

ОКП 93 9817

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «ДИАКОН»



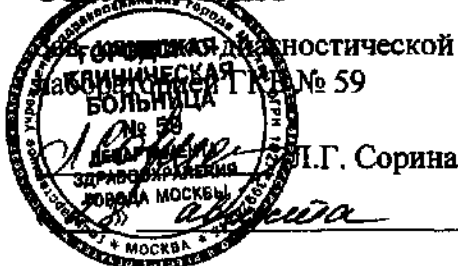
А. А. Шарышев

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**«Тест-системы для клинической лабораторной диагностики
злокачественных заболеваний in vitro»**

СОБРАВАНО



2009г.

2009

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ	3
2. АФП тест (AFP Test (AFP-Check-1)).	5
3. Гемоглобин тест-1 (Hemoglobin Test-1 (HEM-Check-1)).	9
4. Гемоглобин тест-2 (Hemoglobin Test-2 (HEM-Check-2)).	15
5. РЭА тест (CEA Test (CEA-Check-1)).	21
6. СА-125 тест (CA-125 Test (CA-125-Check-1)).	27
7. Скрытая кровь в кале тест для экспресс-анализатора (FOB-Check-2 For reader use only).	31
8. Ферритин низкочувствительный тест (LS Ferritin Test (LS-FRT-Check-1)).	36

1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-системы для клинической лабораторной диагностики злокачественных заболеваний *in vitro* предназначены для качественного или количественного определения онкоантигенов в сыворотке, плазме, цельной крови или экстракте фекалий человека. Тест-системы предназначены только для профессионального использования в клинко-диагностической практике медицинских и научных учреждений. Компоненты тест-систем используются как одноразовые изделия.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Тест-системы представляют собой наборы, содержащие тестовые кассеты и одноразовые пластиковые пипетки. Некоторые наборы могут также содержать разбавитель во флаконе-капельнице, пластины и аппликаторы для сбора проб фекалий, пластмассовые пробирки или шприцы с раствором для экстракции проб фекалий. Компоненты тест-систем укомплектованы в количестве, необходимом для проведения 20 определений.

Иммунохроматографические тест-системы являются высокоспецифичными качественными и количественными тестами с принципом действия «сэндвич»-метод. Иммунохроматографическая кассета представляет собой пластмассовый корпус с нитроцеллюлозной мембраной и стартовой зоной (окном для нанесения образца). При внесении пробы в стартовую зону, находящиеся там специфические меченные коллоидным золотом мышиные моноклональные антитела связываются с антигенами пробы, образуя окрашенный иммунный комплекс, связываемый в свою очередь со специфическими антителами в тестовой зоне мембраны и образующий окрашенную полосу розового цвета. Иммунохроматографическая мембрана кассеты содержит также контрольную зону (встроенный контроль качества), в которой происходит другая реакция «антиген-антитело». Появление контрольной полосы указывает на качество теста и должно происходить независимо от наличия в пробе искомого анализата. Результат теста считывается визуально или с помощью иммунохроматографического экспресс-анализатора.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (см. для каждого теста).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты предназначены только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением тестирования.

Не использовать тестовые кассеты и реагенты, если защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовые наборы с истекшим сроком хранения.

Соблюдать температуру хранения.

Соблюдать инструкцию по применению.

Не использовать повторно.

ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ ОТХОДОВ

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Соответственно для каждого теста.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Соответственно инструкции для каждого теста.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соответственно инструкции для каждого теста.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ РЕАГЕНТОВ

1. Хранить при указанной на упаковке температуре в герметичной фабричной упаковке.

2. Не замораживать!

3. Наборы стабильны до истечения срока хранения, указанного на этикетке. Стабильность не менее 2 лет от даты производства при соблюдении условий хранения.

ИЗГОТОВИТЕЛЬ

ВЕДАЛАБ (VEDALAB), Франция

2. АФП тест (AFP Test (AFP-Check-1)).

Введение

Альфа-фетопротеин (АФП) – одноцепочечный гликопротеин с молекулярным весом около 70 кДа (1), вырабатываемый зародышевым желточным мешком и проксимальными структурами печени и желудочно-кишечного тракта. АФП представляет собой основной сывороточный белок человеческого зародыша, уровень которого достигает нескольких миллиграммов на 1 мл на 12-й неделе беременности и затем падает до следов у здоровых небеременных взрослых. Клиническое значение АФП как опухолевого маркера было оценено не сразу, поскольку методы его количественного определения не были достаточно чувствительными для определения нанограммовых количеств, связанных с ранними стадиями заболевания. С появлением более чувствительных радиоиммунных тестов полезность АФП как опухолевого маркера начала становиться всё более явной. Заметное повышение уровня АФП обнаруживается у детей при злокачественных опухолях, таких как гепатобластомы и нефробластомы, а у взрослых – при гепатоцеллюлярной карциноме и некоторых опухолях яичек. Менее типично повышение концентрации АФП в сыворотке, связанное со злокачественными опухолями желудочно-кишечного тракта и других органов с метастазами в печени (2, 3).

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для определения человеческого альфа-фетопротеина в сыворотке, плазме или цельной крови. Метод определения основан на использовании конъюгированных с красителем специфических моноклональных мышиных антител к АФП и иммобилизованных на мембране тестовой кассеты мышиных поликлональных антител к АФП человека для определения АФП в тестируемых пробах с высокой специфичностью. При прохождении пробы через слой адсорбента конъюгат антител с красителем связывается с АФП (если последний присутствует в пробе), образуя комплекс антиген–антитело. Этот комплекс связывается с поликлональными антителами в реакционной зоне тестовой кассеты, образуя пурпурно-розовую окрашенную полосу. В отсутствие АФП полосы в реакционном окне не образуется. Вне зависимости от результата теста несвязанный конъюгат, продолжая продвигаться по слою адсорбента, достигает контрольного окна, где осаждается с образованием пурпурно-розовой контрольной полосы, подтверждающей качество применяемых в тесте реагентов. Результат теста считывается визуально.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20

Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл 1

Инструкция 1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4° до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.

2. Не замораживать!

3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

1. Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

2. Пробы, содержащие взвесь или осадок, могут дать неверные результаты. Такие пробы перед тестированием необходимо отделить от взвешенных частиц.

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель до комнатной температуры.

2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по

надрезу.

3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.

4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 каплю (25 мкл) пробы в лунку для проб тестовой кассеты. Если тестируется цельная кровь, внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) пробы.

5. Внести 5-6 полных капель разбавителя (200 мкл) в лунку для проб тестовой кассеты.

6. Наблюдать результаты теста через 10 – 15 минут после внесения пробы.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также чётко различимая полоса в тестовой зоне.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

а) Чувствительность:

Чувствительность теста, измеренная при помощи коммерческих препаратов АФП, составила 10 нг/мл. Концентрации менее 10 нг/мл не определяются со 100% вероятностью.

б) Специфичность:

Было выполнено предварительное тестирование 92 проб сыворотки ИФА-тестом CIBA-CORNING ELISA ACS-180. Пробы с концентрациями АФП не менее 10 нг/мл считались положительными. Затем все пробы тестировались данным тестом (см. таблицу 1).

