

### 1. Scopo del test

Il test M.H. BCA/Hb combo è un test immunocromatografico monofase rapido per la rilevazione qualitativa della proteina legante il Fattore H del complemento umano hCFHrp (noto anche come BCA, antigene del cancro alla vescica) e dell'emoglobina (Hb) nell'urina. Questo test va utilizzato come supporto nella diagnosi del cancro alla vescica.

### 2. Introduzione e Significato Clinico

Il carcinoma della vescica costituisce circa il 2-3% dei tumori maligni nell'uomo. Dopo il carcinoma della prostata, il cancro alla vescica è il secondo per incidenza tra tutti i tumori che colpiscono il sistema genito-urinario.

Tra i fattori che aumentano il rischio di cancro della vescica ci sono fumo, cistite cronica ed esposizione ad agenti cancerogeni quali ad esempio la benzidina.

Gli stadi del cancro sono riassunti nella seguente tabella:

Tx	Tumore primario, non può essere valutato
T0	Nessuna indicazione di un tumore primario della vescica
Ta	Carcinoma papillare non invasivo
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : "flat tumour"
T1	Il tumore penetra il tessuto connettivo subepiteliale
T2	Il tumore penetra le pareti della vescica
T3	Il tumore penetra il tessuto perivescicale.
T4	Il tumore penetra uno dei seguenti organi: la parete pelvica, la parete addominale, la prostata, l'uretra oppure la vagina.

Un'altra importante classificazione dei tumori comprende la determinazione del grado di tumore:

G1	Tessuto maligno ben differenziato (basso)
G2	Tessuto maligno moderatamente differenziato (intermedio)
G3	Tessuto maligno poco differenziato (elevato)
G4	Tessuto maligno non differenziato o anaplastico (elevato)

Le due procedure diagnostiche maggiormente utilizzate per la rilevazione del cancro alla vescica sono l'esame citologico urinario e la cistoscopia. Nell'esame citologico urinario, i sedimenti di urina vengono analizzati per la rilevazione di cellule cancerogene. Purtroppo, il numero totale di cellule è spesso proporzionalmente troppo basso. Inoltre, le condizioni ambientali attaccano le cellule rendendo importanti caratteristiche diagnostiche di difficile identificazione. Pertanto, il principale inconveniente dell'esame citologico urinario è che la sensibilità clinica è soggetta a notevoli fluttuazioni ed i tumori allo stato primario vengono spesso sorvolati.

Per la sua sensibilità e specificità clinica, la cistoscopia viene considerata come una procedura diagnostica standard (insieme alla biopsia). La cistoscopia però, è un intervento invasivo, duro per il paziente ed in grado di identificare solo i tumori visibili.

Gli svantaggi dei due metodi sopra citati hanno spinto ad intensificare la ricerca ed identificazione di marker tumorali molto efficaci nella diagnosi di tumori della vescica. È stato scoperto che la proteina legante il Fattore H (BCA antigene del cancro alla vescica) del complemento umano, è spesso presente in quantità elevate nei pazienti affetti da cancro della

vescica. Il test M.H. BCA/Hb combo utilizza una combinazione unica di anticorpi monoclonali e policlonali per determinare in maniera selettiva la proteina legante il Fattore H del complemento umano e l'emoglobina (Hb). La rilevazione di emoglobina aumenta la sensibilità del test soprattutto durante gli stadi avanzati del cancro alla vescica che sono generalmente caratterizzati dalla presenza di sangue nelle urine.

