

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunocromatografico, per la ricerca della emoglobina umana nelle feci (sangue occulto, *fecal occult blood*)

PRINCIPIO DEL METODO

Fecal Occult Blood (FOB) impiega una metodologia analitica rapida e qualitativa, in grado di determinare la presenza di emoglobina umana nelle feci. Il supporto reattivo ("card") è pronto all'uso ed è in grado di rilevare, in modo specifico e sensibile, la presenza di emoglobina umana nel campione fecale, utilizzando una tecnologia immunocromatografica su membrana (immunodosaggio con flusso laterale del campione). Sulla membrana, in corrispondenza della regione contenente la linea test (T, zona di reazione positiva), è presente un anticorpo anti-emoglobina umana. Durante l'esecuzione del test, il campione, opportunamente diluito migra, cromatograficamente lungo la membrana per azione capillare per reagire con anticorpi anti-emoglobina umana presenti sulla membrana generando, qualora presente emoglobina umana, una linea colorata. La presenza di tale linea colorata nella regione T indica un risultato POSITIVO, mentre l'assenza ne indica uno NEGATIVO. Il contemporaneo sviluppo di un'ulteriore linea colorata nella regione contrassegnata con C (Controllo), viene impiegato come controllo procedurale: la sua presenza indica che è stata inoculata una corretta quantità di campione e che la migrazione è avvenuta in modo appropriato.

CONTENUTO DEL KIT

- Card reattive monouso in sacchetto sigillato individuale: ciascuna contiene anticorpi anti-emoglobina umana adesi a particelle e membrana sensibilizzata con anticorpi anti-emoglobina umana
- Flaconcini monouso per il prelievo del campione: bacchette di raccolta campione (applicatore del campione) e relativi supporti in tamponi di estrazione
- Istruzioni per l'uso

PRECAUZIONI

Mantenere tutti i reagenti a temperatura di 2°-30°C. NON CONGELARE.

Per uso diagnostico esclusivo *in vitro*. Non utilizzare dopo la data di scadenza.

Conservare ciascuna card non utilizzata nel proprio involucro sigillato.

Non mangiare, bere o fumare durante la manipolazione dei campioni e l'esecuzione del test.

I campioni devono essere considerati *potenzialmente infetti*. Osservare le precauzioni idonee alla manipolazione di agenti infettanti; seguire la B.P.L.

Smaltire il materiale utilizzato secondo la normativa vigente.

Indossare guanti, camice e dispositivi di protezione oculare.

L'eccessiva umidità e la temperatura elevata dell'ambiente possono inficiare i risultati.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Tutti i reagenti sono pronti all'uso

MATERIALE AGGIUNTIVO

Timer, contenitori specifici per raccolta campioni fecali

CAMPIONI

Feci raccolte in contenitore specifico acquistabile in farmacia

- Non dovrebbero essere utilizzati campioni fecali provenienti da donne nei tre giorni antecedenti o successivi alle mestruazioni. Si sconsiglia di utilizzare campioni provenienti da soggetti affetti da emorroidi sanguinanti o ematuria.
- Alcol, aspirina (salicilati) e altri farmaci assunti in eccesso possono causare irritazione gastrointestinale e provocare sanguinamento rettale. L'uso di tali farmaci dovrebbe essere sospeso almeno 48 ore prima della raccolta del campione fecale.
- Il presente test non prevede alcuna restrizione alla dieta.



Tutti i campioni biologici impiegati devono essere considerati **POTENZIALMENTE INFETTI** e, come tali, manipolati secondo la B.P.L.

