



FOB Pro+

Testkassette zum Nachweis von Hämoglobin aus Stuhlproben (Fecales Okkultes Blut)

20 Testkassetten Kat Nr: 12035

ANWENDUNG

Der Proline FOB Pro+ 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 wie Darmkrebs zu untersuchen.

HINTERGRUND

Der Darmkrebs ist einer der am häufigsten diagnostizierten Krebsarten und eine der häufigsten Ursachen für Krebsstod (Lieberman, 1994; MMWP, 1995). Durch Tests auf okkultes Blut im Stuhl kann man Darmkrebs frühzeitig erkennen und somit die Sterblichkeitsrate vermindern (Dam et. al., 1995; Miller, 1995; und Lang, 1996).

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 FOB Pro+ ist deshalb entwickelt worden, um menschliches Hämoglobin in Stuhlproben nachzuweisen. Der Test basiert auf einer immunochemischen Methode, die durch höhere Sensitivität und Spezifität den Nachweis von Krankheiten im Dickdarmbereich gegenüber den klassischen Guajak-Tests verbessert (Frommer et. al., 1988; St. John et. al., 1993).

TESTPRINZIP

Der Proline FOB Pro+ Kassettentest ist ein immunologischer Sandwich-Immunoassay, der für den Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben entwickelt wurde. Die Anwesenheit von Hämoglobin wird durch eine spezifische Farbentwicklung angezeigt, die visuell ausgewertet werden kann.

Im Bereich der Testergebnislinie (T-Region) ist die Membran des Tests mit einem anti-Hämoglobin-Antikörper beschichtet. Ein zweiter anti-Hämoglobin-Antikörper, der mit Goldkolloid konjugiert ist, um eine rötliche Färbung zu erhalten, liegt unterhalb der Membran vor. Wenn die im Puffer gelöste Stuhlprobe Hämoglobin enthält, bildet es mit dem goldkonjugierten Antikörper einen Komplex. Steigt die Flüssigkeit durch Kapillarkraft die Membran hoch, wird dieser Komplex von dem immobilisierten Antikörper in der T-Region abgefangen und eine rote Linie entsteht. Eine rote Linie in der T-Region zeigt deshalb ein positives Testergebnis und somit die Anwesenheit von Hämoglobin im Probenmaterial an.



Reaktionsfeld mit der T und C Region

Probenaufnahmeöffnung

Enthält das Probenmaterial kein Hämoglobin, bildet sich in der T-Region keine Linie aus.

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 die Probe ordnungsgemäß über die Membran geflossen ist.

MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- 20 einzeln verpackte Testkassetten
- 1 Bedienungsanleitung

BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Saugfähiges Papier zur Vermeidung von Spritzern beim Abbrechen der Röhrendspitze
- Stoppuhr oder Timer

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

- Der Test kann bei 2-30°C bis zum Verfallsdatum, das auf der versiegelten Verpackung aufgedruckt ist, gelagert werden.
- Der Test muss bis zur Verwendung in der versiegelten Verpackung bleiben.
- Nicht einfrieren!
- Achten Sie darauf, die Testbestandteile vor Verunreinigungen zu schützen. Gebrauchen Sie den Test nicht, wenn es Anzeichen für mikrobielle Kontamination oder Ablagerungen gibt. Biologische Kontamination der verwendeten Pipetten, Röhrenden oder der Reagenzien kann zu falschen Ergebnissen führen.

