



Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der SecuBCA/Hb Combo Test ist ein einfacher immunochromatographischer Ein-Schritt-Schnelltest zum schnellen und qualitativen Nachweis von humanem Komplement-Faktor-H-verbunden Protein (hCFHrp, auch bezeichnet als Blasen-tumorantigen (bladder cancer antigen, BCA)) und Hämoglobin (Hb) im Urin. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Blasenkrebs bestimmt.

Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Etwa 2-3% Prozent aller bösartigen Tumoren in Menschen sind Karzinome der Harnblase. Nach dem Prostatakarzinom ist das Harnblasenkarzinom die zweithäufigste aller Tumorkrankheiten des Urogenitalsystems.

Die Faktoren, die das Risiko des Harnblasenkarzinoms erhöhen, schließen das Rauchen, chronische Zystitis, die Exposition gegenüber Karzinogenen, wie z.B. Benzidin am Arbeitsplatz, ein.

Die Krebsstadien werden in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tx	Primärtumor kann nicht evaluiert werden
TO	Kein Anzeichen für einen Primärtumor in der Harnblase
Ta	Nicht-invasives papilläres Karzinom
Tis	Karzinom <i>in situ</i> . "flacher Tumor"
T1	Tumor dringt in subepitheliales Bindegewebe ein
T2	Tumor dringt in den Muskel der Blasenwand ein
T3	Tumor dringt in perivesikales Gewebe ein
T4	Tumor dringt in eines der folgenden Organe ein: die Beckenwand, die Abdominalwand, die Prostata, die Gebärmutter oder die Scheide.

Eine andere wichtige Klassifikation der Krebstumoren schließt die Bestimmung des Grades des Krebses ein:

G1	Gut differenziertes bösartiges Gewebe („low grade“)
G2	Mäßig differenziertes bösartiges Gewebe („intermediate grade“)
G3	Schlecht differenziertes bösartiges Gewebe („high grade“)
G4	Undifferenziertes bzw. anaplastisches bösartiges Gewebe („high grade“)

Die zwei am häufigsten verwendeten Verfahren der Erkennung des Blasenkarzinoms sind die Urinzytologie und die Zystoskopie. In der Urinzytologie wird das Urinsediment auf Krebszellen untersucht. Leider ist die Gesamtzahl der Zellen oft verhältnismäßig niedrig. Zudem greifen die Milieubedingungen im Urin die Zellen an und infolgedessen können wichtige Diagnoseeigenschaften verschleiert werden. Daher besteht der Hauptnachteil der Urinzytologie in der deutlich schwankenden Sensitivität und auch darin, dass Tumoren im Frühstadium oft übersehen werden.

Aufgrund ihrer klinischen Sensitivität und Spezifität wird die Zystoskopie als ein Standard diagnostischer Verfahren (außer Biopsie) angesehen. Der Hauptnachteil der Zystoskopie besteht darin, dass es sich dabei um einen invasiven Eingriff handelt, welcher für Patienten anstrengend ist, und dass nur sichtbare Tumoren identifiziert werden.

Die Nachteile der oben genannten diagnostischen Methoden waren der Grund einer intensiven Suche nach Tumormarkern, welche bei der Diagnose eines Harnblasenkarzinoms hilfreich sein könnten. Dabei wurde das humane Komplement-Faktor-H-verbundene Protein (Blasen-tumorantigen (bladder cancer antigen, BCA)) entdeckt. Dieses Protein ist in Patienten oft erhöht, welche an einem Harnblasenkarzinom

leiden. Der SecuBCA/Hb Combo Test verwendet eine einzigartige Kombination monoklonaler und polyklonaler Antikörper, um das humane Komplement-Faktor-H-verbundene Protein und Hämoglobin (Hb) selektiv nachzuweisen. Der Nachweis von Hämoglobin erhöht die Sensitivität des Tests vor allem in den späteren Stadien des Blasenkrebses, welche normalerweise durch die Anwesenheit von Blut im Urin gekennzeichnet sind.

