

## Antígeno de Câncer 15-3 (CLIA)

## Informações do pedido

Número do catálogo	Tamanho da embalagem
CA15-3111	Testes 2x50
CA15-3112	Testes 2x100
CA15-3113	Testes 2x30

## Uso pretendido

O ensaio CA15-3 da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para determinação quantitativa de antígeno de câncer 15-3 (CA15-3) em soro humano ou plasma.

## Resumo

O antígeno CA15-3 é um epítopo de uma glicoproteína grande semelhante à mucina, que é um produto de mucina epitelial polimórficacama MUC1, com peso molecular de cerca de 300.000 ~450.000 daltons. No câncer de mama, a mucina MUC1 torna-se exageradamente glicosilada, sobre-expressa e liberada na circulação; como consequência níveis elevados de CA15-3 podem ser detectados.<sup>1</sup> Os níveis elevados de antígeno CA15-3 também podem estar presentes naqueles pacientes com doenças não-malignas, tais como cirrose, hepatite, doenças autoimunes, e doenças benignas da mama e do ovário.<sup>2</sup>

O antígeno CA15-3 tornou-se um marcador do câncer da mama amplamente reconhecido e tem mostrado ser mais sensível do que o CEA.<sup>3</sup> O ensaio de CA15-3 pode ser de valor clínico para monitorar as condições de pacientes com câncer submetidos à terapia animal, já que os valores crescentes e diminuição estão correlacionados com a progressão da doença e regressão, respectivamente.<sup>4</sup>

O ensaio de CA15-3 não é recomendado como um procedimento de triagem para detectar câncer na população em geral. No entanto, o ensaio CA15-3 é considerado como um auxílio no tratamento de pacientes com câncer de mama.

## Princípio do ensaio

O ensaio de CA15-3 da série CL é um ensaio de sanduíche de dois lados para determinar o nível de CA15-3.

No primeiro passo, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-CA15-3 (rato) e anticorpos anti-CA15-3 monoclonal (rato)-conjugado de fosfatase alcalina são adicionados em um recipiente de reação. Após a incubação, o CA15-3 presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-CA15-3 e anticorpo anti-CA15-3 conjugado marcado com fosfatase alcalina para formar um complexo de sanduíche. A micropartícula é fixada magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

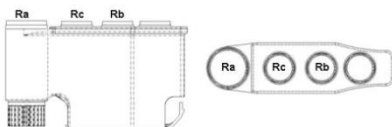
No segundo passo, a solução de substrato é adicionada ao recipiente de reação. Ela é catalisada por anticorpo anti-CA15-3 (rato)-conjugado de fosfatase alcalina no imunocomplexo retido na micropartícula. A reação de quimioluminescência

resultante é medida como unidades relativas de luz (RLU) por um fotomultiplicador incorporado no sistema. A quantidade de CA15-3 presente na amostra é proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de CA15-3 pode ser determinada através de uma curva de calibração.

## Componentes do reagente

Ra	micropartícula paramagnética revestida com anticorpo monoclonal anticorpo CA15-3 (rato) em tampão de TRIS com conservante.
Rb	Monoclonal anti-CA15-3 anticorpo (rato)-alcalina conjugado em tampão de MES com conservantes.
Rc	Tampão de TRIS com conservante.

A posição de cada componente do reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista de cima à direita):



## Armazenamento e estabilidade

O kit de reagentes de CA15-3 fechado (CLIA) é estável até a data de validade indicada, quando armazenados a 2-8°C.

O kit de reagentes de CA15-3 (CLIA) pode ser armazenado e utilizado a bordo por no máximo 28 dias após a abertura a 2-8°C.

## Preparação do reagente

Ra/Rb/Rc: Pronto para usar

## Materiais necessários, mas não fornecidos

Analísador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray

N.º do cat. CA15-3211 Calibradores de CA15-3 Mindray, 1x2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

N.º do cat. CA15-3212 Calibradores de CA15-3 Mindray, 1x1,2 ml C0, 1x1,0 ml C1 e 1x1,0 ml C2.

N.º do cat. TML321/TML322/TML323/TML324: Multiconrole do Marcador de Tumor (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Multiconrole do Marcador de Tumor (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de Lavagem Mindray, 1x10 L.

N.º do cat. CS511/CS512: Solução de Substrato Mindray, 4x115 MI/4x75 MI.

Recipientes de Reação Mindray

## Instrumento aplicável

Analísador de Imunoensaio de Quimioluminescência Mindray Série CL.

