

ЭКСПРЕСС-ТЕСТ

ДЛЯ КАЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА, АССОЦИИРОВАННОГО С РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ, В МОЧЕ ЧЕЛОВЕКА

661010, BTA stat® Test

Каталог. № : 661010

Методика от 05-2010

Производитель: Polymedco, (США)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала инструкции и перевода должны совпадать.

Для диагностики *in vitro*.

Хранить при 4-30°C. Не замораживать.

Назначение

Набор BTA stat® является быстрым иммунохроматографическим тестом, используемым для качественного скрининга (выявления присутствия антигена рака мочевого пузыря, BTA) в образцах человеческой мочи. Тест предназначен для использования в целях диагностики и мониторинга больных раком мочевого пузыря (РМП).

Краткий обзор

В Европейских странах рак мочевого пузыря занимает пятое место среди онкологических заболеваний у мужчин и одиннадцатое – у женщин. Общая частота встречаемости составляет примерно 19 случаев на 100000. В США данные статистики близки к европейским, РМП стоит на четвертом месте среди онкозаболеваний у мужчин и на девятом – у женщин. Приблизительно у 75% - 85% больных опухоль представлена переходно-клеточным раком (ТСС), и ограничена поверхностью слизистой. Мониторинг пациентов с установленным диагнозом ТСС обычно осуществляется с помощью цитологического исследования мочи и цистоскопии. У обоих методов есть свои ограничения.

Цистоскопия считается диагностическим стандартом по уровню чувствительности и специфичности, до получения результатов исследования биопсийного материала. Однако этот метод представляет собой инвазивную процедуру, причиняющую дискомфорт больному, это достаточно дорогостоящее исследование и ограничено диагностикой только тех опухолей, которые могут быть визуализированы.

Цитологическое исследование мочи (VUC), или оценка клеточного осадка мочи на наличие опухолевых клеток. Есть несколько факторов, снижающих ценность результатов данного исследования. Для репликации клеткам уротелия требуется около года. Следовательно, в каждом конкретном образце для анализа доступно лишь очень небольшое количество клеток. Слушывающиеся клетки попадают в неблагоприятную среду с высокой кислотностью и низкой осмоляльностью, это может исказить важные для диагностики особенности. Нет единого стандарта процедуры сбора и хранения образца, проведения анализа и интерпретации результатов. В рутинной практике чувствительность цитологического исследования значительно варьирует, в зависимости от стадии и степени дифференцировки опухоли, наименьшая чувствительность наблюдается при ранних стадиях заболевания. Кроме того, показано, что оптимальный результаты получаются при соблюдении специальной процедуры сбора мочи.

Диагностика и мониторинг больных с РМП могут быть значительно улучшены с помощью быстрого, простого анализа мочи, который может быть выполнен как непосредственно на приёме у врача, так и в лаборатории. Недавние исследований показали, что данный тест BTAstat может быть очень полезен в этом контексте. Тест BTAstat – это одношаговый тест, основанный на использовании специфических антител, который позволяет качественно оценить уровень BTA в образце мочи за 5 минут, без какой-либо пробоподготовки.

Антиген рака мочевого пузыря

Моноклональные антитела, используемые в данном методе, были получены к компонентам мочи больных РМП, с положительными результатами теста BTA и гистологических исследований. Антиген рака мочевого пузыря был выделен как белок, родственному фактору

H системы комплемента человека (hCFHrp), схожому по последовательности, структуре и функциям с фактором H системы комплемента человека (hCFH). hCFH также распознается моноклональными антителами, использованными в данном методе. Было показано, что hCFHrp продуцируется в культурах клеток из различных опухолей мочевого пузыря, но не нормальными клетками эпителия мочевого пузыря.

hCFH играет ключевую ингибиторную роль в контроле альтернативного пути активации системы комплемента, функцией которого является лизис клеток, распознанных как чужеродные. При взаимодействии с фактором комплемента C3b, hCFH ингибирует образование мембраноатакующего комплекса, таким образом предотвращая лизис клеток. In vitro показано, что антиген рака мочевого пузыря прерывает каскад реакций комплемента и защищает клетки от лизиса системой комплемента. Продукция антигена рака мочевого пузыря может давать преимущества для роста опухолевых клеток in vivo, позволяя клеткам ускользать от иммунной системы хозяина.

Принцип метода

Экспресс-тест BTAstat предназначен для специфического выявления антигена рака мочевого пузыря (BTA) в образцах мочи иммунохроматографическим методом, основанным на использовании моноклональных антител к BTA. Образец мочи вносят в тестовую лунку, где он реагирует с антителами, конъюгированными с частицами коллоидного золота. Если в образце присутствует антиген, то образуются комплексы антиген-антитело. Реакционная смесь движется вдоль мембраны, на которой расположены зоны с иммобилизованными антителами. В тестовой зоне (зона пациента, P) комплексы антиген-антитело захватываются вторыми антителами, в результате образуется видимая окрашенная полоса.