		Тест VEDALAB	
		+	–
CIBA-CORNING	+	52	3
	–	0	37

Таблица 1. Сравнение результатов тестов

Из таблицы видно, что при сравнении теста с эталонным ИФА-тестом CIBA-CORNING ELISA ACS-180 корреляция по специфичности составляет 96,7%, а по чувствительности – 94,5%. Концентрация АФП в 3 пробах, которые были положительными при тестировании ИФА-тестом и отрицательными при тестировании данным тестом, составляла около 10 нг/мл (нижний предел определения для экспресс-теста).

Ограничения метода

1. Как и для всех диагностических процедур, врачу следует рассматривать результат

теста только в свете общей клинической картины.

2. Некоторые пробы сыворотки с высокими концентрациями ревматоидного фактора могут дать неспецифический ложный положительный результат при тестировании. Эта возможность должна быть учтена заранее.

3. Если применяются пробы цельной крови, следует тестировать их сразу после взятия крови (в течение 4 часов).

Литература

1. Vessella, R.L., M.A. Santrach, D. Bronson, C.J. Smith, M.J. Klicka, and P.H. Lange. (1984), "Evaluation of AFP glycosylation heterogeneity in cancer patients with AFP producing tumors". *Int. J. Cancer* 34: 309-314.

2. Lange, P.H. and D. Raghavan. (1983) "Clinical applications of tumor markers in testicular cancer", p. 111-130. In J.P. Donohue (ed.), *Testis tumors*. The Williams & Wilkins CO., Baltimore.

3. Vogelzang, N.J., P.H. Lange, A. Gold-man, R.L. Vessella, E.E. Fraley, and B.J. Kennedy. (1982), "Acute changes of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin during induction chemotherapy of germ cell tumors". *Cancer Res.* 42: 4855-4861.

3. Гемоглобин тест-1 (Hemoglobin Test-1 (HEM-Check-1)).

Введение

Ежегодно в мире наблюдается более 600 000 случаев рака кишечника, который находится на третьем месте среди наиболее распространенных видов рака (1). Как при любой другой разновидности раковых заболеваний, обнаружение очагов на ранней стадии существенно повышает коэффициент выживания пациентов (2). Среди людей старше 45 лет, 10% имеют колоректальные полипы, из которых 1% становится злокачественным (3). На основании того факта, что многие полипы более 0,5 см могут кровоточить, тестирование скрытой крови в фекалиях представляется простым и дешевым скрининговым методом для диагностики рака кишечника по сравнению с колоноскопией. В течение многих лет использовались химические методики, основанные на псевдопероксидазной активности гемоглобина, недостатками которых являлись низкая чувствительность и недостаточная специфичность (4). В настоящее время начинают использовать иммунологические методы с улучшенной чувствительностью и специфичностью по отношению к человеческой крови, несмотря на их большую техническую сложность по сравнению с другими тестами (5).

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения скрытой крови в фекалиях. Метод определения основан на использовании специфического комплекса конъюгированных с красителем мышинных моноклональных антител к человеческому гемоглобину и иммобилизованных в тестовой зоне кассеты поликлональных мышинных антител к человеческому гемоглобину для его селективной идентификации с высокой степенью чувствительности и специфичности. После взятия пробы на специальную пластину для сбора, она помещается в раствор для экстракции, и несколько капель полученного экстракта вносятся в лунку для проб тестовой кассеты. При прохождении тестируемой пробы через слой адсорбента меченый конъюгат антител с красителем связывается с гемоглобином, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается с иммобилизованными в реакционной зоне антителами к гемоглобину с образованием полосы розового цвета. В отсутствие гемоглобина линии не образуется. Продолжая продвигаться по слою адсорбента, несвязанный конъюгат связывается с реагентами в контрольной зоне с образованием контрольной полосы, свидетельствующей о реакционной способности теста. Тест пригоден как для визуального считывания, так и для качественного считывания результатов на иммунохроматографическом экспресс-анализаторе.

Состав

Тестовые кассеты

20

Пластины для сбора проб	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20
Пластмассовые пробирки с 2 мл раствора для экстракции	20
Аппликаторы	20
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметичной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Экстракт фекалий.

Эксперты обычно рекомендуют собирать пробы стула от трех дефекаций, чтобы повысить вероятность обнаружения периодического кровотечения полипов и исключить влияние неомогенного распределения крови в фекалиях.

Взятие и подготовка проб

1. Написать фамилию, возраст, адрес пациента и дату взятия пробы на переднем щитке пластины.

2. Открыть передний щиток, чтобы бумага для сбора образца показала в зоне пластины.

3. С помощью аппликатора собрать образец стула размером не более горошины.

4. Распределить пробу по бумаге, перемещая аппликатор взад и вперед по поверхности, для получения **ОЧЕНЬ ТОНКОГО** равномерного слоя в пределах окна.

Внимание: очень тонкий слой, распределенный по всей бумаге, необходим для точности результатов.



Правильно Недостаточно Избыточно

5. Удалить избыток пробы с бумаги с помощью аппликатора.

6. Дать бумаге высохнуть в течение 10 минут.

7. Закрыть передний щиток.

8. Хранить заполненные пластины при комнатной температуре. Защищать от нагревания.

9. После заполнения пластины для взятия проб вернуть пластину врачу или в лабораторию в течение 8 дней.

Пластины стабильны, и их можно посылать по почте.

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, раствор для экстракции и тестовые кассеты до комнатной температуры.

2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки.

3. Открыть пластмассовую пробирку с раствором для экстракции тестируемой пробы.

Пробку держать в руке.

4. Открыть передний и задний щитки пластины для взятия проб.

5. Оторвать бумажную полоску с пластины и поместить ее в пластмассовую пробирку.

6. Закрыть пробирку пробкой и сильно потрясти в течение 10 секунд.

7. Открыть пробирку.

8. С помощью пипетки внести 4-5 полных капель (150 мкл) экстрагированной пробы в лунку для проб тестовой кассеты.

9. Результаты теста считываются через 10 минут после внесения пробы.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Появляются 2 четко различимые полосы в контрольной и тестовой зонах.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить тест.

Характеристики теста

а) Точность:

Для оценки точности теста 135 пациентов (жалобы которых обосновывали обследованием методом колоноскопии) были протестированы с использованием данного теста и теста HEMOCULT (SKD, Калифорния, США). Были собраны три пробы стула от трех дефекаций. Результат пациента считался положительным, если положительной оказывалась по крайней мере одна проба. Результаты, полученные с использованием тестов VEDALAB и HEMOCULT II, были затем соотнесены с клиническими результатами колоноскопии. По результатам колоноскопии были определены два различных критерия положительности:

Критерий скрытой крови:

Патология, выявленная с помощью эндоскопии, обуславливает, выходит ли кровотечение за пределы физиологического уровня или нет (полипы >0,5 см, рак кишечника, геморроидальные узлы, болезнь Кона, трещины заднего прохода, язва и т.д.).

Критерий предракового или ракового состояния:

Патология, выявленная с помощью эндоскопии, является либо раком кишечника, либо полипом >0,5 см.

Результаты по этим двум критериям представлены в таблицах 1 и 2.

	VEDALAB			HEMOCULT II	
	+			-	
	+	38	61	26	73
КРОВЬ	-	2	34	4	32

Таблица 1: Соответствие результатов тестов критерию скрытой крови

	VEDALAB			HEMOCULT II	
	+			-	
	+	22	18	12	30
Полип и рак	-	20	85	18	75

Таблица 2: Соответствие результатов тестов критерию рака/полипов

Для этих результатов были рассчитаны чувствительность, специфичность и соответствие тестов обоим критериям (Табл. 3).

