

RIDASCREEN® Haemoglobin

REF G09030



1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Haemoglobin ist ein Enzymimmunoassay zum quantitativen Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

In Deutschland erkranken jährlich ungefähr 62.000 Menschen neu an Darmkrebs und ca. 35.000 Personen sterben pro Jahr an den Folgen der Erkrankung^[1]. Damit ist das Kolonkarzinom eine der häufigsten Krebsarten und Todesursachen bundesweit. Etwa 20 % der Neuerkrankten sind familiär vorbelastet und gehören zu einer Hochrisikogruppe^[2]. Das Kolonkarzinom entwickelt sich langsam im Verlauf von 10 -12 Jahren aus makroskopisch sichtbaren und oft lange unverändert bestehenden Adenomen. Bei frühzeitiger Erkennung und Entfernung dieser Formen bestehen sehr gute Heilungsmöglichkeiten - bis zur vollständigen Genesung. Die Koloskopie ist als direkte Nachweismethode die Referenz. Karzinome und zum Teil auch größere Adenome geben intermittierend Blut/Hämoglobin in das Darmlumen ab. Hämoglobin kann somit zum Nachweis von okkultem (nicht sichtbarem) Blut im Stuhl herangezogen werden.

Die Diagnose mittels immunologischer Tests ermöglicht in den meisten Fällen die frühzeitige Entfernung von Polypen, Adenomen und Karzinomen in einer anschließend durchzuführenden Koloskopie. Daraus resultieren bessere Heilungsprognosen und nicht zuletzt geringere Folgekosten für die Patienten.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® Haemoglobin werden spezifische Antikörper in einem Sandwich-Verfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind polyklonale Antikörper gegen Epitope von humanem Hämoglobin gebunden. Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe wird in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert und darin inkubiert. Danach erfolgt ein Waschschriff und eine zweite Inkubation zusammen mit einem monoklonalen Anti-Hämoglobin-Antikörper, welcher mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist. Bei Anwesenheit von Hämoglobin bildet sich ein Sandwich-Komplex aus den immobilisierten Antikörpern, dem Hämoglobin und dem konjugierten Antikörper. Nicht gebundene enzymmarkierte Antikörper werden in einem weiteren Waschschriff entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die gemessene Extinktion ist proportional zur Konzentration des in der Probe vorhandenen Hämoglobins.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung sind ausreichend für 96 Bestimmungen.

Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte; 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit polyklonalen Antikörpern (aus Kaninchen) gegen humanes Hämoglobin
Diluent 3	15 ml	Probenverdünnungspuffer 3 (zur Endverdünnung); Protein-gepufferte NaCl-Lösung; enthält 0,1 % NaN ₃ ; gebrauchsfertig; rot gefärbt
Wash buffer	100 ml	Waschpuffer 10x (10-fach konz.); Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung; enthält 0,1 % Thimerosal
Calibrator	2 St.	Kalibrator (zum Standardabgleich); 0,5 ml lyophilisiert
High control	2 St.	Hohe Kontrolle; 0,5 ml lyophilisiert
Low control	2 St.	Niedrige Kontrolle; 2 ml lyophilisiert
Conjugate	12 ml	Konjugat; Peroxidase-konjugierter, monoklonaler Antikörper gegen humanes Hämoglobin (aus Maus) in stabilisierter Proteinlösung; gebrauchsfertig
SeroSC	12 ml	Substrat; Wasserstoffperoxid / TMB; gebrauchsfertig
Stop	12 ml	Stopp-Reagenz; 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien inkl. der lyophilisierten Kalibratoren, Hohe Kontrollen und Niedrige Kontrollen sind bei 2 - 8 °C zu lagern und bis zu dem auf dem jeweiligen Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Rekonstitution von Kalibrator, Hoher Kontrolle und Niedriger Kontrolle sind diese unmittelbar im Test einzusetzen. Restlösungen der rekonstituierten Lyophilisate sind nach Testansatz zu verwerfen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Der Alu-Beutel, der die Mikrotiterplatte enthält, ist mit einer Schere so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- RIDA[®]TUBE Haemoglobin (Art. Nr. GZ3012)
- Vortex-Mixer (optional, siehe 9.4. und 9.5.)
- Mikropipette für 20 - 100 µl und 1000 µl Volumina
- Messzylinder (1000 ml)
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette (300 µl)
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm; Referenzfilter 620 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %-igen Hypochloritlösung

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) www.r-biopharm.com.

Der Kalibrator, die Hohe Kontrolle und die Niedrige Kontrolle enthalten humanes Blut, welches auf HIV und Hepatitis getestet und für negativ befunden wurde.

