

## RIDASCREEN® Haemoglobin

**REF** G09030



## 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Haemoglobin es un inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de hemoglobina humana en muestras de heces.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

En Alemania, se diagnostica cada año a cerca de 62 000 personas con cáncer de colon y se producen unas 35 000 muertes al año como consecuencia de esta enfermedad<sup>[1]</sup>. Esto hace del cáncer de colon uno de los tipos de cáncer y causas de muerte más frecuentes en Alemania. Aproximadamente el 20 % de los casos nuevos tienen antecedentes familiares de este tipo de cáncer y pertenecen a un grupo de alto riesgo<sup>[2]</sup>. El cáncer de colon se desarrolla lentamente durante 10 - 12 años a partir de adenomas microscópicamente visibles que con frecuencia se mantienen sin cambios durante bastante tiempo. Si estos tipos se identifican y extirpan en las primeras fases, el pronóstico de reversión hasta la recuperación completa es favorable. La colonoscopia es el método de referencia para la detección directa. Los carcinomas y, en ocasiones, los adenomas grandes, liberan sangre y hemoglobina de forma intermitente a la luz del intestino. En consecuencia, la hemoglobina puede ser un indicio de la presencia de sangre oculta (no visible) en las heces.

El diagnóstico mediante pruebas inmunológicas permite, por lo general, extirpar pólipos, adenomas y carcinomas en fases tempranas en una colonoscopia posterior. Esto aumenta las probabilidades de recuperación y reduce el gasto del tratamiento posterior de los pacientes.

## 3. Principio del ensayo

En el ensayo RIDASCREEN® Haemoglobin se emplean anticuerpos específicos con un método tipo sándwich. La superficie del pocillo de la placa de microtitulación se recubre con anticuerpos policlonales contra epítomos de la hemoglobina humana. Se pipetea una suspensión de la muestra de heces objeto del ensayo en un pocillo de la placa de microtitulación y se incuba. A continuación, se realiza a un paso de lavado y una segunda incubación con un anticuerpo monoclonal antihemoglobina conjugado con peroxidasa de rábano. En presencia de hemoglobina, los anticuerpos inmovilizados, la hemoglobina y el anticuerpo conjugado forman un complejo tipo sándwich. Los anticuerpos marcados con enzima no unidos se eliminan durante el siguiente paso de lavado. En las muestras positivas, la adición de un sustrato hace que la enzima unida cambie la coloración de la solución de incolora a azul en los pocillos de la placa de microtitulación. La adición de un reactivo de parada provoca que la coloración cambie de azul a amarillo. La extinción medida es proporcional a la concentración de hemoglobina presente en la muestra.

#### 4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 96 determinaciones.

Plate	96 determinaciones	Placa de microtitulación, 12 tiras de microtitulación (desprendibles) en un portatiras; recubiertas con anticuerpos policlonales (de conejo) anti-hemoglobina humana
Diluent   3	15 ml	Búfer de dilución de muestras 3 (para dilución final), solución de NaCl tamponada con proteínas; contiene 0,1 % de NaN <sub>3</sub> ; listo para usar; color rojo
Wash buffer	100 ml	Búfer de lavado 10x (concentración 10x); solución de NaCl tamponada con fosfato; contiene 0,1 % de timerosal
Calibrator	2 unidades	Calibrador (para comparación estándar); 0,5 ml liofilizado
High control	2 unidades	Control alto; 0,5 ml liofilizado
Low control	2 unidades	Control bajo; 2 ml liofilizado
Conjugate	12 ml	Conjugado; anticuerpo monoclonal (de ratón) anti-hemoglobina humana, conjugado con peroxidasa en una solución de proteínas estabilizada; listo para usar
SeroSC	12 ml	Substrato; peróxido de hidrógeno/tetrametilbenzidina (TMB); listo para usar
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N; listo para usar

La información sobre sustancias peligrosas cumple con los requisitos del etiquetado. Para obtener información más detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos, así como los calibradores, controles altos y controles bajos liofilizados deben almacenarse a una temperatura de entre 2 - 8 °C, y se pueden usar hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del reactivo en cuestión. Una vez reconstituidos, el calibrador, el control alto y el control bajo deben usarse inmediatamente en el ensayo. Después del ensayo, deben desecharse todos los sobrantes de las soluciones de los liofilizados reconstituidos. Si se almacena a 2 - 8 °C, el búfer de lavado diluido puede utilizarse como máximo durante 4 semanas. Se debe evitar la contaminación microbiana. Una vez alcanzada la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida. La bolsa de aluminio que

contiene la placa de microtitulación debe abrirse con unas tijeras de manera que se preserve el cierre de clip. Las tiras de microtitulación que no se necesiten deben devolverse de inmediato a la bolsa de aluminio y almacenarse a 2 - 8 °C.