При отсутствии антигена в образце видимая окрашенная полоса не образуется.

Контрольная зона содержит иммобилизованный реагент, захватывающий конъюгат антител вне зависимости от присутствия/отсутствия антигена, в результате чего видимая окрашенная полоса образуется всегда. Это является контролем правильности выполнения теста.

Предостережения

- Не используйте после окончания срока годности, указанного на этикетке
- Тест-устройство предназначено для одноразового использования, не используйте его повторно.
- Не используйте тест-устройство, если пакет был поврежден.
- Не дотрагивайтесь до мембраны, расположенной между окнами.

Внимание

Для диагностики *in vitro*

Меры предосторожности

Не допускайте перекрестной контаминации образцов, используйте новую одноразовую капельницу, поставляемую с каждым набором, для внесения образца.

Со всеми образцами мочи и использованными материалами как с потенциально инфекционно опасными материалами.

Хранение и стабильность

Храните данный набор BTAstat при температуре 20°C - 30°C. Набор стабилен при указанной температуре хранения до окончания срока годности, указанного на этикетке.

Не замораживайте набор BTAstat!

Сбор и подготовка образцов для анализа.

Данным методом может быть протестирована спонтанная моча или моча, полученная у больных с катетером мочевого пузыря. Образцы, полученные при барботаже мочевого пузыря, образцы сыворотки, цельной крови или плазмы не могут быть протестированы данным методом.

Образцы мочи необходимо собрать без использования консервантов или фиксаторов, в чистую ёмкость для сбора мочи, подписанную соответствующим образом.

Если образец предполагается использовать для нескольких тестов, отберите аликвоту образца (не менее 2.0 мл) для тестирования данным методом, чтобы избежать контаминации. Перед тестированием тщательно перемешайте образец мочи, аккуратно переворачивая и встряхивая. Образец мочи можно хранить при комнатной температуре в течение 48 часов после сбора. Если образец не будет протестирован в течение этих 48 часов, он должен быть помещен в холодильник, и может храниться при 2-8°C в течение 7 дней. Для более длительного хранения образец необходимо заморозить и хранить при температуре ниже -20°C до

тестирования. Замороженные образцы могут храниться неограниченное время. Не допускайте повторных циклов замораживания/оттаивания.

- Не используйте бумажные или пенопластовые ёмкости для сбора и хранения образцов.
- Эффект радиотерапии или системной химиотерапии на измеряемую концентрацию ВТА неизвестен.
- Пациенты, получающие внутрипузырную терапию такими препаратами, как БЦЖ, митомицин С, тиотепа, бропирамин (в стадии исследования), или интерферон (в стадии исследования) могут быть обследованы по решению лечащего врача.
- Эффекты экспериментальных лекарственных препаратов на измеряемый данным методом уровень антигена неизвестны.
- При травматическом воздействии на мочевой пузырь или мочевыводящие пути (операция, включая биопсию, и т.д.) перед сбором образца для проведения анализа данным методом должно пройти время, достаточное для восстановления травмированных тканей.
- У некоторых больных с доброкачественными заболеваниями почек (нефриты, камни), или раком почки, включая переходноклеточную карциному (ТСС) верхнего отдела, концентрация ВТА может быть повышена.

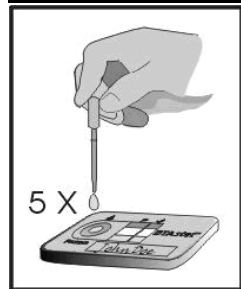
Состав набора

- 10 пакетов из фольги. Каждый пакет содержит:
 - 1 ВТАstat тест-устройство. В каждое устройство встроена мембрана с иммобилизованными захватывающими антителами, вторыми конъюгированными антителами, в белковом матриксе, содержащим азид натрия.
 - 1 одноразовую пипетку для мочи
 - 1 одноразовый пакет с осушителем
- 1 инструкция

Требуемые, но не поставляемые материалы

- Таймер
- Ёмкость для сбора мочи

Процедура тестирования



1. Перед тестированием все компоненты и образцы должны достичь комнатной температуры (18-25°C). Тщательно перемешайте все образцы, аккуратно встряхивая и переворачивая.

2. Достаньте тест-устройство и пипетку из пакета. Выбросьте пакет с осушителем. Поместите устройство на чистую горизонтальную хорошо освещенную поверхность и надпишите.

3. Установите таймер. Заполните пипетку, поставляемую в наборе, мочой, и держите ее вертикально над лункой для образца, как показано на рисунке.

4. Капните 3 **ПОЛНЫХ** капли (без пузырьков воздуха) в лунку для образцов.

