

NADAL® FOB QUANT Test (test cassette)

REF 272059NBUL-20



de	Gebruiksaanweisung	2	Symbols	23
en	Instructions for use	6	Our Teams	24
it	Istruzioni per l'uso	10		
pl	Sposób użycia	14		
cs	Návod k použití	18		

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® FOB QUANT Test ist ein chromatographischer Immunoassay (immunologischer „Fecal Occult Blood“ Test, iFOBT) im Lateral-Flow Format zum quantitativen Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben. Dieser Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Pathologien im unteren Magen-Darm-Trakt bestimmt, insbesondere bei Patienten mit Abdominalbeschwerden unklarer Herkunft oder Auffälligkeiten beim Stuhlgang. (siehe Punkt 12. „Grenzen des Tests“). Darüber hinaus ist der NADAL® FOB QUANT Test geeignet für das Screening von symptomfreien Patienten, die auf Grund ihres Alters, einer familiären Historie für Kolonkarzinome oder auf Grund anderer Faktoren als Risikogruppe eingestuft werden. Die quantitative Messung und Auswertung der Testergebnisse erfolgt mit dem nal von minden Colibri. Die Testdurchführung ist nicht automatisiert und erfordert keine spezielle Schulung oder Qualifikation. Der Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Darmkrebs ist eine der am häufigsten diagnostizierten Krebsarten und eine führende Ursache der krebbsbedingten Todesfälle. Nahezu 55 % der Fälle treten in höher entwickelten Regionen auf. Weltweit betrachtet variiert die Inzidenz bis um den Faktor 10. Die höchsten altersstandardisierten Raten findet man in Australien/Neuseeland (ASR 44,8 und 32,2 pro 100.000 Männer bzw. Frauen), die niedrigsten in Westafrika (ASR 4,5 und 3,8 pro 100.000 Männer bzw. Frauen).¹ Untersuchungen auf okkultes (verborgenes) Blut im Stuhl können die Chancen der Früherkennung von Darmkrebs erhöhen und damit die Sterblichkeitsrate verringern.^{2,3}

Frühere kommerziell erhältliche FOB Tests beruhen auf der Guajak-Methode, welche eine spezielle Diät vor der Testung erfordert, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, die durch Häm oder Peroxidasen einiger Lebensmittel hervorgerufen werden. Deswegen wurden immunologische Tests entwickelt, die spezifisch humanes Hämoglobin in Stuhlproben nachweisen. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass immunchemische Methoden hinsichtlich Spezifität, Sensitivität und Handhabbarkeit der Guajak Methode überlegen sind, um fortgeschrittene Adenome und Kolonkarzinome im unteren Magen-Darm-Trakt zu detektieren.^{4,6} Aufgrund dieser Vorteile werden quantitative immunologische FOB Tests unterdessen in vielen Ländern in Screeningprogrammen eingesetzt.

3. Testprinzip

Der NADAL® FOB QUANT Test ist ein chromatographischer Immunoassay (iFOBT) im Lateral-Flow Format zum quantitativen Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben. Der Nachweis von humanem Hämoglobin erfolgt mit Hilfe zweier spezifischer Antikörper gegen humanes Hämoglobin, von denen einer farbmarkiert ist (aktiver Bestandteil der Nachweisreaktion: ca. 0,4 µg/Test) und der andere im Testlinienbereich (T) immobilisiert vorliegt (aktiver Bestandteil der Nachweisreaktion: ca. 0,7 µg/Test).

Antikörper gegen humanes Hämoglobin sind im Testlinienbereich (T) der Nitrocellulose-Membran vorbeschichtet. Während der Testung reagiert die im Puffer extrahierte Probe mit Antikörpern gegen humanes Hämoglobin, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad des internen

Teststreifens vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert chromatographisch durch Kapillarkraft die Membran entlang. Wenn in der Probe eine ausreichende Menge an Hämoglobin vorhanden ist, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) der Membran. Die Hämoglobinkonzentration im Probenmaterial korreliert dabei mit der Farbintensität der Testlinie. Die Linienintensität ist proportional zur Konzentration und steigt von 20 ng/mL bis 750 ng/mL an. Die Konzentrationsabhängige Bildung der Testlinie erlaubt eine schnelle quantitative Bestimmung des Hämoglobins in Stuhlproben mit dem nal von minden Colibri.

Das Erscheinen einer farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle, die darauf hinweist, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® FOB QUANT Testkassetten*
- 20 Probennahmeröhrchen mit Puffer (specimens diluent buffer)**
- 20 Stuhlfänger
- 1 Lot-spezifische RFID-Karte
- 1 Gebrauchsanweisung

*Enthält Konservierungsmittel Natriumazid

**Phosphatpuffer enthält Konservierungsmittel Natriumazid und ProClin™ <0,1%.

Gemäß Verordnung (EC) No 1272/2008 CLP ist keine Gefahrenkennzeichnung erforderlich. Die Konzentrationen sind unterhalb der Freigrenzen.

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- nal von minden Colibri
- Stoppuhr, falls nicht der interne Timer des nal von minden Colibris verwendet wird
- Probensammelbehälter (optional, falls eine unverdünnte Stuhlprobe erwünscht ist und der Verdünnungsschritt erst unmittelbar vor der Testung durchgeführt wird)

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Bestandteile des Test-Kits nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Tests nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.

- Tests sind nur zum Einmalgebrauch bestimmt.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

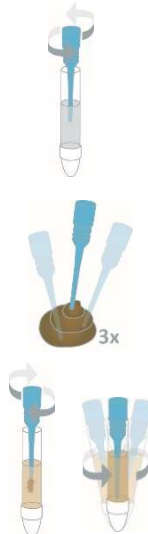
Lagern Sie das Probennahmerröhrchen vor der Benutzung bei Raumtemperatur. Es empfiehlt sich, den Stuhl mit Hilfe eines Stuhlfängers zu sammeln. Vermeiden Sie die Verdünnung der Stuhlprobe mit Wasser oder Urin aus dem Toilettenbecken.

1. Halten Sie das Probennahmerröhrchen aufrecht und öffnen Sie die hellblaue Verschlusskappe mit dem Probennahmer (Spiralstab). Entnehmen Sie diesen. Achten Sie darauf, dass Sie keine Pufferlösung aus dem Probennahmerröhrchen verschütten oder verspritzen.

2. Sammeln Sie Proben, indem Sie den Probennehmer an 3 verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe stechen.

Hinweis: Bitte achten Sie darauf den Probennehmer drei Mal hintereinander in die Stuhlprobe zu stechen. Geben Sie den Probennehmer zwischendurch NICHT zurück in das Röhrchen und achten Sie weiterhin darauf, dass keinerlei Flüssigkeit aus dem Röhrchen entweicht. Die Beschaffenheit der Probe und das Einhalten dieser Anweisungen hat Auswirkungen auf Ihr Testergebnis.

3. Geben Sie den Probennehmer mit der Stuhlprobe wieder ins Probennahmerröhrchen und verschließen Sie dieses gut.
4. Schütteln Sie das Probennahmerröhrchen sorgfältig, damit sich die Stuhlprobe voll-



ständig mit dem Verdünnungspuffer vermischt.

Hinweis:

Erfolgt die Probennahme in den Probensammelbehälter direkt durch den Patienten, ist es erforderlich, den Patienten zu informieren, wie die Stuhlprobe zu entnehmen, zu lagern und zu transportieren ist und welche Bedingungen vermieden werden müssen.

Der NADAL® FOB QUANT Test ist nur für den Gebrauch mit humanen Stuhlproben ausgelegt. Patienten sollten keine Stuhlproben während der Menstruation bzw. 3 Tage zuvor und danach, bei blutigen Hämorrhoiden, bei Blut im Urin oder bei stark forciertem Stuhlgang sammeln.

Aspirin und andere Medikamente, die im Übermaß eingenommen werden, können eine gastrointestinale Reizung hervorrufen, die zu einer okkulten Blutung führen kann. Falls möglich sollten solche Substanzen in Absprache mit dem Arzt mindestens 48 Stunden vor der Testung abgesetzt werden.

Keine diätische Einschränkungen sind vor der Testung erforderlich. Alkohol steht im Verdacht den Darm zu reizen und sollte mindestens 48 Stunden vor der Testung vermieden werden.

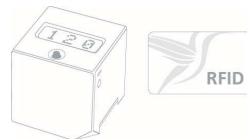
Urin und übermäßige Verdünnung der Proben mit Toilettenwasser können zu fehlerhaften Testergebnissen führen.

Führen Sie den Test möglichst bald nach der Probennahme durch. Proben nicht bei Raumtemperatur über einen längeren Zeitraum lagern. Insgesamt darf die Lagerzeit der Probe 7 Tage bei 2-8°C nicht überschreiten. Der Transport zur Praxis kann problemlos bei Raumtemperatur erfolgen, sollte jedoch 2 Stunden nicht überschreiten. Bringen Sie die Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur.

9. Testdurchführung

I. Vorbereitung

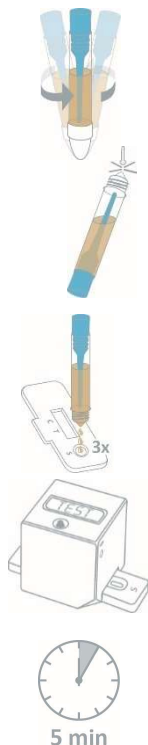
1. Testverpackung und Patientenproben (extrahierte Proben) vor dem Öffnen auf Raumtemperatur bringen (18-30°C).
2. NADAL® FOB QUANT Testkassette aus dem versiegelten Beutel nehmen und so schnell wie möglich verwenden. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn der Test direkt nach dem Öffnen durchgeführt wird.
3. Schalten Sie den nal von minden Colibri ein und stellen Sie sicher, dass die testspezifische RFID-Karte griffbereit ist.



Hinweis: Jeder Lot sind spezifische Kalibrationsdaten zugeordnet. Diese sind auf einer RFID-Karte gespeichert, der jeder Testpackung beigelegt ist. Um den Test richtig interpretieren zu können, muss die Lot-spezifische RFID-Karte auf den nal von minden Colibri gelegt werden. Alte RFID-Karten sollten nach Verbrauch von Tests einer Lot entsorgt werden, um Verwechslungen zu vermeiden.

II. Testdurchführung

1. Schütteln Sie das Probennahmeröhrchen sorgfältig, um sicher zu gehen, dass sich die Stuhlprobe vollständig mit dem Verdünnungspuffer vermischt.
2. Schrauben Sie die abgerundete Schutzkappe des Probennahmeröhrchens ab. Nehmen Sie ein Papiertuch und brechen Sie den Verschluss des Probennahmeröhrchens mit einer drehenden Bewegung ab.
3. Halten Sie das Probennahmeröhrchen senkrecht, werfen Sie den ersten Tropfen und geben Sie anschließend 3 Tropfen der Lösung in die runde Probenvertiefung (S) der Testkassette. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) der Testkassette und geben Sie keine Lösung ins Ergebnissfeld.
4. Starten Sie den Timer oder nutzen Sie den integrierten Timer des nal von minden Colibri.
5. Platzieren Sie den nal von minden Colibri so über der Testkassette, dass diese exakt in die Vertiefung passt.
6. Werten Sie das Testergebnis nach exakt 5 Minuten aus.



10. Ergebnisinterpretation

Der nal von minden Colibri zeigt das quantitative Ergebnis nach einer Analyse auf dem Display an.

Der Messbereich beträgt 20 bis 750 ng/mL (dies entspricht ca. 2 bis 75 µg Hämoglobin/g Stuhl). Das Ergebnis wird auf dem Display des Colibri in den Einheiten „approx. µg/g“ und in „ng/mL“ angezeigt. Konzentrationen darunter werden als „approx. < 2 µg/g“ und „< 20 ng/mL“, Konzentrationen darüber als „approx. > 75 µg/g“ und „> 750 ng/mL“ angezeigt. Bitte wählen Sie die Einheit, die Ihrer Laborvorgabe entspricht und achten Sie darauf, dass der Konzentrationswert im Display des Colibri direkt vor der Einheit steht.