	Критерий скрытой крови	Критерий рака/полипов
--	------------------------	-----------------------

	Чувст витель ность	Спец ифич ность	Точ нос ть	Чувс твите льно сть	Спец ифич ность	Точ нос ть
VEDALAB	38%	94%	53%	55%	81%	74%
HEMOCULT II	26%	89%	43%	29%	81%	64%

Таблица 3

Очевидно, что для обоих критериев результаты, полученные с использованием теста VEDALAB, всегда лучше результатов, полученных с использованием HEMOCULT II.

б) Перекрестная реактивность:

Тест не показал перекрестных реакций с гемоглобином быка, свиньи, кролика, лошади и овцы.

в) Эффективный диапазон действия:

Диапазон результатов, определяемый путем добавления к стулу различных количеств крови, составляет: от 0,04 мг гемоглобина/г фекалий до 120 мг гемоглобина/г фекалий.

Ограничения метода

1. Тест предназначен для обнаружения человеческой крови в количестве выше нормальной физиологической кровопотери у здоровых субъектов.
2. Наличие крови в стуле может быть вызвано несколькими причинами, помимо рака кишечника, такими как геморроидальные узлы, кровь в моче или раздражение желудка. Кровотечение из верхней части пищеварительного тракта (например, в случае язвы желудка или двенадцатиперстной кишки) может не обнаруживаться постоянно по причине переваривания белков и трудности для распознавания антителами антигена гемоглобина после протеолиза.
3. Не все кишечные кровотечения могут быть вызваны предраковыми или раковыми полипами.
4. Как и в случае всякой диагностической процедуры, врач должен подтвердить данные, полученные с использованием этого теста, с помощью других клинических методов, таких как клизма с барием, сигмоидоскопия или колоноскопия.
5. Отрицательные результаты не исключают кровотечения, поскольку оно может быть непостоянным.
6. Колоректальные полипы на очень ранней стадии заболевания могут не кровоточить. По этой причине для надежности рекомендуется периодически (раз в год) проверять людей старше 45 лет.

Литература

1. Jeffcoate, SL, et al (1986), Assays for prolactin: guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. *Ann Clin Biochem*, 23, 638-651.
2. Daughaday, WH (1985), The Anterior Pituitary. In *Williams Textbook of Endocrinology*. Ed Wilson, JD and Foster, DW, WB Saunders Co. Philadelphia, PA, 582-585.
3. Frantz, AG (1978), Physiology in Medicine: Prolactin. *New Engl. J Med*, 198, 201.

4. Гемоглобин тест-2 (Hemoglobin Test-2 (HEM-Check-2)).

Введение

Ежегодно в мире наблюдается более 600 000 случаев рака кишечника, который находится на третьем месте среди наиболее распространенных видов рака (1). Как при любой другой разновидности раковых заболеваний, обнаружение очагов на ранней стадии существенно повышает коэффициент выживания пациентов (2). Среди людей старше 45 лет, 10% имеют колоректальные полипы, из которых 1% становится злокачественным (3). На основании того факта, что многие полипы более 0,5 см могут кровоточить, тестирование скрытой крови в фекалиях представляется простым и дешевым скрининговым методом для диагностики рака кишечника по сравнению с колоноскопией. В течение многих лет использовались химические методики, основанные на псевдопероксидазной активности гемоглобина, недостатками которых являлись низкая чувствительность и недостаточная специфичность (4). В настоящее время начинают использовать иммунологические методы с улучшенной чувствительностью и специфичностью по отношению к человеческой крови, несмотря на их большую техническую сложность по сравнению с другими тестами (5).

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения скрытой крови в фекалиях. Метод определения основан на использовании специфического комплекса конъюгированных с красителем мышинных моноклональных антител к человеческому гемоглобину и иммобилизованных в тестовой зоне кассеты поликлональных мышинных антител к человеческому гемоглобину для его селективной идентификации с высокой степенью чувствительности и специфичности. После взятия пробы специальным шприцем, проба помещается в раствор для экстракции, и несколько капель полученного экстракта вносятся в лунку для проб тестовой кассеты. При прохождении тестируемой пробы через слой адсорбента меченый конъюгат антител с красителем связывается с гемоглобином, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается в реакционной зоне с антителами к гемоглобину с образованием полосы розового цвета. В отсутствие гемоглобина линии не образуется. Продолжая продвигаться по слою адсорбента, несвязанный конъюгат связывается с реагентами в контрольной зоне с образованием контрольной полосы, свидетельствующей о реакционной способности теста. Результат теста считывается визуально.

Состав

Тестовые кассеты	20
Устройства для сбора проб (шприц с 2 мл экстрагирующего раствора)	20
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметичной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Раствор для экстракции может вызывать раздражение кожи, глаз и слизистых оболочек. При попадании раствора на кожу следует немедленно смыть его водой.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Экстракт фекалий.

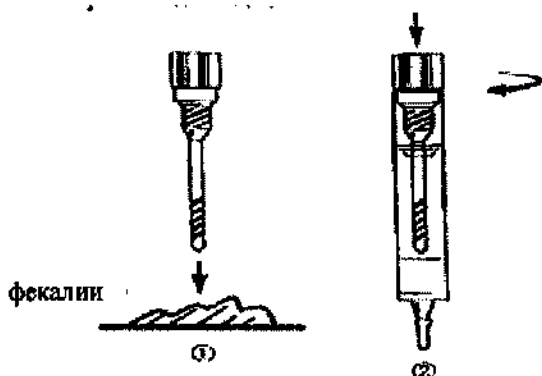
Эксперты обычно рекомендуют собирать пробы стула от трех дефекаций, чтобы повысить вероятность обнаружения периодического кровотечения полипов и исключить влияние неомогенного распределения крови в фекалиях.

Взятие и подготовка проб

1. Написать фамилию, возраст, адрес пациента и дату взятия пробы на этикетке устройства для сбора проб.
2. Открыть верхнюю часть устройства для сбора проб, где находится зонд для сбора проб.
3. Взять пробу стула с помощью верхней части устройства для сбора проб, погрузив

ее в 3 разных местах одной и той же пробы стула, и поместить в устройство.

4. Поместить зонд для сбора проб, загруженный пробой, обратно на его место в устройстве для сбора проб и плотно привинтить пробку.



5. Хранить устройство для сбора проб при температуре 2-8°C.

6. Повторять эту процедуру три дня подряд.

7. После выполнения трех процедур сбора проб вернуть устройство для сбора проб врачу или в лабораторию в течение 8 дней.

8. Устройство для сбора проб можно посылать по почте с использованием транспортировочной пробирки.

Процедура тестирования

1. Довести все пробы и тестовые кассеты до комнатной температуры.

2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки.

3. Отломить кончик устройства для сбора проб, выдавить 9 капель экстрагированной пробы (200 мкл) в лунку для проб на тестовой кассете.



4. Результаты теста считываются визуально через 10 минут после внесения пробы.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Появляются 2 чётко различимые полосы в контрольной и тестовой зонах.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить тест.