Dennoch sollten Kalibrator und Kontrollen, ebenso wie die Stuhlproben, als potentiell infektiös gemäß den nationalen Sicherheitsbestimmungen behandelt werden.

Der Waschpuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1 % Thimerosal. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Der Probenverdünnungspuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1 % NaN₃. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Wasserstoffperoxid kann zu Verätzungen führen. Vorsichtig handhaben!

Das Stopp-Reagenz enthält 1 N Schwefelsäure. Hautkontakt sowie Kontakt mit Kleidung vermeiden! Bei Hautkontakt mit Wasser spülen.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden. VORSICHT: Um die Bildung

giftiger Gase zu vermeiden, muss Flüssigabfall, der Stopp-Reagenz enthält, neutralisiert werden, bevor er in eine Hypochloritlösung gegeben wird. Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften!

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Die Stuhlprobe wird mit Hilfe der Rillen des Entnahmestabs des RIDA®TUBE Haemoglobin aufgenommen und in den Puffer im RIDA®TUBE Haemoglobin gegeben. Die Probe ist im Extraktionspuffer für 5 Tage bei 2 - 30 °C stabil.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte Plate unbedingt auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2 - 8 °C zu lagern. Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind. Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zum Ausschluss von Kreuzkontamination zu vermeiden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung sollte vermieden werden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten abzudecken oder abzukleben.

9.2. Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffers 10x Wash buffer wird mit 9 Teilen destilliertem Wasser gemischt (1:10). Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen.

9.3. Vorbereitung von Kalibrator und Hohe Kontrolle (optional Niedrige Kontrolle)

Der Kalibrator [Calibrator], Hohe Kontrolle [High control] und Niedrige Kontrolle [Low control] liegen lyophilisiert vor und müssen für jeden Testansatz erst kurz vor Testbeginn frisch in Probenverdünnungspuffer 3 [Diluent | 3] gelöst werden. Dazu werden Kalibrator [Calibrator] und Hohe Kontrolle [High control] in 500 µl und die Niedrige Kontrolle [Low control] in 2 ml Probenverdünnungspuffer 3 [Diluent | 3] aufgenommen. Die Lyophilisate müssen vor Verwendung vollkommen rückstandsfrei gelöst sein. Dazu kann ein Vortex-Mixer verwendet werden. Überschüssige Reste von Kalibrator, Hoher Kontrolle oder Niedriger Kontrolle müssen verworfen werden.

9.4. Probenaufarbeitung und –suspension mit RIDA®TUBE Haemoglobin (Art. Nr. GZ3012)

Das mit 2,5 ml gebrauchsfertigem Extraktionspuffer vorbefüllte RIDA®TUBE Haemoglobin nimmt 10 mg Stuhlprobe auf. Bei flüssigen Stuhlproben können 10 µl der Stuhlprobe mit der Pipette abgemessen und direkt in den Extraktionspuffer pipettiert werden.

Die Probennahme und –extraktion ist in der Gebrauchsanweisung, die den RIDA®TUBE Haemoglobin Stuhlentnahmeröhrchen beiliegt, detailliert beschrieben und illustriert und kann alternativ unter www.r-biopharm.de heruntergeladen werden. Die Stuhlextrakte dürfen nicht länger als 5 Tage bei 4 - 30 °C gelagert werden bzw. 2 Wochen bei 4 °C.

a) Probenverdünnung bei manueller Abarbeitung

50 µl der mit dem RIDA®TUBE Haemoglobin (Art. Nr. GZ3012) erhaltenen Stuhlsuspension werden - wie in der Gebrauchsanleitung von GZ3012 unter Punkt 8 beschrieben - in der Kavität der Mikrotiterplatte vorgelegt und mit 50 µl RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffer 3 [Diluent | 3] direkt in der Mikrotiterplatte weiter verdünnt.

b) Probenverdünnung bei Abarbeitung am Automaten

Erfolgt die Testdurchführung auf einem DSX-ELISA-Vollautomaten der Firma Dynex, wird das hierfür erforderliche Messprotokoll auf Anfrage von der R-Biopharm AG zur Verfügung gestellt und auf dem Gerät appliziert.