Ungültiges Testergebnis

Die Kontrolllinie (C) erscheint nicht. In diesem Fall zeigt der nal von minden Colibri „FAIL“ auf dem Display an und ein tieferes akustisches Signal ist zu hören. Ergebnisse der Tests, bei denen der nal von minden Colibri „FAIL“ angezeigt hat, müssen verworfen werden. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

11. Kalibration

Der NADAL® FOB QUANT Test wurde unter Verwendung der ClinChek® Hämoglobinkontrolle (RECIPE CHEMICALS + INSTRUMENTS GmbH) kalibriert, dessen Konzentration mittels der Cyanmethämoglobin-Methode bestimmt wurde (empfohlene Referenzmethode der ICSH⁷). Kalibrationsdaten sind auf dem mitgelieferten RFID Chip gespeichert. Eine Kalibration durch den Anwender ist daher nicht notwendig.

12. Qualitätskontrolle

Der NADAL® FOB QUANT Test beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Kontrollstandards sind im Lieferumfang des NADAL® FOB QUANT Tests nicht enthalten. Dennoch ist es zu empfehlen, dass im Rahmen einer guten Laborpraxis bei jeder neuen Charge oder Lieferung und einmal pro Woche bzw. gemäß den Standardverfahren des Labors Positiv- und Negativkontrollen untersucht werden, um die Testdurchführung und die korrekte Testleistung zu überprüfen. Die Kontrollmaterialien müssen auf die gleiche Weise wie Patientenproben getestet werden.

Die korrekte Funktionsweise des Geräts können Sie darüber hinaus mit der, im Lieferumfang des Geräts enthaltenen, QC-Kassette überprüfen. Genauere Informationen hierzu entnehmen Sie bitte dem Handbuch des Geräts.

13. Grenzen des Tests

- Der NADAL® FOB QUANT Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch ausgelegt. Er sollte ausschließlich für den quantitativen Nachweis von humanem Hämoglobin in Stuhlproben verwendet werden.
- Die Anwesenheit von Blut im Stuhl kann neben einer kolorektalen Blutung unterschiedliche Ursachen haben, wie z. B. Hämorrhoiden, Blut im Urin oder Magenreizung. Auch Menstruationsblut, kleinere Verletzungen (z.B. durch harten Stuhl, rektale Medikamente oder digitale rektale Untersuchungen) oder Krankheiten (z. B. Durchfall, entzündliche Darmerkrankungen) können zu Blut im Stuhl führen. So stehen z. B. auch Medikamente, die die Blutgerinnung hemmen oder die Darmschleimhaut reizen im Verdacht, die Blutungsneigung zu fördern. Allerdings wird der Einfluss von Medikamenten kontrovers diskutiert, da sich in Studien häufig keine signifikanten Unterschiede auf den positiven Vorhersagewert finden lassen. Für ein zusammenfassendes Review siehe Literaturstelle.⁸
- Negative Ergebnisse schließen eine Blutung nicht aus, da Blut ungleichmäßig in Stuhlproben verteilt sein kann. Außerdem bluten einige Polypen und kolorektale Karzinome intermittierend oder gar nicht. Insbesondere kolorektale Polypen in einem sehr frühen Stadium werden deswegen häufig nicht erfasst. Durch Kolonoskopie werden einige Krebsvorstufen verlässlicher detektiert als durch iFOBT, weswegen Kolonoskopie weiterhin als „Goldstandard“ anzusehen ist. Allerdings stellt sie als invasives Untersuchungsverfahren ein größeres Risiko für den Patienten dar.
- Der NADAL® FOB QUANT Test ist nicht geeignet für den Nachweis von Blutungen im oberen Magen-Darm-Trakt, da

das Hämoglobin während der Magen-Darm-Passage abbaut wird.

- Nicht alle kolorektalen Blutungen entstehen durch präkanzeröse oder kanzeröse Polypen. Wie mit allen diagnostischen Tests, sollte eine definitive Diagnose vom Arzt erst nach Auswertung aller Klinik- und Laborbefunde gestellt werden. Positive Testergebnisse müssen mit Hilfe von Nachfolgeuntersuchungen abgeklärt werden. Anhaltende Symptome trotz negativem Ergebnis sollten differentialdiagnostisch geklärt werden.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Klinische Leistungsmerkmale

In einer Vergleichsstudie zwischen dem NADAL® FOB QUANT Test und dem RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA zeigte die Untersuchung von Patientenproben eine Korrelation von 91,3%.

Es wird empfohlen den Cut-off entsprechend des Verwendungszwecks anzupassen (Fragestellung der Untersuchung, z. B. Screening oder unterstützende Diagnostik, nationalen Richtlinien, Alter und Geschlecht des Patienten).^{9,10,11} Je kleiner der Cut-off gewählt wird, desto höher die Sensitivität und desto geringer die Spezifität.¹²

Analytische Leistungsmerkmale

Nachweisgrenze, Messbereich und Hook-Effekt:

Die Nachweisgrenze des NADAL® FOB QUANT Tests für die quantitative Auswertung beträgt 20 ng/mL bzw. ca. 2 µg/g Stuhl. Der Messbereich liegt zwischen 20 ng/mL und 750 ng/mL, was ca. 2 µg/g bzw. 75 µg/g Stuhl entspricht und kann quantitativ mit dem nal von minden Colibri bestimmt werden. Unter 20 ng/mL und über 750 ng/mL ist keine Quantifizierung möglich.

Bis zu einer Konzentration von 10.000 ng/mL kann kein ergebnisrelevanter Hook-Effekt nachgewiesen werden.

Analytische Spezifität

Der NADAL® FOB QUANT Test ist spezifisch für humanes Hämoglobin und zeigt keine Kreuzreaktivität mit dem Hämoglobin von Rind, Schwein, Pferd, Schaf, Ziege, Huhn, Truthahn, Kaninchen und Fisch bei Konzentrationen bis zu 0,5 mg/mL. Der Test zeigt keine Kreuzreaktivität zu Hämoglobin S. Hämoglobin F in einer Konzentration von bis zu 3,4% hat keine Auswirkung auf das Testergebnis.

Interferierende Substanzen

Der NADAL® FOB QUANT Test zeigt keine Interferenz mit den aufgelisteten Substanzen bis zu den angegebenen Konzentrationen:

Analyt	Konzentration
Acetylsalicylsäure	100 mg/L
Ascorbinsäure	200 mg/L
Bilirubin	50 mg/L
Coffein	400 mg/L
Eisen(II)-sulfat-Heptahydrat	25 mg/mL
Glucose	200 mg/L
Harnsäure	50 mg/L
Harnstoff	200 mg/L
Humanalbumin	25 mg/L
Lipide*	20 mg/L

* Fettsäuren gesättigt: 14,1%, einfach ungesättigt: 76,1%, mehrfach ungesättigt: 9,8%

Präzision

Die Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit des Tests wurde ermittelt, indem für 3 unabhängige Chargen Hämoglobinkonzentrationen von 20 ng/mL, 150 ng/mL und 750 ng/mL in einer 10-fach Bestimmung untersucht wurden. Für die Wiederholbarkeit beträgt die mittlere Intrachargenvarianz 7,5% im niedrigen, 4,6% im mittleren und 13,9% im hohen Konzentrationsbereich. Die durchschnittliche Interchargenvarianz für die Reproduzierbarkeit beträgt 7,3% im niedrigen, 5,0% im mittleren und 9,8% im hohen Konzentrationsbereich.

15. Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Bei schwerwiegenden Vorkommnissen im Zusammenhang mit der Leistung des NADAL® FOB QUANT Tests informieren Sie bitte unverzüglich die nal von minden GmbH und die zuständige Behörde. Wenn möglich, entsorgen Sie nicht den verwendeten Test und die entsprechenden Bestandteile des Test-Kits.

16. Referenzen

1. Ferlay, J., et al.; Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012; Int J Cancer (2015); 136(5): E359-86
2. Hardcastle J.D., et al.; Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
3. Kronborg O., et al.; Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
4. Allison J.E., et al.; Population screening for colorectal cancer means getting FIT: The past, present, and future of colorectal cancer screening using the fecal immunochemical test for hemoglobin (FIT); Gut Liver (2014); 8 (2): 117-30
5. Park D.I., et al.; Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening; Am J Gastroenterol (2010); 105 (9): 2017-25
6. Sultanian R., et al.; The impact of transitioning from guaiac-fecal occult blood testing to fecal immunochemical testing in a Canadian colon cancer screening program (2019) Journal of the Canadian Association of Gastroenterology, gwz009, <https://doi.org/10.1093/jcag/gwz009>
7. ICSH; Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemoglobinocyanide reference preparation (3rd edition); Clin. Lab. Haemat. (1987); 9: 73-79
8. Konrad G.; Are medication restrictions before FOBT necessary?; Can Fam Physician.(2012); 58(9): 939-948
9. Fraser C.G., et al.; Newer Fecal Tests: Opportunities for Professionals in Laboratory Medicine; Clin Chem (2012); 58(6): 963-65 DOI: 10.1373/clinchem.2012.185025
10. Halloran S.P., et al.; European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1309791> Endoscopy 2012; 44: SE65–SE87
11. Van Rossum, L.G., et al.; Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme Br J Cancer (2009) 101(8) :1274-81
12. Gies A., et al.; Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening; Gastroenterology; (2018); 154: 93-104

Rev.0, 2020-08-17 LeRe/OM

1. Intended Use

The NADAL® FOB QUANT Test is a lateral flow chromatographic immunoassay (immunological faecal occult blood test, iFOBT) for the quantitative detection of human haemoglobin in human faecal specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of pathologies of the lower gastrointestinal tract, especially in patients with abdominal complaints of unclear origin or abnormalities in bowel movements (see section 12 'Limitations'). In addition, the NADAL® FOB QUANT Test is suitable for screening asymptomatic patients who are classified as belonging to a risk group due to their age, a family history of colorectal carcinomas or other factors. The quantitative measurement and evaluation of the test result is to be carried out using the nal von minden Colibri. The test procedure is not automated and requires no special training or qualification. The NADAL® FOB QUANT Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Colorectal cancer is one of the most commonly diagnosed types of cancer and one of the leading causes of cancer-related deaths. Nearly 55% of all colorectal cancer cases occur in more developed regions. Incidence varies worldwide by up to a factor of 10. The highest age-standardised rates can be found in Australia/New Zealand (ASR 44.8 and 32.2 per 100,000 men and women, respectively) and the lowest in West Africa (ASR 4.5 and 3.8 per 100,000 men and women, respectively).¹ Screening for occult ('hidden') blood in stool specimens can increase the chances of the early detection of colorectal cancer and thus reduce mortality rates.^{2,3}

Previous, commercially available FOB tests were based on the Guaiac method, which requires a special diet prior to testing to avoid inaccurate results caused by, for example, haem or peroxidases found in some foods. For this reason, immunological tests were developed for the specific detection of human haemoglobin in faecal specimens. Several studies have demonstrated that immunochemical methods are superior to the Guaiac method in terms of specificity, sensitivity and operability when detecting advanced adenomas and colorectal carcinomas in the lower gastrointestinal tract.^{4,6} Due to these advantages quantitative immunological FOB tests are meanwhile used in screening programmes in many countries.

3. Test Principle

The NADAL® FOB QUANT Test is a lateral flow chromatographic immunoassay (iFOBT) for the quantitative detection of human haemoglobin in human faecal specimens. Human haemoglobin is detected with the help of two specific antibodies to human haemoglobin, one of which is colour-labelled (active component of the detection reaction: approx. 0.4 µg/test) whilst the other is immobilised in the test line region (T) (active component of the detection reaction: approx. 0.7 µg/test).

Antibodies to human haemoglobin are pre-coated in the test line region (T) of the nitrocellulose membrane. During the test, the specimen extracted in the buffer reacts with antibodies to human haemoglobin which are conjugated to coloured particles and pre-coated onto the conjugate pad of the internal test strip. The mixture then migrates along the membrane by capillary action. If there is a sufficient amount of haemoglobin

in the specimen, a coloured line will develop in the test line region (T) of the membrane. The haemoglobin concentration in the specimen material correlates with the colour intensity of the test line. The line intensity is proportional to the concentration and increases from 20 ng/mL to 750 ng/mL. The concentration-dependent formation of the test line allows a rapid quantitative determination of haemoglobin in faecal specimens using the nal von minden Colibri.

