

## Exdia Assay für immunchemisch bestimmtes fäkales okkultes Blut (iFOB)

### Einstufiger Immunassay für fäkales okkultes Blut (iFOB) Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik

Einstufiger qualitativer Assay für die zeitaufgelöste Fluoreszenz-Immunchromatographie zum Nachweis von fäkalem okkultem Blut im Stuhl des Menschen

Hergestellt von Precision Biosensor Inc.

#### 1. BESTIMMUNGSGEMÄßER GEBRAUCH

Der Exdia iFOB ist ein Fluoreszenz-Immunchromatographie-Assay für den qualitativen Nachweis von fäkalem okkultem Blut in menschlichem Stuhl mit dem Exdia Analysator. Die Kassette eignet sich für den Einsatz in Labors und Arztpraxen als Hilfsmittel bei der Diagnose von Erkrankungen des unteren Gastrointestinaltrakts, wie z. B. bei Verdacht auf Kolorektalkrebs und gastrointestinale Blutungen jeglicher Ursache.

#### 2. ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Eine okkulte gastrointestinale Blutung ist als eine dem Betroffenen nicht bekannte Blutung definiert. Sie kann durch verschiedene Ursachen wie Ulzera, Hämorrhoiden, Polypen, Kolitis, Divertikulitis, Krebs und Fissuren verursacht werden. Da diese Krankheitszustände in frühen Stadien u. U. keine sichtbaren Symptome hervorrufen, können die FOB-Testergebnisse als frühes Warnsignal dienen. Die okkulte Blutung nimmt mit zunehmender Größe der Polypen und dem fortschreitenden Stadium des Kolorektalkrebs allmählich zu. FOB-Tests können u. U. sowohl Kolorektalkrebs als auch dessen Vorstufen erkennen.

Der Exdia iFOB wurde für den Nachweis von fäkalem okkultem Blut auf Basis der Time Resolved Fluorescence (TRF)-Immunchromatographie entwickelt, die die Spezifität und Sensitivität für den Nachweis von Erkrankungen des unteren Gastrointestinaltrakts, einschließlich kolorektaler Karzinome und Adenome, verbessert. Der Exdia iFOB ist ein qualitativer Assay, der jedoch mit dem fluorezenzbasierten Exdia Analysator quantitativ und mit verbesserter Qualität interpretiert werden kann, wobei die Möglichkeit einer visuellen Verzerrung durch den Beobachter ausgeschlossen wird.

#### 3. PRINZIP

Der Exdia iFOB-Test ist ein immunchromatographischer Assay zur qualitativen Bestimmung der Hämoglobinkonzentration in menschlichen Stuhlproben. Auf der Nitrocellulosemembran des Teststreifens befindet sich aufgesprühtes Streptavidin, das den biotinylierten anti-humanen Hämoglobin-Antikörper an der Testlinie abfängt, sowie aufgesprühtes Ziege-anti-Huhn-IgY, das Europium-konjugiertes IgY an der Kontrolllinie abfängt. Das Farbstoff-Pad und das Biotin-Pad mit getrocknetem anti-humanen Hämoglobin-Antikörper und Europium-konjugiertem IgY befinden sich am Membranende. Zunächst wird die Probe in einem Röhrchen mit Extraktionspuffer gesammelt. Die Stuhlprobe im Extraktionspuffer muss kräftig gemischt werden. 80 µl der gemischten Probenlösung werden in die Probenvertiefung der Testkassette gegeben. Beim Auftragen der Probe in die Probenvertiefung bindet das in der Stuhlprobe vorhandene menschliche Hämoglobin an die mit Europiumpartikeln gekoppelten Indikatorantikörper und den biotinylierten, als Fänger fungierenden anti-Hämoglobin-Antikörper. Die Immunkomplexe wandern auf der Nitrocellulosemembran zu den Testlinien und binden an das auf der Testlinie immobilisierte Streptavidin. An Europiumpartikel gekoppeltes Huhn-IgY, das die Testlinie durchläuft, wird vom Ziege-anti-Huhn-IgY-Antikörper an der Kontrolllinie abgefangen. Die Kontrolllinie auf der Membran dient der internen Qualitätskontrolle der Testkassette. Zur Messung der Konzentration des humanen Hämoglobins wird die Testkassette mit dem Exdia Analysator gelesen. Die Fluoreszenzintensität der Testlinie wird nach der vorgegebenen Gleichung in die Konzentration an menschlichem Hämoglobin in der Stuhlprobe umgerechnet. Das umgerechnete Ergebnis wird vom Exdia Analysator qualitativ (positiv oder negativ) angezeigt; dies basiert auf einem analytischen Cut-off von 100 ng/ml (humanes Hämoglobin in einer mit Extraktionspuffer gemischten Stuhlprobe).