El substrato incoloro debe protegerse de la luz directa para evitar la descomposición o el viraje a color azul por efecto de la autooxidación. No utilice el substrato si ha virado a color azul.

## **6. Reactivos necesarios no suministrados**

### **6.1. Reactivos**

- Agua destilada o desionizada

### **6.2. Accesorios**

- RIDA<sup>®</sup>TUBE Haemoglobin (N.º de referencia GZ3012)
- Mezclador de vórtice (opcional, ver 9.4. y 9.5)
- Micropipetas para volúmenes de 20 – 100 µl y 1000 µl
- Probeta graduada (1000 ml)
- Cronómetro
- Dispositivo de lavado de placas de microtitulación o pipetas multicanal (300 µl)
- Fotómetro para placas de microtitulación (450 nm, filtro de referencia de 620 nm)
- Papel de filtro (toallitas de laboratorio)
- Recipiente para residuos de laboratorio con solución de hipoclorito al 0,5 %

## **7. Advertencias y precauciones para los usuarios**

Exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.

Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Respetar siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba. No pipetear las muestras ni los reactivos con la boca. Evitar el contacto con piel herida o membranas mucosas. Llevar equipo de protección personal (guantes, bata de laboratorio, anteojos de protección adecuados) al manipular los reactivos y las muestras, y lavarse las manos después de finalizar el ensayo. No fumar, comer ni beber en las zonas donde se manipulen las muestras.

Para obtener más información, consultar la hoja de datos de seguridad (SDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

El calibrador, el control alto y el control bajo contienen sangre humana, que se ha analizado para detectar VIH y hepatitis con resultados negativos. A pesar de esto, el calibrador, los controles y las muestras de heces deben tratarse como material potencialmente infeccioso y manejarse de acuerdo con lo establecido en las normativas de seguridad nacionales.

El búfer de lavado contiene timerosal al 0,1 % como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

El búfer de dilución de muestras contiene 0,1 % de  $\text{NaN}_3$  como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas. El peróxido de hidrógeno puede provocar quemaduras químicas. Manipular con cuidado.

El reactivo de parada contiene ácido sulfúrico 1 N. Evitar el contacto con la piel y la ropa. Si el reactivo entra en contacto con la piel, lavar con agua.

Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados o esterilizarse en autoclave a 121 °C durante una hora por lo menos. **PRECAUCIÓN:** Con el fin de evitar la formación de gases venenosos, todos los residuos líquidos que contengan reactivo de parada se deben neutralizar antes de agregarlos a la solución de hipoclorito.

Los usuarios son responsables de desechar todos los reactivos y materiales usados de manera correcta y responsable. Respetar la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

## **8. Obtención y almacenamiento de muestras**

Tome la muestra de heces con las ranuras de la varilla de muestreo suministrada con RIDA®TUBE Haemoglobin y colóquela en el búfer de RIDA®TUBE Haemoglobin. La muestra permanecerá estable en el búfer de extracción durante cinco días a 2 - 30 °C.

## **9. Ejecución de la prueba**

### **9.1. Información general**

Todos los reactivos y la placa de microtitulación [Plate] deben alcanzar la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de usarlos. Una vez que hayan alcanzado la temperatura ambiente, extraiga las tiras de microtitulación de la bolsa de aluminio. Mezcle bien los reactivos inmediatamente antes de usarlos. Después del uso, las tiras de microtitulación (colocadas en bolsas selladas) y los reactivos deben almacenarse de nuevo a 2 - 8 °C. Una vez usadas, las tiras de microtitulación no pueden volver a usarse. No utilice reactivos ni tiras de microtitulación si el envase está dañado o los recipientes no están cerrados herméticamente. Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit. No realice el ensayo bajo la luz solar directa. Recomendamos cubrir la placa de microtitulación o sellarla con un envoltorio plástico para evitar pérdidas por evaporación.

## 9.2. Preparación del búfer de lavado

Mezcle 1 parte de búfer de lavado [Wash buffer] 10x con 9 partes de agua destilada (1:10). Caliente previamente el concentrado (en baño maría a 37 °C) para disolver los posibles cristales presentes.

