

RIDASCREEN® Haemoglobin

REF G09030



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDASCREEN® Haemoglobin est un test immunoenzymatique destiné à la détermination quantitative de l'hémoglobine humaine présente dans des échantillons de selles.

2. Résumé et explication du test

En Allemagne, environ 62 000 personnes reçoivent un diagnostic de cancer du côlon chaque année et près de 35 000 personnes par an décèdent des suites de la maladie^[1]. Ainsi, le cancer du côlon est l'un des types de cancer et l'une des causes de décès les plus répandus en Allemagne. Environ 20 % des nouveaux cas ont des antécédents familiaux pour ce type de cancer et font partie d'un groupe à haut risque^[2]. Le cancer du côlon progresse lentement pendant 10 à 12 ans, à partir d'adénomes visibles uniquement au microscope qui restent souvent latents pendant un bon moment. Si ces types sont reconnus et éliminés précocement, le pronostic reste favorable pour le rétablissement complet. La colonoscopie est le test de référence pour la détection directe. Les carcinomes et parfois des adénomes volumineux libèrent par intermittence du sang et de l'hémoglobine dans la lumière de l'intestin. L'hémoglobine peut ainsi révéler la présence (invisible) de sang dans les selles.

Le diagnostic posé suite à des tests immunologiques permet généralement d'éliminer précocement les polypes, adénomes et carcinomes lors d'une colonoscopie ultérieure. Cela permet d'augmenter les probabilités de rétablissement et de réduire les dépenses pour le traitement ultérieur des patients.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Haemoglobin utilise des anticorps spécifiques en appliquant une méthode de type sandwich. La surface de la plaque de microtitrage est revêtue d'anticorps polyclonaux dirigés contre les épitopes de l'hémoglobine humaine. Une suspension de l'échantillon de selles à tester est pipetée dans un puits de la plaque de microtitrage, puis incubée. Cette étape est suivie d'une étape de lavage, puis d'une seconde incubation avec un anticorps monoclonal anti-hémoglobine conjugué à de la peroxydase de raifort. En présence d'hémoglobine, les anticorps immobilisés, l'hémoglobine et l'anticorps conjugué forment un complexe sandwich. Les anticorps marqués à l'enzyme non liés sont éliminés au cours de l'étape de lavage suivante. Dans les échantillons positifs, après l'ajout d'un substrat, l'enzyme liée fait virer la solution incolore au bleu dans les puits de la plaque de microtitrage. L'ajout d'un réactif stop fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction mesurée est proportionnelle à la concentration d'hémoglobine présente dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96 dét.	Plaque de microtitrage, 12 barrettes de microtitrage (sécables) sur un support; plaque revêtue d'anticorps polyclonaux (de lapins) dirigés contre l'hémoglobine humaine
Diluent 3	15 ml	Tampon de dilution d'échantillon 3 (pour dilution finale), solution de NaCl tamponnée à la protéine; contient 0,1 % de NaN ₃ ; prêt à l'emploi; coloration rouge
Wash buffer	100 ml	Tampon de lavage 10x (concentré 10 fois); solution de NaCl tamponnée au phosphate; contient 0,1 % de thimérosal
Calibrator	2 unités	Calibreur (pour l'étalonnage standard); 0,5 ml, lyophilisé
High control	2 unité	Contrôle élevé; 0,5 ml, lyophilisé
Low control	2 unités	Contrôle bas; 2 ml, lyophilisé
Conjugate	12 ml	Conjugué; anticorps monoclonal dirigé contre l'hémoglobine humaine (de souris) conjugué à de la peroxydase dans une solution protéique stabilisée; prêt à l'emploi
SeroSC	12 ml	Substrat; peroxyde d'hydrogène/TMB; prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif stop; acide sulfurique 1 N; prêt à l'emploi

