



**CERTEST FOB CARD**  
One step Fecal Occult Blood Card Test

**INTENDED USE**

The CerTest FOB Card is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of human hemoglobin in stool samples.

**INTRODUCTION**

Colorectal cancer is a leading cause of illness and death in Western world. Screening with fecal occult blood tests is based on the concept that important target colonic neoplasm, such as early-stage cancer and large adenomatous polyps, will bleed and may be detected by an occult blood test. When gastrointestinal blood is lost, the stool will contain a combination of intact or nearly intact hemoglobin, intact heme, and heme-derived porphyrins in amounts that depend on the site and amount of bleeding and the transit time through the gut. Immunochemical tests detect intact or nearly intact human hemoglobin, being a very specific technique for detecting loss of blood from the lower intestine, because blood from lower sites is less degraded during transit.

**PRINCIPLE OF THE TEST**

The CerTest FOB Card is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of human hemoglobin in stool samples. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, against human hemoglobin. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-human hemoglobin mouse monoclonal antibodies-red microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured conjugate. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

**STORAGE AND STABILITY**

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

**PRECAUTIONS**

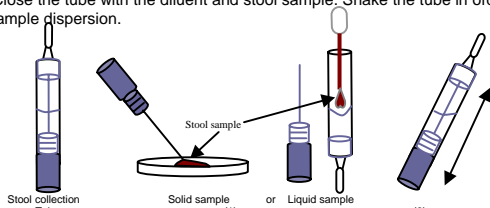
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

**Specimen preparation (see illustration):**

- (1) Unscrew the tap and use the stick to pick up a little sample, if the stool sample was liquid take 100 µL using a pipette, and add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



**Precautions:** Patients should not collect samples during their menstrual period, if they have bleeding haemorrhoids, blood in urine, or if they have strained during bowel movement.

**MATERIALS PROVIDED**

- Device tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes-sample diluent

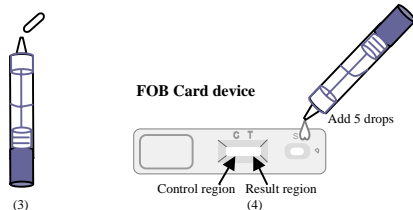
**MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED**

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

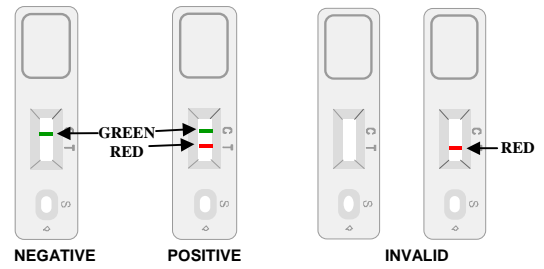
**TEST PROCEDURE**

**Allow the test, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.**

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the top (3).
2. Remove the CerTest FOB Card device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense exactly 5 drops or 150 µL into the circular window marked with an arrow (4).
- 4.- Read the result at **5 minutes** (the coloured bands appear). Do not read a test result after more than 10 minutes.



**INTERPRETATION OF RESULTS (PLEASE REFER TO THE ILLUSTRATION BELOW)**



**NEGATIVE:** Only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

**POSITIVE:** In addition to the GREEN control band, a RED band (test line) also appears in the site marked with the letter T (result line).

**INVALID:** a total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the result line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the tests with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

**NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS**

The intensity of the RED coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of human hemoglobin in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in hemoglobin can be determined by this qualitative test.

**QUALITY CONTROL**

Internal procedural controls are included in the test. A GREEN line appearing in the control region (C) is an internal control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

**LIMITATIONS**

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear or absence of the control coloured band).
3. The intensity of the lines may vary from very strong at high hemoglobin concentrations to faint when the hemoglobin concentration is close to the sensitivity limit of the test.
4. Patients should not collect samples during their menstrual period, if they have bleeding haemorrhoids, blood in urine, or if they have strained during bowel movement.
5. Positive results confirm the presence of human hemoglobin in fecal samples; nevertheless, it can be due to several causes, besides colorectal bleeding, such as haemorrhoid, blood in urine or stomach irritations. A positive results should be followed up with additional diagnostic procedures to determine the exact cause and source of the blood in the stool.
6. Negative results do not exclude bleeding since some polyps and colorectal cancers may bleed intermittently or not at all during certain stages of the disease. Additionally, blood may not be uniformly distributed in stool samples.
7. This test may be less sensitive for detecting upper gastrointestinal bleeding because blood degrades as it passes through the gastrointestinal track.