## 9.3. Preparación del calibrador y el control alto (control bajo opcional)

El calibrador [Calibrator], el control alto [High control] y el control bajo [Low control] están liofilizados y deben disolverse para cada ensayo en búfer de dilución de muestras 3 [Diluent | 3] poco antes de realizar el ensayo. El calibrador [Calibrator] y el control alto [High control] se disuelven en 500 µl, y el control bajo [Low control] en 2 ml de búfer de dilución de muestras 3 [Diluent | 3]. Los liofilizados deben disolverse completamente, sin que quede ningún residuo, antes de usarlos. Con este fin se puede usar un mezclador de vórtice. El calibrador, el control alto y el control bajo sobrantes deben desecharse.

## 9.4. Preparación y suspensión de muestras con RIDA®TUBE Haemoglobin (N.º de referencia GZ3012)

Se agregan 10 mg de muestra de heces a un RIDA®TUBE Haemoglobin al que se agregaron previamente 2,5 ml de búfer de extracción listo para usar. Si la muestra de heces es líquida, se pueden tomar 10 µl de la muestra de heces con la pipeta y agregarlos directamente al búfer de extracción.

El procedimiento de recolección y extracción de las muestras se describe con detalle en el folleto de instrucciones adjunto al tubo para muestras de heces de RIDA®TUBE Haemoglobin, y también puede descargarse de [www.r-biopharm.de](http://www.r-biopharm.de).

Las extracciones de heces no se deben almacenar más de 5 días a una temperatura de 4 - 30 °C, o dos semanas a 4 °C.

### a) Dilución manual de muestras

Como se describió en el punto 8 de las instrucciones de uso de GZ3012, se agregan 50 µl de la suspensión de heces obtenida con RIDA®TUBE Haemoglobin (N.º de referencia GZ3012) al pocillo de la placa de microtitulación y se diluyen de nuevo con 50 µl de búfer de dilución de muestras 3 [Diluent | 3] RIDASCREEN® directamente en la placa de microtitulación.

### b) Dilución de la muestra en un sistema automático

Si el ensayo se va a realizar en el sistema automático de ELISA DSX (Dynex Technologies, Inc.), se debe solicitar el protocolo de ensayo específico necesario a R-Biopharm AG y aplicarlo al sistema.

El número requerido de tiras de microtitulación se coloca en el portatiras de la placa de microtitulación [Plate] de RIDASCREEN® Haemoglobin. La suspensión de heces extraída con el tubo para heces se diluye automáticamente 1:2 en el sistema de ELISA en la placa de microtitulación [Plate] (dilución final 1:500). Se pipetea 50 µl

de la suspensión de heces de RIDA®TUBE Haemoglobin (N.º de referencia GZ3012) en la placa de microtitulación de hemoglobina y se diluyen de nuevo con 50 µl de búfer de dilución de muestras [Diluent | 3] directamente en la placa de microtitulación.

Para obtener las instrucciones sobre cómo realizar el ensayo con otros sistemas de pipeteado automático para ELISA, póngase en contacto con R-Biopharm AG.

### **9.5. Primera incubación**

Después de colocar un número suficiente de pocillos en el portatiras, se agrega a cada pocillo 100 µl del calibrador [Calibrator] disuelto (por duplicado), del búfer de dilución de muestras 3 [Diluent | 3] RIDASCREEN® (= control negativo), del control alto [High control] y de la suspensión de la muestra que se desea examinar. Si es necesario, también se puede usar el control bajo [Low control]. En este caso, también se pipetea 100 µl en el pocillo correspondiente. A continuación, se incuba la placa durante una hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### **9.6. Primer lavado**

#### **a) Paso de lavado con procesamiento manual**

Es fundamental realizar un lavado exhaustivo si se quieren obtener resultados correctos y, en consecuencia, deben respetarse rigurosamente los pasos de lavado especificados en las instrucciones. Vaciar las sustancias incubadas en los pocillos en un recipiente de residuos que contenga hipoclorito para su desinfección. A continuación, dar golpecitos a la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad residual. A continuación, lavar la placa cinco veces con 300 µl de búfer de lavado diluido cada vez (ver 9.2). Después de cada paso de lavado, sacudir los pocillos sobre una pieza de papel absorbente seco y limpio para verificar que están completamente vacíos.

#### **b) Paso de lavado en un sistema automático**

Si se utiliza un equipo de limpieza de microplacas, asegurarse de que la máquina esté ajustada correctamente para el tipo de placa de microtitulación utilizado. Además, una suspensión de heces que presente alguna partícula antes del primer lavado debería eliminarse manualmente mediante centrifugado para evitar que se bloqueen las boquillas de lavado.

