auswertung des Testergebnisses beeinträchtigt. Der Test ist ungültig, wenn durch die Verfärbung des Hintergrundes ein klares Ablesen des Ergebnisses nicht möglich ist.

VORGEHENSWEISE

1. Die Testkassette und die extrahierte Probe des Patienten sollten vor dem Testen auf Raumtemperatur (15°C bis 30°C) gebracht werden.
2. Bringen Sie die Kassette im geschlossenen Folienbeutel auf Raumtemperatur, um Feuchtigkeitsablagerungen in der Membran zu vermeiden. Nehmen Sie die Testkassette erst aus der Verpackung, wenn Sie den Test durchführen. Markieren Sie die Kassette mit dem Namen des Patienten oder einem anderen Identifikationsmerkmal.
3. Schütteln Sie das Stuhlprobenröhrchen sorgfältig, um sicher zu gehen, dass sich die Stuhlprobe richtig mit der Extraktionslösung vermischt.
4. Entfernen Sie die weiße Schutzkappe. Nehmen Sie ein Papiertuch und brechen Sie die Spitze des Röhrchens mit einer drehenden Bewegung ab. Halten Sie das Probennehmeröhrchen senkrecht nach unten und geben Sie 3 Tropfen der Lösung (ca. 120 µl) in die runde Probenaufnahmeöffnung der Kassette, indem Sie das Röhrchen vorsichtig eindrücken. Starten sie die Stoppuhr.
5. Lesen Sie das Ergebnis nach 5 Minuten ab. Stark positive Ergebnisse können schon früher ausgewertet werden. Ergebnisse sollten nicht später als nach 10 Minuten abgelesen werden.

AUSWERTUNG DER TESTERGEBNISSE

Positiv:

Zwei rosa-rote Linien erscheinen; eine in der Kontrollregion (C) und eine in der Testregion (T). Wenn Sie stark positive Proben testen, kann die Intensität der Kontrolllinie schwächer sein. Es wird nicht empfohlen die Intensität der Linien zu vergleichen.



Negativ:

Nur eine rosa-rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C) keine Linie in der Testregion (T).



Ungültig:

Die Linie in der Kontrollregion (C) erscheint nicht. In diesem Fall ist das Ergebnis ungültig, selbst wenn die Linie in der Testregion vorhanden ist. Wenn die Kontrolllinie nicht erscheint, ist das ein Zeichen, dass der Test nicht richtig funktioniert, oder dass die Testmaterialien nicht in Ordnung sind. Wiederholen Sie den Test in diesem Fall mit einer neuen Testkassette oder kontaktieren Sie den Hersteller.



EINSATZBEREICH

1. Der Test wird für die qualitative Ermittlung von menschlichem Hämoglobin in Stuhlproben benutzt. Ein positives Ergebnis entsteht, wenn menschliches Hämoglobin in der Probe vorhanden ist. Neben Darmbluten kann Blut im

Stuhl auch andere Ursachen haben, wie z.B. Hämorrhoiden oder die Vermischung der Stuhlprobe mit bluthaltigem Urin (siehe auch das Kapitel „Probennahme“).

2. Nicht alle Darmblutungen entstehen durch gutartige oder bösartige Polypen. Die Daten, die Sie durch diesen Test erhalten, sollten zusammen mit anderen klinischen Testmethoden wie z.B. Koloskopie überprüft werden.
3. Negative Ergebnisse können die Existenz von Polypen und Darmkrebs nicht ausschließen, da einige Polypen intermittierend sind oder gar nicht bluten. Außerdem ist Blut nicht einheitlich in Stuhlproben verteilt. **Eine Wiederholung des Tests an 2 oder 3 aufeinanderfolgenden Tagen erhöht die Sensitivität um 30% (2 Tage) bis 50% (3Tage).**
4. Urin, WC - Reiniger und übermäßige Verdünnung von Proben mit Wasser aus dem Toilettenbecken können falsche Testergebnisse verursachen. Es empfiehlt sich daher die Verwendung des Stuhlfängers.
5. Stuhlproben sollten nicht während der Menstruation bzw. 3 Tage davor und danach, bei verstopfungsbedingten Blutungen, blutenden Hämorrhoiden oder bei rektaler Medikamentengabe entnommen werden. Dies könnte zu falsch-positiven Ergebnissen führen.
6. Dieser Test ist weniger sensitiv beim Nachweis von Blutungen im Dünndarmbereich, da eine Resorption des Blutes im weiteren Verlauf des Darms stattfinden kann.
7. **Eine verlängerte Ablesezeit bis zu 15 min kann zu einer Sensitivitätssteigerung führen.**

Folgende nicht mit Krebs verbundene Faktoren können Blut im Stuhl verursachen:

1) Eisen

Nahrungsergänzungsmittel mit Eisen führen zu vermehrter Abgabe von Blut in den Darm. Eisen selber beeinträchtigt den Test nicht. (10)

2) Acetylsalicylsäure (ASA)

ASA ist ein Hauptbestandteil vieler Medikamente gegen Kopfschmerzen (z.B. Aspirin® von Bayer) und wird manchmal als Ersatz für Macumar als Blutverdünner verwendet. (9)

3) Cumarin

Cumarin (z.B. Macumar®) ist ein Medikament zur Vorbeugung gegen Herzinfarkt, Thrombosen und Schlaganfall. Genau wie ASA verdünnen Cumarine das Blut. Fast immer sind kleine Mengen Blut im Stuhl gesunder Menschen vorhanden. Diese Mengen liegen weit unterhalb der Sensitivität des D.D. FOB-Tests und haben nichts mit Krebs oder einer anderen ernsthaften Erkrankung zu tun. Bei Patienten, die Blutverdünner einnehmen, können die Blutungen intensiver sein. Dann ist es möglich, dass die Nachweisgrenze des D.D. FOB Tests erreicht wird.