BITTE BEACHTEN

- Für den professionellen In-vitro Gebrauch
- Den Test nicht nach dem Verfallsdatum verwenden, das auf der Verpackung aufgedruckt ist. Verwenden Sie den Test nicht, wenn der Schutzbeutel Beschädigungen aufweist. Gebrauchen Sie den Test nur einmal!
- Dieses Testkit enthält Produkte tierischen Ursprungs. Die bestätigte Kenntnis über die Herkunft und /oder den Gesundheitszustand der Tiere kann nicht vollständig die Abwesenheit von übertragbaren pathogenen Erregern garantieren. Deswegen wird empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu behandeln, indem man gebräuchliche Sicherheitsvorkehrungen beachtet (z.B. nicht zu sich nehmen oder inhalieren).
- Vermeiden Sie Kreuzkontaminationen, indem Sie für jede Probe ein neues Pufferrohrchen verwenden.
- Bitte lesen Sie die Gebrauchsanleitung sorgfältig, bevor Sie den Test durchführen.
- Nicht in der Umgebung der Testdurchführung Rauchen, Essen oder Trinken. Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösem Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten. Behandeln Sie die Proben so, als ob sie infektiöses Material enthalten würden. Alle kontaminierten Abfälle wie Testkassette und Extrakte sind ordnungsgemäß zu entsorgen. Tragen Sie Laborschutzbekleidung wie Kittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille bei der Testdurchführung.
- Der Extraktionspuffer enthält geringe Mengen von Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer zu potentiell explosiven Metallaziden reagieren kann. Beim Entsorgen der Lösungen immer reichlich Wasser nachspülen, um die Azidbildung zu vermeiden.
- Feuchtigkeit und hohe Temperaturen können das Testergebnis beeinflussen.
- Verwendete Testmaterialien sollten nach den lokalen Regelungen entsorgt werden.

PROBENAHME, VORBEREITUNG UND LAGERUNG

- Der Proline FOB Pro+ Kassettentest wurde nur für die Analyse von Stuhlproben entwickelt.
- Patienten sollten während der Menstruation keine Stuhlproben nehmen. Bei blutenden Hämorrhoiden, Blut im Urin, oder Verstopfung mit sehr hartem Stuhl, der Verletzungen verursachen kann, sollten ebenfalls keine Stuhlprobe genommen werden.
- Alkohol, Aspirin oder Einnahme von Medikamenten kann ebenfalls zu Irritationen im Gastrointestinaltrakt und damit zu erhöhten Hämoglobinwerten im Stuhl führen. Solche Substanzen sollten 48 Stunden vor der Testdurchführung abgesetzt werden.
- Es ist keine besondere Diät vor der Testdurchführung erforderlich.
- Wenn Proben versandt werden, sollten Sie in Übereinstimmung mit den Landesbestimmungen für den Transport infektiöser Materialien verpackt werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

- Eine interne Prozesskontrolle ist im Test enthalten. Die farbige Linie in der Kontrollregion (C) ist die interne positive Prozesskontrolle. Sie bestätigt, dass ein ausreichendes Probenvolumen vorhanden war und dass der Test korrekt durchgeführt wurde.
- Externe Kontrollen sind nicht im Test Kit enthalten. Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von positiven und negativen Kontrollen zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Testsets.

DURCHFÜHRUNG DES TESTS

Alle Tests, Proben, Reagenzien und/oder Kontrollen sollten vor der Testdurchführung Raumtemperatur (15-30°C) haben.

1. Probennahme und -vorbehandlung: REF12014

- Verwenden Sie die Stuhlfänger, die in dem Test Kit (REF12014) enthalten sind. Folgen Sie den Anweisungen auf dem Stuhlfänger. Andere saubere, trockene Behälter können ebenfalls zur Probennahme verwendet werden.
- Schrauben Sie das Pufferrohrchen (REF12014) am hellblauen Ende auf und holen Sie den Stab heraus. Achten Sie darauf, keine Lösung aus dem Röhrenden zu verschütten oder zu verspritzen. Stechen Sie den Spiralstab an drei verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe.
- Geben Sie den Probennehmer mit der Stuhlprobe ins Röhrenden und verschließen dieses gut.

- Schütteln Sie das Pufferröhrchen sorgfältig, um sicher zu gehen, dass sich die Stuhlprobe vollständig mit der Extraktionslösung vermischt hat. 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 bis zu 7 Tage gelagert werden. Die Probe sollte in einem luftdichten Behältnis (z.B. Plastikbeutel) aufbewahrt werden. 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.

2. Testdurchführung

- Öffnen Sie die Verpackung der Testkassette und legen Sie sie auf eine saubere ebene Oberfläche. Beschriften Sie die Kassette mit Patienten- oder Kontrollnummer. Die besten Ergebnisse erhalten Sie, wenn Sie den Test innerhalb einer Stunde durchführen.
- Schrauben Sie die weiße Kappe am Pufferröhrchen ab. Nehmen Sie ein Papiertuch und brechen die Spitze des Röhrchens ab. Halten Sie das Röhrchen senkrecht und geben Sie 3 Tropfen der Lösung in die runde Probenaufnahmeöffnung der Kassette.