Les informations sur les substances dangereuses sont conformes aux exigences d'étiquetage. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs, ainsi que les calibreurs lyophilisés, les contrôles élevés et les contrôles bas, doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du réactif concerné. Après reconstitution, le calibreur, le contrôle élevé et le contrôle bas doivent être utilisés immédiatement dans le test. Après le test, éliminer les solutions non utilisées de lyophilisats reconstitués. Le tampon de lavage dilué doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie. Pour ouvrir le sachet en aluminium contenant la plaque de microtitrage, il convient d'utiliser des ciseaux afin de ne pas arracher le joint d'étanchéité. Les barrettes de microtitrage qui ne sont pas nécessaires doivent être immédiatement remises dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Accessoires

- RIDA[®]TUBE Haemoglobin (Réf. GZ3012)
- Malaxeur au vortex (en option, voir rubriques 9.4 et 9.5)
- Micropipette pour volumes de 20 µl à 100 µl et 1 000 µl
- Éprouvette graduée (1000 ml)
- Chronomètre
- Appareil de lavage pour plaques de microtitrage ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour plaques de microtitrage (450 nm; filtre de référence 620 nm)
- Papier filtre (lingettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets contenant 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (SDS, Safety Data Sheet) à l'adresse www.r-biopharm.com.

Le calibre, le contrôle élevé et le contrôle bas contiennent du sang humain testé négatif pour le VIH et l'hépatite. Malgré tout, le calibre, les contrôles et les échantillons de selles doivent être traités comme des agents potentiellement infectieux et manipulés conformément aux règlements de sécurité nationaux.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses. Le tampon de dilution des échantillons contient 0,1 % du NaN₃ comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Le peroxyde d'hydrogène peut provoquer des brûlures chimiques. Le manipuler avec prudence.

Le réactif stop contient de l'acide sulfurique 1 N. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. Si le réactif entre en contact avec la peau, rincer la peau avec de l'eau.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure. MISE EN GARDE : Pour éviter que des gaz toxiques ne se forment, tout déchet liquide contenant du réactif stop doit être neutralisé avant d'ajouter la solution d'hypochlorite.

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Prélever l'échantillon de selles à l'aide des rainures du bâton d'échantillonnage fourni avec le test RIDA®TUBE Haemoglobin et le placer dans le tampon dans le RIDA®TUBE Haemoglobin. L'échantillon reste stable dans le tampon d'extraction pendant cinq jours entre 2 et 30 °C.

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la plaque de microtitrage [Plate] doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Sortir les barrettes de microtitrage du sachet en aluminium une fois qu'elles ont atteint la température ambiante. Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation. Après utilisation, les barrettes de microtitrage (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes de microtitrage ne doivent pas être réutilisées. Ne pas utiliser les réactifs ou les barrettes de microtitrage si l'emballage est endommagé ou si les contenants fuient. Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse. Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la plaque de microtitrage ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de solution tampon 10x [Wash buffer] avec 9 volumes d'eau distillée (1:10). Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être préalablement dissous à chaud (bain-marie à 37 °C).

9.3. Préparation du calibreur et du contrôle élevé (contrôle bas facultatif)

Le calibreur [Calibrator], le contrôle élevé [High control] et le contrôle bas [Low control] sont lyophilisés et doivent être nouvellement dissous juste avant chaque test dans le tampon de dilution d'échantillon 3 [Diluent | 3]. Le calibreur [Calibrator] et le contrôle élevé [High control] sont placés dans 500 µl, et le contrôle bas [Low control] est placé dans 2 ml de tampon de dilution d'échantillon 3 [Diluent | 3]. Les lyophilisats doivent être entièrement dissous et ne présenter aucun résidu avant utilisation. Un malaxeur au vortex peut être utilisé à cette fin. Les volumes restants de calibreur, contrôle élevé ou contrôle bas doivent être éliminés.