#### 4. REAGENZIEN

Der Exdia iFOB-Test enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis von Hämoglobin in menschlichem Stuhl notwendig sind. Die Kassette enthält einen Membranstreifen, der an der Testlinie mit Streptavidin beschichtet ist, und ein Farbstoff-Pad, das mit biotinyliertem monoklonalem anti-humanem Hämoglobin-Antikörper sowie mit Europiumpartikeln getränkt ist, welche mit anti-humanem hämoglobinspezifischem Antikörper gekoppelt sind. Ein Stabilisator mit 0,05 % Natriumazid sowie BSA-Protein sind in getrockneter Form auf dem Farbstoff-Pad aufgebracht.

Der Extraktionspuffer enthält 0,05 % BSA und 0,02 % Natriumazid zur Extraktion des Hämoglobin-Antigens aus den Stuhlproben.

#### 5. MATERIALIEN

##### Mitgeliefert

- 20 Testkassetten in versiegelten Beutel, mit Trockenmittel
- 20 Probenahmeröhrchen mit Extraktionspuffer (2 ml/Röhrchen)
- 20 Beutel für Lagerung und Transport der Probenahmeröhrchen
- 1 QR-Karte zur Kalibrierung (chargenspezifisch)
- 1 Gebrauchsanweisung

##### Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Materialien für die positive und negative Qualitätskontrolle
- Zeitmesser
- Exdia Analysator

#### 6. LAGERUNG UND STABILITÄT

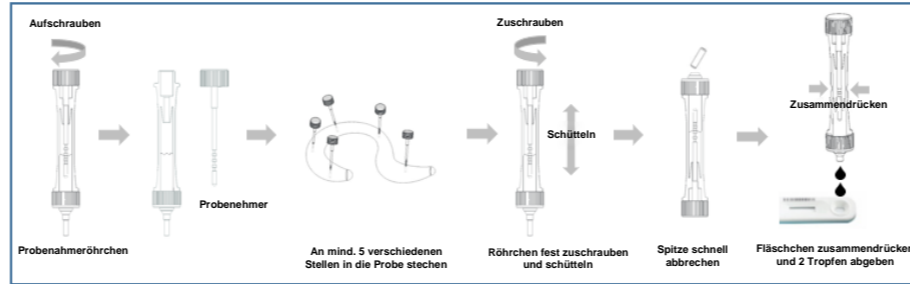
Die Testkassette sollte für die Dauer der Haltbarkeit bei 2 bis 30 °C im versiegelten Originalbeutel gelagert werden.

#### 7. VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur zum Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik sowie für den professionellen Einsatz.
- Alle Proben als potenziell infektiös behandeln. Für die Handhabung und Entsorgung sind geeignete Verfahren festzulegen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen für jede getestete klinische Probe eine frische Transferpipette verwenden.
- Testkassette nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder nicht korrekt versiegelt ist.
- Testkassette nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.