### 3. Principio del Test

Il test M.H. BCA/Hb combo è un immunodosaggio sandwich. Il test a cassetta contiene due strisce interne di membrana di nitrocellulosa. Gli anticorpi di topo anti-emoglobina sono immobilizzati sulla regione della linea del test (T) di una delle membrane interne. Gli anticorpi di topo anti-hCFHrp sono immobilizzati sulla regione della linea del test (T) dell'altra membrana interna. Il tampone coniugato di una delle strisce di test (rilevazione dell'emoglobina) contiene anticorpi policlonali anti-emoglobina e IgG di topo entrambi coniugati con particelle oro colloidali. Il tampone coniugato dell'altra striscia (rilevazione dell'hCFHrp) contiene anticorpi anti-hCFHrp ed IgG di topo entrambi coniugati con particelle oro colloidali. Gli anticorpi di pecora anti-topo sono immobilizzati nella regione della linea di controllo (C) di ciascuna membrana. In caso di risultato positivo del test, gli analiti (hCFHrp e/o HB) contenuti nel campione reagiscono con gli anticorpi anti-emoglobina o anti-hCFHrp del tampone coniugato formando complessi anticorpi-antigeni oro-colloidali. Quando i complessi anticorpi-antigeni oro-colloidali raggiungono gli anticorpi di topo immobilizzati sulla rispettiva linea del test (T), i complessi si legano agli anticorpi formando il complesso cosiddetto sandwich costituito da anticorpi immobilizzati - antigeni - anticorpi - oro colloidali rispettivamente per hCFHrp e/o Hb. Solo nel caso in cui il campione contenga una certa concentrazione di emoglobina o di hCFHrp, tale complesso sandwich risulterà visibile nella formazione di una linea colorata nelle rispettive regioni del test (T). Nel caso di assenza di hCFHrp o emoglobina nel campione non compare alcuna linea nella regione della linea del test (T) corrispondente.

Quando il campione raggiunge la regione della linea di controllo (C), gli IgG di topo coniugati alle particelle oro formeranno un complesso con anticorpi di pecora anti-topo immobilizzati sulla regione della linea di controllo (C) visibile nella formazione di linee colorate. In qualità di controllo procedurale, le linee colorate devono sempre comparire nelle regioni della linea di controllo (C) a riprova del fatto che è stato aggiunto il corretto volume di campione e che il test è stato eseguito correttamente.

### 4. Reagenti e Materiali Forniti

- 10 test a cassetta, incluse pipette monouso (confezionate singolarmente)
- 10 contenitori per la raccolta del campione di urina
- 10 coperchi per i contenitori
- 1 istruzioni per l'uso

### 5. Ulteriori materiali richiesti

- Timer

## 6. Conservazione e Stabilità

Conservare i test a 2-30°C (35.6-86°F). I test a cassetta sono molto sensibili a umidità e calore. Eseguire il test immediatamente dopo averlo rimosso dalla sua confezione. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza.

## 7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in vitro*
- Non riutilizzare i test.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Lavare accuratamente le mani dopo l'esecuzione del test.
- Pulire energeticamente gli spruzzi utilizzando un disinfettante appropriato.
- Considerare tutti i campioni, i test ed altri materiali potenzialmente contaminati come infettivi e smaltirli in contenitori appropriati.

## 8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il campione non può essere raccolto tre giorni prima o dopo il ciclo mestruale. Se si ottiene un risultato positivo su pazienti che assumono aspirina, si consiglia di ripetere il test sette giorni dopo che il trattamento con il medicinale è stato sospeso.

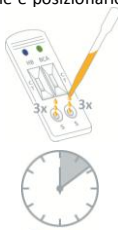
Per questo test dovrebbero essere utilizzati solo campioni di urina. Evitare la contaminazione del campione con l'acqua del water.

Nel caso in cui i campioni non possano essere testati nello stesso giorno della loro raccolta, si consiglia di conservarli al fresco tra 4° e 8°C e testarli entro 3 giorni.

## 9. Procedura del Test

**Portare i test a cassetta ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.**

1. Estrarre il test a cassetta dalla confezione e posizionarlo su una superficie piana e pulita.
2. Utilizzando la pipetta fornita, versare 3 gocce di urina in ogni pozzetto di raccolta del test a cassetta.



Appena il test comincia a funzionare, la migrazione lungo la membrana sarà visibile nelle rispettive aree di risultato al centro del test a cassetta.

3. Interpretare i risultati dopo 9 minuti. Non interpretare i risultati dopo 10 minuti.

### Nota bene:

Il lasso di tempo indicato per l'interpretazione dei risultati è calcolato in base alla lettura dei risultati a temperatura ambiente (15-30°C). Nel caso in cui la temperatura del vostro ambiente di lavoro dovesse essere inferiore ai 15°C, il tempo di lettura dei risultati va aumentato in proporzione ad essa.