9.4. Préparation de l'échantillon et suspension avec RIDA[®]TUBE Haemoglobin (Réf. GZ3012)

On ajoute 10 mg d'échantillon de selles au RIDA[®]TUBE Haemoglobin pré-rempli avec 2,5 ml de tampon d'extraction prêt à l'emploi. Si les échantillons de selles sont liquides, il est possible de prélever 10 µl de l'échantillon de selles à l'aide de la pipette, puis de placer directement la substance pipetée dans le tampon d'extraction. La procédure de prélèvement et d'extraction d'échantillon est décrite de manière détaillée dans la notice qui est fournie dans l'emballage de chaque RIDA[®]TUBE Haemoglobin. Cette notice peut également être téléchargée sur le site www.r-biopharm.de.

Les extraits de selles ne doivent pas être conservés plus de 5 jours entre 4 et 30 °C ou 2 semaines à 4 °C.

a) Dilution manuelle de l'échantillon

Comme décrit dans le point 8 du mode d'emploi de GZ3012, on ajoute au puits de la plaque de microtitrage 50 µl de la suspension de selles obtenue avec RIDA[®]TUBE Haemoglobin (Réf. GZ3012), que l'on dilue encore avec 50 µl de RIDASCREEN[®] tampon de dilution d'échantillon 3 [Diluent | 3] directement dans la plaque de microtitrage.

b) Dilution d'échantillon dans un système automatisé

Si le test doit être effectué sur un système ELISA automatisé DSX (Dyner Technologies, Inc.), le protocole de test à appliquer doit être obtenu auprès de R-Biopharm AG et installé sur le système.

Le nombre requis de barrettes de microtitrage est placé dans le support de la RIDASCREEN[®] Haemoglobin plaque de microtitrage [Plate]. La suspension de selles extraite avec le tube de selles est automatiquement diluée selon un rapport 1:2 dans le système ELISA dans la plaque de microtitrage [Plate] (dilution finale 1:500). 50 µl de la suspension de selles obtenue avec RIDA[®]TUBE Haemoglobin (Réf. GZ3012) sont pipetés dans la plaque de microtitrage d'hémoglobine, et de nouveau dilués avec 50 µl de tampon de RIDASCREEN[®] dilution d'échantillon

Diluent | 3 directement dans la plaque de microtitrage.

Pour obtenir des instructions sur l'exécution du test avec d'autres systèmes de pipetage automatisés ELISA, contacter R-Biopharm AG.

9.5. Première incubation

Après avoir placé un nombre suffisant de puits dans le support, on ajoute dans chacun des puits 100 µl du calibre dissous **Calibrator** (en double) du tampon de RIDASCREEN® dilution d'échantillon 3 **Diluent | 3** (= contrôle négatif), le contrôle élevé **High control** et la suspension d'échantillon de selles à examiner. Il est aussi possible d'utiliser le contrôle bas **Low control** au besoin. Dans ce cas, 100 µl sont aussi pipetés dans le puits correspondant. Ensuite, incuber la plaque pendant une heure à température ambiante (20 à 25 °C).

9.6. Premier lavage

a) Étape de lavage avec un traitement manuel

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant de l'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Puis, laver la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de solution tampon diluée (voir 9.2). S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé après chaque lavage.

b) Étape de lavage dans un système automatisé

Lorsqu'un laveur de microplaques est utilisé, s'assurer qu'il est correctement paramétré en fonction du type de plaque de microtitrage utilisé. En outre, une suspension de selles qui contient encore des particules avant le premier lavage doit être homogénéisée manuellement par centrifugation pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage.

S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage. Après le dernier lavage, retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant propre ou des serviettes de laboratoire pour s'assurer que toute humidité résiduelle a été éliminée.

9.7. Seconde incubation

Ajouter 100 µl du conjugué **Conjugate** dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque pendant une heure à température ambiante (20 à 25 °C)

9.8. Deuxième lavage

a) Étape de lavage avec un traitement manuel

Au terme de la période d'incubation, vider le conjugué présent dans les puits dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Puis, laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage dilué. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé après chaque lavage.

b) Étape de lavage dans un système automatisé

S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.9. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **SeroSC** dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (entre 20 et 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Ensuite, arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de réactif stop **Stop** dans chaque puits.