The formation of a coloured line in the control line region (C) serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® FOB QUANT test cassettes*
- 20 specimen collection tubes containing buffer (specimens diluent buffer)**
- 20 stool collectors
- 1 lot-specific RFID card
- 1 package insert

*containing the preservative sodium azide

**phosphate buffer contains preservatives sodium azide and ProClin™ <0.1%.

No hazard labelling is required according to Regulation (EC) N° 1272/2008 CLP. Concentrations are below the exemption thresholds.

5. Additional Materials Required

- nal von minden Colibri
- Timer, if the internal timer in the nal von minden Colibri is not to be used
- Specimen collection containers (optional, if an undiluted faecal specimen is required and the dilution step is to be carried out immediately before testing)

6. Storage and Stability

Test kits should be stored at 2-30°C until the indicated expiry date. Test cassettes are stable until the expiry date printed on the foil pouches. Test cassettes must remain in the sealed foil pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date indicated on the packaging. Care should be taken to protect test kit components from contamination. Do not use test kit components if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to inaccurate results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the entire instructions for use prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the packaging.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Tests are for single use only.
- Do not add specimens to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection tube for each specimen obtained.

- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be disposed in accordance with local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

Store the specimen collection tube at room temperature prior to use. It is recommended to collect faecal specimen using a stool collector. Avoid dilution of faecal specimens with urine or water from the toilet bowl.

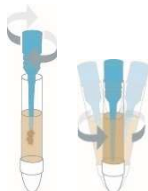
1. Hold the specimen collection tube upright and open the light-blue cap with the applicator stick (spiral rod). Remove it. Be careful not to spill or splash buffer solution from the collection tube.
2. Collect specimens by inserting the applicator stick in 3 different sites of the faecal specimen.



Note: Please be sure to insert the applicator stick three times in a row into the faecal specimen. Do NOT put the applicator stick back into the tube in between collecting the 3 specimens. Be careful not to spill fluid from the tube. The quality of the specimen and compliance with these instructions will affect your test result.



3. Place the applicator stick, along with the specimen, back into the specimen collection tube and close it properly.
4. Shake the specimen collection tube vigorously so that the specimen is fully mixed with the diluent buffer.



Note:

If a specimen is collected in the specimen collection container by the patient themselves, it is necessary to inform the patient how to collect, store and transport the faecal specimen as well as which conditions must be avoided.

The NADAL® FOB QUANT Test is intended for use with human faecal specimens only. Patients should not collect faecal

specimens during their menstrual period or 3 days before and after it, or if they have bleeding hemorrhoids, blood in the urine or strongly forced bowel movements.

Aspirin and other medications taken in excess may cause gastrointestinal irritation, resulting in occult bleeding. If possible, such substances should be discontinued - following consultation with the doctor - at least 48 hours prior to testing.

No dietary restrictions are necessary before testing. Alcohol is suspected of irritating the intestines and should be avoided for at least 48 hours prior to testing.

Urine and the excessive dilution of specimens with toilet water can lead to inaccurate test results.

Perform the test as soon as possible after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. On the whole, the storage time of specimens at 2-8°C should not exceed 7 days. Specimens can be transported to the doctor's office at room temperature without any problems; however this should be done within 2 hours. Bring specimens to room temperature prior to testing.

9. Test Procedure

I. Preparation

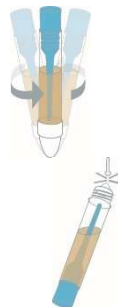
1. Bring foil pouches and patient specimens (extracted specimens) to room temperature (18-30°C) prior opening the pouches.
2. Remove the NADAL® FOB QUANT test cassette from its sealed pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch.
3. Switch on the nal von minden Colibri and make sure that the test-specific RFID card is at hand.



Note: Every lot has its own calibration data. This is saved on a RFID card delivered with every pack of tests. In order to correctly interpret the test, the lot-specific RFID card must be placed on the nal von minden Colibri. To avoid confusion between cards, old RFID cards should be disposed of once tests from the corresponding lot have been used up.

II. Test Procedure

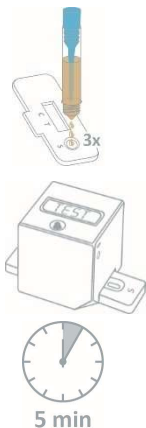
1. Shake the specimen collection tube carefully to ensure that the faecal specimen is completely mixed with the dilution buffer.
2. Unscrew the rounded white cap on the collection tube. Using a piece of tissue, break off the tip of the tube with a twisting motion.



3. Holding the specimen collection tube vertically, discard the first drop and then transfer 3 drops of the specimen solution into the round specimen well (S) on the test cassette.

Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S) and do not add any solution to the result area.

4. Start the timer or use the integrated timer in the nal von minden Colibri.
5. Place the nal von minden Colibri onto the test cassette, so that it fits exactly into the cavity.
6. Read the test result after exactly 5 minutes.



10. Result Interpretation

Following an analysis, the nal von minden Colibri displays the quantitative result on-screen.

The measuring range is 20 to 750 ng/mL (this corresponds to approx. 2 to 75 µg haemoglobin/g stool). The result is shown in the units "approx. µg/g" and in "ng/mL" on the Colibri display. Concentrations below this level are displayed as "approx. <2 µg/g" and "<20 ng/mL", whilst concentrations above this level are displayed as "approx. >75 µg/g" and ">750 ng/mL". Please select the unit that corresponds to your laboratory requirements and ensure that the concentration value on the Colibri display is shown directly before the unit.

Invalid:

The control line (C) fails to appear. In this case, the nal von minden Colibri shows "FAIL" on the display and a low-pitched acoustic signal can be heard. Results from any test in which the nal von minden Colibri has displayed "FAIL" must be discarded.

Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

11. Calibration

The NADAL® FOB QUANT Test was calibrated using the ClinChek® haemoglobin control (RECIPE CHEMICALS + INSTRUMENTS GmbH), the concentration of which was determined using the cyanmethemoglobin method (recommended reference method of the ICSH⁷). The calibration data is saved on the RFID chip included. It is therefore not necessary for the user to calibrate the device.

12. Quality Control

The internal procedural control is included in the NADAL® FOB QUANT Test:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, correct procedural technique and adequate membrane wicking.

Control standards are not supplied with the NADAL® FOB QUANT Test. Nevertheless, it is recommended that positive and negative controls are tested as part of *good laboratory*

practice (GLP) with every new lot or delivery and once a week or according to the laboratory standard procedure in order to confirm the test procedure and to verify proper test performance. Control materials should be tested in the same way as patient specimens. Furthermore, you can verify the correct functionality of the device using the included QC cassette. For detailed information, please consult the device manual.

13. Limitations

- The NADAL® FOB QUANT Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. It should be used for the quantitative detection of human haemoglobin in faecal specimens only.
- Other than colorectal bleeding, the presence of blood in the stool may have a number of different causes, such as haemorrhoids, blood in the urine or stomach irritation. Menstrual blood, minor injuries (e.g. from hard stools, rectal medication or digital rectal examinations) or diseases (e.g. diarrhoeal disease, inflammatory bowel disease) may also lead to blood in the stool. Drugs that inhibit blood clotting or irritate the intestinal mucosa are also suspected of exacerbating bleeding tendencies. However, the influence of drugs is controversial, as studies often do not demonstrate any significant differences on the positive predictive value. For a comprehensive review, see references.⁸
- Negative results do not exclude bleeding, as blood may be unevenly distributed in stool specimens. In addition, some polyps and colorectal carcinomas can bleed intermittently or not at all. In particular, colorectal polyps in the very early stages often go undetected. Some cancer precursors are detected more reliably using colonoscopy than iFOBT, which is why colonoscopy continues to be regarded as the 'gold standard'. However, as an invasive examination procedure, it poses a greater risk for the patient.
- The NADAL® FOB QUANT Test is not suitable for the detection of bleeding in the upper gastrointestinal tract, as haemoglobin degrades as it passes through the gastrointestinal passage.
- Not all colorectal bleeding is due to precancerous or cancerous polyps. As with all diagnostic tests, a confirmed diagnosis should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated. Positive test results must be clarified by means of follow-up examinations. Persistent symptoms despite a negative result should be clarified by differential diagnosis.

14. Performance Characteristics

Clinical performance

In a comparison study between the NADAL® FOB QUANT Test and the RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA, the examination of patient specimens showed a correlation of 91.3%.

It is recommended to adjust the cut-off according to the intended use (objective of the examination, e.g. screening or supportive diagnostics, national guidelines, patient age and sex).^{9,10,11} The smaller the cut-off is, the higher the sensitivity and the lower the specificity.¹²

Analytical performance

Detection limit, measuring range and hook effect:

The detection limit of the NADAL® FOB QUANT Test for the quantitative evaluation is 20 ng/mL or approx. 2 µg/g stool. The measuring range is between 20 ng/mL and 750 ng/mL,

which corresponds to approx. 2 µg/g or 75 µg/g stool and can be quantitatively evaluated using the nal of minden Colibri. No quantification is possible below 20 ng/mL and above 750 ng/mL.

No hook effect relevant to the results can be detected up to a concentration of 10,000 ng/mL.

Analytical specificity

The NADAL® FOB QUANT Test is specific for human haemoglobin and shows no cross-reaction with haemoglobin from bovine, pig, horse, sheep, goat, chicken, turkey, rabbit or fish blood at concentrations of up to 0.5 mg/mL.

The test shows no cross-reactivity to haemoglobin S. Haemoglobin F with a concentration of up to 3.4% has no effect on the test result.

Interfering substances

The NADAL® FOB QUANT Test shows no interference with the listed substances up to the specified concentrations:

Analyte	Concentration
Acetylsalicylic acid	100 mg/L
Ascorbic acid	200 mg/L
Bilirubin	50 mg/L
Caffeine	400 mg/L
Iron(II) sulfate heptahydrate	25 mg/mL
Glucose	200 mg/L
Uric acid	50 mg/L
Urea	200 mg/L
Human albumin	25 mg/L
Lipids*	20 mg/L

* Fatty acids saturated: 14.1%, monounsaturated: 76.1%, polyunsaturated: 9.8%

Precision

The repeatability and reproducibility of the test were established by testing haemoglobin concentrations of 20 ng/mL, 150 ng/mL and 750 ng/mL in a 10-fold determination with 3 independent lots. For repeatability, the mean intra-lot variance is 7.5% in the low, 4.6% in the medium and 13.9% in the high concentration range. The mean inter-lot variance for the reproducibility is 7.3% in the low, 5.0% in medium and 9.8% in the high concentration range.

15. Serious incident reporting

In the event of any serious incidents related to the performance of the NADAL® FOB QUANT Test, please inform nal von minden GmbH and the competent authority immediately. If still possible, do **not** dispose of the used test and the corresponding test kit components.