Verificar asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada paso de lavado. Tras el último paso de lavado, golpear la placa minuciosamente sobre papel absorbente seco o toallitas desechables para eliminar cualquier resto de humedad.

## 9.7. Segunda incubación

Agregar 100 µl de conjugado **Conjugate** a cada pocillo. A continuación, incubar la placa durante una hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

## 9.8. Segundo lavado

### a) Paso de lavado con procesamiento manual

Una vez transcurrido el periodo de incubación, vaciar el conjugado de los pocillos en un recipiente de residuos que contenga solución de hipoclorito para su desinfección. A continuación, dar golpecitos a la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad residual. A continuación, lavar la placa cinco veces con 300 µl de búfer de lavado diluido cada vez. Después de cada paso de lavado, sacudir los pocillos sobre una pieza de papel absorbente seco y limpio para verificar que están completamente vacíos.

### b) Paso de lavado en un sistema automático

Verificar asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada paso de lavado.

## 9.9. Tercera incubación

Agregar 100 µl de sustrato **SeroSC** a cada pocillo. Incubar la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 15 minutos en la cámara oscura. Después, parar la reacción agregando 50 µl de reactivo de parada **Stop** a cada pocillo.

Después de mezclar con cuidado (golpeando ligeramente en el lateral de la placa), medir la absorbancia a 450 nm y a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

## 10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

En el control de calidad, también se incluyen el control de calidad, el calibrador **Calibrator** (por duplicado), el control alto **High control** y el búfer de dilución de muestras 3 **Diluent | 3** RIDASCREEN® como controles negativos para cada ensayo con el fin de demostrar la estabilidad del reactivo y la ejecución correcta del ensayo.

El ensayo se realizó correctamente si la extinción media (DO) del control negativo a 450 nm/620 nm es menor que 0,05 y la extinción media (DO) promediada del calibrador está dentro el rango que se indica en la hoja de datos específica del lote. También se recomienda incluir de manera sistemática el control alto como una validación adicional de los resultados del ensayo. Este valor debe estar dentro del rango de concentraciones específico del lote indicado en la hoja de datos.

Cuando se procesa RIDASCREEN® Haemoglobin en sistemas de ELISA abiertos totalmente automáticos, la DO medida del calibrador **Calibrator** puede desviarse

del rango indicado en el certificado específico del lote, dependiendo del sistema. En los sistemas de ELISA totalmente automáticos, el control alto **High control** es importante para la validez de los resultados del ensayo y, por lo tanto, debe incluirse siempre. No es absolutamente indispensable usar el control bajo **Low control**.

Una desviación de los valores previstos, así como la turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de agregarlo a los pocillos, pueden ser indicios de que el reactivo está caducado. Si no se cumplen los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Desempeño funcional de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- Ejecución correcta de la prueba
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas.

No deben usarse soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si las condiciones siguen sin cumplirse después de repetir la prueba, contactar con el fabricante o el distribuidor local de R-Biopharm.

## 11. Evaluación e interpretación

### 11.1. Cuantificación de punto único según el modelo log-logístico de 4 parámetros

RIDASCREEN® Haemoglobin usa un modelo log-logístico de 4 parámetros (4PL) para determinar la concentración de hemoglobina en una muestra de heces en µg/g. Es necesario disponer del software de evaluación RIDA®SOFT Win.net para calcular los resultados. El software RIDA®SOFT Win.NET o las actualizaciones se pueden obtener poniéndose en contacto con R-Biopharm AG o con el distribuidor local de R-Biopharm.

También se puede utilizar otro programa de evaluación que proporcione el modelo log-logístico de 4 parámetros en lugar de RIDA®SOFT Win.net.

Los parámetros (A - D) necesarios para el cálculo 4PL de la curva estándar y del valor objetivo para el calibrador, el control alto y el control bajo se pueden encontrar en la hoja de datos específica del lote incluida con el kit del ensayo, y se deben comparar con los valores del software de evaluación antes de la medición.

R-Biopharm AG calcula la curva estándar (incluidos los parámetros A - D) en las condiciones óptimas del ensayo para cada lote del kit, así como un valor objetivo y el rango admitido de la desviación estándar para el calibrador, el control alto y el control bajo.

El calibrador **Calibrator** también se incluye para compensar las fluctuaciones del ensayo y comprobar la calidad de la ejecución de la prueba. El control alto es solo para la validación interna del laboratorio del procesamiento manual de la prueba. Si el ensayo se lleva a cabo en un sistema de ELISA automático, también es necesario incluir el control alto.