#### 8. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

- Eine Stichprobe des Stuhls in einem sauberen, trockenen Behälter oder Gefäß sammeln.
- Probenahmeröhrchen aufschrauben und Probenehmer entnehmen. Die Lösung aus dem Behälter nicht verschütten oder verspritzen.
- Probe mit dem Probenehmer sammeln. Proben an mindestens fünf verschiedenen Stellen der Stuhlprobe nehmen.
- Probenehmer wieder in das Probenahmeröhrchen einsetzen und die Kappe festschrauben. Nicht die Spitze des Probenahmeröhrchens abbrechen.
- Probenahmeröhrchen ins Labor schicken und sofort testen. Andernfalls die Probe gekühlt (2 bis 8 °C) aufbewahren und innerhalb einer Woche testen.



#### 9. TESTVERFAHREN UND PROTOKOLL

- Probe gemäß den Anleitungen unter „ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN“ entnehmen.
- Testkassette und Probe vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (20 bis 30 °C) bringen.
- Testkassette unmittelbar vor dem Gebrauch aus dem versiegelten Beutel entnehmen. Kassette mit einer Patienten- oder Kontrollkennung beschriften.
- Probenahmeröhrchen 15 bis 20 Sekunden lang kräftig schütteln, sodass Probe und Puffer gut vermischt sind. Spitze abbrechen und das Röhrchen fest zusammendrücken, um den Probeninhalt (2 Tropfen) in die Probenvertiefung zu geben.
- Testkassette mit dem Exdia Analysator gemäß Betriebsanleitung analysieren. Ergebnisse nach 5 Minuten (4,5 bis 5,5 Minuten) im Exdia Analysator ablesen.

#### 10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Testergebnisse des Exdia iFOB-Test können als quantitatives und qualitatives Verfahren mit Hilfe des Exdia TRF Analysators interpretiert werden. Quantitative Ergebnisse werden als Konzentration von Hämoglobin (Hb) in der Stuhlflüssigkeit (ng/ml) in einem Messbereich von 25 bis 1.000 ng/ml angegeben. Liegt das Testergebnis über oder unter dem Messbereich, wird es als > 1.000 ng/ml bzw. < 25 ng/ml angezeigt. Qualitative Ergebnisse werden basierend auf dem Messwert von Hämoglobin (Hb) bei einer Cutoff-Konzentration von 100 ng/ml als Negativ oder Positiv angezeigt. Zum Umrechnen der Einheit ng/ml (ng Hb/ml Puffer) in µg/g (µg Hb/g Stuhl) kann mit dem Faktor 0,2 multipliziert werden. Die iFOB-Einheit kann im Bereich „Erweitert“ des Menüs „Einstellungen“ am Exdia Analysator automatisch umgerechnet werden.

#### 11. EINSCHRÄNKUNGEN

Die Ergebnisse sind kein schlüssiger Nachweis für das Vorliegen oder Nichtvorliegen von gastrointestinalen Blutungen aufgrund von Krebs oder Pathologie. Der immunchemische FOB-Test hat sich als wertvoll für ein vorläufiges Screening erwiesen (insbesondere bei asymptomatischen Populationen) oder als Hilfsmittel für die Diagnose. Der Test ist nicht dazu gedacht, andere diagnostische Verfahren (Koloskopie, flexible Sigmoidoskopie) oder andere bildgebende Untersuchungen (Doppelkontrast-Bariumeinlauf oder CT-Kolonographie) vollständig zu ersetzen. Da gastrointestinale Läsionen intermittierend bluten können und Blut im Stuhl nicht gleichmäßig verteilt ist, stellt ein negatives Testergebnis keine Garantie für die Abwesenheit von Läsionen dar.

Ein Testergebnis kann selbst bei Vorliegen einer Erkrankung negativ sein, da Darmläsionen (einschließl. einiger kolorektaler Karzinome und signifikanter Polypen) u. U. gar nicht oder intermittierend bluten oder das Blut nicht gleichmäßig in einer Stuhlprobe verteilt ist und daher bei der Probenahme nicht erfasst wird. Die Ergebnisse können bei Proben von Patienten ohne signifikante Darmopathie positiv sein. Normalerweise sind die Gründe für solche falsch-positiven Ergebnisse unklar, jedoch können in einigen Fällen bestimmte Medikamente gastrointestinale Reizungen verursachen, die zu okkulten Blutungen führen.