Vermeiden Sie eingeschlossene Luftblasen in der Probenöffnung, und geben Sie keine Lösung in das Ergebnisfenster der Kassette.

- Warten Sie, bis (eine) gefärbte Linie(n) auftaucht. Das Ergebnis lesen Sie bitte innerhalb von 5 Minuten ab. Keine Auswertung mehr nach 10 Minuten Reaktionszeit durchführen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis (Blut im Stuhl nachweisbar):



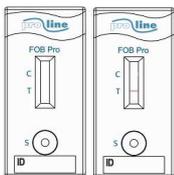
Zwei gefärbte Linien erscheinen auf der Membran, eine in der Kontrollregion (C), die andere in Testregion (T).

Negatives Ergebnis (kein Blut im Stuhl nachweisbar):



Nur 1 rosa-rote Linie erscheint in der Kontrolllinienregion (C). Keine Linie ist in der Testergebnislinienregion (T) zu erkennen.

Ungültiges Ergebnis:



Wenn die Kontrolllinie (C) nicht ausgebildet wird, ist das Testergebnis ungültig auch wenn die Testergebnislinie erkennbar ist. Das Fehlen der Kontrolllinie deutet auf einen Fehler in der Testdurchführung hin oder ist ein Zeichen dafür, dass Bestandteile des Tests nicht mehr funktionieren. Wiederholen Sie den Test mit einer neuen Testkassette. Bleibt das Problem bestehen, kontaktieren Sie bitte den Hersteller für technische Unterstützung.

EINSCHRÄNKUNGEN DER METHODE

1. Der Proline FOB Pro+ ist nur für den professionellen In-vitro-diagnostischen Einsatz gedacht und wird für den qualitativen Nachweis von menschlichem Hämoglobin in Stuhlproben benutzt.
2. **Eine verlängerte Ablesezeit bis zu 15 min kann zu einer Sensitivitätssteigerung des Tests bis zu 10 ng/ml führen.**
3. Bitte beachten Sie, dass Blut im Stuhl neben Darmbluten auch andere Ursachen haben wie z.B. Hämorrhoiden, Blut im Urin oder Magenreizungen.
4. Negative Ergebnisse können die Existenz von Polypen und Darmkrebs nicht ausschließen, da einige Polypen und Darmkrebsarten intermittierend oder gar nicht bluten. Außerdem kann es sein, dass das Blut nicht einheitlich in der Stuhlprobe verteilt ist. Im frühen Stadium bluten Darmpolypen häufig noch nicht.
5. Urin und oder eine übermäßige Verdünnung von Proben mit Wasser aus dem Toilettenbecken können falsche Testergebnisse verursachen.

6. Dieser Test ist für den Nachweis von Blutungen im Dünndarmbereich nur bedingt geeignet, da Hämoglobin während der Darmpassage abgebaut wird.
7. Nicht alle Darmblutungen werden durch gutartige oder bösartige Polypen hervorgerufen. Wie bei allen Schnelltests sollte das Testergebnis nicht als alleinige Grundlage einer Diagnose dienen, sondern sollte vor dem Hintergrund aller klinischen Befunde und Untersuchungsdaten durch einen Arzt bewertet und ggf. durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

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 (ASS)

ASS 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 DIMA 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 der cut-off des DIMA 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) Urinproben

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

ANALYTISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

A) Analytische Sensitivität

Eine Probe, die menschliches Hämoglobin mit einer Konzentration von ca. 2 µg Hämoglobin/g Stuhl (= 40 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 2 µg/g Stuhl beinhalten, noch als positiv getestet werden.