Testprinzip

Der SecuBCA/Hb Combo Test ist ein Sandwich-Immunoassay. Die Testkassette enthält zwei interne Nitrozellulose-Membranen. Maus-anti-Hämoglobin-Antikörper sind im Testlinienbereich (T) des einen internen Nitrozellulose-Membranstreifens immobilisiert. Maus-anti-hCFHrp-Antikörper sind im Testlinienbereich (T) des anderen Nitrozellulose-Membranstreifens immobilisiert. Das Konjugat-Pad des einen Teststreifens (Hämoglobin-Erkennung) enthält polyklonale anti-Hämoglobin-Antikörper und Maus IgG, beide mit kolloidalem Gold konjugiert. Das Konjugat-Pad des anderen Teststreifens (hCFHrp-Erkennung) enthält polyklonale anti-hCFHrp-Antikörper und Maus IgG, beide ebenfalls mit kolloidalem Gold konjugiert. Ziege-anti-Maus-Antikörper sind im Kontrolllinienbereich (C) beider Nitrozellulose-Membranen immobilisiert. Im Falle eines positiven Testergebnisses reagieren die Analyten (d.h. hCFHrp und/oder Hb), welche in der Probe enthalten sind, mit den Maus-anti-Hämoglobin-Antikörpern oder anti-hCFHrp-Antikörpern des Konjugat-Pads. Dabei bilden sich Antikörper-Antigen-kolloidales Gold-Komplexe, während die Probe durch Kapillarkraft die Membran entlang wandert. Wenn die Antikörper-Antigen-kolloidales Gold-Komplexe die immobilisierten Maus-Antikörper des entsprechenden Testlinienbereichs (T) erreichen, werden sie gebunden und bilden Sandwich-Komplexe, welche aus immobilisierten Antikörpern-Antigen-Antikörpern-kolloidalem Gold bestehen, jeweils für hCFHrp und/oder Hb. Nur, wenn die aufgetragene Probe eine bestimmte Konzentration von Hämoglobin oder hCFHrp enthält, hat die Bildung dieser Sandwich-Komplexe eine sichtbare farbige Linie im entsprechenden Testlinienbereich (T) zur Folge. Im Falle der Abwesenheit von hCFHrp oder Hämoglobin in der Probe, entsteht keine sichtbare farbige Linie im entsprechenden Testlinienbereich (T).

Wenn die aufgetragene Probe den Kontrolllinienbereich (C) erreicht, bilden die mit Gold konjugierten Maus-IgG mit den in den Kontrolllinienbereichen (C) immobilisierten Ziege-anti-Maus-Antikörpern Komplexe, dabei entstehen farbige Kontrolllinien (C).

Als Funktionskontrolle muss immer in beiden Kontrolllinienbereichen (C) eine farbige Linie entstehen, die bestätigt, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass der Test ordnungsgemäß durchgeführt wurde.

Bestandteile der Testpackung

- 10 Testkassetten, inkl. Einwegpipetten (einzeln verpackt)
- 10 Urinbecher
- 10 Deckel für Urinbecher
- 1 Gebrauchsanleitung

Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Testkits sollten bei Raumtemperatur oder gekühlt bei 2-30°C gelagert werden. Die Testkassetten sind gegen Feuchtigkeit und Hitze empfindlich. Führen Sie den Test unmittelbar nach der Entnahme der Testkassette aus dem verschlossenen Folienbeutel durch. Verwenden Sie die Tests nicht nach Ablauf des angegebenen Haltbarkeitsdatums.



Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Den Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Waschen Sie sich anschließend gründlich die Hände
- Ausgelaufene Flüssigkeiten sollten mit geeignetem Desinfektionsmittel beseitigt werden.
- Dekontaminieren und entsorgen Sie alle Proben, Testkits und andere potenziell kontaminierte Materialien als infektiöse Abfälle in einem Behälter für biologisch gefährlichen Abfall.

Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Die Probe sollte nicht drei Tage vor, drei Tage nach und während der Menstruation entnommen werden. Sollte ein Ergebnis bei einem Patienten, der Aspirin nimmt, positiv ausfallen, sollte die Aufnahme von Aspirin für 7 Tage abgebrochen und der Test wiederholt werden.

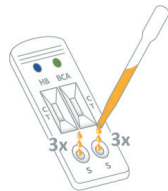
Es sollen nur Urinproben mit dem Test verwendet werden. Probenkontamination mit Toilettenwasser sollte vermieden werden.

Wenn entnommene Proben am gleichen Tag nicht getestet werden können, können sie gekühlt bei 4-8°C für die Testung innerhalb von 3 Tagen gelagert werden.

Testdurchführung

Vor der Testdurchführung bringen Sie die Testkassetten und Proben auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette dem Folienbeutel und legen Sie sie auf eine trockene, ebene Oberfläche.
2. Geben Sie 3 Tropfen Urin mit Hilfe der Einwegpipette in jede Probenöffnung der Testkassette.



Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie die lila Färbung sehen, die sich im jeweiligen Ergebnisfenster in der Mitte der Testkassette bewegt.

3. Lesen Sie das Testergebnis nach 9 Minuten ab. Lesen Sie Ergebnisse nicht nach mehr als 10 Minuten ab.



Hinweis:

Die oben angegebene Auswertungszeit basiert auf der Auswertung der Testergebnisse bei Raumtemperatur (15-30°C). Ist Ihre Raumtemperatur deutlich niedriger als 15°C, dann sollte die Auswertungszeit entsprechend erhöht werden.

Testauswertung

- Jeweils eine farbige Linie erscheint in den Kontrolllinienbereichen (C) der Ergebnisfenster: dies weist darauf hin, dass der Test ordnungsgemäß funktioniert.
- Eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T) des Ergebnisfensters für Hb (verdeutlicht durch die Buchstaben HB), wenn der Hämoglobinspiegel in der Probe gleich oder höher als 250 ng/ml ist.
- Eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T) des Ergebnisfensters für BCA (verdeutlicht durch die Buchstaben "BCA"), wenn BCA im Urin nachgewiesen werden kann.

Positiv für BCA:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen (C) und eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) für BCA.



Positiv für Hb:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen (C) und eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) für Hb.



Positiv für BCA und Hb:

Zusätzlich zu den Kontrolllinien (C) erscheint jeweils eine farbige Linie in den Testlinienbereichen (T) für BCA und Hb.



Negativ:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Kontrolllinienbereichen (C). Keine Linie erscheint in den Testlinienbereichen (T) für BCA und Hb.



Ungültig:

Die Kontrolllinien (C) erscheinen nicht.

Ungenügendes Probenvolumen und fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint. Verfahrensablauf überprüfen und den Test mit einer neuen Testkassette durchführen. Falls das Problem weiterbesteht, das Testkit ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.



Hinweis: Sobald ein positives Ergebnis nach 9 Minuten festgestellt wird, ändert sich dieses nicht mehr. Jedoch sollte das Ergebnis nach 10 Minuten nicht mehr abgelesen werden, um falsche Ergebnisse zu vermeiden.



Ergebnisauswertung:

- Ein positives Ergebnis für BCA und/oder Hb weist auf eine Wahrscheinlichkeit von Blasenkrebs hin. Dies erfordert jedoch eine weitere Bestätigung.
- Im Falle eines positiven Ergebnisses für Hb sollten andere Gründe für Blut im Urin, wie z. B. Blutung durch Steine oder vergrößerte Prostata, ausgeschlossen werden, und der Patient sollte mit weiteren Tests nachuntersucht werden.
- Negative Ergebnisse schließen Blasenkrebs nicht aus. Weitere klinisch verfügbare Tests sind bei fragwürdigen Testergebnissen erforderlich. Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzigen Tests basieren, sondern durch den Arzt nach der Auswertung weiterer klinischer und labortechnischer Befunden gestellt werden.



Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle.

Jeweils eine in den Kontrolllinienbereichen (C) erscheinende farbige Linie wird als interne positive Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen und eine korrekte Verfahrenstechnik.

Klinische Studie

Relative Sensitivität

Insgesamt 225 Patienten mit einem durch Biopsie bestätigten Blasenkrebsbefund nahmen an der Studie teil. Von diesen 225 Patienten wurden bei 223 Patienten das Stadium des Tumors und bei 210 Patienten der Grad des Tumors festgestellt.

Die entnommenen Proben wurden mit dem SecuBCA/Hb Combo Test getestet. Die erworbenen Ergebnisse wurden mit Zytologie-Ergebnissen verglichen.

Alle Vergleichsstudien wurden blind durchgeführt, d. h. vor der Testdurchführung wusste der Labortechniker nicht, welche Proben BCA (hcFHRp)/Hb positiv oder negativ waren.

Relative Sensitivität des SecuBCA/Hb Combo Tests im Vergleich zum Zytologie-Test (n=225)

Stadium des Tumors	Nummer	Sensitivität (nur BCA)	Sensitivität (BCA und Hb)
Ta	14	57 %	57 %
T1	69	82,6 %	85,5 %
T2, T3	140	86,4 %	94,2 %
Grad des Tumors	Nummer	Sensitivität (nur BCA)	Sensitivität (BCA und Hb)
1	47	38,2 %	42,5 %
2	61	63,9 %	70,5 %
3	102	89,2 %	97,1 %

Fazit: Die Testsensitivität des SecuBCA/Hb Combo Tests hat eine Bandbreite von 42,5% bis 97,1% abhängig von den Stadien und Graden der Blasen-tumoren.