16. References

1. Ferlay, J., et al.; Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012; Int J Cancer (2015); 136(5): E359-86
2. Hardcastle J.D., et al.; Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
3. Kronborg O., et al.; Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
4. Allison J.E., et al.; Population screening for colorectal cancer means getting FIT: The past, present, and future of colorectal cancer screening using the fecal immunochemical test for hemoglobin (FIT); Gut Liver (2014); 8 (2): 117-30
5. Park D.J., et al.; Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening; Am J Gastroenterol (2010); 105 (9): 2017-25
6. Sultanian R., et al.; The impact of transitioning from guaiac-fecal occult blood testing to fecal immunochemical testing in a Canadian colon cancer screening program (2019) *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*, gwz009, <https://doi.org/10.1093/jcag/gwz009>

7. ICSH; Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemoglobinocyanide reference preparation (3rd edition); Clin. Lab. Haemat. (1987); 9: 73-79
8. Konrad G.; Are medication restrictions before FOBT necessary?; Can Fam Physician. (2012); 58(9): 939-948
9. Fraser C.G., et al.; Newer Fecal Tests: Opportunities for Professionals in Laboratory Medicine; Clin Chem (2012); 58(6): 963-65 DOI: 10.1373/clinchem.2012.185025
10. Halloran S.P., et al.; European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1309791> Endoscopy 2012; 44: SE65-SE87
11. Van Rossum, L.G., et al.; Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme Br J Cancer (2009) 101(8): 1274-81
12. Gies A., et al.; Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening: Gastroenterology; (2018); 154: 93-104

Rev.0, 2020-08-17 LeRe/OM

1. Scopo del test

Il test NADAL® FOB QUANT è un immunodosaggio cromatografico (test immunologico "Sangue occulto fecale", iFOBT) in formato flusso laterale per la rilevazione quantitativa dell'emoglobina umana nei campioni di feci. Questo test è inteso come aiuto nella diagnosi di patologie del tratto gastrointestinale inferiore, soprattutto nei pazienti con disturbi addominali di origine sconosciuta o anomalie nei movimenti intestinali. (vedi punto 12. "Limiti del Test"). Inoltre, il test NADAL® FOB QUANT è adatto per lo screening di pazienti privi di sintomi che vengono classificati come gruppo a rischio in base all'età, a una storia familiare di cancro al colon o ad altri fattori. La misurazione quantitativa e la valutazione dei risultati del test viene eseguita con il Colibri nal von minden. La procedura di test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciale. Il test è stato progettato solo per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il cancro del colon-retto è uno dei tumori più frequentemente diagnosticati e una delle principali cause di morte per cancro. Quasi il 55% dei casi si verifica in regioni più sviluppate. A livello globale, l'incidenza varia fino al fattore 10. I tassi più alti in termini di età si trovano in Australia/Nuova Zelanda (ASR 44,8 e 32,2 per 100.000 uomini e donne, rispettivamente), e i più bassi in Africa occidentale (ASR 4,5 e 3,8 per 100.000 uomini e donne, rispettivamente).¹ Gli esami per il sangue occulto (nascosto) nelle feci possono aumentare le possibilità di diagnosi precoce del cancro coloretale e quindi ridurre il tasso di mortalità.²⁻³

I precedenti test FOB disponibili in commercio si basavano sul metodo di Guajak, che richiede una dieta speciale prima del test per evitare risultati falsi positivi causati da perossidasi di alcuni alimenti. Pertanto, sono stati sviluppati test immunologici che rilevano specificamente l'emoglobina umana nei campioni di feci.

Diversi studi hanno dimostrato che i metodi immunochimici sono superiori al metodo di Guajak in termini di specificità, sensibilità e gestibilità per il rilevamento di adenomi avanzati e carcinomi del colon nel tratto gastrointestinale inferiore.⁴⁻⁶ Grazie a questi vantaggi, i test immunologici quantitativi FOB vengono ora utilizzati nei programmi di screening in molti paesi.

3. Principio del Test

Il test NADAL® FOB QUANT è un immunodosaggio cromatografico (iFOBT) a flusso laterale per la rilevazione quantitativa dell'emoglobina umana nei campioni di feci. La rilevazione dell'emoglobina umana viene effettuata mediante due anticorpi specifici contro l'emoglobina umana, uno dei quali è contrassegnato da un colore (componente attivo della reazione di rilevazione: circa 0,4 µg/test) e l'altro è immobilizzato nella regione della linea di test (T) (componente attivo della reazione di rilevazione: circa 0,7 µg/test).

Gli anticorpi contro l'emoglobina umana sono pretrattati nella regione della linea di test (T) della membrana di nitrocellulosa. Durante il test, il campione estratto in soluzione tampone reagisce con anticorpi contro l'emoglobina umana coniugata a particelle colorate e priverivista sul tampone coniugato della striscia reattiva interna. La miscela migra cromatografica-

mente lungo la membrana per azione capillare. Se nel campione è presente una quantità sufficiente di emoglobina, nella regione della linea di test (T) della membrana appare una linea colorata.

La concentrazione di emoglobina nel campione è correlata all'intensità del colore della linea di test. L'intensità della linea è proporzionale alla concentrazione ed aumenta da 20 ng/mL a 750 ng/mL. La formazione dipendente dalla concentrazione della linea di test permette una rapida determinazione quantitativa dell'emoglobina nei campioni di feci in combinazione con il Colibri nal von minden.

La comparsa di una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) serve come controllo procedurale che indica che è stato aggiunto un volume di campione sufficiente e che la membrana è sufficientemente saturata.

4. Contenuto della Confezione

- 20 NADAL® FOB QUANT test a cassetta*
- 20 provette di campionamento con soluzione tampone (soluzione di diluizione del campione)**
- 20 collettori per le feci
- 1 carta RFID lotto specifica
- 1 istruzioni per l'uso

*Contiene Azide di Sodio come conservante

** Il tampone fosfato contiene conservante sodio azide e ProClin™ <0,1%.

Secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 CLP non è richiesta l'etichettatura di pericolo. Le concentrazioni sono al di sotto dei limiti di esenzione.

5. Ulteriori materiali richiesti

- nal von minden Colibri
- Cronometro, se non viene utilizzato il timer interno del Colibri nal von minden
- Contenitore di raccolta del campione (opzionale se si desidera un campione di feci non diluito e la fase di diluizione viene eseguita immediatamente prima del test)

6. Conservazione e Stabilità

I kit di prova devono essere conservati a 2-30°C fino alla data di scadenza indicata. I kit sono stabili fino alla data di scadenza stampata sulla confezione. Il test a cassetta deve rimanere nella busta di alluminio sigillata fino al momento dell'uso. Non congelare i kit di prova. Assicurarsi che i componenti dei kit di test siano protetti dalla contaminazione. Non utilizzare i componenti del kit di test se vi sono prove di contaminazione microbica o danni. La contaminazione biologica dei dispositivi di dosaggio, dei contenitori o dei reagenti può portare a risultati errati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare i test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Test monouso.
- Non versare il campione nel campo di reazione del test (finestra del risultato).

- Non toccare il campo di reazione (finestra del risultato) al fine di evitare contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata utilizzando per ogni campione una nuova provetta.
- Non utilizzare o scambiare i componenti di kit di test differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i kit.
- Indossare abiti protettivi quali guanti monouso, camici ed occhiali da laboratorio quando vengono trattati i campioni.
- Trattare tutti i campioni come se contenessero reagenti infettivi. Osservare le precauzioni esistenti per i rischi microbiologici durante tutte le procedure e le linee guida standard per un corretto smaltimento dei campioni.
- Questo test contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata dell'origine e/o dello stato di salute degli animali non garantisce completamente l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda pertanto di considerare questi prodotti come potenzialmente infettivi e di trattarli secondo le normali precauzioni (ad es. evitare l'ingestione o l'inalazione).
- Umidità e temperature elevate possono compromettere i risultati dei test.
- I materiali di test usati devono essere smaltiti secondo le normative locali.

8. Preparazione e raccolta del campione

Conservare la provetta a temperatura ambiente prima dell'uso. Si consiglia di raccogliere il campione di feci utilizzando un collettore per le feci. Evitare di diluire il campione di feci con urina o acqua di scarico del water.

1. Mantenere la provetta verticalmente e svitare il tappo blu. Estrarre l'applicatore facendo attenzione a non versare la soluzione di diluizione.
2. Raccogliere il campione inserendo l'applicatore (a spirale) in tre punti differenti del campione di feci raccolto.

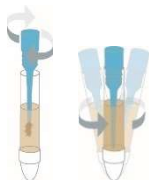


Nota bene: Assicurarsi di inserire l'applicatore tre volte di fila nel campione di feci. NON inserire nuovamente l'applicatore nella provetta durante la raccolta dei 3 volumi di campione necessari assicurandosi di non versare il liquido contenuto.

3. Una volta raccolta la quantità di campione sufficiente, inserire nuovamente l'applicatore nella provetta e chiudere bene.



4. Agitare bene la provetta al fine di mescolare correttamente il campione con la soluzione di diluizione.



Nota bene:

Se il campione viene raccolto direttamente dal paziente nel contenitore di raccolta dei campioni, è necessario informare il paziente su come raccogliere, conservare e trasportare il campione di feci e quali condizioni devono essere evitate.

Il test NADAL® FOB QUANT è stato progettato per essere utilizzato solo con campioni di feci umane. Si invitano i pazienti a non effettuare la raccolta del campione durante il periodo mestruale (nè 3 giorni prima o dopo), in caso di sanguinamento dovuto ad emorroidi, in caso di presenza di sangue nelle urine o in caso di peristalsi intestinale.

L'abuso di alcol, aspirina ed altri medicinali potrebbe causare disturbi gastrointestinali e risultare in sanguinamento occulto. Si consiglia di sospendere l'utilizzo di tali sostanze almeno 48 ore prima di eseguire il test.

Non è necessario adottare alcuna particolare dieta prima dell'esecuzione del test. L'alcol è sospettato di irritare l'intestino e dovrebbe essere evitato almeno 48 ore prima del test.

L'urina e l'eccessiva diluizione dei campioni con acqua del water possono causare risultati errati del test.

Eseguire il test il più presto possibile dopo il prelievo. Non conservare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Il tempo totale di conservazione del campione non deve superare i 7 giorni a 2-8°C. Il trasporto allo studio può essere effettuato tranquillamente a temperatura ambiente, ma non deve superare le 2 ore. Portare i campioni a temperatura ambiente prima del test.

9. Procedura del Test

I. Preparazione

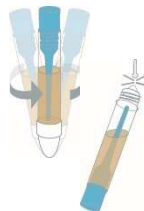
1. Portare la confezione del test e i campioni dei pazienti (campioni estratti) a temperatura ambiente (18-30°C) prima dell'apertura.
2. Rimuovere il test a cassetta NADAL® FOB QUANT dalla busta sigillata e utilizzarlo il prima possibile. I migliori risultati si ottengono quando il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura.
3. Accendere il Colibri nal von minden e tenere la scheda RFID specifica per il test a portata di mano.



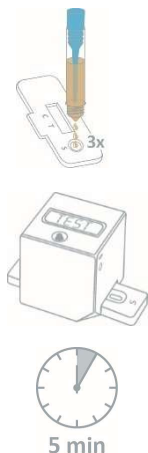
Nota bene: ad ogni lotto vengono assegnati dati di taratura specifici. Questi sono memorizzati su una scheda RFID inclusa in ogni confezione di test. Per interpretare correttamente il test, la scheda RFID specifica del lotto deve essere posizionata sul Colibri nal von minden. Le vecchie carte RFID dovrebbero essere scartate dopo aver completato i test di un lotto per evitare confusione.

II. Svolgimento del Test

1. Agitare con attenzione la provetta di raccolta del campione per assicurarsi che il campione di feci si mescoli completamente con il tampone di diluizione.
2. Svitare il tappo di protezione arrotondato della provetta di campionamento. Prendere un tovagliolo di carta e rompere il tappo della provetta di campionamento con un movimento rotatorio.



3. Tenere la provetta di raccolta del campione in verticale, scartare la prima goccia e poi aggiungere 3 gocce della soluzione nel pozzetto rotondo del campione (S) del test a cassetta.
4. Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto del campione (S) del test a cassetta e non aggiungere soluzione al campo del risultato.
Avviare il timer o utilizzare il timer integrato del Colibri nal von minden.
5. Posizionare il Colibri nal von minden sopra il test a cassetta in modo che si inserisca esattamente nel vano.
6. Valutare il risultato del test dopo esattamente 5 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

Il Colibri nal von minden mostra il risultato quantitativo sul display dopo un'analisi.

Il campo di misura va da 20 a 750 ng/mL (ciò corrisponde a circa 2 a 75 µg di emoglobina /g di feci). Il risultato viene visualizzato sul display del Colibri nelle unità "ca. µg/g" e in "ng/mL". Le concentrazioni sotto riportate sono indicate come "ca. < 2 µg/g" e "< 20 ng/mL", le concentrazioni sopra indicate come "ca. > 75 µg/g" e "> 750 ng/mL". Selezionare l'unità che corrisponde alle specifiche del vostro laboratorio e assicurarsi che il valore di concentrazione sul display del Colibri sia direttamente davanti all'unità.

Risultato del test non valido

La linea di controllo (C) non appare. In questo caso il Colibri della nal von minden mostra "FAIL" sul display e si sente un segnale acustico più acuto. I risultati dei test in cui il Colibri della nal von minden ha mostrato "FAIL" devono essere scartati. Controllare la procedura e ripetere il test con una nuova cassetta. Se il problema persiste, si prega di smettere di utilizzare il kit di test e di contattare il proprio distributore.

11. Calibrazione

Il test NADAL® FOB QUANT è stato calibrato utilizzando il ClinChek® Hemoglobin Control (RECIPE CHEMICALS + INSTRUMENTS GmbH), la cui concentrazione è stata determinata con il metodo della cianometamoglobina (metodo di riferimento raccomandato dell'ICSH⁷). I dati di calibrazione sono memorizzati sul chip RFID fornito. Non è quindi necessaria una calibrazione da parte dell'utente.