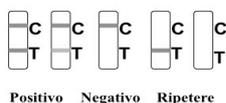
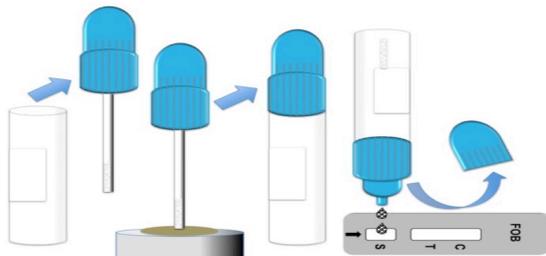
PROCEDURA OPERATIVA

Portare i reagenti ed i campioni a T.A. (15-30°C) prima del test

1. Raccogliere il campione nel contenitore specifico acquistabile in farmacia. Risultati ottimali si ottengono se il test viene eseguito entro 6 ore dalla raccolta del campione. I campioni possono essere conservati, prima del test, fino a 3 giorni se refrigerati a 2-8°C
2. Svitare il tappo del flaconcino di prelievo, evitando la fuoriuscita del liquido
3. Immergere la bacchetta di raccolta (applicatore) collegata al tappo in 3-4 punti diversi della massa fecale, evitando di spalmare il campione
4. Reinserire l'applicatore nel flaconcino, riavvitando il tappo
5. Scuotere con decisione il flaconcino di prelievo per permettere l'estrazione da parte del tampone di estrazione: lasciare incubare nel flaconcino per 2 minuti.
6. Identificare il campione
Il test deve essere eseguito entro 1-3 h. dall'estrazione del campione a temperatura ambiente. I campioni estratti possono essere conservati fino a una settimana se refrigerati 2-8°C o 6 mesi se congelati a -20°C.

ESECUZIONE DEL TEST

1. Riportare a T.A. i reagenti, qualora fossero stati mantenuti in frigorifero.
2. Preparare il campione di feci come illustrato e lasciar incubare per 2 minuti il campione nel relativo flaconcino con tampone, prima della dispensazione sulla card.
3. Estrarre la card dal sacchetto sigillato e porla sul piano pulito.
4. Mantenendo il flaconcino in posizione verticale (vedi figura sotto) ruotare e sollevare il tappo sulla punta del flaconcino di prelievo e trasferire 2 gocce del campione estratto (circa 80 µl) nel pozzetto del campione (contrassegnato con S sulla card); far partire il timer. Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto S.
5. Attendere lo sviluppo delle linee colorate. I risultati vanno letti dopo 5 minuti: non interpretare i risultati dopo 10 minuti



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Facendo riferimento alla figura, si potranno ottenere tre tipi di risultati:

POSITIVO: in aggiunta alla linea del controllo (C), si evidenzia in modo netto una linea colorata nella zona di reazione positiva (T). L'intensità della colorazione in questa zona dipende dalla concentrazione di emoglobina nel campione; comunque, anche la formazione di una debole linea colorata è indicativo di positività del test.

NEGATIVO: si sviluppa la linea colorata soltanto nella zona di controllo (C); non appare la linea nella zona di reazione positiva

INDETERMINATO (RIPETERE): se non si evidenziano distinte linee colorate, sia nella zona del controllo che nella zona di reazione positiva, il test è da considerarsi "non valido": si raccomanda di ripetere il test.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il controllo procedurale è già presente sulla card (regione C)

Materiale specifico per Controllo di Qualità Interno non viene fornito a corredo del kit; comunque si raccomanda di eseguire il test utilizzando un controllo negativo e uno positivo secondo la B.P.L., per verificare le caratteristiche analitiche del metodo e la sua corretta esecuzione

PRESTAZIONI DEL METODO

Il presente metodo è stato confrontato con altre metodiche commerciali di tipo rapido: la correlazione è risultata del 98,3%

ACCURATEZZA

Il presente metodo è stato confrontato con altri test rapidi commerciali, utilizzando campioni clinici

| Metodo | Altri test rapidi | | Risultati totali |
|--------------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| | Risultati Positivi | Risultati Negativi | |
| Fecal Occult Blood (FOB) | 210 | 5 | 216 |
| | 12 | 850 | 862 |
| Risultati totali | 222 | 856 | 1078 |

Sensibilità relativa: 210/222=94.6% (95%CI*: 90.7%-97.2%);

Specificità relativa: 850/856=99.3% (95%CI*: 98.5%-99.7%);

Accuratezza: (210+850)/(210+6+12+850)=98.3% (95%CI*: 97.4%-99.0%). *Intervalli di confidenza

SENSIBILITÀ

La sensibilità del presente metodo è di 6 µg di emoglobina per grammo di feci, che corrisponde alla concentrazione di 50 ng. di emoglobina per ml. di tampone.