Характеристики теста

а) Точность:

Для оценки точности теста 135 пациентов (жалобы которых обосновывали обследованием методом колоноскопии) были протестированы с использованием данного теста и теста HEMOCULT (SKD, Калифорния, США). Были собраны три пробы стула от трех дефекаций. Результат пациента считался положительным, если положительной оказывалась по крайней мере одна проба. Результаты, полученные с использованием тестов VEDALAB и HEMOCULT II, были затем соотнесены с клиническими результатами колоноскопии. По результатам колоноскопии, были определены два различных критерия положительности:

Критерий скрытой крови:

Патология, выявленная с помощью эндоскопии, обуславливает, выходит ли кровотечение за пределы физиологического уровня или нет (полипы >0,5 см, рак кишечника, геморроидальные узлы, болезнь Кона, трещины заднего прохода, язва и т.д.).

Критерий предракового или ракового состояния:

Патология, выявленная с помощью эндоскопии, является либо раком кишечника, либо полипом >0,5 см.

Результаты по этим двум критериям представлены в таблицах 1 и 2.

КРОВЬ	VEDALAB			HEMOCULT II	
	+	-		+	-
	+	38	61	26	73
	-	2	34	4	32

Таблица 1: Соответствие результатов тестов критерию скрытой крови

		VEDALAB		HEMOCULT II	
		+	-	+	-
Полип и рак	+	22	18	12	30
	-	20	85	18	75

Таблица 2: Соответствие результатов тестов критерию рака/полипов

Для этих результатов были рассчитаны чувствительность, специфичность и соответствие тестов обоим критериям (Табл. 3).

	Критерий скрытой крови	Критерий рака/полипов
--	------------------------	-----------------------

	Чувст витель ность	Спец ифич ность	Точ нос ть	Чувс твите льно сть	Спец ифич ность	Точ нос ть
VEDALAB	38%	94%	53%	55%	81%	74%
HEMOCULT II	26%	89%	43%	29%	81%	64%

Таблица 3

Очевидно, что для обоих критериев результаты, полученные с использованием теста VEDALAB, всегда лучше результатов, полученных с использованием HEMOCULT II.

б) Перекрестная реактивность:

Тест не показал перекрестных реакций с гемоглобином быка, свиньи, кролика, лошади и овцы.

в) Эффективный диапазон действия:

Диапазон результатов, определяемый путем добавления к стулу различных количеств крови, составляет: от 0,04 мг гемоглобина/г фекалий до 120 мг гемоглобина/г фекалий.

Ограничения метода

1. Тест предназначен для обнаружения человеческой крови в количестве выше нормальной физиологической кровопотери у здоровых субъектов.
2. Наличие крови в стуле может быть вызвано несколькими причинами, помимо рака кишечника, такими как геморроидальные узлы, кровь в моче или раздражение желудка. Кровотечение из верхней части пищеварительного тракта (например, в случае язвы желудка или двенадцатиперстной кишки) может не обнаруживаться постоянно по причине переваривания белков и трудности для распознавания антителами антигена гемоглобина после протеолиза.
3. Не все кишечные кровотечения могут быть вызваны предраковыми или раковыми полипами.
4. Как и в случае всякой диагностической процедуры, врач должен подтвердить данные, полученные с использованием этого теста, с помощью других клинических методов, таких как клизма с барием, сигмоидоскопия или колоноскопия.
5. Отрицательные результаты не исключают кровотечения, поскольку оно может быть непостоянным.
6. Колоректальные полипы на очень ранней стадии заболевания могут не кровоточить. По этой причине для надежности рекомендуется периодически (раз в год) проверять людей старше 45 лет.

Литература

1. Jeffcoate, SL, et al (1986), Assays for prolactin: guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. *Ann Clin Biochem*, 23, 638-651.
2. Daughaday, WH (1985), The Anterior Pituitary. In *Williams Textbook of Endocrinology*. Ed Wilson, JD and Foster, DW, WB Saunders Co. Philadelphia, PA, 582-585.
3. Frantz, AG (1978), Physiology in Medicine: Prolactin. *New Engl. J Med*, 198, 201.

5. РЭА тест (CEA Test (CEA-Check-1)).

Введение

Раковый эмбриональный антиген (РЭА), также как и альфа-фетопротеин (АФП) вырабатывается во время развития плода. После рождения его выработка прекращается, и у здоровых взрослых его уровень не определяется. Однако онкофетальные антигены могут появляться из-за ресупрессии генов, которые в норме работают только на ранних стадиях развития. Поскольку секретируемые при этом антигены (РЭА и АФП) не принимают большого участия в иммунном противоопухолевом ответе, роль этих антигенов, называемых нео-антигенами, в иммунном распознавании весьма спорна. Уровень РЭА у здоровых некурящих взрослых находится в пределах 2,5 нг/мл, у курящих до 5 нг/мл, но он значительно возрастает (выше 10 нг/мл) при различных опухолях: матки (1), легких (2), груди (3), кишечника (4), что типично для курильщиков (5). Главной областью применения этих нео-антигенов является мониторинг пациентов. Определение РЭА в крови используется как для диагностических, так и для терапевтических целей. Присутствие РЭА не обязательно указывает на онкозаболевания, так как уровень этого антигена также возрастает при некоторых неопухолевых заболеваниях, таких как хронический цирроз печени и легочная эмфизема, или у заядлых курильщиков. Предоперационное определение уровня РЭА может иметь прогностическое значение. Высокий уровень РЭА в желчном пузыре может свидетельствовать о печеночных метастазах у пациентов, перенесших операцию по поводу колоректальной карциномы (6). Как было обнаружено, наличие РЭА в сыворотке является ценным прогностическим маркером для развития рака молочной железы (7). Как правило, РЭА измеряется при помощи колориметрического иммуноферментного сэндвич-метода, который требует специального оборудования, опытного персонала и значительного времени для проведения анализа.

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для определения РЭА в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови. Метод определения основан на использовании связывания РЭА-антигена в образце мышинными моноклональными антителами к РЭА, конъюгированными с красителем. Если РЭА присутствует в образце выше 5 нг/мл, иммунный комплекс конъюгат-антиген связывается с другими мышинными моноклональными антителами, иммобилизованными на мембране в тестовой зоне и формирует цветную полосу. Вне зависимости от результатов тестирования реакционная смесь, продолжая продвигаться по мембране, достигает контрольной зоны (С), где связывается с реагентами, образуя полосу розового цвета, демонстрируя, что реагенты функционируют правильно. Результат теста считывается визуально.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20
Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл	1
<i>(содержит солевой буфер, детергент и азид натрия ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$))</i>	
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

Образцы следует собирать в стандартных лабораторных условиях (асептически и с предотвращением гемолиза).

Все образцы следует рассматривать как потенциально инфекционные.

Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

Если проба сыворотки тестируется в течение 48 часов после взятия, ее следует поместить в холодильник (2-8°C). Если предполагается более длительное хранение образца, его следует заморозить. Перед тестированием нужно полностью разморозить образец, тщательно перемешать его и довести до комнатной температуры. Следует избегать повторной заморозки образца.

Пробы, содержащие взвесь или осадок, могут дать неверные результаты. Такие пробы перед тестированием необходимо развести пополам со специальным буфером для разведения (поставляется под заказ).

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель до комнатной температуры.
2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по надрезу.
3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.
4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 каплю (25 мкл) пробы в лунку для проб тестовой кассеты. Если тестируется цельная кровь, внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) пробы. Подождать, пока образец полностью впитается.
5. Внести 5-6 полных капель разбавителя (200 мкл) в лунку для проб тестовой кассеты.
6. Считать результаты теста визуально через 10 минут после внесения пробы.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).
Уровень РЭА в образце ниже 5 нг/мл.