12. Controllo qualità

Il test NADAL® FOB QUANT comprende un controllo procedurale interno:

Una linea colorata che appare nella regione della linea di controllo (C) è considerata un controllo procedurale interno. Conferma che è stato aggiunto un volume di campione sufficiente, che è stata utilizzata una tecnica procedurale corretta e che la membrana è sufficientemente imbevuta.

Gli standard di controllo non sono inclusi nel test NADAL® FOB QUANT. Tuttavia, si raccomanda che, come parte della buona pratica di laboratorio, i controlli positivi e negativi siano testati con ogni nuovo lotto o spedizione e una volta alla settimana o secondo le procedure standard di laboratorio per verificare le prestazioni del test. I materiali di controllo devono essere testati allo stesso modo dei campioni dei pazienti.

È inoltre possibile controllare il corretto funzionamento dell'unità utilizzando la cassetta QC fornita con l'unità. Per i dettagli, fare riferimento alle istruzioni per l'uso.

13. Limiti del test

- Il test NADAL® FOB QUANT Test è progettato esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Dovrebbe essere usato solo per la rilevazione quantitativa dell'emoglobina umana nei campioni di feci.
- La presenza di sangue nelle feci può avere varie cause oltre ad un'emorragia coloretta, come emorroidi, sangue nelle urine o irritazione dello stomaco. Anche il sangue mestruale, lesioni di lieve entità (ad es. da feci dure, farmaci rettali o esami rettali digitali) o malattie (ad es. diarrea, malattie infiammatorie intestinali) possono portare a sangue nelle feci. Per esempio, i farmaci che inibiscono la coagulazione del sangue o irritano la mucosa intestinale sono anche sospettati di favorire la tendenza al sanguinamento. Tuttavia, l'influenza dei farmaci è discussa in modo controverso, poiché spesso gli studi non riescono a trovare differenze significative nel valore predittivo positivo. Per una rassegna riassuntiva, consultare la bibliografia.⁸
- Risultati negativi non escludono il sanguinamento, poiché il sangue può essere distribuito in modo non uniforme nei campioni di feci. Inoltre, alcuni polipi e carcinomi colorettali sanguinano in modo intermittente o non sanguinano affatto. Soprattutto i polipi colorettali in una fase molto precoce non vengono quindi spesso rilevati. Alcune lesioni precancerose sono rilevate in modo più affidabile dalla colonoscopia rispetto all'iFOBt, motivo per cui la colonoscopia è ancora considerata il "gold standard". Tuttavia, come procedura di esame invasiva, rappresenta un rischio maggiore per il paziente.
- Il test NADAL® FOB QUANT non è adatto per il rilevamento di emorragie nel tratto gastrointestinale superiore, in quanto l'emoglobina viene scomposta durante il passaggio gastrointestinale.
- Non tutte le emorragie colorettali sono causate da polipi precancerosi o cancerosi. Come per tutti gli esami diagnostici, la diagnosi definitiva deve essere fatta dal medico solo dopo la valutazione di tutti i risultati clinici e di laboratorio. I risultati positivi del test devono essere chiariti da esami successivi. I sintomi persistenti nonostante i risultati negativi dovrebbero essere chiariti da una diagnosi differenziale.

14. Caratteristiche tecniche

Caratteristiche cliniche

In uno studio comparativo tra il NADAL® FOB QUANT e il RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA, l'esame dei campioni dei pazienti ha mostrato una correlazione del 91,3%.

Si raccomanda di regolare il cut-off in base all'uso previsto (domanda di ricerca, ad es. screening o supporto diagnostico, linee guida nazionali, età e sesso del paziente).^{9,10,11} Minore è

il cut-off scelto, maggiore è la sensibilità e minore è la specificità.¹²

Sensibilità Analitica

Limite di rilevamento, campo di misura ed effetto Hook:

Il limite di rilevazione del test NADAL® FOB QUANT per la valutazione quantitativa è di 20 ng/mL o circa 2 µg/g di feci. Il campo di misura è compreso tra 20 ng/mL e 750 ng/mL, che corrisponde a circa 2 µg/g o 75 µg/g di feci e può essere determinato quantitativamente con il Colibri della nal von minden. Nessuna quantificazione è possibile al di sotto di 20 ng/mL e al di sopra di 750 ng/mL.

Fino ad una concentrazione di 10.000 ng/mL non è possibile rilevare alcun effetto Hook importante per il risultato.

Specificità analitica

Il test NADAL® FOB QUANT è specifico per l'emoglobina umana e non mostra alcuna reattività incrociata con l'emoglobina di bovini, suini, cavalli, pecore, capre, polli, tacchini, conigli e pesci a concentrazioni fino a 0,5 mg/mL. Il test non mostra alcuna reattività crociata all'emoglobina S. L'emoglobina F ad una concentrazione fino al 3,4% non ha alcun effetto sul risultato del test.

Sostanze interferenti

Il test NADAL® FOB QUANT non mostra alcuna interferenza con le sostanze elencate fino alle concentrazioni specificate:

Analita	Concentrazione
Acido Acetilsalicilico	100 mg/L
Acido Ascorbico	200 mg/L
Bilirubina	50 mg/L
Caffeina	400 mg/L
Solfato eptaidrato di ferro(II)	25 mg/L
Acido urico	50 mg/L
Urea	200 mg/L
Glucosio	200 mg/L
Albumina umana	25 mg/L
Lipidi*	20 mg/L

* Acidi grassi saturi: 14,1%, monoinsaturi: 76,1%, polinsaturi: 9,8%

Precisione

La ripetibilità e la riproducibilità del test è stata determinata analizzando concentrazioni di emoglobina di 20 ng/mL, 150 ng/mL e 750 ng/mL in una determinazione di 10 volte per 3 lotti indipendenti. Per la ripetibilità, la variazione media intra-lotto è del 7,5% nell'intervallo più basso, del 4,6% nell'intervallo medio e del 13,9% nell'intervallo di alta concentrazione. La variazione media inter-lotto per la riproducibilità è del 7,3% nell'intervallo più basso, del 5,0% nell'intervallo medio e del 9,8% nell'intervallo di alta concentrazione.

15. Segnalazione di incidenti gravi

In caso di gravi incidenti in relazione all'esecuzione del test NADAL® FOB QUANT, si prega di informare immediatamente nal von minden GmbH e l'autorità responsabile. Se possibile, non smaltire il test usato e i componenti corrispondenti del kit.

16. Bibliografia

1. Ferlay, J., et al.; Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012; Int J Cancer (2015); 136(5): E359-86

2. Hardcastle J.D., et al.; Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
3. Kronborg O., et al.; Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
4. Allison J.E., et al.; Population screening for colorectal cancer means getting FIT: The past, present, and future of colorectal cancer screening using the fecal immunochemical test for hemoglobin (FIT); Gut Liver (2014); 8 (2): 117-30
5. Park D.I., et al.; Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening; Am J Gastroenterol (2010); 105 (9): 2017-25
6. Sultanian R., et al.; The impact of transitioning from guaiac-fecal occult blood testing to fecal immunochemical testing in a Canadian colon cancer screening program (2019) *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*, gwz009, <https://doi.org/10.1093/cag/gwz009>
7. ICSH; Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemoglobinocyanide reference preparation (3rd edition); Clin. Lab. Haemat. (1987); 9: 73-79
8. Konrad G.; Are medication restrictions before FOBT necessary?; Can Fam Physician (2012); 58(9): 939-948
9. Fraser C.G., et al.; Newer Fecal Tests: Opportunities for Professionals in Laboratory Medicine; Clin Chem (2012); 58(6): 963-65 DOI: 10.1373/clinchem.2012.185025
10. Halloran S.P., et al.; European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1309791> Endoscopy 2012; 44: SE65-SE87
11. Van Rossum, L.G., et al.; Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme Br J Cancer (2009) 101(8): 1274-81
12. Gies A., et al.; Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening; Gastroenterology; (2018); 154: 93-104

Rev.0, 2020-08-17 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® FOB QUANT to chromatograficzny test immunologiczny (immunologiczny test na krew utajoną w kale, iFOBT) w formacie przepływu bocznego do ilościowego wykrywania ludzkiej hemoglobiny w próbkach kału. Test ma służyć jako pomoc w diagnostyce zmian patologicznych dolnego odcinka przewodu pokarmowego, szczególnie u pacjentów z dolegliwościami brzuszными niejasnego pochodzenia lub nieprawidłowymi wypróżnieniami (patrz punkt 12 "Ograniczenia testu"). Ponadto test NADAL® FOB QUANT może być stosowany do skringingu bezobjawowych pacjentów, którzy są zakwalifikowani do grupy ryzyka ze względu na wiek, wywiad rodzinny w kierunku raka jelita grubego lub inne czynniki. Ilościowy pomiar i interpretacja wyników testu następuje przy pomocy urządzenia nal von minden Colibri. Test nie jest zautomatyzowany i nie wymaga specjalnego szkolenia ani kwalifikacji. Test przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Rak jelita jest najczęściej diagnozowanym rodzajem raka oraz głównym powodem zgonów wywołanych przez raka. Prawie 55% przypadków występuje w krajach bardziej rozwiniętych. Na całym świecie częstotliwość występowania różni się 10-krotnie. Najwyższe standaryzowane wskaźniki pod względem wieku występują w Australii/Nowej Zelandii (odpowiednio 44,8 i 32,2 ASR na 100 000 mężczyzn i kobiet), a najniższe w Afryce Zachodniej (odpowiednio 4,5 i 3,8 ASR na 100 000 mężczyzn i kobiet).¹ Badania na krew utajoną w kale mogą zwiększyć szanse wczesnego wykrycia raka okrężnicy, a tym samym zmniejszyć śmiertelność.^{2,3}

Dostępne wcześniej na rynku testy FOB opierały się na metodzie gwajakowej, która wymagała specjalnej diety przed badaniem, w celu uniknięcia fałszywie dodatnich wyników spowodowanych hemem lub peroksydazami niektórych pokarmów. Z tego powodu opracowano testy immunologiczne, które specyficznie wykrywają ludzką hemoglobinę w próbkach kału. Kilka badań wykazało, że metody immunochemiczne przewyższają metodę gwajakową pod względem swoistości, czułości i łatwości wykrywania zaawansowanych gruczolaków i raków okrężnicy w dolnym odcinku przewodu pokarmowego.⁴⁻⁶ Ze względu na te zalety obecnie stosuje się ilościowe testy immunologiczne FOB w programach badań przesiewowych w wielu krajach.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® FOB QUANT to chromatograficzny test immunologiczny (iFOBT) w formacie przepływu bocznego do ilościowego wykrywania ludzkiej hemoglobiny w próbkach kału. Ludzką hemoglobinę wykrywa się za pomocą dwóch swoistych przeciwciał przeciw hemoglobinie ludzkiej, z których jedno jest oznaczone kolorem (aktywny składnik reakcji wykrywania: ok. 0,4 µg/test), a drugie jest unieruchomione w obszarze linii testowej (T) (składnik aktywny reakcji detekcji: ok. 0,7 µg/test).

Przeciwciała przeciw ludzkiej hemoglobinie są wstępnie pokryte w obszarze linii testowej (T) membrany nitrocelulozowej. Podczas testu próbka wyekstrahowana w buforze reaguje z przeciwciałami przeciw hemoglobinie ludzkiej skoniugowanymi z kolorowymi cząstkami i wstępnie

powleczoneymi na płytce koniugatu wewnętrznego paska testowego. Mieszanina migruje chromatograficznie wzdłuż membrany dzięki sile kapilarnej. Jeżeli w próbce znajduje się wystarczająca ilość hemoglobiny, to w obszarze linii testowej (T) na membranie pojawi się kolorowa linia. Stężenie hemoglobiny w materiale próbki koreluje z intensywnością koloru linii testowej. Intensywność linii jest proporcjonalna do stężenia i wzrasta od 20 ng/mL do 750 ng/mL. Zależne od stężenia tworzenie linii testowej umożliwia szybkie ilościowe oznaczanie hemoglobiny w próbkach kału za pomocą analizatora nal von minden Colibri.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola proceduralna wskazując, że dodano wystarczającą objętość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 testów kasetowych NADAL® FOB QUANT*
- 20 próbek z buforem (specimens diluent buffer)**
- 20 urządzeń do pobierania kału
- 1 karta RFID, odpowiednia dla danej serii lot
- 1 instrukcja obsługi

* zawiera konserwant azjduku sodu

** bufor fosforanowy zawiera konserwanty azjdek sodu i ProClim™ <0,1%.

Zgodnie z rozporządzeniem (WE) No 1272/2008 CLP nie jest wymagane oznakowanie zagrożeń. Stężenia są poniżej progu wykrywalności.