5. По окончании 5 минутной инкубации считайте результат. Результат должен быть считан в течение 1 минуты после окончания инкубации.

Считайте результат так, как это рекомендовано в разделе «Интерпретация результата».

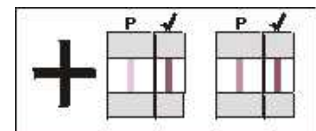
Внимание!

Результат должен быть считан не ранее, чем через 5 минут после внесения образца, и не позднее чем через 6 минут. Результат, считанный позднее, чем через 6 минут после внесения образца, недействителен!

Интерпретация результатов

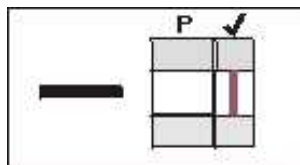
Положительный результат:

Внимательно посмотрите в тестовую зону (окно пациента, Р). **ЛЮБАЯ** окрашенная полоса, розовая или коричневая, **не важно какой интенсивности**, даже очень слабая, в зоне Р является положительным результатом.



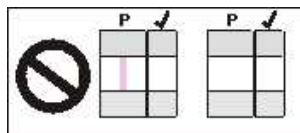
Отрицательный результат:

Внимательно посмотрите в тестовую зону (окно пациента, Р). Отсутствие окрашенной полосы в зоне Р является отрицательным результатом



Недостовверный результат:

Отсутствие окрашенной полосы в контрольной зоне является недостаточным результатом. Образец должен быть протестирован еще раз с использованием нового тест-устройства. Наиболее частая причина ошибки выполнения теста – неправильное внесение образца. Необходимо внести 3 **ПОЛНЫХ** капли.



Контроль качества

Правила хорошей лабораторной практики (good laboratory practice) рекомендуют использовать соответствующие контрольные материалы.

Ограничения

Уровень ВТА в моче не должен служить единственным основанием для постановки или исключения диагноза ТСС мочевого пузыря. Уровень ВТА у пациентов с диагнозом рак мочевого пузыря может оставаться в пределах нормальных значений. Повышенный уровень ВТА наблюдался у больных с мочекаменной болезнью, нефритом, раком почки (включая ТСС), или после недавней травмы мочевого пузыря или мочевого тракта.

Уровень ВТА в моче не должен служить единственным основанием для постановки диагноза РМП. Результаты определения ВТА должны учитываться в совокупности данных и результатов других диагностических процедур.

Клиническая специфичность

Концентрацию ВТА определяли в образцах мочи с помощью данного метода ВТАstat. 555 образцов были собраны у пациентов с другими заболеваниями, не РМП, в различных географических областях и хранились замороженными до тестирования. В среднем возраст больных в обследованной группе составил 55 лет, и 48% группы составляли мужчины. Группа практически здоровых людей включала как курящих, так и не курящих. Заболевания, не связанные с мочеполовой системой (GU), включали включают диабет, артрит, системную волчанку или другие заболевания, ассоциированные с деградацией коллагена; опухоли молочной железы, легкого, ЖКТ, а также лейкозы и лимфомы. Злокачественные заболевания мочеполовой системы, не связанные с мочевым пузырём, включали рак предстательной железы, рак почки, рак эндометрия, рак яичника, и другие опухоли GU. Группа заболеваний GU включает больных с доброкачественной гиперплазией простаты, почечнокаменную болезнь, различные патологии, такие как простатит, уретрит, инфекции мочевого тракта, недержание мочи, заболевания, передающиеся половым путём, и другие GU заболевания.

Исследование показало, что у здоровых людей и у людей без признаков патологии GU результаты теста ВТАstat отрицательные в 95% и 93% случаев, соответственно. Положительные результаты теста ВТАstat можно наблюдать у больных с патологией почек (нефриты, камни), а также у пациентов с раком почки.

Специфичность теста ВТАstat для 107 пациентов с диагнозом РМП в анамнезе, и без признаков заболевания, составила 70%.

Ожидаемые результаты могут различаться в зависимости от тестируемой популяции.

Таблица 1. Клиническая специфичность теста ВТАstat

Обследованная группа	n	Отрицательный результат, %
Здоровые люди	167	95
Заболевания, не связанные с GU	105	93
- доброкачественные	52	98
- злокачественные	53	89
Заболевания GU	152	72
- доброкачественная гиперплазия предстательной железы	26	88
- доброкачественные патологии почки	32	50
- другие доброкачественные заболевания GU	94	76

Опухоли GU	77	73
- рак предстательной железы	45	78
- рак почки	7	29
- другие опухоли	25	76
Травма GU	54	33

Клиническая чувствительность

Клиническую чувствительность данного метода ВТАstat определяли при тестировании 220 образцов мочи больных с РМП, подтвержденным результатами гистологического исследования биоптата. Образцы были собраны в различных географических областях и хранились замороженными до тестирования. В среднем возраст больных в обследованной группе составил 68 лет, и 79% группы составляли мужчины. Результаты представлены в таблице, в группах по стадии заболевания и степени дифференцировки опухоли.