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также чётко различимая полоса в тестовой зоне. Уровень РЭА в образце выше 5 нг/мл.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

а) Точность

Для исследования использовалась панель из 53 образцов человеческой сыворотки, предварительно протестированных на анализаторе ABBOTT AXSYM ES CEA (ИФА-фотометрия). Образцы крови собирались в пробирки с ЭДТА. Сначала тестировалась

цельная кровь с помощью данного теста, затем с полученная с помощью центрифугирования плазма тестировалась с помощью ИФА-метода. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Тест		ИФА		ВСЕГО
		≥ 5 нг/мл	≤ 5 нг/мл	
VEDALAB	+	28	3	41
	-	0	5	5
	ВСЕГО	38	8	46

Таблица 1. Сравнение результатов методов.

Результаты шести образцов были неопределенными. Выявленная с помощью ИФА-метода концентрация была близка к пограничному уровню в 5 нг/мл (3 – 5,4 нг/мл). Как известно, такие образцы дают иногда положительные, иногда отрицательные результаты, при данной технике анализа результаты бывают неопределенными. Один образец был с гемолизом и результат оказался нечитаемым.

б) Чувствительность

Согласно данным таблицы 1 чувствительность рассчитывалась по формуле:

$$38 / 38 \times 100 = 100\%$$

в) Специфичность

Согласно данным таблицы 1 специфичность рассчитывалась по формуле:

$$5 / 8 \times 100 = 62,5\%$$

г) Общая корреляция

Согласно данным таблицы 1 общая корреляция результатов составила:

$$(38 + 5) / (38 + 8) \times 100 = 43 / 46 \times 100 = 93,5\%$$

д) Эффект антикоагулянтов

Образцы крови были получены от трех разных пациентов в три разные пробирки с коагулянтами (гепарин, ЭДТА, цитрат). Все девять образцов были протестированы тестом на РЭА и затем обогащены образцом с высоким уровнем РЭА-10 (234 нг/мл). Обогащенные образцы вновь тестировались этим же тестом.

В таблице 2 приведены полученные через 10 минут результаты.

	Пациент	Антикоагулянт		
		Гепарин	ЭДТА	Цитрат
Контрольные образцы	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	-	-

Обогащенные до 4,7 нг/мл РЭА образцы	1	Неопр.*	Неопр.	Неопр.
	2	Неопр.	Неопр.	Неопр.
	3	-	Неопр.	Неопр.
Обогащенные до 23 нг/мл РЭА образцы	1	+	+	+
	2	+	+	+
	3	+	+	+

Табл.2. Эффект антикоагулянтов

Неопр.* Эти образцы показывали слабо позитивный результат после 20 минут выдержки.

Гепарин, ЭДТА и цитрат не оказывали влияния на результаты тестирования.

Ограничения метода

1. Хотя уровень РЭА обычно повышается при некоторых онкозаболеваниях, он может также возрастать и при некоторых других состояниях, таких как хронический цирроз печени, эмфизема легких, а также у заядлых курильщиков.

2. Результаты не должны интерпретироваться как абсолютное доказательство наличия или отсутствия онкозаболеваний, а только в качестве вспомогательной информации наряду с другими результатами исследования пациента. РЭА не является скрининговым тестом для выявления скрытых онкозаболеваний, он используется для мониторинга различных видов злокачественных новообразований или для оценки эффективности терапии и как потенциальный индикатор рецидивов и прогноза течения заболевания.

3. Негативный результат может наблюдаться у пациентов с ранними стадиями карцином, при которых уровень РЭА может быть ниже 5 нг/мл.

4. Позитивный результат может быть получен у пациентов, подвергающимся терапии антиопухолевыми препаратами, так как гепатотоксический эффект этих лекарств может приводить к выбросу РЭА в кровь. Кроме того, подобный эффект может наблюдаться у пациентов, проходящих курс радиотерапии, что приводит к кратковременному повышению уровня РЭА.

Литература

1. Juang, C.M., Wang, P.H., Yen, M.S., Lai, C.R. et al. Application of tumor markers CEA, TPA, and SCC-Ag in patients with low-risk FIGO stage IB and IIA squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Gynecol. Oncol. 2000, 76 : 103-106.

2. Lee, Y.C., Yang, P.C., Kuo, S.H. and Luh, K.T. Tissue polypeptide antigen and carcinoembryonic antigen as tumor markers in lung cancer. J. Formos. Med. Assoc. 1991, 90 : 631-636.

3. Molina, R., Jo, J., Filella, X., Zanon, G., Farrus, B. et al. C-erbB-2, CEA, and CA 15.3

serum levels in the early diagnosis of recurrence of breast cancer patients. *Anticancer Res.* 1999, 19 : 2551-2555 .

4. Holubec, L. Jr., Topolcan, O., Pikner, R. et al. The significance of CEA, CA19-9 and CA72-4 in the detection of colorectal carcinoma recurrence. *Anticancer Res.* 2000, 20 : 5737-5244.

5. Padros, M.C., Alvarez-Sala, R., Terreros Caro, F.J. et al. The concentrations of five tumor markers in both BAL fractions in lung cancer patients in relation to cigarette smoking. *Tumori.* 1999, 85 : 454-457.

6. Waisberg, J., Palma, R.T., Neto, L.C. et al. Biliary carcinoembryonic antigen levels in diagnosis of occult hepatic metastases from colorectal carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2003, 9(7) : 1589-1593.

7. Pathak, K.A., Khanna, R., Khanna, S. et al. Carcinoembryonic antigen : an invaluable marker for advanced breast cancer. *JPGM.* 1996, 42(3) : 68-71.

6. CA-125 тест (CA-125 Test (CA-125-Check-1)).

Введение

Был обнаружен широкий ряд разнообразных биомаркеров, которые используются для мониторинга развития рака яичников и выявления заболеваний на ранней стадии для того, чтобы дать лучший прогноз для пациентов. Полезные прогностические маркеры рака имеют потенциал для повышения эффективности и снижения токсичности лечения (1). Оптимальное использование опухолевых маркеров в рутинной лабораторной практике требует соответствия условиям GLP (хорошей клинической и лабораторной практики) (2). СА-125 является сывороточным маркером опухолей, полезным для мониторинга ответа на химиотерапию, выявления рецидивов заболевания и отличия злокачественных опухолей таза от доброкачественных (3). Быстрое падение уровня СА-125 в ходе химиотерапии предсказывает благоприятный прогноз. А повышение СА-125 может быть использовано как показатель для трансвагинального УЗИ у некоторой части пациентов. Большинство случаев рака яичников эпителиального происхождения, и 70% случаев приходится на женщин в возрасте свыше 50 лет. В большинстве исследований рекомендуется использовать значение порогового уровня в 35 Ед./мл (4). Однако СА-125 специфично не только для рака яичников, его повышение можно наблюдать в некоторых случаях рака молочной железы, легких и пищеварительного тракта. Кроме того, концентрации выше контрольного уровня также могут быть обнаружены при некоторых доброкачественных опухолях яичников, матки или патологии печени. СА-125 также возрастает при декомпенсированном циррозе печени у пациентов в пропорциональной зависимости от степени асцита. Более того, подъем уровня антигена рака яичников указывает на связь между активацией механизмов перитонеальной защиты и выработки СА-125 мезотелиальными тканями (5).