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- nal von minden Colibri
- Stoper, jeśli nie używa się wewnętrznego stopera w urządzeniu nal von minden Colibri
- Pojemnik do pobierania próbek (opcjonalnie, jeśli wymagana jest nierozcieńczona próbka kału, a etap rozcieńczania przeprowadza się bezpośrednio przed badaniem)

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C, do daty podanej na opakowaniu. Testy kasetowe są stabilne do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Kaset testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub próbek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Testy są przeznaczone do jednorazowego użytku.
- Nie pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).

- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. unikać połknięcia lub wdychania).
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Przed użyciem przechowywać probówkę w temperaturze pokojowej. Zaleca się zebranie kału przy pomocy urządzenia do pobierania kału. Unikać rozcieńczania próbki kału wodą lub moczem z muszli klozetowej.

1. Trzymać probówkę pionowo i otworzyć jasnoniebieską nakrętkę razem z przyrządem do pobierania próbki. Należy uważać, aby nie rozlać ani nie rozprysnąć buforu z probówki.
2. Pobrać próbkę, nakłuwając kał przyrządem do pobierania próbki w co najmniej 3 różnych miejscach.

Wskazówka: Przyrząd do pobierania próbki należy wkładać trzy razy z rzędu do próbki kału. Pomiędzy poszczególnymi nakłuciami nie wkładać przyrządu do pobierania próbki z powrotem do probówki i nadal uważać, aby nie wylać płynu z probówki. Jakość próbki i przestrzeganie instrukcji obsługi mają wpływ na wynik testu.

3. Włożyć narzędzie do pobierania próbki z próbką kału z powrotem do probówki i szczelnie ją zamknąć.
4. Delikatnie potrząsnąć probówką, aby dokładnie wymieszać próbkę kału z buforem rozcieńczającym.



pobierać, przechowywać i transportować próbkę kału oraz jakich warunków należy unikać.

Test NADAL® FOB QUANT jest przeznaczony wyłącznie do użytku z próbkami ludzkiego kału. Pacjenci nie powinni pobierać próbek kału podczas menstruacji, względnie na 3 dni przed i po menstruacji, w przypadku krwawienia z hemoroidów, krwi w moczu lub przy występowaniu silnego parcia podczas wypróżnień.

Aspiryna i inne leki przyjmowane w nadmiarze mogą wywoływać podrażnienia przewodu pokarmowego, które mogą prowadzić do ukrytych krwawień. Jeśli to możliwe, należy odstawić te substancje w porozumieniu z lekarzem co najmniej 48 godzin przed badaniem.

Przed badaniem nie są wymagane żadne ograniczenia dietetyczne. Podejrzewa się, że alkohol podrażnia jelita i należy go unikać przez co najmniej 48 godzin przed badaniem.

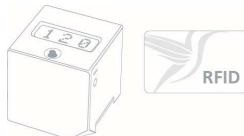
Mocz i nadmierne rozcieńczenie próbek wodą z toalety mogą prowadzić do błędnych wyników testu.

Test należy przeprowadzić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas. Całkowity czas przechowywania próbki nie może przekroczyć 7 dni w temperaturze 2-8°C. Transport do gabinetu może odbywać się w temperaturze pokojowej, nie powinien jednak trwać dłużej niż 2 godziny. Przed przeprowadzeniem testu, należy doprowadzić próbki do temperatury pokojowej.

9. Przeprowadzanie testu

I. Przygotowanie

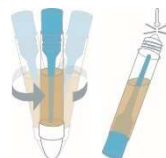
1. Przed otwarciem testu należy doprowadzić opakowanie testowe i próbki pacjenta (wyekstrahowane próbki) do temperatury pokojowej (18-30°C).
2. Wyjąć kasetę testową NADAL® FOB QUANT z zamkniętego opakowania foliowego i użyć tak szybko, jak to możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu.
3. Włączyć urządzenie nal von minden Colibri i przygotować do użycia kartę RFID specyficzną dla każdego nr LOT.



Wskazówka: Do każdej partii testów przypisane są określone dane kalibracyjne. Są one zapisane na karcie RFID, która jest dołączona do każdego opakowania z testami. Aby poprawnie zinterpretować test, karta RFID (specyficzna dla danej partii testów) musi być umieszczona na urządzeniu nal von minden Colibri. Użyte karty RFID należy wyrzucić po wyczerpaniu testów danej partii, aby uniknąć pomyłek.

II. Przeprowadzanie testu

1. Delikatnie wtrząsać probówką, aby doprowadzić do dokładnego wymieszania próbki kału i buforu.



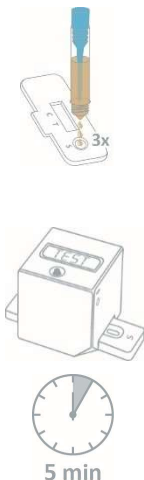
2. Odkręcić okrągłą nakrętkę próbówki. Używając ręcznika papierowego złamać zamknięcie próbówki, przekręcając je w dowolnym kierunku.

3. Trzymać próbówkę z gotową próbką pionowo, odrzucić pierwsze krople, a następnie umieścić 3 krople roztworu próbki w zagłębieniu na próbkę (S) na kasie testowej. Unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w zagłębieniu na próbkę (S) oraz nie aplikować roztworu do pola wyników.

4. Włączyć stoper lub użyć timer, który jest zintegrowany w urządzeniu nal von minden Colibri.

5. Umieścić urządzenie nal von minden Colibri nad kasetą testową tak, aby było dokładnie dopasowane do studzienki.

6. Wynik należy interpretować po upływie dokładnie 5 minut.



10. Interpretacja wyników

Po przeprowadzonej analizie urządzenie nal von minden Colibri przedstawia na wyświetlaczu wynik ilościowy.

Zakres pomiaru wynosi od 20 do 750 ng/ml (co odpowiada ok. 2 do 75 µg hemoglobiny/g stolca). Wynik jest pokazywany na wyświetlaczu Colibri w jednostkach „około µg/g” oraz w „ng/ml”. Poniżej stężenia podano jako „około < 2 µg/g” i „< 20 ng/ml”, stężenia powyżej jako „około > 75 µg/g” i „> 750 ng/ml”. Należy wybrać jednostkę, która odpowiada specyfikacjom Państwa laboratorium i upewnić się, że wartość stężenia na wyświetlaczu Colibri znajduje się bezpośrednio przed jednostką.

Nieważny wynik testu

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytorwały linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone. Nieprawidłowe wyniki testu są również wyświetlane przez analizator nal von minden Colibri. Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kalibracja

Test NADAL® FOB QUANT został skalibrowany przy użyciu kontroli hemoglobiny ClinChek® (RECIPE CHEMICALS + INSTRUMENTS GmbH), której stężenie zostało oznaczone metodą cyjanomethemoglobiny (zalecana metoda referencyjna ICSH7). Dane kalibracyjne są przechowywane na dostarczonej karcie RFID. Kalibracja przez użytkownika nie jest więc konieczna.

12. Kontrola jakości

Test NADAL® FOB QUANT zawiera wewnętrzną kontrolę proceduralną:

pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe

przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

W zakresie dostawy NADAL® FOB QUANT nie są zawarte standardy kontroli.

Jednak w ramach *Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP)* zaleca się przy każdej nowej serii lub dostawie testów oraz raz na tydzień ew. zgodnie ze standardowymi procesami laboratoryjnymi, przeprowadzenie kontroli pozytywnej i negatywnej, w celu sprawdzenia techniki wykonania testu oraz prawidłowego wyniku badania. Materiały kontrolne muszą być badane w taki sam sposób, jak próbki pacjentów.

Prawidłowe funkcjonowanie urządzenia może zostać sprawdzone przy pomocy załączonej w zakresie dostawy urządzenia kasety kontroli jakości QC. Dokładne informacje znajdują się w instrukcji obsługi urządzenia.

13. Ograniczenia testu

- Test NADAL® FOB QUANT przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*. Powinien być stosowany wyłącznie do jakościowego wykrywania ludzkiej hemoglobiny w próbkach kału.
- Obecność krwi w kale może być spowodowana różnymi przyczynami m.in. hemoroidami, krwią w moczu lub podrażnieniem żołądka. Krew menstruacyjna, drobne urazy (np. twarde stolce, leki doodbytnicze lub badanie per rectum) lub choroby (np. biegunka, nieswoiste zapalenie jelit) mogą również prowadzić do wystąpienia krwi w kale. Na przykład leki hamujące krzepnięcie krwi lub drażniące błonę śluzową jelit są również posądzane o sprzyjanie skłonności do krwawień. Wpływ leków jest jednak przedmiotem kontrowersji, ponieważ w badaniach często nie wykazuje się istotnych różnic w zakresie dodatniej wartości predykccyjnej. Obszerne podsumowanie znajduje się w przypisie.⁸
- Wynik ujemny nie wyklucza krwawienia, ponieważ krew może być nierównomiernie rozłożona w próbkach kału. Ponadto niektóre polipy jak i nowotwory jelita grubego krwawią sporadycznie lub wcale. W szczególności polipy jelita grubego na bardzo wczesnym etapie często nie są wykrywane. Kolonoskopia jest bardziej wiarygodna w wykrywaniu niektórych zmian przedrakowych niż iFOBT, dlatego kolonoskopia jest nadal uważana za „złoty standard”. Jednak jako badanie inwazyjne stwarza większe ryzyko dla pacjenta.
- Test NADAL® FOB QUANT nie nadaje się do wykrywania krwawień z górnego odcinka przewodu pokarmowego, ponieważ hemoglobina ulega rozkładowi podczas pasaży żołądkowo-jelitowego.
- Nie każde krwawienie z jelita grubego jest spowodowane polipami przedrakowymi lub nowotworowymi. Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, lekarz powinien postawić ostateczną diagnozę dopiero po ocenie wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych. Pozytywne wyniki testu należy wyjaśnić za pomocą badań kontrolnych. Utrzymujące się objawy mimo ujemnego wyniku powinny zostać wyjaśnione innymi metodami.

14. Charakterystyka testu

Właściwości kliniczne

W badaniu porównawczym między testem NADAL® FOB QUANT a testem RIDASCREEN® Hemoglobin ELISA badanie próbek pobranych od pacjentów wykazało korelację na poziomie 91,3%.

Zaleca się dostosowanie punktu odcięcia do zamierzonego zastosowania (kwestia badania, np. diagnostyka przesiewowa lub wspomagająca, wytyczne krajowe, wiek i płeć pacjenta).^{9,10,11} Im mniejszy punkt odcięcia, tym wyższa czułość i niższa specyficzność.¹²

Właściwości analityczne

Granica wykrywalności, zakres pomiarowy i efekt Hooka:

Granica wykrywalności testu NADAL® FOB QUANT do oceny ilościowej wynosi 20 ng/mL lub ok. 2 µg/g kału. Zakres pomiarowy wynosi od 20 ng/mL do 750 ng/mL, co odpowiada ok. 2 µg/g lub 75 µg/g kału i może być oznaczany ilościowo za pomocą analizatora nal von minden Colibri. Oznaczenie ilościowe nie jest możliwe poniżej 20 ng/mL i powyżej 750 ng/mL.

Do stężenia 10 000 ng/mL nie można wykryć efektu Hooka istotnego dla wyniku.

Swoistość analityczna

Test NADAL® FOB QUANT jest specyficzny dla ludzkiej hemoglobiny i nie wykazuje reaktywności krzyżowej z hemoglobina błądzącą, świńską, końską, owczą, kozią, kurczą, indyczą, króliczą i rybą w stężeniach do 0,5 mg/mL. Test nie wykazuje reaktywności krzyżowej z hemoglobina S. Hemoglobina F w stężeniu do 3,4% nie ma wpływu na wynik testu.