Таблица 2. Чувствительность данного метода ВТАstat по стадиям и степени дифференцировки опухоли*.

Стадия	N	Чувствительность, %
Ta	111	51
T1	38	90
≥T2	50	88
Tis	18	61
степень дифференциации/grade		
I	57	42
II	56	66
III	95	83

*3 пациента с неизвестной стадией и 12 пациентов с неизвестной степенью дифференцировки.

У части исследованных больных (131) также были получены результаты цитологического исследования мочи (VUC), выполненного в тех же образцах мочи, в которых были выполнены тестирования данным методом ВТАstat. Показано, что данный метод ВТАstat более чувствителен для всех категорий пациентов.

Таблица 3. Чувствительность данного метода ВТАstat в сравнении с VUC.

Стадия	N	Чувствительность, %		
		ВТАstat	VUC	ВТАstat + VUC
Ta	73	45	7	49
T1	27	85	41	85
≥T2	16	75	38	81
Tis	15	53	60	80

Аналитические характеристики

Хук-эффект

Были выполнены исследования для выявления Хук-эффекта (эффекта высоких концентраций), с целью определить, будут ли влиять высокие концентрации ВТА в образцах на результаты тестирования. Результаты исследований показали отсутствие Хук-эффекта при тестировании образцов с концентрациями ВТА до 12400 Ед/мл. Эта концентрация была максимальной, доступной для проведения тестирования.

Воспроизводимость

Воспроизводимость внутри серии оценивали с использованием наборов двух лотов, воспроизводимость между сериями определяли тестированием наборов трёх лотов, по 10 повторов каждого из 4 слепых образцов в день, в течение 5 дней, используя 3 независимых считывания для каждого лота. Результаты исследования приведены в таблице 4.

Таблица 4. Воспроизводимость данного метода ВТАstat

CV% внутри серии			Lot: Dev 3		Lot: Dev 4	
Образец	Ожидаемый результат	Кол-во	Кол-во +	Кол-во -	Кол-во +	Кол-во -
A	N	50*	0	50	0	50
C	P	50	50	0	50	0
E	P	50	50	0	50	0
F	P	50	50	0	50	0

CV% между сериями			Lot: Dev 3		Lot: Dev 4		Lot: Pilot 1	
Образец	Ожидаемый результат	Кол-во	Кол-во +	Кол-во -	Кол-во +	Кол-во -	Кол-во +	Кол-во -
A	N	50*	0	50	0	50	0	50
C	P	50	50	0	50	0	49	1
E	P	50	50	0	50	0	19	1

F	P	50	50	0	50	0	50	0
---	---	----	----	---	----	---	----	---

10 в день, 5 дней

Образец С содержал количество ВТА, близкое к пределу определения метода.

Предел определения

Наименьшая концентрация ВТА, измеряемая данным методом составляет 22,4 Ед/мл.

Потенциально влияющие вещества

Перечисленные ниже вещества были протестированы и было показано отсутствие их значительного влияния на результаты тестирования данным методом ВТАstat в указанных концентрациях:

Вещество	Наибольшая концентрация, не оказывающая влияния на результат	Уровень, при котором вещество влияет на результат
Аналиты мочи		
Гемоглобин	100 мг/дл	Нет влияния на MLT*
Лейкоциты	10 ⁶ клеток/мл	Нет влияния на MLT
Эритроциты	10 ⁶ клеток/мл	Нет влияния на MLT
Белок (человеческий альбумин)	1 г/дл	Нет влияния на MLT
Билирубин	0.4 мг/дл	0.8 мг/дл
белок (человеческий IgG)	10 мг/дл	Нет влияния на MLT
Мочевая кислота	250 мг/дл	Нет влияния на MLT
Аскорбиновая кислота	5 г/дл	Нет влияния на MLT
Лекарственные препараты		
Ампициллин	600 мг/дл	Нет влияния на MLT
Доксорубин-НСI	10.0 мг/дл	Нет влияния на MLT
Митомин С	10.0 мг/дл	Нет влияния на MLT
Нитрофурантоин	50.0 мг/дл	Нет влияния на MLT
Фетфозолидин-НСI	80.0 мг/дл	100 мг/дл
Тиотепа	10.0 мг/дл	Нет влияния на MLT
Триметоприм	50 мг/дл	Нет влияния на MLT
БЦЖ	20 мг/дл	Нет влияния на MLT
Финастерид	2,5 мг/дл	Нет влияния на MLT
Флутамид	100 мг/дл	Нет влияния на MLT
Йоверсол	1%	5%

MLT – максимально протестированная концентрация



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»
ул. Чорновола, 97
г. Ивано-Франковск, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com