In den Halterahmen der RIDASCREEN® Haemoglobin-Mikrotiterplatte [Plate] wird die benötigte Anzahl an Mikrotiterstreifen eingesetzt. Die mit dem Stuhlröhrchen extrahierte Stuhlsuspension wird im ELISA-Automaten auf der Mikrotiterplatte [Plate] vom Gerät automatisch 1:2 verdünnt (Endverdünnung 1:500). Hierzu werden 50 µl der Stuhlsuspension aus dem RIDA®TUBE Haemoglobin (Art. Nr. GZ3012) in die Haemoglobin-Mikrotiterplatte pipettiert und mit 50 µl Probenverdünnungspuffer [Diluent | 3] direkt in der Mikrotiterplatte weiter verdünnt.

Zur Testdurchführung auf anderen ELISA-Pipettierautomaten wenden Sie sich bitte an die R-Biopharm AG.

9.5. Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl des gelösten Kalibrators **Calibrator** (in Doppelbestimmung), des RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffers 3 **Diluent | 3** (=Negativ-Kontrolle), der Hohen Kontrolle **High control** und der zu untersuchenden Stuhlprobensuspension in die jeweiligen Vertiefungen. Bei Bedarf kann die Niedrige Kontrolle **Low control** mitgeführt werden. In diesem Fall sind auch hier 100 µl in die entsprechende Kavität zu pipettieren. Anschließend wird die Platte für eine Stunde bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.6. Erster Waschschrift

a) Waschschrift bei manueller Abarbeitung

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zur Erzielung korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter mit Hypochlorit zwecks Desinfektion entleert werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5-mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer (siehe 9.2.) gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

b) Waschschrift bei Abarbeitung am Automaten

Bei der Verwendung von Waschautomaten ist die korrekte Einstellung des Gerätes auf den verwendeten Mikrotiter-Plattentyp zu beachten. Ferner sollte eine nicht komplett partikelfreie Stuhlsuspension vor dem ersten Waschen manuell durch Ausschleudern aus den Kavitäten entfernt werden, um Verstopfungen der Waschnadeln zu vermeiden.

Bei den Waschsritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden. Nach dem letzten Waschschrift sollte die Platte gründlich auf saugfähigem, sauberem Papier oder Labortüchern ausgeschlagen werden, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen.

9.7. Zweite Inkubation

Zugabe von 100 µl Konjugat **Conjugate** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 1 Stunde bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.8. Zweiter Waschschritt

a) Waschschritt bei manueller Abarbeitung

Nach Ablauf der Inkubationszeit sollte das Konjugat in den Kavitäten zunächst in einen Abfallbehälter mit Hypochlorit-Lösung zwecks Desinfektion entleert werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5-mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

b) Waschschritt bei Abarbeitung am Automaten

Bei den Waschschritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden.

9.9. Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **SeroSC** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm und bei einer Referenzwellenlänge von 620 nm gemessen.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle muss bei jeder Testdurchführung der Kalibrator **Calibrator** (in Doppelbestimmung), die Hohe Kontrolle **High control** und der RIDASCREEN[®] Probenverdünnungspuffer 3 **Diluent | 3** als Negativ-Kontrolle mitgeführt werden, um Reagenzien-Stabilität und die korrekte Testdurchführung sicherzustellen.

Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionswert (OD) der Negativ-Kontrolle bei 450 nm/620 nm kleiner als 0,05 ist und der gemittelte Extinktionswert (OD) des Kalibrators innerhalb des auf dem chargenspezifischen Datenblatt angegebenen Bereiches liegt. Zur weiteren Validierung der Testergebnisse wird empfohlen die Hohe Kontrolle routinemäßig mitzuführen. Diese sollte innerhalb des auf dem Datenblatt angegebenen chargenspezifischen Konzentrationsbereiches liegen.

Bei der Abarbeitung des RIDASCREEN[®] Haemoglobin auf offenen ELISA-Vollautomaten kann, je nach Automat, der gemessene OD-Wert des Kalibrators **Calibrator** von dem auf dem chargenspezifischen Zertifikat vorgegebenen Bereich abweichen. Auf ELISA-Vollautomaten ist die Hohe Kontrolle **High control** für die Validität der Testergebnisse ausschlaggebend und muss daher immer mitgeführt werden. Die Verwendung der Niedrigen Kontrolle **Low control** ist nicht zwingend erforderlich.

Eine Abweichung von den geforderten Werten kann ebenso wie eine Reagenzentrübung oder Blaufärbung des farblosen Substrates vor Zugabe in die

Kavitäten ein Hinweis auf einen Reagenzienverfall sein. Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung Folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind bei Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm-Distributeur.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Ein-Punkt-Quantifizierung nach dem 4-Parameter-logistic-log-Modell

Die Bestimmung der Konzentration von Hämoglobin in µg/g Stuhl erfolgt beim RIDASCREEN® Haemoglobin nach dem 4-Parameter-logistic-log-Modell (4PL). Für die Ergebnisermittlung wird die Auswertesoftware RIDA®SOFT Win.net benötigt. Die RIDA®SOFT Win.net bzw. ein Update kann auf Anfrage von der R-Biopharm AG oder über Ihren lokalen R-Biopharm Distributeur bezogen werden.