Substancje interferujące

Test NADAL® FOB QUANT nie wykazuje żadnej interferencji z wymienionymi substancjami do podanych stężeń:

Analit	Stężenie
Kwas acetylosalicylowy	100 mg/L
Kwas askorbinowy	200 mg/L
Bilirubina	50 mg/L
Kofeina	400 mg/L
Hetahydrat siarczanu żelaza	25 mg/L
Glukoza	200 mg/L
Kwas moczowy	50 mg/L
Mocznik	200 mg/L
Albumina ludzka	25 mg/L
Lipidy*	20 mg/L

*Kwasy tłuszczowe nasycone: 14,1% jednonienasycone: 76,1% wielonienasycone: 9,8%.

Powtarzalność

Powtarzalność i odtwarzalność testu określono, badając stężenia hemoglobiny 20 ng/mL, 150 ng/mL i 750 ng/mL w 10-krotnym oznaczeniu dla 3 niezależnych serii. Jeśli chodzi o powtarzalność, średnia wariancja wewnątrz partii wynosi 7,5% w niskim zakresie stężeń, 4,6% w średnim zakresie i 13,9% w wysokim zakresie stężeń. Średnia wariancja

odtwarzalności między partiami wynosi 7,3% w niskim zakresie stężeń, 5,0% w średnim zakresie i 9,8% w wysokim zakresie stężeń.

15. Powiadomienie o poważnych incydentach

W przypadku poważnych incydentów związanych z wykonywaniem testu NADAL® FOB QUANT należy niezwłocznie powiadomić firmę nal von minden GmbH i właściwy organ. Jeśli to możliwe, nie wyrzucać zużytego testu i powiązanych elementów zestawu testowego.

16. Bibliografia

1. Ferlay, J., et al.; Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012; Int J Cancer (2015); 136(5): E359-86
2. Hardcastle J.D., et al.; Randomised controlled trial of faecal-occult-blood screening for colorectal cancer; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
3. Kronborg O., et al.; Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
4. Allison J.E., et al.; Population screening for colorectal cancer means getting FIT: The past, present, and future of colorectal cancer screening using the fecal immunochemical test for hemoglobin (FIT); Gut Liver (2014); 8 (2): 117-30
5. Park D.J., et al.; Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening; Am J Gastroenterol (2010); 105 (9): 2017-25
6. Sultanian R., et al.; The impact of transitioning from guaiac-fecal occult blood testing to fecal immunochemical testing in a Canadian colon cancer screening program (2019) Journal of the Canadian Association of Gastroenterology, gwz009, <https://doi.org/10.1093/jcag/gwz009>
7. ICSH; Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemoglobin cyanide reference preparation (3rd edition); Clin. Lab. Haemat. (1987); 9: 73-79
8. Konrad G.; Are medication restrictions before FOBT necessary?; Can Fam Physician. (2012); 58(9): 939-948
9. Fraser C.G., et al.; Newer Fecal Tests: Opportunities for Professionals in Laboratory Medicine; Clin Chem (2012); 58(6): 963-65 DOI: 10.1373/clinchem.2012.185025
10. Halloran S.P., et al.; European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1309791> Endoscopy 2012; 44: SE65-SE87
11. Van Rossum, L.G., et al.; Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme Br J Cancer (2009) 101(8) :1274-81
12. Gies A., et al.; Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening; Gastroenterology; (2018); 154: 93-104

Rev.0, 2020-08-17 AM

1. Použití

Test NADAL® FOB QUANT je imunochromatografický test (imunologický test „Fecal Occult Blood“, iFOBT) s laterálním tokem ke kvantitativní detekci lidského hemoglobinu ve vzorcích stolice. Test slouží jako pomoc při stanovení diagnózy patologických stavů dolní části gastrointestinálního traktu, obzvláště u pacientů s břišními problémy neznámého původu nebo s abnormalitami při vyprazdňování (viz bod 12. „Omezení“). Test NADAL® FOB QUANT je určen pro screening pacientů bez příznaků, kteří jsou klasifikováni jako riziková skupina na základě jejich věku, rodinné anamnézy rakoviny tlustého střeva nebo jiných faktorů. Kvantitativní měření a vyhodnocení výsledků testu je provedeno čtecím zařízením nal von minden Colibri. Provedení testu není automatizované a pro jeho provedení není nutné žádné speciální školení nebo kvalifikace. Test je určen pouze pro profesionální použití.

2. Úvod a klinický význam

Rakovina tlustého střeva je jedním z nejčastějších diagnostikovaných druhů rakoviny a nejčastější důvod úmrtí následkem rakoviny. Téměř 55 % případů se vyskytuje v rozvinutějších regionech. Celosvětově se incidence liší až faktorem 10. Nejvyšší míry věkově standardizované incidence (ASR) jsou v Austrálii / na Novém Zélandu (ASR 44,8 a 32,2 na 100 000 mužů resp. žen), nejnižší v západní Africe (ASR 4,5 a 3,8 na 100 000 mužů resp. žen).¹ Vyšetření na okultní (skrýtu) krev ve stolici může zvýšit šanci na včasnou detekci rakoviny tlustého střeva, a tím snížit míru úmrtnosti.²⁻³

Dříve komerčně dostupné testy FOB využívaly gujakovou metodu, která vyžaduje speciální dietu, aby se zamezilo falešně pozitivním výsledkům způsobeným hěmem nebo peroxidázami některých potravin. Z tohoto důvodu byly vyvinuty imunologické testy, které specificky detekují lidský hemoglobin ve vzorcích stolice. Několik studií prokázalo, že immunochemické metody jsou ohledně specifity, senzitivity a manipulace lepší pro detekci pokročilých adenomů a rakoviny tlustého střeva dolní části gastrointestinálního traktu než gujaková metoda.⁴⁻⁶ Díky těmto výhodám se kvantitativní imunologické testy FOB nyní využívají ve screeningových programech v mnoha zemích.

3. Princip testu

Test NADAL® FOB QUANT je imunochromatografický test (iFOBT) s laterálním tokem ke kvantitativní detekci lidského hemoglobinu ve vzorcích stolice. Lidský hemoglobin je detekován pomocí dvou specifických protilátek proti lidskému hemoglobinu, z nichž jedna je barevně označena (aktivní část detekční reakce: cca 0,4 µg/test) a druhá je imobilizována v oblasti testovací linie (T) (aktivní část detekční reakce: cca 0,7 µg/test).

Protílátky proti lidskému hemoglobinu jsou nanášeny v oblasti testovací linie (T) na nitrocelulózové membráně. V průběhu testování vzorek extrahovaný v pufru reaguje s protílátkami proti lidskému hemoglobinu konjugovanými s barevnými částicemi a předem nanesenými na konjugáčnické podložce vnitřního testovacího proužku. Směs se pohybuje chromatograficky podél membrány pomocí kapilárních sil. Jestliže je ve vzorku dostatečné množství lidského hemoglobinu, zobrazí se barevná linie v oblasti testovací linie (T) na membráně. Koncentrace hemoglobinu ve vzorku přitom koreluje

s barevnou intenzitou testovací linie. Intenzita linie je úměrná koncentraci a stoupá od 20 ng/mL do 750 ng/mL. Zobrazení testovací linie závislé na koncentraci umožňuje rychlé kvantitativní stanovení hemoglobinu ve vzorcích stolice pomocí nal von minden Colibri.

Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie (C) slouží jako procedurální kontrola a indikuje, že bylo použito dostatečné množství vzorku a že membrána byla dostatečně promočena.

4. Reagencie a poskytovaný materiál

- 20 NADAL® FOB QUANT testovacích kazet*
- 20 zkumavek s fedičím pufrům (specimens diluent buffer)**
- 20 papírků na odběr stolice
- 1 RFID karta specifická pro šarži
- 1 návod k použití

*Obsahuje konzervační látku azid sodný

**Fosfátový pufr obsahuje konzervační látku azid sodný a ProClin™ < 0,1 %.

V souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008 CLP není povinné označování nebezpečnosti. Koncentrace jsou nižší než mezní limit.

5. Další potřebný materiál

- nal von minden Colibri
- Stopky, pokud uživatel nepoužívá zabudované stopky v nal von minden Colibri
- Nádoba na odběr vzorku (pouze pokud je vyžadován nezředěný vzorek a zředění proběhne až bezprostředně před testováním)

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sady mohou být skladovány při teplotě 2-30°C do data expirace vytištěného na obalu. Testovací kazety jsou v uzavřené ochranné fólii trvanlivé do data uvedeného na obalu. Testovací kazeta musí zůstat až do použití v uzavřené ochranné fólii. Testovací sady nezmrazujte. Je nutné chránit součásti sady před kontaminací. Jsou-li patrné známky mikrobiální kontaminace nebo sražení, testovací sadu nepoužívejte. Biologická kontaminace dávkovacího zařízení, nádob nebo reagentů může vést k nesprávným výsledkům.

7. Upozornění a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí data expirace, které je vyznačeno na obalu.
- Test nepoužívejte, je-li ochranná fólie poškozena.
- Testy jsou určeny jen k jednorázovému použití.
- Nenanašujte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Aby se zamezilo křížové kontaminaci vzorků, použijte pro každý vzorek novou nádobu pro odběr vzorku.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nejezte, nepijte ani nekuřte v místě, kde se zachází se vzorky a testovacími sadami.
- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako je laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.

- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a dle běžných bezpečnostních opatření (např. nepolykejte nebo nevdechujte).
- Vlhkost a teplota mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být odstraněny v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorků

Zkumavku pro odběr vzorku skladujte při pokojové teplotě. Při odběru vzorku se doporučuje používat papírek na odběr stolice. Zabraňte zředění vzorku stolice močí nebo vodou z toaletní mísy.

1. Držte zkumavku kolmo a otevřete světle modrý uzávěr se sondou na vzorek (spirální tyčinka). Vyměňte sondu na vzorek. Dbejte na to, abyste nevylili nebo nevystříkli ředící pufr ze zkumavky.

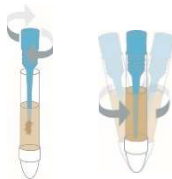


2. Sondu na vzorek zabodněte do 3 různých míst na vzorku stolice.



Poznámka: Dbejte prosím na to, abyste sondu zabodli do vzorku stolice třikrát za sebou. Sondu mezi jednotlivými vpichy NEVRACEJTE do zkumavky a stále dbejte na to, aby ze zkumavky neunikla žádná tekutina. Kvalita vzorku a dodržení těchto pokynů má vliv na výsledek testu.

3. Sondu s naneseným vzorkem vraťte zpět do zkumavky a dobře uzavřete.
4. Zkumavku protřepejte tak, aby se vzorek s ředícím pufrem důkladně promíchal.



Poznámka:

V případě, že odběr vzorku do nádoby na odběr vzorku provádí přímo pacient, je nutné, aby byl pacient informován o odběru vzorku stolice, jeho skladování a přepravě a jakým podmínkám je třeba se vyhnout.

Test NADAL® FOB QUANT je určen pouze pro použití vzorků lidské stolice. Pacienti by neměli odebírat vzorky během menstruace nebo 3 dny před/po menstruaci, při krvácejících hemoroidech, mají-li krev v moči nebo pociťují-li bolest při pohybu stolice.

Aspirin nebo jiná léčiva užívaná v nadměrném množství mohou způsobit gastrointestinální podráždění, které se projeví okultním krvácením. Pokud je to možné, neměly by být tyto

látky po konzultaci s lékařem užívány minimálně 48 hodin před testováním.

Před testováním nejsou nutná žádná dietní omezení. Alkohol může způsobit podráždění střeva a neměl by být konzumován minimálně 48 hodin před testováním.

Moč a nadměrné ředění vzorků vodou z toaletní mísy může vést k nesprávným výsledkům testu.

Test proveďte co nejdříve po odebrání vzorků. Odebrané vzorky nenechávejte dlouho při pokojové teplotě. Doba skladování vzorků při teplotě 2-8°C nesmí překročit 7 dní. Přeprava vzorku zpět do ordinace se může uskutečnit při pokojové teplotě, neměla by však trvat déle než 2 hodiny. Před testováním vzorky nechte dosáhnout pokojové teploty.