4) Hämorrhoiden

Hämorrhoiden können bluten. Deshalb kann eine Stuhlprobe Blut enthalten, das nichts mit Krebs zu tun hat.

5) Menstruation

Kleine Mengen Menstruationsblut können in die Stuhlprobe geraten. Auch dieses Blut hat nichts mit Krebs zu tun.

6) Urin

Verschiedene Krankheiten verursachen Blut im Urin. Stuhlproben sollten nicht mit Urin in Berührung kommen, damit kein Blut aus dem Urin nachgewiesen wird.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität

Eine Probe, die menschliches Hämoglobin mit einer Konzentration von ca. 6 µg Hämoglobin/g Stuhl (= 60 ng Hämoglobin/mL Puffer nach Extraktion) beinhaltet, erzeugt ein positives Ergebnis. In einigen Fällen können Proben, die menschliches Hämoglobin mit einer Konzentration von weniger als 6 µg/g Stuhl beinhalten, noch als positiv getestet werden.

Prozon- bzw. Hook-Effekt:

Proben mit Konzentrationen von 0,5 mg/ml Puffer können positiv getestet werden. Der D.D. FOB Test zeigt keinen „high dose Hook-Effect“ oder Prozon-Effekt bis zu einer maximalen physiologischen Konzentration (500.000 ng/ml=0,5 mg/ml).

Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Die Tests wurden mit drei verschiedenen Stuhlproben mit jeweils 60 und 100 ng/ml und 10 µg/ml durchgeführt. Alle Konzentrationen wurden mit 15 Wiederholungen bei drei unabhängigen Chargen getestet. Die Ergebnisse wurden nach 5 Minuten abgelesen. Alle Tests ergaben die erwarteten richtig positiven Ergebnisse. Es konnten keine Abweichungen der Tests einer Chargennummer (Intra-Lotvarianz) oder zwischen den Tests verschiedener Chargennummern (Inter-Lotvarianz) festgestellt werden.

Analytische Spezifität

Der D.D. FOB Test ist spezifisch für menschliches Hämoglobin und zeigt keine Kreuzreaktivität mit einer Konzentration von bis zu 10 µg/ml mit dem Hämoglobin von Rind, Schwein, Pferd, Ziege, Huhn und Kaninchen.

Der D.D. FOB Test zeigt ebenfalls keine Kreuzreaktivität mit Bilirubin, Albumin, Kreatinin, Merrettich Peroxidase, Vitamin C, Niacin, Vitamin E, Pantothensäure, Vitamin B6, Vitamin B2, Vitamin B1, Folsäure, Biotin, Vitamin B12, Calcium, Kalium, Magnesium, Paracetamol und Kodeinphosphat.

TESTGENAUIGKEIT

Der D.D. FOB Test wurde mit klinischen Proben gegen einen anderen zugelassenen, kommerziell erhältlichen Schnelltest verglichen:

Method	Results	Other Rapid Test		Total Results
		Positive	Negative	
FOB rapid test cassette	Positive	189	4	193
	Negative	10	802	812
Total results		199	806	1005

Relative Sensitivität: $189/199=95\%$ (95% CI*: 91%-97,6%)

Relative Spezifität: $802/806=99,5\%$ (95% CI*: 98,7%-99,9%)

Genauigkeit: $(189+802)/(189+10+4+802)=98,6\%$ (95% CI*: 97,7% - 99,2%)

*Confidence Intervals

LITERATUR

1. L Hol, JA Wilschut, M van Ballegooijen et al.: Screening for colorectal cancer: random comparison of guaiac and immunochemical faecal occult blood testing at different cut-off levels
2. D J Frommer, A Kapparis, M K Brown: Improved screening for colorectal cancer by immunological detection of occult blood
3. Salah H Elsafi, Norah I Alqahtani, et al.: The sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios of fecal occult blood test for the detection of colorectal cancer in hospital settings
4. Yamamoto M, Nakama H: Cost-effectiveness analysis of immunochemical occult blood screening for colorectal cancer among three fecal sampling methods
5. Blackshear JL, Baker VS, Holland A. et al.: Fecal hemoglobin excretion in elderly patients with atrial fibrillation: combined aspirin and low-dose warfarin vs conventional warfarin therapy
6. <http://www.livestrong.com/article/371014-iron-supplements-causing-blood-in-stools/>

SYMBOLERLÄUTERUNGEN

	Nur für <i>in-vitro</i> diagnostische Zwecke		Nur zum Einmalgebrauch
	Inhalt		Verfallsdatum
	Chargennummer		Lagertemperatur
	Hersteller		Gebrauchsanleitung beachten

Rev1.0 (DE) 25-01-2016