PRECISIONE

Intrasaggio

La precisione intrasaggio è stata determinata impiegando 15 replicati di tre campioni: campioni positivi a 50ng/ml, 100ng/ml e 10µg/ml di emoglobina umana. I campioni sono stati correttamente identificati in più del 99% dei casi.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata attraverso 15 saggi indipendenti dei medesimi 3 campioni: campioni positivi a 50ng/ml, 100ng/ml and 10µg/ml di emoglobina umana. Sono stati testati 3 differenti lotti di Fecal Occult Blood (FOB) per analizzare tali campioni. I campioni sono stati correttamente identificati in più del 99% dei casi.

CROSS-REATTIVITÀ

Il presente metodo è specifico per emoglobina umana.

Campioni contenenti *emoglobina bovina, emoglobina di pollo, emoglobina di maiale, emoglobina di capra, emoglobina di cavallo, emoglobina di coniglio ed emoglobina di tacchino* sono stati diluiti nel tampone di estrazione a concentrazioni di 1,0 mg/ml e testati sia su controlli positivi che negativi: non è stata mai osservata alterazione del risultato corretto del test.

LIMITAZIONI DEL METODO

- Per uso diagnostico esclusivo *in vitro*
- La presenza di sangue nelle feci può essere causata anche da emorroidi, ematuria, gastrite o da assunzione di farmaci in grado di irritare l'intestino e, pertanto, un risultato positivo non indica, necessariamente, sanguinamento coloretale.
- Trattandosi di un'indagine di Laboratorio, la diagnosi definitiva deve essere confermata da altre indagini diagnostiche (clisma opaco, sigmoidoscopia, colonscopia) e valutazioni cliniche.

CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE

Numerose patologie possono provocare presenza di sangue occulto nelle feci (F.O.B. Fecal Occult Blood, ovvero sangue occulto nelle feci).

Nelle fasi iniziali, patologie gastrointestinali quali carcinoma del colon, ulcere, polipi, colite, diverticolite, ragadi possono non provocare manifestazioni evidenti, ma soltanto presenza di sangue occulto fecale. I primi e tradizionali metodi di ricerca di sangue occulto fecale del basali sul guaiaco presentano scarsa sensibilità e specificità e necessitano di dieta particolare^{1,2}. Fecal Occult Blood (FOB) è, invece, in grado di rilevare basse concentrazioni di emoglobina fecale, utilizzando un sistema "sandwich" con doppio anticorpo, raggiungendo una sensibilità analitica di 50 ng/ml di emoglobina umana, corrispondente a circa 6µg/g di feci. Inoltre, rispetto ai metodi al guaiaco, utilizzando il presente metodo la dieta del paziente non interferisce con l'accuratezza analitica.

BIBLIOGRAFIA

1. Simon JB. Occult Blood Screening for Colorectal Carcinoma: A Critical Review *Gastroenterology*, 1985; 88: 820.
2. Blebea J, Mcpherson RA. False-Positive Guaiac Testing With Iodine, *Arch Pathol Lab Med*, 1985;109:437-40.

Indice dei Simboli

| | | | | | |
|--|---|--|------------------|--|----------------------------|
| | Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso | | Test per kit | | Rappresentante Autorizzato |
| | Per uso esclusivo "in vitro" | | Utilizzare entro | | Non riutilizzare |
| | Conservare a 2-30°C | | Numero di Lotto | | N. Catalogo # |
| | Non utilizzare se la confezione è danneggiata | | | | |

Codici di Riordino:
C2935 Fecal Occult Blood (FOB)

50 test



Bio Plastic Sas - 00100 Roma