9. Provedení testu

I. Příprava

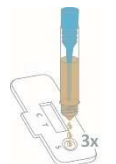
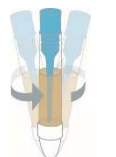
1. Testy a vzorky od pacientů (extrahované vzorky) nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (18-30°C).
2. Vyměňte testovací kazetu NADAL® FOB QUANT ze zapečetěného sáčku a použijte ji co nejdříve. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud bude test proveden ihned po otevření sáčku.
3. Zapněte nal von minden Colibri a ujistěte se, že máte po ruce RFID kartu specifickou pro tento test.



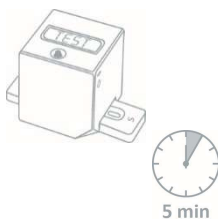
Poznámka: Každá šarže má vlastní kalibrační data. Tyto údaje jsou uloženy na RFID kartě, která je dodána s každým balením testů. Ke správné interpretaci testu je třeba na nal von minden Colibri přiložit RFID kartu specifickou pro danou šarži. Aby nedošlo k záměně karet, zlikvidujte po spotřebování testů použité RFID karty z odpovídající šarže.

II. Provedení testu

1. Pečlivě zkumavku protřepte, abyste zajistili, že se vzorek stolice dobře promíchal s ředícím pufrem.
2. Odšroubujte ochranný kryt zkumavky na odběr vzorku. Za použití svého papíru odloňte otáčivým pohybem uzávěr odběrové zkumavky.
3. Držte zkumavku na odběr vzorku ve svislé poloze, odkápněte první kapku vzorku a poté do otvoru pro vzorek (S) na testovací kazetě nakaňte 3 kapky roztoku. Vyvarujte se tvorbě vzduchových bublin v otvoru pro vzorek (S) a do výsledkové oblasti nepřidávejte žádný roztok.



4. Spusťte stopky nebo použijte timer zabudovaný v nal von minden Colibri.
5. Umístěte přístroj nal von minden Colibri na testovací kazetu tak, aby přesně zapadla do dutiny přístroje.
6. Výsledek odečtete přesně po 5 minutách.



10. Vyhodnocení testu

Po provedení analýzy ukáže nal von minden Colibri na displeji kvantitativní výsledek.

Rozsah měření činí 20 až 750 ng/mL (to odpovídá cca 2 až 75 µg hemoglobinu/g stolice). Výsledek je zobrazen na displeji Colibri v jednotkách „approx. µg/g“ a v „ng/mL“. Koncentrace pod touto hodnotou jsou zobrazeny jako „approx. < 2 µg/g“ a „< 20 ng/mL“, koncentrace nad jako „approx. > 75 µg/g“ a „> 750 ng/mL“. Zvolte prosím jednotku, která odpovídá Vaší laboratorní specifikaci, a ujistěte se, že se hodnota koncentrace na displeji Colibri nachází přímo před jednotkou.

Neplatný výsledek:

Nezobrazí se kontrolní linie (C). V takovém případě ukáže nal von minden Colibri na displeji „FAIL“ a je slyšet hlubší akustický signál. Výsledky testů, u kterých nal von minden Colibri ukázal „FAIL“, musí být zlikvidovány. Překontrolujte postup při testování a test opakujte s novou testovací kazetou. V případě, že problémy přetrvávají, přestaňte ihned používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.

11. Kalibrace

Test NADAL® FOB QUANT byl kalibrován pomocí kontroly hemoglobinu ClinChek® Control (RECIPE CHEMICALS + INSTRUMENTS GmbH), jehož koncentrace byla stanovena metodou kyanmethemoglobinu (doporučená referenční metoda dle ICSH⁷). Kalibrační data jsou uložena na dodané RFID kartě. Kalibrace uživatelem tedy není nutná.

12. Kontrola kvality

Test NADAL® FOB QUANT obsahuje interní procedurální kontrolu:

Barevná linie, která se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C), slouží jako interní procedurální kontrola. Potvrzuje, že byl test proveden správně, bylo použito dostatečné množství vzorku a membrána byla dostatečně promočena.

Kontroly nejsou dodávány se sadou testu NADAL® FOB QUANT. Doporučuje se však pozitivní a negativní kontroly provádět v rámci dobré laboratorní praxe s každou novou šarží, novou dávkou a jednou týdně, resp. v souladu se standardními postupy laboratoře, aby bylo potvrzeno správné provedení testu a správná funkce testu. Kontroly by měly být testovány stejně jako vzorek pacienta.

Správnou funkci přístroje můžete také ověřit pomocí dodávané QC kazety. Podrobnější informace naleznete v návodu k použití přístroje.

13. Omezení

- Test NADAL® FOB QUANT je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku. Test by měl být použit pouze pro

kvantitativní detekci lidského hemoglobinu ve vzorcích stolice.

- Přítomnost krve ve stolici může mít více příčin než jen kolorektální krvácení, například hemoroidy, krev v moči nebo žaludeční potíže. Krev ve stolici může být způsobena také menstruační krví, drobnými poraněními (např. tvrdou stolicí, rektálními léky nebo digitálními rektálními vyšetřeními) nebo onemocněními (např. průjemem, zánětlivými nebo onemocněními střev). Také se předpokládá, že např. léky, které inhibují srážení krve nebo dráždí střevní sliznici, mohou zvýšit tendenci ke krvácení. Vliv léků je však kontroverzní, protože studie často nezjistí žádné významné rozdíly v pozitivní prediktivní hodnotě. Souhrnný přehled viz Literatura.⁸
- Negativní výsledky nemohou vyloučit krvácení, protože krev může být ve vzorcích stolice nerovnoměrně rozdělena. Kromě toho některé polypy a kolorektální karcinomy mohou krvácet přerušovaně nebo nemusí krvácet vůbec. Zejména kolorektální polypy v raném stádiu nemusí být proto zaznamenány. Pomocí kolonoskopie jsou některá předstádí rakoviny detekována spolehlivěji než pomocí iFOBT, proto je kolonoskopie nadále považována za „zlatý standard“. Zároveň však představuje jako invazivní vyšetření větší riziko pro pacienta.
- Test NADAL® FOB QUANT není určen k detekci krvácení horní části gastrointestinálního traktu, protože se hemoglobin během gastrointestinálního průchodu rozkládá.
- Ne všechna krvácení střeva jsou způsobena nezhoubnými nebo zhoubnými polypy. Stejně jako u všech diagnostických testů by měla být konečná diagnóza stanovena lékařem až po vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů. Pozitivní výsledky testu musí být objasněny pomocí následných vyšetření. Přetrvávající příznaky by měly být i přes negativní výsledek objasněny diferenciální diagnostikou.

14. Výkonnostní charakteristiky

Klinické charakteristiky

Ve srovnávací studii mezi testem NADAL® FOB QUANT a RIDASCREEN® Haemoglobin ELISA ukázalo vyšetření vzorků pacientů korelaci 91,3 %.

Doporučuje se upravit hranici detekce (cut-off) podle zamýšleného použití (účel vyšetření např. screening nebo podpůrná diagnostika, národní směrnice, věk a pohlaví pacienta).^{9,10,11} Čím menší je zvolená hranice detekce (cut-off), tím vyšší je senzitivita a tím nižší specifita.¹²

Analytické charakteristiky

Hranice detekce, rozsah měření a Hook efekt:

Hranice detekce testu NADAL® FOB QUANT pro kvantitativní vyhodnocení činí 20 µg/mL resp. cca 2 µg/g stolice. Rozsah měření je v rozmezí 20 ng/mL a 750 ng/mL, což odpovídá cca 2 µg/g resp. 75 µg/g stolice a může být stanoven kvantitativně pomocí nal von minden Colibri. Kvantifikace není možná pod 20 ng/mL a nad 750 ng/mL.

Do koncentrace 10 000 ng/mL nebyl prokázán žádný výsledku relevantní Hook efekt.

Analytická specifita:

Test NADAL® FOB QUANT je specifický pro lidský hemoglobin a nevykazuje žádnou křížovou reaktivitu s hovězím, vepřovým,

koňským, ovčím, kozím, slepičím, krutím, králíčím ani rybím hemoglobinem o koncentraci až do 0,5 mg/mL. Test nevykazuje křížovou reaktivitu s hemoglobinem S. Hemoglobin F v koncentraci až 3,4 % nemá žádný vliv na výsledek testu.

Interferující látky

Test NADAL® FOB QUANT nevykazuje žádnou interferenci s uvedenými látkami až do stanovených koncentrací:

Analyty	Koncentrace
Kyselina acetylsalicylová	100 mg/L
Kyselina askorbová (vitamin C)	200 mg/L
Bilirubin	50 mg/L
Kofein	400 mg/L
Síran železnatý heptahydrát	25 mg/mL
Glukóza	200 mg/L
Kyselina močová	50 mg/L
Moč	200 mg/L
Lidský albumin	25 mg/L
Lipidy*	20 mg/L

* Nasycené mastné kyseliny: 14,1%, mononenasyčené: 76,1%, polyenenasyčené: 9,8%

Přesnost

Opakovatelnost a reprodukovatelnost testu byla stanovena desetinásobným testováním tří nezávislých šarží při koncentracích hemoglobinu 20 ng/mL, 150 ng/mL a 750 ng/mL. Pro opakovatelnost se střední intra šaržová variabilita pohybuje v rozmezí 7,5 % při nízkých koncentracích, 4,6 % při středních koncentracích a 13,9 % při vysokých koncentracích. Pro reprodukovatelnost se průměrná inter šaržová variabilita pohybuje v rozmezí 7,3 % při nízkých koncentracích, 5,0 % při středních koncentracích a 9,8 % při vysokých koncentracích.

15. Hlášení závažných incidentů

V případě jakýchkoliv závažných incidentů souvisejících s provedením testu NADAL® FOB QUANT okamžitě informujte nal von minden GmbH a příslušný orgán. Pokud je to možné, nelikvidujte použitý test a odpovídající součásti testovací sady.

16. Literatura

1. Ferlay, J., et al.; Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012; Int J Cancer (2015); 136(5): E359-86
2. Hardcastle J.D., et al.; Randomised controlled trial of faecal occult-blood screening for colorectal cancer; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
3. Kronborg O., et al.; Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal occult-blood test; Lancet (1996); 348 (9040): 1467-71
4. Allison J.E., et al.; Population screening for colorectal cancer means getting FIT: The past, present, and future of colorectal cancer screening using the fecal immunochemical test for hemoglobin (FIT); Gut Liver (2014); 8 (2): 117-30
5. Park D.I., et al.; Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening; Am J Gastroenterol (2010); 105 (9): 2017-25
6. Sultanian R., et al.; The impact of transitioning from guaiac-fecal occult blood testing to fecal immunochemical testing in a Canadian colon cancer screening program (2019) Journal of the Canadian Association of Gastroenterology, gwz009, <https://doi.org/10.1093/jcag/gwz009>
7. ICSH; Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1986) and specifications for international haemoglobin cyanide reference preparation (3rd edition); Clin. Lab. Haemat. (1987); 9: 73-79
8. Konrad G.; Are medication restrictions before FOBT necessary?; Can Fam Physician. (2012); 58(9): 939-948
9. Fraser C.G., et al.; Newer Fecal Tests: Opportunities for Professionals in Laboratory Medicine; Clin Chem (2012); 58(6): 963-65 DOI: 10.1373/clinchem.2012.185025
10. Halloran S.P., et al.; European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0032-1309791> Endoscopy 2012; 44: SE65–SE87

11. Van Rossum, L.G., et al.; Cutoff value determines the performance of a semi-quantitative immunochemical faecal occult blood test in a colorectal cancer screening programme Br J Cancer (2009) 101(8) :1274-81
12. Gies A., et. al.; Direct Comparison of Diagnostic Performance of 9 Quantitative Fecal Immunochemical Tests for Colorectal Cancer Screening; Gastroenterology; (2018); 154: 93-104

Rev.0, 2020-08-17 MP

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>in-vitro</i> -Diagnostika	<i>in-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico- diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de tempéra- ture	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura prze- chowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederver- wendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbicante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjet- ta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvis- ning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>in-vitro</i> - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur- begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur- begrænsning	Temperatur begrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchcode	Merkning
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertäkäyttöinen	Får inte återanvän- das	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il l ingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:**Regensburg**

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel –UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16

Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel, Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:**Denmark**

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606

Free Tel: 0800 918 263

Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 020 79 09 06



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1