## 10. Interpretazione dei Risultati

- Comparare una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) sulla finestra di risultato: ciò indicherà il corretto funzionamento del test.
- Una linea colorata nella regione del test (T) della finestra di risultato per l'Hb (contrassegnata con le lettere HB) comparirà se il livello di emoglobina nel campione è uguale o più alto di 250 ng/ml.
- Se nell'urina sono presenti tracce di BCA, compare una linea colorata nella regione della linea del test (T) della finestra di risultato per BCA (contrassegnata dalla sigla BCA).

### Positivo al BCA:

Si sviluppa una linea colorata in ogni area della linea di controllo (C) e una linea rossa nella regione della linea del test (T) per BCA.



### Positivo all'Hb:

Si sviluppa una linea colorata in ogni area della linea di controllo (C) e una linea rossa nella regione della linea del test (T) per l'Hb.



### Positivo per BCA ed Hb:

Insieme alle linee di controllo (C), si sviluppa una linea colorata in ogni regione della linea del test per BCA e Hb.



### Negativo:

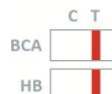
Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea nella regione della linea del test.



### Non valido:

La linea di controllo (C) non compare.

Un volume insufficiente di campione e tecniche procedurali scorrette sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



**Nota bene:** Se dopo 9 minuti compare un risultato positivo, il risultato del test non cambierà nei minuti successivi. Comunque, al fine di evitare risultati scorretti, il risultato del test non andrebbe interpretato dopo più di 10 minuti.

### Interpretazione dei Risultati:

- Un risultato positivo per l'Hb e/o per il BCA indicherà una probabilità di cancro alla vescica. Si consiglia, in ogni caso, di eseguire ulteriori analisi di conferma.
- Nel caso di risultato positivo all'Hb, le cause della presenza di sangue nelle urine potrebbero essere anche calcoli renali o prostata ingrossata. Il paziente dovrebbe quindi essere sottoposto ad ulteriori trattamenti.
- Risultati negativi non escludono il rischio di cancro alla vescica. In caso di risultati incerti si consiglia di eseguire ulteriori analisi cliniche. Come per tutti i test diagnostici, la

diagnosi finale non dovrebbe basarsi esclusivamente sui risultati di un singolo test ma dovrebbe essere elaborata dal medico solo dopo la valutazione di tutte le analisi cliniche e di laboratorio condotte.

### 11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta. La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale positivo interno. Tale controllo conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione e che sono state applicate le tecniche procedurali corrette.

### 12. Caratteristiche Tecniche

#### Sensibilità relativa:

Un totale di 225 pazienti per i quali la biopsia aveva già confermato la presenza di cancro alla vescica, ha partecipato allo studio. Dei 225 analizzati, la presenza di cancro alla vescica in diversi stadi di avanzamento è stata confermata su 223 campioni, diversi gradi di avanzamento delle cellule tumorali sono stati riscontrati in 210 pazienti.

I campioni raccolti sono stati analizzati con il test M.H. BCA/Hb combo. I risultati ottenuti sono stati poi comparati con i risultati citologici.

Tutti gli studi comparativi condotti sono rimasti anonimi, cioè il tecnico che ha eseguito le analisi non sapeva quali campioni erano positivi o negativi al BCA (hCFHRp)/Hb.

#### Sensibilità relativa del test M.H. BCA/Hb combo in rapporto ad un esame citologico (n=225)

Stadio del tumore	Numero	Sensibilità (solo BCA)	Sensibilità (BCA e Hb)
Ta	14	57 %	57 %
T1	69	82,6 %	85,5 %
T2, T3	140	86,4 %	94,2 %
Grado del tumore	Numero	Sensibilità (solo BCA)	Sensibilità (BCA e Hb)
1	47	38,2 %	42,5 %
2	61	63,9 %	70,5 %
3	102	89,2 %	97,1 %

Conclusione: La sensibilità del test M.H. BCA/Hb combo varia tra 42,5% e 97,1% in base a stadio e grado del tumore.