**PERFORMANCE**

**Sensitivity**

A sample containing human hemoglobin at concentration equal to or higher than 50 ng/mL produces a positive result using CerTest FOB Test. In some cases sample containing human haemoglobin at concentrations less than 50 ng/ml can also be tested as positive.

Different hemoglobin dilutions were tested directly in the extraction buffer or spiked in a negative stool sample in accordance with the kit instructions.

The detection of human hemoglobin with CerTest FOB Test showed >99% of sensitivity compared with a commercial guaiac assay.

**Specificity**

The CerTest FOB Test is specific for human hemoglobin and do not show any cross reaction with hemoglobin from bovine and pig.

The detection of human haemoglobin with CerTest FOB Test showed >99% of specificity compared with a commercial guaiac assay. The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest FOB Test assures high degree of specificity for the detection of human hemoglobin.

**REFERENCES**

1. Towler BP, Iwig L, Glasziou P, Weller D, Kewenter J. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2): CD001216.
2. Ransohoff DF and Lang CA. Screening for colorectal cancer with the Fecal Occult Blood Test: a background paper. Ann Intern Med. 1997; 126: 811-822.
3. Ransohoff DF and Lang CA. Suggested technique for Faecal Occult Blood testing and interpretation in colorectal cancer screening. Ann Intern Med. 1997; 126: 808-810.

**SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS**

	In vitro diagnostic device		Lot code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Do not use if package damaged



CerTest BIOTEC  
María de Luna 11  
E-50018 Zaragoza (SPAIN)  
www.certest.es



**USO PREVISTO**

CerTest FOB Card es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de hemoglobina humana en heces.

**INTRODUCCIÓN**

El cáncer colo-rectal es la principal causa de enfermedad y muerte en el mundo occidental. Los tests de sangre oculta en heces se utilizan principalmente para diagnosticar neoplasmas colónicos, como el cáncer en su fase inicial y algunos pólipos adenomatosos, que sangran y pueden detectarse por este tipo de test. Cuando se elimina sangre gastrointestinal, las heces contienen una mezcla de hemoglobina no degradada o poco degradada, grupos hemo, y porfirina hemo-derivada en cantidades que dependen del lugar, de la cantidad de sangrado y del tiempo de tránsito a través del intestino. Los tests inmunocromatográficos detectan hemoglobina humana no degradada o casi intacta, siendo una técnica muy específica para detectar pérdidas de sangre producidas en la parte final del intestino, ya que la sangre procedente de este lugar sufre menor degradación durante su tránsito.

**FUNDAMENTO DEL TEST**

CerTest FOB Card es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de hemoglobina humana en muestras de heces. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-hemoglobina humana-microesferas rojas) previamente secados en el test. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de hemoglobina humana, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido el apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO**

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

**PRECAUCIONES**

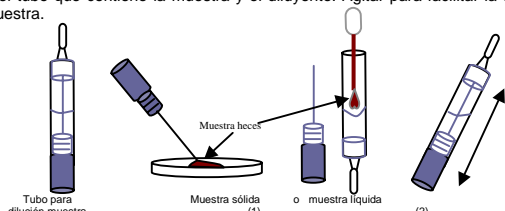
- Sólo para uso profesional in vitro.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

**RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN**

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4° C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20° C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

**Preparación de la muestra (ver dibujo):**

- (1) Desensrosar el tape y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces, si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



**Precauciones:** No se deben obtener muestras de pacientes durante su periodo menstrual, si presentan hemorroides sangrantes, sangre en orina, o estreñimiento.