Spezifität

Die Spezifität wird als die Wahrscheinlichkeit eines negativen Ergebnisses in der Abwesenheit besonderer Bedingungen definiert. Die Spezifität des SecuBCA/Hb Combo Tests beträgt 89,5%.

Interferenzstudien

Potenziell interferierende chemische Substanzen wie Schmerzmittel, Lipide, Bilirubin und Glucose wurden klinisch definierten negativen normalen Proben und klinisch definierten positiven Proben zugegeben. Diese Proben wurden unter Verwendung des SecuBCA/Hb Combo Tests im 10-fach Replikat getestet. Eine Probe wurde als negativ eingeordnet wenn innerhalb von 10 Minuten keine farbige Testlinie, aber die farbige Kontrolllinie (C) sichtbar war. Eine Probe wurde als positiv eingeordnet wenn beide, die Kontrolllinie und die Testlinie, innerhalb von 10 Minuten sichtbar waren.

Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt:

Anzahl durchgeführter Tests	Zu klinisch definierten negativen Tumorkrebs-Proben beigeseetzte Substanz	SecuBCA/Hb Combo Test Testergebnis (sichtbare Test- und Kontrolllinien = positiv (+)) (keine sichtbare Testlinie, aber sichtbare Kontrolllinie = negativ (-))
10	Acetaminophen, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Acetylsalicylsäure, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Ascorbinsäure, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Atropin, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Bilirubin, 60 mg/dl	Alle (-)
10	Coffein, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Creatinin, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Gentisinsäure, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Glukose, 2000 mg/dl	Alle (-)
10	Ketone, 40 mg/dl	Alle (-)
10	Mestranol, 3 mg/dl	Alle (-)
10	Nitrit, 20 mg/dl	Alle (-)
10	Penicillin, 40.000 U/dl	Alle (-)
10	Natrium Heparin, 3 mg/dl	Alle (-)
10	Lithium Heparin, 3 mg/dl	Alle (-)

Keine von den oben genannten Substanzen zeigte Interferenzen mit dem SecuBCA/Hb Combo Test. Negative, durch potenziell interferierende Substanzen ergänzte Proben, wiesen stetig negative Testergebnisse auf, während positive Proben stetig positive Testergebnisse zeigten.

Reproduzierbarkeitsstudie

Die Reproduzierbarkeitsstudie wurde an drei verschiedenen Standorten durchgeführt. Negative, schwach positive und positive Proben wurden mit 120 SecuBCA/Hb Combo Testkits getestet. Die Proben wurden in zwei verschiedenen Tests pro Tag für eine Dauer von 20 Tagen getestet.

Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle dargestellt:

Test Standort	SecuBCA/Hb Combo Test		
	Negativ	Schwach positiv	Stark positiv
	Testauswertungen N=negativ, P=positiv (Anzahl der Tests)		
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

Die an allen drei Standorten erworbenen Testergebnisse stimmen zu 100% überein.



Referenzen


1. Badrinath R, Konety and Robert H. Getzenberg: Urine based markers of urological malignancy. The Journal of Urology, Vol. 165, 600-611, Feb, 2001
2. M-P Raitanen, E Kaasinen, E Rintala, E Hansson, P Nieminen, R Aine, TLJ Tammela1 and The Finn Bladder Group*: Prognostic utility of human complement factor H related protein test. British Journal of Cancer (2001) 85(4), 552-556

Symbolerläuterungen

 CE Konformitätszeichen	 Nicht wiederverwenden
 Gebrauchsanweisung beachten	 Verwendbar bis
 In-vitro-Diagnostikum	 Bestellnummer
 Temperaturbegrenzung	 Hersteller
 Chargennummer	 Ausreichend für <n> Tests

Kontakt

Stephany Hochrhein GmbH
 Am Weiler Weg 3
 79588 Efringen-Kirchen
 Germany

 nal von minden GmbH
 Carl-Zeiss-Strasse 12
 47445 Moers
 Germany

+49 (0) 7628 / 8055385
 +49 (0) 7628 / 8055386
 info@stephany-hochrhein.de

Rev. 18.03.2015-B.F-S