Après un mélange soigneux (en tapotant légèrement le côté de la plaque), mesurer l'absorbance à 450 nm et à une longueur d'onde de référence de 620 nm.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Dans le contrôle qualité, le calibre **Calibrator** (en double), le contrôle élevé

High control et le tampon de RIDASCREEN® dilution d'échantillon 3

Diluent | 3 sont aussi inclus en tant que contrôles négatifs dans chaque test pour s'assurer que le réactif est stable et que le test a été correctement effectué.

Le test a été correctement effectué si l'extinction moyenne (DO) du contrôle négatif à 450 nm/620 nm est inférieure à 0,05 et si l'extinction moyenne (DO) du calibre se situe dans la plage indiquée sur la fiche technique jointe. Il est aussi recommandé de tester systématiquement le contrôle élevé pour valider à nouveau les résultats du test. Ils doivent se situer dans la plage de concentrations spécifique au lot de la fiche de données.

Lorsque le test RIDASCREEN® Haemoglobin est effectué dans des systèmes ELISA ouverts et entièrement automatisés, la valeur DO mesurée du calibre

Calibrator peut s'écarter de la plage indiquée dans le certificat spécifique au lot du système. Dans les systèmes ELISA entièrement automatisés, le contrôle élevé

High control est pertinent pour la validité des résultats du test et doit donc toujours être testé. Il n'est pas indispensable d'utiliser le contrôle bas

Low control.

Tout écart par rapport aux valeurs attendues, ainsi que toute turbidité du réactif ou coloration bleue du substrat incolore avant remplissage des puits peut indiquer une

dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation du test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas remplies après répétition du test, consulter le fabricant ou votre distributeur local R-Biopharm.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Quantification à un point selon la loi log-logistique à 4 paramètres

Le test RIDASCREEN® Haemoglobin utilise la loi log-logistique à 4 paramètres (4PL) pour déterminer la concentration (en µg/g) d'hémoglobine dans un échantillon de selles.

Le logiciel d'évaluation RIDA®SOFT Win.net est nécessaire pour calculer les résultats. RIDA®SOFT Win.NET ou des mises à jour sont disponibles sur demande auprès de R-Biopharm AG ou du distributeur R-Biopharm local.

D'autres logiciels d'évaluation qui proposent la loi log-logistique à 4 paramètres peuvent être utilisés à la place de RIDA®SOFT Win.net.

Les paramètres (A-D) requis pour le calcul 4PL de la courbe standard et la valeur cible du calibre, le contrôle élevé et le contrôle bas sont disponibles dans la fiche technique spécifique au lot jointe à la trousse de test. Ils doivent être comparés aux valeurs indiquées dans le logiciel d'évaluation avant la mesure.

R-Biopharm AG calcule la courbe standard (y compris les paramètres A - D) dans des conditions de test optimales pour chaque lot de la trousse, ainsi qu'une valeur cible et une plage admissible pour l'écart-type pour le calibre, le contrôle élevé et le contrôle bas.

Le calibre Calibrator est aussi testé pour compenser les fluctuations du test et vérifier la qualité de la procédure du test. Le contrôle élevé est uniquement utilisé à des fins de validation du test interne au laboratoire pour le traitement manuel. Si le test est effectué dans un système ELISA automatisé, le contrôle élevé doit aussi être testé.

RIDA®SOFT Win.net calcule le facteur de correction F en interne à partir de la moyenne de la double analyse du calibre et de sa valeur cible. Ce facteur de correction est ensuite rapproché des absorbances des échantillons de selles. Les résultats du test peuvent être évalués en toute confiance et de manière fiable dans les limites de la courbe standard.