Предназначение и принцип метода

Качественный скрининговый иммунохроматографический экспресс-тест для определения СА-125 в образцах сыворотки, плазмы или цельной крови. Метод определения основан на использовании уникальной комбинации конъюгированных с красителем мышиных моноклональных антител к СА-125 и иммобилизованных в тестовой зоне мембраны мышиных поликлональных антител к СА-125 для выявления в тестируемых образцах СА-125 с высокой степенью специфичности. Когда образец проходит через абсорбирующий слой кассеты, конъюгат антител с красителем связывается с СА-125, содержащимся в образце. Этот комплекс продвигается по мембране и связывается с поликлональными анти-СА-125 антителами в реакционной зоне. Если образец содержит СА-125 в концентрации выше 36 Ед./мл, в тестовой зоне появляется цветная полоса. Вне зависимости от результатов тестирования реакционная смесь, продолжая продвигаться по

мембране, достигает контрольной зоны (С), где связывается с реагентами, образуя полосу розового цвета, демонстрируя, что реагенты функционируют правильно. Результат теста считывается визуально.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20
Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл	1
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметично закупоренной фабричной упаковке.

2. Не замораживать!

3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

Не использовать гепаринизированные образцы!

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма (цитрат, ЭДТА) или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

Образцы следует собирать в стандартных лабораторных условиях (асептически и с предотвращением гемолиза).

Рекомендуется тестировать образцы пациентов немедленно после получения.

Все образцы следует рассматривать как потенциально инфекционные.

Образцы с осадков могут дать неверный результат. Такие образцы необходимо очистить перед тестированием.

Пробу можно хранить в холодильнике при 2-8°C в течение 3 дней. Если предполагается более длительное хранение образца, его следует заморозить. Перед тестированием нужно полностью разморозить образец, тщательно перемешать его и довести до комнатной температуры. Следует избегать повторной заморозки образца.

Пробы цельной крови необходимо тестировать в течение 4 часов.

Процедура тестирования

1. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель для образца до комнатной температуры.

2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по надрезу.

3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.

4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 каплю (25 мкл) пробы в лунку для проб тестовой кассеты. Если тестируется цельная кровь, внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) пробы. Подождать, пока образец полностью впитается.

5. Внести 5-6 полных капель разбавителя (200 мкл) в лунку для проб тестовой кассеты.

6. Считать результаты теста визуально через 10 минут после внесения пробы.

НЕ ИНТЕРПРЕТИРОВАТЬ РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕСТА ПОСЛЕ 15 МИНУТ ВЫДЕРЖКИ.

Интерпретация результатов

Отрицательный: Появляется только одна цветная полоса в контрольной зоне (C).

Положительный: Кроме цветной полосы в контрольной зоне, появляется также чётко различимая полоса в тестовой зоне.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

Аналитическая чувствительность теста равна 36 Ед./мл при времени выдержки 10

минут после внесения образца и разбавителя.

Ограничения метода

1. Как и в случае других диагностических процедур врач должен подтвердить полученный результат другими клиническими методами.
2. Уровень чувствительности теста составляет 36 Ед./мл.
3. Не используйте гепаринизированные образцы для тестирования!
4. Образцы цельной крови должны тестироваться в течение 4 часов после взятия.

Литература

1. Duffy, M.J. and Crown, J. A personalized approach to cancer treatment : how biomarkers can help. Clin. Chem. 54 : 1770-1779. 2008
2. Sturgeon, C.M., Hoffman, B.R., Chan, D.W. et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumour markers in clinical practice : Quality requirements. Clin. Chem. 54 : e1-10e. 2008
3. Bast, RC Jr, Bagwell, D., Lu, Z. et al. : New CA tumours markers : CA 125 and beyond. Int. J. Gynecol. Cancer. 15 : 27-281 (2005).
4. Fritsche, H.A., Bast, RC. : CA 125 in ovarian cancer : Advances and controversy. Clin Chem. 44/7 : 1379-1380 (1998).
5. Kalambois, G., Kostoula, A, Economou, M. and Tsianos E. Tumour necrosis factor- α related intraperitoneal release of CA 125 in cirrhotic patients with sterile ascites. Clin. Chem. 51/11 : 2207-2208.2005.

7. Скрытая кровь в кале тест для экспресс-анализатора (FOB-Check-2 For reader use only).

Введение

Ежегодно в мире наблюдается более 600 000 случаев рака кишечника, который находится на третьем месте среди наиболее распространенных видов рака (1). Как при любой другой разновидности раковых заболеваний, обнаружение очагов на ранней стадии существенно повышает коэффициент выживания пациентов (2). Среди людей старше 45 лет, 10% имеют колоректальные полипы, из которых 1% становится злокачественным (3). На основании того факта, что многие полипы более 0,5 см могут кровоточить, тестирование скрытой крови в фекалиях представляется простым и дешевым скрининговым методом для диагностики рака кишечника по сравнению с колоноскопией. В течение многих лет использовались химические методики, основанные на псевдопероксидазной активности гемоглобина, недостатками которых являлись низкая чувствительность и недостаточная специфичность (4). В настоящее время начинают использовать иммунологические методы с улучшенной чувствительностью и специфичностью по отношению к человеческой крови, несмотря на их большую техническую сложность по сравнению с другими тестами (5). Недавно было подтверждена прямая связь между концентрацией гемоглобина в фекалиях и колоректальным раком (6).

Предназначение и принцип метода

Количественный иммунохроматографический экспресс-тест для обнаружения скрытой крови в фекалиях. Метод определения основан на использовании специфического комплекса конъюгированных с красителем мышинных моноклональных антител к человеческому гемоглобину и иммобилизованных в тестовой зоне кассеты моноклональных мышинных антител к человеческому гемоглобину для его селективной идентификации с высокой степенью чувствительности и специфичности. После взятия пробы специальным шприцем с раствором для экстракции несколько капель полученного экстракта вносят в лунку для проб тестовой кассеты. При прохождении тестируемой пробы через слой адсорбента меченый конъюгат антител с красителем связывается с гемоглобином, образуя комплекс антиген-антитело. Этот комплекс связывается в реакционной зоне с антителами к гемоглобину с образованием полосы розового цвета. В отсутствие гемоглобина линии не образуется. Продолжая продвигаться по слою адсорбента, несвязанный конъюгат связывается с реагентами в контрольной зоне с образованием контрольной полосы, свидетельствующей о реакционной способности теста. В зависимости от концентрации крови в тестовом окне появляются линии различной интенсивности, что позволяет количественно измерить гемоглобин при помощи иммунохроматографического экспресс-

анализатора «Easy Reader»(VEDALAB).

Состав

Тестовые кассеты	20
Устройство для сбора проб (шприц с 2 мл экстрагирующего раствора)	20
Инструкция	1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметичной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Раствор для экстракции может вызывать раздражение кожи, глаз и слизистых оболочек. При попадании раствора на кожу следует немедленно смыть его водой.

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5–1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Экстракт фекалий.

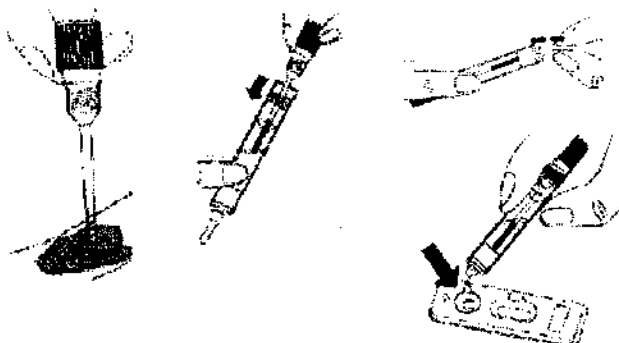
Взятие и подготовка проб

1. Написать фамилию, возраст, адрес пациента и дату взятия пробы на этикетке устройства для сбора проб.