#### 12. KLINISCHER CUTOFF UND REFERENZBEREICH

Die Cutoff-Werte des Exdia iFOB-Tests wurden durch Vergleich mit OC-SENSOR DIANA (Eiken Chemical Co.) ermittelt. Der Referenzbereich des iFOB von OC-SENSOR DIANA (Eiken Chemical Co.) beträgt 100 ng/ml (oder 20 µg/g) und korreliert mit dem Exdia iFOB. Die Proben, die menschliches Hämoglobin in einer Konzentration enthalten, die gleich oder höher als der festgelegte Grenzwert ist, führen zu einem positiven Ergebnis des Exdia iFOB-Tests.

#### 13. QUALITÄTSKONTROLLE

Das Vorhandensein einer Fluoreszenzbande im Kontrollbereich des Fensters dient als interne Kontrolle, die sicherstellt, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde. Fehlt diese Kontrollbande, ist das zugehörige Testergebnis ungültig und es muss ein neuer Test erfolgen. Die Gute Laborpraxis empfiehlt zur Gewährleistung einer ordnungsgemäßen Testdurchführung eine Qualitätskontrolle. Materialien für die Qualitätskontrolle sind von kommerziellen Quellen erhältlich und sollten nach den gleichen Verfahren wie die Tests an Patientenproben getestet werden. Die gute Laborpraxis empfiehlt, dass bei jeder neuen Charge oder im Falle eines fragwürdigen Testergebnisses bei der Verwendung der Reagenzkassette externe Kontrollen getestet werden sollten. Wenn die Qualitätskontrollverfahren in Ihrem Labor häufigere Kontrollen zur Überprüfung der Testergebnisse erfordern, befolgen Sie diese laborspezifischen Vorschriften. Die empfohlene Anforderung für das Testen der mit dem Gerät bereitgestellten Exdia internen Qualitätskontrolle ist für einen regelmäßigen Zeitraum. Sollte das Testergebnis aus irgendeinem Grund fragwürdig sein, wenden Sie sich bitte an den Kundensupport.

#### 14. LEISTUNGSMERKMALE

##### 14.1 Präzisionsstudie

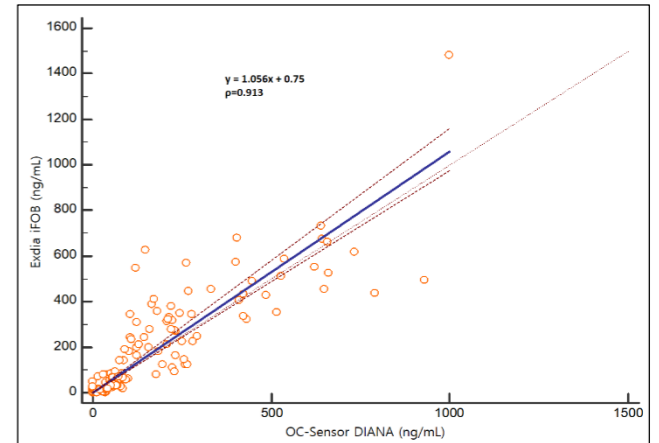
Eine Präzisionsstudie wurde 5 Tage lang mit Kontrollen in 3 verschiedenen Konzentrationen mit 5 Wiederholungen pro Lauf durchgeführt. Die Ungenauigkeit innerhalb eines Laufs sowie die Gesamtungenauigkeit der Testkassetten wurden gemäß der CLSI-Richtlinie EP5-A bestimmt.