11.2. Résultats du test

Les valeurs seuils pour l'évaluation d'un test positif dans un dépistage national du cancer colorectal sont définies pour chaque pays. En Allemagne, il n'existe pas actuellement de valeur limite en μg d'hémoglobine/g de selles pour la définition d'un résultat positif. Nous recommandons à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de valeurs standard.

Conformément à l'étude effectuée par *Gies et al.* [3], nous recommandons une valeur seuil de 12,27 $\mu\text{g/g}$.

12. Limites de la méthode

Le kit RIDASCREEN® Haemoglobin détecte les épitopes de l'hémoglobine dans les échantillons de selles. La présence de sang dans les selles peut être aussi due à d'autres facteurs n'ayant rien à voir avec le cancer colorectal. Ce test ne permet pas d'établir de corrélation entre la valeur de la moyenne d'extinction mesurées et la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

Un résultat positif indique clairement un saignement dans l'intestin, mais peut également être dû à des facteurs non spécifiques du patient (par ex., saignement menstruel chez les femmes ou hémorroïdes).

Un résultat négatif n'exclut pas de changements potentiels de l'hémorragie au niveau de la paroi intestinale. Il peut être dû à une excrétion intermittente du sang et au niveau insuffisant d'antigène associé dans l'échantillon ou à une répartition hétérogène de l'hémoglobine dans l'échantillon de selles.

13. Performances

13.1. Sensibilité analytique

Pour définir la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA, on a déterminé la limite du blanc (LB) avec 207 tests d'échantillons négatifs. La limite de détection (LDD) provisoire a été ensuite déterminée par une série de dilutions comportant 10 étapes de dilution. Pour confirmer la LDD, 3 échantillons de la LDD provisoire ont aussi été testés en 10 répétitions chacun avec un lot du kit RIDASCREEN® Haemoglobin. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-après.

	VM [DO 450/620 nm]	$\mu\text{g/g}$
LB	0.007	-
LD	0.021	0.28

La limite de détection est de 0,28 $\mu\text{g/g}$ d'hémoglobine.

13.2. Spécificité - interférence

Afin d'identifier d'éventuelles substances interférentes, on a ajouté un mélange de mucine, de stéarine/l'acide palmitique, de diclofénac et un mélange de cyclamate/saccharine aux échantillons de selles dans les concentrations suivantes :

Substance	concentration
Mucine	5 %
Stéarine/acide palmitique	40 %
Diclofénac	0,1 %
Mélange de cyclamate/saccharine	1,3 %

Aucune des substances n'a eu d'incidence sur les résultats du test aux concentrations indiquées.

13.3. Stabilité des analytes

Afin de déterminer la stabilité de l'analyte hémoglobine dans le test RIDA[®]TUBE Haemoglobin, 20 échantillons ont été ajoutés au tampon d'extraction en utilisant le bâton d'échantillonnage de RIDA[®]TUBE Haemoglobin. Les tubes contenant les extraits ont été entreposés à 4 °C, 23 °C et 30 °C. Les extraits sont restés stables pendant cinq jours.

Cinq autres extraits ont été aliquotés et mesurés deux semaines après alors qu'ils étaient entreposés à 4 °C et à -20 °C. Les résultats ont révélé que les extraits peuvent être entreposés pendant deux semaines à ces températures.

14. Historique des versions

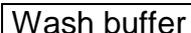
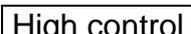
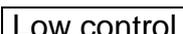
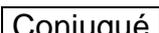
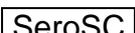
Numéro de version	Chapitre et description
2018-08-23	Révision générale
2018-08-23	13. Performances 13.1. Sensibilité analytique 13.2. Spécificité - interférence 13.3. Stabilité des analytes 14. Historique des versions 15. Présentation des symboles 16. Bibliographie

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in vitro</i> .
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

	Plaque de microtitrage
	Tampon de dilution d'échantillon
	Tampon de lavage 10x
	Calibrator
	High control
	Low control
	Conjugué
	Substrat
	Réactif stop

16. Bibliographie

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.