2. Открыть верхнюю часть устройства для сбора проб, где находится зонд для сбора

проб.

3. Взять пробу стула с помощью верхней части устройства для сбора проб, погрузив ее в 3 разных местах одной и той же пробы стула, и поместить в устройство.



4. Поместить зонд для сбора проб, загруженный пробой, обратно на его место в устройстве для сбора проб и плотно привинтить пробку.

5. Хранить устройство для сбора проб при температуре 2-8°C.

Процедура тестирования

1. Довести все пробы и тестовые кассеты до комнатной температуры.
2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки.
3. Отломить кончик устройства для сбора проб, выдавить 6 капель экстрагированной пробы (150 мкл) в лунку для проб на тестовой кассете.
4. Результаты теста в нг/мл считываются на приборе «Easy Reader» через 10 минут после внесения пробы.

Подробное описание работы на ридере дано в инструкции к прибору.

Характеристики теста

а) Диапазон измерения

Количественный результат теста выражается в нг гемоглобина на мл экстрагирующего раствора. Линейный диапазон результатов находится в пределах от 10 до 500 нг/мл, диапазон приведен в таблице:

Концентрация гемоглобина (нг/мл)	Результаты ридера (нг/мл)
0-9	«Hb < 10 ng/mL»
10-499	Количественный результат
500-5000	«Hb = 500 – 5,000 ng/mL»
> 5000	«Hb > 5,000 ng/mL»

б) Точность

Исследование было проведено на панели из 24 проб фекалий, представленной госпиталем Брэдфорда (Великобритания) по Йоркширской системе внешнего контроля качества (YEQAS). Эти образцы, содержащие гемоглобин в известной концентрации (в мг/г

фекалий) были протестированы качественным визуальным экспресс-тестом и данным количественным тестом. Полученные результаты свидетельствуют о полной корреляции между результатами. Кроме того, количественные результаты хорошо коррелируют с количеством гемоглобина (данные YEQAS в мг/г фекалий). Во всех случаях образцы были точно идентифицированы как негативные (<10 нг/мл), пограничные (10-25 нг/мл) и позитивные (500-5,000 нг/мл).

в) Эффект высокой дозы (хук-эффект)

Хук-эффект не наблюдался благодаря патентованному методу VEDALAB.

г) Перекрестная реактивность:

Тест не показал перекрестных реакций с бычьим, свиным, кроличьим, лошадиным и бараньим гемоглобином.

д) Диагностическая значимость

Как сказано ниже (см. «Ограничения метода»), существует множество причин присутствия крови в фекалиях, и врач должен подтвердить результаты данного теста другими клиническими методами, например, колоноскопией. Тем не менее, в недавней публикации показано (6), что при концентрации гемоглобина выше 25 нг/мл можно достаточно точно предположить повышенный риск аденомы или рака кишечника. В любом случае при наличии симптомов рекомендуется проконсультироваться с врачом, даже если концентрация гемоглобина ниже 25 нг/мл.

Ограничения метода

1. Тест предназначен для количественного определения человеческой крови (гемоглобина) в фекалиях.
2. Наличие крови в стуле может быть вызвано несколькими причинами, помимо рака кишечника, такими как геморроидальные узлы, кровь в моче или раздражение желудка. Кровотечение из верхней части пищеварительного тракта (например, в случае язвы желудка или двенадцатиперстной кишки) может не обнаруживаться постоянно по причине переваривания белков и трудности для распознавания антителами антигена гемоглобина после протеолиза.
3. Не все кишечные кровотечения могут быть вызваны предраковыми или раковыми полипами.
4. Как и в случае всякой диагностической процедуры, врач должен подтвердить данные, полученные с использованием этого теста, с помощью других клинических методов, таких как клизма с барием, сигмоидоскопия или колоноскопия.
5. Отрицательные результаты не исключают кровотечения, поскольку оно может быть непостоянным.

6. Колоректальные полипы на очень ранней стадии заболевания могут не кровоточить. По этой причине для надежности рекомендуется периодически (раз в год) проверять людей старше 45 лет.

7. Тест предназначен только для считывания на приборе «Easy Reader». Тест не предназначен для визуального считывания.

8. При несоблюдении времени считывания (10 минут) могут наблюдаться ложные результаты.

Литература

1. D.M. Parkin, E. Laara and C.S. Muir. "Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980." Int. J. Cancer, Volume 41 : 184-197. 1988

2. Sidney J. Winaver, Paul Sherlock, David Schottenfeld and Daniel G. Miller. "Clinical trends and topics : Screening for colon cancer." Gastroenterology, volume 70 : 783-789. 1976

3. S.J. Winaver, S.D. Leidner, D.G. Miller, D. Schottenfeld, B. Befler, R.C. Kurtz, P. Sherlock and M. Stearns. "Results of a screening program for the detection of early colon cancer and polyps using fecal occult blood testing." Abstracts of paper, Volume 72 (n°5) : A-127/1150. 1977

4. D.J. Frommer, A. Kapparis and M.K. Brown. "Improved screening for colorectal cancer by immunological detection of occult blood." British medical journal, Volume 296 : 1092-1094. 1988

5. Jerome B. Simon. "Occult blood screening for colorectal carcinoma : a critical review." Gastroenterology, Volume 88 : 820-837. 1985

6. Fraser, C.G., Mathew, C.M., McKay, K., Carey, F.A. and Steele, R.J.C. "Automated immunochemical quantitation of haemoglobin in faeces collected on cards for screening colorectal cancer. Gut, Volume 57 : 1256-1260. 2008.

8. Ферритин низкочувствительный тест (LS Ferritin Test (LS-FRT-Check-1)).

Введение

У высших животных внутриклеточное железо депонируется в форме особого соединения железа – ферритина. Ферритин присутствует во всех клетках организма; наивысшие концентрации наблюдаются в печени, селезёнке и костном мозге (1). Ферритин представляет собой белок с молекулярным весом около 450 кДа и состоит из 24 полипептидных субъединиц, образующих полую сферу с внешним диаметром 12–14 нм, внутри которой связано депонированное железо. Клинические исследования показали, что определение ферритина в сыворотке может применяться при диагностике железодефицитных анемий (2, 3). С другой стороны, повышение уровня ферритина выше нормы может указывать на наличие злокачественных заболеваний из-за потребности злокачественных клеток в железе для их роста (4, 5). Обычно уровень ферритина определяется в сочетании с уровнем щелочной фосфатазы (ALP), гамма-глутамил транспептидазы (GGT) и соотношением глутатион (GSH)/гемоглобин для дифференциации больных раком молочной железы с метастазами и без метастазов (6).