Alternativ zur RIDA®SOFT Win.net kann eine andere Auswertesoftware, die das 4-Parameter-logistic-log-Modell zur Verfügung stellt, verwendet werden.

Die für die 4PL-Berechnung benötigten Parameter (A - D) der Standardkurve sowie der Sollwert für Kalibrator, Hohe Kontrolle und Niedrige Kontrolle sind auf dem Testkit beiliegenden chargenspezifischen Datenblatt aufgeführt und müssen vor einer Messung jeweils mit den Werten in der Auswertesoftware abgeglichen werden. Die R-Biopharm AG ermittelt unter optimalen Testbedingungen für jede Kitcharge die Standardkurve (inkl. der Parameter A - D) sowie jeweils einen Sollwert und einen erlaubten Bereich für die Standardabweichung von Kalibrator, Hoher Kontrolle und Niedriger Kontrolle.

Der Kalibrator Calibrator wird mitgeführt, um Testschwankungen auszugleichen und um die Qualität des Testlaufes prüfen zu können. Die Hohe Kontrolle dient bei manueller Abarbeitung nur der Labor-internen Testvalidierung. Wird der Test auf einem ELISA-Automaten durchgeführt, muss die Hohe Kontrolle mitgeführt werden. Aus dem Mittelwert der Doppelbestimmung des Kalibrators und dessen Sollwert wird durch die RIDA®SOFT Win.net intern ein Korrekturfaktor F berechnet und mit den Extinktionen der Stuhlproben verrechnet. Innerhalb der Grenzen der Standardkurve ist eine sichere und zuverlässige Bewertung der Testergebnisse möglich.

11.2. Testergebnis

Die Cut-off-Werte für die Bewertung eines positiven Testes im Rahmen der nationalen Darmkrebsvorsorge werden landesspezifisch festgesetzt. In Deutschland ist aktuell noch kein offizieller Cut-off-Wert in µg Haemoglobin/g Stuhl für die Definition eines positiven Testergebnisses festgelegt worden.

Wir raten jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.
Bezugnehmend auf die Studie von *Gies et al.* ^[3] empfehlen wir einen Cut-Off von 12,27 µg/g.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Haemoglobin weist Epitope von humanem Hämoglobin in Stuhlproben nach. Blut im Stuhl kann neben Darmkrebs auch durch andere Faktoren hervorgerufen werden. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe eines ermittelten Extinktionswertes und der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.

Ein positives Ergebnis ist ein deutliches Indiz für eine Blutungsquelle im Darm, kann aber auch durch unspezifische Patientenfaktoren gegeben sein (z.B.

Menstruationsblut bei weiblichen Patienten oder Hämorrhoiden).

Ein negatives Ergebnis schließt mögliche blutende Veränderungen der Darmwand nicht aus. Das kann durch eine intermittierende Ausscheidung von Blut und die damit verbundene zu geringe Antigenmenge in der Probe oder durch eine inhomogene Verteilung von Hämoglobin in der Stuhlprobe verursacht sein.

13. Leistungsmerkmale

13.1. Analytische Sensitivität

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA wurde der LoB (Limit of Blank) über 207 Messungen von negativen Proben bestimmt. Der vorläufige LoD (Limit of Detection) wurde anschließend durch eine serielle Verdünnungsreihe mit 10 Verdünnungsschritten bestimmt. Um den LoD zu bestätigen wurden außerdem 3 Proben um den vorläufigen LoD in je 10 Replikaten mit einer Kitlot des RIDASCREEN® Haemoglobin getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

	MW [OD 450/620 nm]	µg/g
LoB	0,007	-
LoD	0,021	0,28

Die Nachweisgrenze liegt bei 0,28 µg/g Haemoglobin.

13.2. Spezifität – Interferenz

Zur Identifikation potentiell interferierender Substanzen wurde Mucin, Stearin/Palmitinsäure, Diclofenac und ein Cyclamat-Saccharin-Gemisch in den folgenden Konzentrationen zu Stuhlproben gegeben:

Substanz	Konzentration
Mucin	5 %
Stearin/Palmitinsäure	40 %
Diclofenac	0,1 %
Cyclamat-Saccharin-Gemisch	1,3 %

Keine der Substanzen zeigte in den angegebenen Konzentrationen einen Effekt auf die Testergebnisse.