Analyt	Mittelwert (ng/ml)	Innerhalb des Laufs	Gesamtwerte für alle Läufe
		VK (%)	VK (%)
Hämoglobin	75	3,2	4,0
	125	4,9	5,3
	250	8,2	7,3

##### 14.2 Vergleich zwischen den Methoden

Es wurde eine Vergleichsstudie der Methoden für den Exdia iFOB-Test in Verbindung mit dem Exdia Analysator gegenüber dem OC-SENSOR DIANA (Eiken Chemical Co.) durchgeführt. Von 217 Personen wurden Stuhlproben gesammelt, deren FOB-Konzentrationen sich in analytischen Messbereichen von 25 bis 1000 ng/ml verteilten. Das Vergleichsergebnis wurde mit dem Passing-Bablok-Modell regressiert und die Korrelation anhand der Rangkorrelation nach Spearman analysiert. Die Ergebnisse zeigten eine Steigung von 1,056 und einen Spearman'schen Korrelationskoeffizienten von  $\rho = 0,913$  (95 % KI, 0,888 bis 0,933). Die Ergebnisse zeigten eine gute Korrelation für den iFOB-Assay zwischen den beiden Methoden, dem Exdia iFOB-Test und dem OC-SENSOR DIANA (Eiken Chemical Co.).

Analyt	Probenanzahl	Nachweisbereich (ng/ml)	Achsenabschnitt	Steigung	Korrelationskoeffizient
iFOB	217	25-1000	0,75	1,056	0,913



##### 14.3 Klinische Genauigkeit

Die klinische Genauigkeit des Exdia iFOB-Tests wurde gegenüber dem Vergleichsprodukt OC-SENSOR DIANA evaluiert. Insgesamt 227 Proben wurden im Blindversuch mit dem Vergleichsprodukt bei einer Cutoff-Konzentration von 100 ng/ml verglichen. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

	Cutoff 100 ng/ml		Gesamt
	OC-SENSOR DIANA (+)	OC-SENSOR DIANA (-)	
Exdia iFOB (+)	71	3	74
Exdia iFOB (-)	3	150	153
Gesamt	74	153	227

Positive prozentuale Übereinstimmung	95,9 %
Negative prozentuale Übereinstimmung	98,0%
Gesamte prozentuale Übereinstimmung	97,4%

##### 14.4 Kreuzreaktivität und Effekt von Störsubstanzen

Der Exdia iFOB-Test ist spezifisch für humanes Hämoglobin. Sowohl positive als auch negative Proben wurden mit den folgenden Substanzen versetzt. Dabei kam es nicht zu Kreuzreaktionen mit den Testergebnissen und es wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt.

##### Kreuzreaktivität

Substanz	Konzentration
Rinder-Hb	1 mg/ml
Schweine-Hb	0,125 mg/ml

Extraktionspuffer wurde mit potenziellen Störsubstanzen mit negativem und schwach positivem Hämoglobin (125 ng/ml) versetzt. Die folgenden Substanzen im angegebenen Konzentrationsgrad wirkten sich nicht störend auf die Leistung des Exdia iFOB-Tests aus.

##### Störung

Substanz	Konzentration
Ascorbinsäure	1 mg/ml
Chlorid	0,5 mg/ml
Gurke	Wässriger Extrakt
Kohl	Wässriger Extrakt
Salat	Wässriger Extrakt
Sesam	Wässriger Extrakt
Chili	Wässriger Extrakt

Für weitere Informationen oder Fragen zu diesem Produkt wenden Sie sich bitte an den Kundensupport unter support@precision-bio.com

**Precision Biosensor Inc.**  
306, Techno 2-ro, Yuseong-gu,  
Daejeon, 34036

Republik Korea  
Tel.: +82-42-867-6300  
Fax: +82-42-867-6302  
www.precision-bio.com



**EC REP mdi Europa GmbH**  
Langenhagener Str. 71, 30855  
Langenhagen

Tel.: +49 511 39 08 95 30  
E-Mail: info@mdi-europa.com  
www.mdi-europa.com

Dokumentennummer: PB-MRUM-01-EN  
Revisionsnummer: 02  
Gültigkeitsdatum: 22. Dez. 2020

**KS Medizintechnik**  
Telefon: 0800 - 10 10 871 seit 1921  
**HIER GÜNSTIG KAUFEN**  
www.ksmedizintechnik.de