#### Specificità

La specificità viene definita come la probabilità di ottenere un risultato negativo in assenza di condizioni particolari. La specificità del test M.H. BCA/Hb combo è 89,5%.

#### Studio delle interferenze

Sostanze chimiche potenzialmente interferenti quali analgesici, lipidi, bilirubina e glucosio sono stati integrati come campioni normali clinicamente definiti negativi e campioni normali clinicamente definiti positivi. Questi campioni sono stati analizzati utilizzando il test M.H. BCA/Hb combo su una serie di 10. Il campione veniva considerato negativo se la linea del test non era visibile e se la linea di controllo (C) compariva dopo 10 minuti. Il campione veniva considerato positivo se, entro 10 minuti, comparivano sia la linea del test che quella di controllo.

I risultati sono riassunti nella seguente tabella:

Numero di test eseguiti	Sostanze aggiunte a campioni definiti clinicamente negativi al tumore	test Meridian H. BCA/Hb combo Risultato del test (Linee del test e di controllo visibili = positivo (+)) (linea del test non visibile, linea di controllo visibile = negativo (-))
10	Acetaminofene, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Acido acetilsalicilico, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Acido Ascorbico, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Atropina, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Bilirubina, 60 mg/dl	Totale (-)
10	Caffeina, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Creatinina, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Acido Gentsico, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Glucosio, 2000 mg/dl	Totale (-)
10	Chetoni, 40 mg/dl	Totale (-)
10	Mestranolo, 3 mg/dl	Totale (-)
10	Nitriti, 20 mg/dl	Totale (-)
10	Penicillina, 40,000 U/dl	Totale (-)
10	Eparina sodica, 3 mg/dl	Totale (-)
10	Litio eparina, 3 mg/dl	Totale (-)

Nessuna delle sostanze sopraindicate non hanno mostrato alcuna interferenza con il test M.H. BCA/Hb combo. Campioni negativi ai quali sono state aggiunte sostanze potenzialmente interferenti, hanno dato rispettivamente risultati negativi mentre i campioni positivi hanno mostrato rispettivamente risultati positivi.

#### Studi di riproducibilità

La riproducibilità è stata ottenuta in tre step differenti. Sono stati analizzati dei campioni negativi, positivi deboli e positivi utilizzando 120 test M.H. BCA/Hb. I campioni sono stati analizzati utilizzando due saggi al giorno per 20 giorni.











I risultati sono riassunti nella seguente tabella:

Test MERIDIAN HEALTHCARE® BCA/Hb combo			
Stadio del test	Negativo	Debole positivo	Fortemente positivo
Legenda Test N=negativo, P=positivo test)			
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

I risultati ottenuti per tutti e tre gli stadi hanno mostrato il 100% di accordo.

### 13. Bibliografia

1. Badrinath R. Koney 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, TJJ 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

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnosticc in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Limitación de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour pour "n" tests	Válido para para <n> ensayos	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Trade diagnostical products  
for clinical laboratories  
products for life.

**Italy Corporate Headquarter**  
Meridian Healthcare  
Via G. Guglielmino, 66  
95030 Tremestieri Etneo (Catania) – Italy  
Tel: +39 095 7256869 / +39 095 419 88 60  
Fax: +39 095 725 44

**Customer Service**  
Meridian Healthcare  
Tel: +39 095 419 88 60 / +39 0922 83 21 88  
Fax: +39 095 725 44 54  
mail: info@meridianhealthcare.it  
marketing@meridianhealthcare.it

**Technical Support**  
Engineering Department  
Meridian Healthcare  
Tel: +39 095 419 88 61  
Fax: +39 095 725 44 54  
mail: specialist@meridianhealthcare.it

**Sales and Orders**  
Meridian Healthcare  
Tel: +39 095 725 68 69  
Fax: +39 095 725 44 54  
mail: ordini@meridianhealthcare.it  
amministrazione@meridianhealthcare.it