13.3. Analytstabilität

Für die Bestimmung der Stabilität des Analyten Haemoglobin im RIDA[®]TUBE Haemoglobin wurden 20 Proben mit dem Entnahmestab des RIDA[®]TUBE Haemoglobin in den Extraktionspuffer gegeben. Die Röhrchen mit den Extrakten wurden bei 4°C, 23°C und 30°C gelagert. Die Extrakte waren über 5 Tage hinweg stabil.










5 weitere Extrakte wurden aliquotiert und nach 2 Wochen bei einer Lagerung bei 4 °C bzw. -20 °C vermessen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Extrakte sowohl bei 4 °C als auch bei -20 °C 2 Wochen lang gelagert werden können.

14. Versionsübersicht


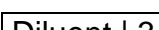
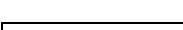
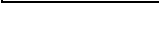
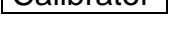
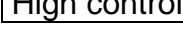

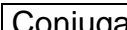

Versionnummer	Kapitel und Bezeichnung
2018-08-23	Generelle Überarbeitung
2018-08-23	13. Leistungsmerkmale 13.1. Analytische Sensitivität 13.2. Spezifität – Interferenz 13.3. Analytstabilität 14. Versionsübersicht 15. Symbolübersicht 16. Literatur

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	Verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

	Mikrotiterplatte
	Probenverdünnungspuffer
	Waschpuffer 10x
	Kalibrator
	Hohe Kontrolle
	Niedrige Kontrolle
	Konjugat
	Substrat
	Stopp-Reagenz

16. Literatur

1. https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/K/Krebs/Krebsgeschehen_RKI.pdf (Informationsstand am 23.08.2018)
2. Valle L Genetic predisposition to colorectal cancer: Where we stand and future perspectives. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 7; 20(29): 9828–9849.
3. Gies A, Cuk Katharina, Schrotz-King P, Brenner H Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening. *Gastroenterology* 2018;154:93 - 104
4. Sieg A, Wirth A, Lüthgens K, Schmidt-Gayk H. Sechs Jahre Stuhlblut-Screening mit einem immunologischen Test auf humanes Hämoglobin. *Verdauungskrankheiten* 2002; 20(2): 114-117.
5. Sieg A, Scheida M, John MR, Hertel A, Schroter M, Luthgens K, Schmidt-Gayk H. Validity of new immunological human fecal hemoglobin and albumin tests in detecting colorectal neoplasms - an endoscopy-controlled study. *Z Gastroenterol* 1998; 36(6): 485-90.
6. Sieg A, Hertel A, John MR, Luthgens K, Schmidt-Gayk H. Screening for colorectal neoplasms with a new immunological human faecal haemoglobin and albumin test. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7(4): 279-85.
7. Haug U, Brenner H. A simulation model for colorectal cancer screening: potential of stool tests with various performance characteristics compared with screening colonoscopy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(2): 422-8.
8. Morikawa T, Kato J, Yamaji Y, Wada R, Mitsushima T, Shiratori Y. A Comparison of the Immunochemical Fecal Occult Blood Test and Total Colonoscopy in the Asymptomatic Population. *Gastroenterology* 2005; 129: 422–428.
9. Nakama H, Kamijo N, Abdul Fattah AS, Zhang B. Validity of immunological faecal occult blood screening for colorectal cancer: a follow up study. *J Med Screen* 1996; 3(2): 63-5.
10. Nakama H, Kamijo N. Accuracy of immunological fecal occult blood testing for colorectal cancer screening. *Prev Med* 1994; 23(3): 309-13.
11. Nakama H, Kamijo N, Fujimori K, Fattah AS, Zhang B. Relationship between fecal sampling times and sensitivity and specificity of immunochemical fecal occult blood tests for colorectal cancer: a comparative study. *Dis Colon Rectum* 1997; 40(7): 781-4.
12. Itoh M, Takahashi K, Nishida H, Sakagami K, Okubo T. Estimation of the optimal cut off point in a new immunological faecal occult blood test in a corporate colorectal cancer screening programme. *J Med Screen* 1996; 3(2): 66-71.
13. Hirobe K, Owaki T, Matsuzawa Y. 7 years of annual mass screening for colorectal cancer in office workers - usefulness of 3-day RPHA method. *Sangyo Eiseigaku Zasshi* 1995; 37(3): 187-94.

14. Cervantes C, Vega H, Perez L, Feliu R. Enzyme immunoassay for occult faecal blood. *Z Med Lab Diagn* 1989; 30(8): 431-6.