Prozon- bzw. Hook-Effekt:

Proben mit Konzentrationen von 1.250 µg Hämoglobin/g Stuhl (5,0 mg/ml Puffer) können positiv getestet werden. Der Proline FOB Test zeigt keinen „high dose Hook-Effect“ oder Prozon-Effekt bis zu einer maximalen physiologischen Konzentration (100.000 ng/ml=0,1 mg/ml). Das heißt, der Gültigkeitsbereich ist von 40 ng/ml bis 100.000 ng/ml Puffer, oder 2µg bis 250µg Hämoglobin/ g Stuhl.

B) Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Puffer wurde mit Konzentrationen von 0, 100 und 1000 ng/ml Hämoglobin versetzt und von drei unabhängigen Probanden untersucht. Zwei von ihnen waren erfahrene professionelle Anwender, während einer von ihnen eine ungeübte Person war, die nur ab und zu einen Schnelltest auswertet (vergleichbar mit einer Arzthelferin). Alle Konzentrationen wurden mit 10 Wiederholungen bei drei unabhängigen Chargennummern getestet. Die Ergebnisse wurden nach 5 Minuten abgelesen. Alle Tests ergaben die erwarteten richtig negativen (0 ng/ml) bzw. richtig positiven (100 und 1000 ng/ml) Ergebnisse. Es konnten keine Abweichungen der Tests einer Chargennummer (Intra-Lotvarianz), zwischen den Tests verschiedener Chargennummern (Inter-Lotvarianz) oder zwischen den drei Anwendern festgestellt werden.

C) B. Analytische Spezifität

Der Proline FOB+ Test ist spezifisch für menschliches Hämoglobin und zeigt keine Kreuzreaktivität mit dem Hämoglobin von Rind und Schwein mit einer Konzentration von bis zu 10 µg/ml, und mit dem Hämoglobin von Pferd und Schaf mit einer Konzentration von bis zu 0,5 mg/ml.

Der Proline 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.

D) Diagnostische Sensitivität

Verglichen mit der Diagnose, die man durch Kolonoskopie erhält, zeigt der Proline FOB Test folgende Daten:

Alle Adenome wurden mit einer Sensitivität von 35,8 % nachgewiesen. Die Sensitivität des Guajak basierten Tests war 5,4 %.

Die Spezifität des Tests bei Patienten mit einer negativen Kolonoskopie betrug 81,9 %.

LITERATUR

1. Dam, J.V., et. al.; Fecal Blood Screening or Colorectal Cancer; Archive of Internal Medicine; (1995) 155:2389-2402
2. Frommer, D.J. et. al.; Improved Screening for Colorectal Cancer by Immunological Detection of Occult Blood; British Medical Journal; (1988) 296:1092-1094
3. Lieberman, D.; Screening/Early Detection Model for Colorectal Cancer, Why Screen? Cancer Supplement; (1994) 74(7) : 2023-2027
4. Miller, A.B.; An Epidemiological Perspective on Cancer Screening; Clinical Biochemistry (1995) 28(1) : 41-48
5. Ransohoff, D.F. and Lang, C.A.; Improving the Fecal Occult- Blood Test: The New England Journal of Medicine; (1996) 334 (3) : 189-190
6. Screening for Colorectal Cancer-United States, 1992-1993, and New Guidelines; Mobility and Mortality Weekly Report; (1995) 45 (5): 107-110
7. St. John, D.J.B., et. al.; Evaluation of New Occult Blood Test for Detection of Colorectal Neoplasia; Gastroenterology; (1993) 104:1661-1668
8. Yamamoto M.; Nakama H.; Cost-effectiveness analysis of immunochemical occult blood screening for colorectal cancer among three fecal sampling methods: Hepatogastroenterology; 2000 Mar-Apr; 47(32):396-9.
9. Blackshear, J.L., Baker, V.S.; Holland, A.; Litin, S.C.; Ahlquist, D.A.; Hart, R.G.; Ellefson, R.; Koehler, J. Fecal hemoglobin excretion in elderly patients with atrial fibrillation : combined aspirin and low-dose warfarin vs conventional warfarin therapy; Archives of internal medicine; (1996) 156 No.6: 658-660.
10. <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 |

Rev: 21102014

Promeditech GmbH
Bleiche 5
D-21423 Winsen

Tel: +49-(0)-4171-6016918
Fax: +49-(0)-4171-6016919
Web: www.promeditech.de