**MATERIALES SUMINISTRADOS**

- Dispositivos de reacción
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras-tampón de extracción

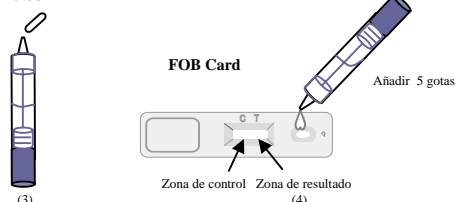
**MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS**

- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

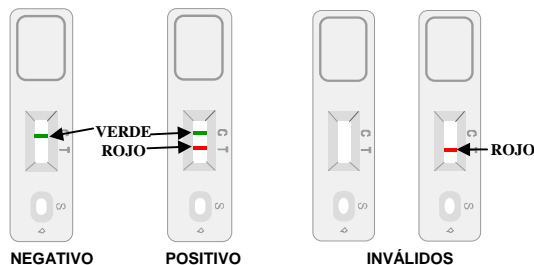
**PROCEDIMIENTO**

**Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30° C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.**

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón(3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest FOB Card de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 5 gotas o 150 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo (4).
4. Leer el resultado a los **5 minutos** (las líneas coloreadas aparecen). No leer el resultado pasados los 10 minutos.



**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**



**NEGATIVO:** Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

**POSITIVO:** Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

**INVÁLIDO:** Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no la línea de resultado (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

**OBSERVACIONES**

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de hemoglobina humana presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de hemoglobina puede ser determinada por la misma.

**CONTROL DE CALIDAD**

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

**LIMITACIONES**

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico, o ausencia de la línea de control.
3. No se deben obtener muestras de pacientes durante su periodo menstrual, si presentan hemorroides sangrantes, sangre en orina, o estreñimiento.
4. Los resultados positivos confirman la presencia de hemoglobina humana en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a varias causas, como hemorroides, sangre en orina, o irritaciones estomacales. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para determinar la fuente y la causa de la presencia de sangre en la muestra de heces.
5. Los resultados negativos no excluyen las hemorragias causadas por algunos pólipos ni el cáncer colorectal, ya que pueden provocar hemorragias de forma intermitente o no provocadas durante alguna fase de la enfermedad. Además, la sangre podría no haberse distribuido de manera uniforme en la muestra de heces.
6. Este test puede ser menos sensible para detectar hemorragias del tracto gastrointestinal superior porque la sangre se va degradando a través del mismo hasta ser expulsada junto con las heces.

**CARACTERÍSTICAS DEL TEST**

**Sensibilidad**

Una muestra de heces que contenga una concentración de hemoglobina humana mayor o igual 50 ng/mL da un resultado positivo usando CerTest FOB Test. En algún caso puede darse que muestras que contengan hemoglobina humana a concentraciones menores 50 ng/mL pueden dar resultados positivos. Diluciones diferentes de hemoglobina fueron probadas directamente en el tampón de extracción o en muestras negativas de heces para determinar la sensibilidad y especificidad de CerTest FOB Test.

La detección de hemoglobina humana con CerTest FOB Test obtiene >99% de sensibilidad en comparación con un test comercializado de guaiaco.

**Especificidad**

CerTest FOB Test es específico para detectar hemoglobina humana y no presenta ninguna reacción cruzada con hemoglobina bovina o porcina.

La detección de hemoglobina humana con CerTest FOB Test obtiene >99% de especificidad en comparación con un test comercializado de guaiaco. El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest FOB Test asegura un alto grado de especificidad para la detección de hemoglobina humana.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Towler BP, Inwig L, Glasziou P, Weller D, Kewenter J. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2): CD001216.
2. Ransohoff DF and Lang CA. Screening for colorectal cancer with the Faecal Occult Blood Test: a background paper. Ann Intern Med. 1997; 126: 811-822.
3. Ransohoff DF and Lang CA. Suggested technique for Faecal Occult Blood testing and interpretation in colorectal cancer screening. Ann Intern Med. 1997; 126: 808-810.

**SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