Предназначение и принцип метода

Качественный иммунохроматографический экспресс-тест для определения высоких уровней человеческого ферритина в сыворотке, плазме или цельной крови. Метод определения основан на использовании конъюгированных с красителем специфических мышиных моноклональных антител к ферритину и иммобилизованных на мембране тестовой кассеты других мышиных поликлональных антител к ферритину для его определения в тестируемых пробах с высокой специфичностью. При прохождении пробы через слой адсорбента конъюгат антител с красителем связывается с ферритином пробы, образуя комплекс антиген–антитело. Этот комплекс связывается с поликлональными антителами к ферритину в реакционной зоне тестовой кассеты, образуя пурпурно-розовую полосу. При низкой концентрации ферритина линия в тестовой зоне не появляется. Вне зависимости от результата теста несвязанный конъюгат, продолжая продвигаться по слою адсорбента, достигает контрольной зоны (C), где осаждается с образованием контрольной полосы, подтверждающей качество применяемых в тесте реагентов. Качественные результаты теста считываются визуально. Интенсивность цвета контрольной линии используется в качестве образца для сравнения и соответствует примерной концентрации ферритина от 150 до 250 нг/мл, которое считается верхним пределом нормальных значений.

Состав

Тестовые кассеты	20
Одноразовые пластмассовые пипетки	20

Разбавитель во флаконе-капельнице, 5 мл 1

Содержит буферизованный физиологический раствор, детергент и азид натрия (менее 0,1 %).

Инструкция 1

Стабильность и хранение

1. Хранить при температуре от 4 до 30°C в герметичной фабричной упаковке.
2. Не замораживать!
3. Тест стабилен до истечения срока хранения, указанного на этикетке.

Меры предосторожности

Данный тест предназначен только для диагностики *in vitro* и профессионального применения.

При работе с пробами пользоваться защитной одеждой и одноразовыми перчатками.

Не принимать пищу, не пить и не курить в помещении, где выполняется работа с пробами.

При взятии и тестировании проб не прикасаться руками к слизистой оболочке глаз и носа.

Внимательно прочитать инструкцию перед проведением теста.

Не использовать тестовую кассету, если её защитная упаковка повреждена.

Не использовать тестовую кассету с истекшим сроком хранения.

Пробы цельной крови следует тестировать сразу после взятия (в течение 4 часов).

Обезвреживание отходов

Все пробы следует считать потенциально инфекционными. После завершения процедуры тестирования утилизировать пробы следует с осторожностью и только после стерилизации в автоклаве или обработки 0,5 – 1% раствором гипохлорита натрия не менее 1 часа.

Подготовка реагента

Все реагенты готовы к использованию.

Исследуемые образцы

Сыворотка, плазма или цельная кровь.

Взятие и подготовка проб

Настоятельно рекомендуется тестировать пробы сразу после взятия крови.

Пробы, содержащие взвесь или осадок, могут дать неверные результаты. Такие пробы перед тестированием необходимо отделить от взвешенных частиц.

Процедура тестирования

- I. Довести все пробы, тестовые кассеты и разбавитель до комнатной температуры.

2. Извлечь тестовую кассету из защитной упаковки, оторвав край упаковки по надрезу.

3. Пометить тестовую кассету фамилией или кодовым номером пациента.

4. Набрать пробу (сыворотки или плазмы) в пипетку-капельницу и, держа её вертикально, внести 1 каплю (25 мкл) пробы в лунку для проб тестовой кассеты. Если тестируется цельная кровь, внести в лунку для проб 2 капли (50 мкл) пробы.

5. Внести в лунку для проб 5-6 полных капель разбавителя (200 мкл).

6. Наблюдать результаты теста визуально через 10–15 минут после внесения пробы.

Интерпретация результатов

Положительный: Две цветные полосы появляются в контрольной и в тестовой зоне. Интенсивность тестовой линии выше интенсивности контрольной. Концентрация ферритина в пробе превышает 250 нг/мл.

Пограничный: Две цветные полосы появляются в контрольной и в тестовой зоне. Интенсивность тестовой линии равна интенсивности контрольной. Концентрация ферритина в пробе 150-250 нг/мл.

Отрицательный: Две цветные полосы появляются в контрольной и в тестовой зоне. Интенсивность тестовой линии намного слабее интенсивности контрольной. Концентрация ферритина в пробе ниже 150 нг/мл. В случае очень низкой концентрации ферритина в образце тестовой линии может вообще не появиться.

Неопределённый: Если в контрольной зоне не появилось чёткой цветной полосы, тест считается не прошедшим контроль качества. В этом случае рекомендуется повторить его, взяв новую тестовую кассету.

Характеристики теста

а) Точность:

33 человеческих образца были предварительно протестированы либо на BAYER CENTAUR, либо на BECKMAN ACCESS анализаторах с использованием реагентов, рекомендованных производителями. Те же образцы были испытаны с использованием данного теста. В таблице приводятся результаты, полученные с помощью этих трех методов.

Тест VEDALAB		BAYER CENTAUR и BECKMAN-COULTER ACCESS			Всего
		+	=	-	
	+	18	0	0	18
	=	3	4	0	7
	-	0	0	8	8
	Всего	21	4	8	33

Таблица 1. Сравнение результатов тестирования.

б) Общая корреляция

между данным тестом и двумя количественными методами составила:

$$(18 + 4 + 8) / (21 + 4 + 8) \times 100 = 30 / 33 = 91\%$$

в) Чувствительность

$$18 / 21 \times 100 = 85,7\%$$

г) Специфичность:

$$8 / 8 \times 100 = 100\%$$

Ограничения метода

1. Хотя высокий уровень ферритина коррелирует с некоторыми раковыми заболеваниями (например, раком молочной железы), пограничные результаты не могут исключать каких-либо других злокачественных заболеваний. Поэтому тест следует использовать в качестве скринингового в сочетании с другими диагностическими тестами для более точной диагностики.

2. Высокий уровень ферритина может также свидетельствовать о гемохроматозе.

3. Низкий уровень результатов не исключает возможности анемии, для этого необходимо протестировать пациента с помощью более чувствительного теста на ферритин, чтобы выявить концентрацию ферритина ниже 20 нг/мл.

4. Как и в случае любой другой диагностической процедуры, врач должен оценивать полученные данные в свете другой клинической информации.

5. Некоторые пробы сыворотки с высокими концентрациями ревматоидного фактора могут дать неспецифический ложный положительный результат при тестировании. Эта возможность должна быть учтена заранее.

Литература

1. Chiancone, E., Stefanini, S. and Antonini, E. (1980), "Ferritin: structural and functional aspects in Radioimmunoassay of Hormones, Proteins and Enzymes", Proc. Int. Symposium. Excerpta Medica Amsterdam: 197-203.

2. Simon T.L., Garry P.J., Holper E.M. (1981) "Iron stores in blood donors". JAMA 245 n°20 : 2038-2043.

3. Morse E.E., Cable R., Pisciotto P., Kakaya R., Kiraly T. (1987), "Evaluation of iron status in women identified by copper sulfate screening as ineligible to donate blood". Transfusion 27 n°3 : 238-241.

4. Ulbrich, E.J., Lebrecht, A., Schneider, I. et al. (2003), Serum parameters of iron metabolism in patients with breast cancers. Anticancer Res. 23(6D) : 5107-5109.

5. Kokocinska, D., Widala, E. Donocik, J. and Nolewajka, E. (1999). The value of evaluating

tumor markers : CA15-3 and ferritin in blood serum of patients grouped as "high risk" for breast cancer. *Przegl Lek.* 56(10) : 664-667.

6. Mishra, S., Sharma, D.C. and Sharma, P. (2004), Studies of biochemical parameters in breast cancer with or without metastasis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 19(1) : 71-75.