RIDA®SOFT Win.net calcula internamente un factor de corrección F a partir de la media del análisis por duplicado del calibrador y su valor objetivo. Después, concilia

este factor de corrección con las absorbancias de las muestras de heces. Los resultados del ensayo se pueden evaluar de manera confiable dentro de los límites de la curva estándar.

### 11.2. Resultados del ensayo

Cada estado establece los valores de corte para la evaluación de una prueba positiva en los programas nacionales de detección del cáncer colorrectal. En Alemania no existe actualmente un valor de corte oficial en  $\mu\text{g}$  de hemoglobina/g de heces para definir un resultado positivo de la prueba. Recomendamos que cada laboratorio establezca su propio rango de valores estándar.

Conforme al estudio de *Gies et al.* <sup>[3]</sup>, recomendamos un valor de corte de 12,27  $\mu\text{g/g}$ .

### 12. Limitaciones del método

El kit RIDASCREEN® Haemoglobin detecta epítomos de hemoglobina humana en muestras de heces. La sangre en las heces se puede deber a otros factores aparte del cáncer colorrectal. Este ensayo no permite derivar correlaciones entre el nivel de la media de extinción (DO) determinada y la gravedad de los síntomas clínicos. Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro y los síntomas clínicos.

Un resultado positivo es una indicación clara de sangrado en el intestino, pero este también puede deberse a factores no específicos del paciente (como sangrado menstrual en pacientes femeninas o hemorroides).

Un resultado negativo no excluye posibles cambios hemorrágicos en la pared intestinal. Esto se puede deber a la excreción intermitente de sangre y la presencia de niveles insuficientes del antígeno asociado en la muestra, o a una distribución no homogénea de la hemoglobina en la muestra de heces.

## 13. Características de rendimiento

### 13.1. Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica del ELISA de RIDASCREEN® Haemoglobin, se determinó el límite del blanco (LB) con 207 ensayos de muestras negativas. Después, se determinó un límite de detección (LD) provisional por medio de una dilución seriada con 10 pasos de dilución. Para confirmar el LD, se analizaron también 3 muestras del LD provisional (10 réplicas de cada una) con un lote del kit RIDASCREEN® Haemoglobin. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

	MV [DO 450/620 nm]	µg/g
LB	0,007	-
LD	0,021	0,28

El límite de detección es de 0,28 µg/g de hemoglobina.

### 13.2. Especificidad - Interferencia

Para identificar posibles sustancias interferentes, se agregó mucina, ácido esteárico/palmítico, diclofenaco y una mezcla de ciclamato/sacarina a las siguientes concentraciones a las muestras de heces:

Sustancia	concentración
Mucina	5 %
Ácido esteárico/palmítico	40 %
Diclofenaco	0,1 %
Mezcla de ciclamato/sacarina	1,3 %

Ninguna de las sustancias tuvo efecto sobre los resultados del ensayo a las concentraciones indicadas.

### 13.3. Estabilidad de los analitos

Para determinar la estabilidad del analito hemoglobina en RIDA®TUBE Haemoglobin, se agregaron 20 muestras al búfer de extracción con la varilla de muestreo de RIDA®TUBE Haemoglobin. Los tubos con los extractos se almacenaron a 4 °C, 23 °C y 30 °C. Los extractos se mantuvieron estables durante cinco días. Se tomaron alícuotas de cinco extractos más y se analizaron dos semanas después, tras haberse almacenado a 4 °C y -20 °C. Los resultados revelaron que los extractos pueden almacenarse durante dos semanas tanto a 4 °C como a -20 °C.

## 14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y descripción
2018-08-23	Revisión general
2018-08-23	13. Características de rendimiento 13.1. Sensibilidad analítica 13.2. Especificidad - Interferencia 13.3. Estabilidad de los analitos 14. Historial de versiones 15. Descripción general de los símbolos 16. Bibliografía

## 15. Explicación de los símbolos

### Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Obsérvese las instrucciones de uso*
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

### Símbolos específicos de prueba

Plate	Placa de microtitulación
Diluent   3	Búfer de dilución de muestras
Wash buffer	Búfer de lavado 10x
Calibrator	Calibrador
High control	Control alto
Low control	Control bajo
Conjugate	Conjugado
SeroSC	Substrato
Stop	Reactivo de parada

## 16. Bibliografía

1. [https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3\\_Downloads/K/Krebs/Krebsgeschehen\\_RKI.pdf](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.