## Coleta e Preparação do Espécime

O soro ou plasma humano colhido em EDTA e heparina lítica são recomendados para este ensaio.

Centrifugue as amostras após a formação de coágulo ser finalizada. Transfira os sobrenadantes para dentro de tubos para armazenamento ou teste dentro de duas horas após a centrifugação.

As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após sua coleta. Se o teste não for concluído dentro de 8 horas, as amostras devem ser bem fechada e refrigerada a 2-8°C. Se o teste atrasar mais de 72 horas, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

Evite ciclos de congelamento e descongelamento repetidos.

## Procedimento do ensaio

Para um melhor desempenho deste ensaio, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com cuidado, para obter informações suficientes, tais como instruções de operação, manutenção e gerenciamento de amostras, medidas de segurança e manutenção. Prepare todo o material necessário para esse ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de CA15-3 (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco de reagente fechado deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspender as micropartículas que se assentaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeccione visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas foram novamente suspensas. Se as micropartículas permanecerem aderidas ao frasco, continue invertendo até que as micropartículas sejam completamente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser novamente suspensas, recomenda-se não usar este frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço ao Cliente Mindray. Não inverta o frasco de reagente aberto. Este ensaio necessita de 10 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Volume adicional é necessário para a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e requisitos específicos do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

## Calibração

A série CL de CA15-3 (CLIA) foi padronizada contra um teste de CA15-3 comercial (CLIA).

As informações específicas da curva principal de calibração de CA15-3 (CLIA) reagente kit são armazenadas em no código de barras bidimensional fixo ao pacote de reagentes. É usado em conjunto com os calibradores para a calibração do lote de reagentes específico. Ao realizar a calibração, primeiro digitalize a informação da curva de calibração principal a partir do código de barras no sistema, e, em seguida, use os calibradores em três níveis. Curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de CA15-3. A recalibração é recomendada a cada quatro semanas, ou quando um novo lote de reagentes for usado, ou quando os controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operações do sistema.

## Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam

executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controle de qualidade para este ensaio são Multiconrole de Marcador Tumoral Mindray (L) e Multiconrole de Marcador Tumoral Mindray (H). Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora de seu intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras deverão ser testadas novamente. A recalibração pode ser necessária. Examine o sistema de ensaio observando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade continuar fora do intervalo especificado, entre em contato com o Atendimento ao Cliente Mindray para obter ajuda.

## Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra na curva de calibração principal lida a partir do código de barras, e um Conjunto de Curva Logística de 4 Parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) gerados a partir de calibradores de três níveis dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados em U/mL.

Fatores de conversão: U/mL x 1 = kU/L

## Diluição

Amostras com concentrações de CA15-3 acima do limite superior podem ser diluídas com o Diluente da Amostra da Mindray. A diluição recomendada é 1:5 (realizada manualmente ou automaticamente pelo analisador). A concentração da amostra diluída deve ser > 30 U/mL. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição automática realizada pelo analisador, o sistema multiplica automaticamente o resultado pelo fator de diluição ao calcular a concentração da amostra.

## Valores esperados

Um extenso estudo sobre um corte de 520 mulheres saudáveis determinou o intervalo de referência do ensaio de CA15-3 da série CL.

Categoria	N	Limite superior de do intervalo central de 95%
Feminino	520	32 U/mL

Devido à variação de geografia, raça, sexo e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

## Limitações

O limite superior deste ensaio é 500 U/mL. Uma amostra com uma concentração de CA15-3 menor do que o limite superior pode ser determinado quantitativamente, enquanto que uma amostra com uma concentração maior do que o limite superior será avaliada como >500 U/mL ou diluído as amostras com o Diluente da Amostra da Mindray.

A concentração de CA15-3 numa dada amostra, determinada com ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos reagentes. Os resultados do ensaio devem ser utilizados em

conjunto com outros dados, tais como sintomas, resultados de outros testes, história clínica, etc

Espécime de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongo podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Estas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de rato. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

#### Características de desempenho

##### Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit reagente de CA15-3 (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de  $\leq 1,0$  U/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciado de uma amostra que não contém nenhum analito. É definida como a concentração de CA15-3 em dois desvios padrão acima da média de 20 medições de RLU de uma amostra isenta de analito.

##### Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit reagente de CA15-3 (CLIA) é 1,0-500 U/mL (ou se o limite superior estiver acima de 2500 U/mL para amostras diluídas 5 vezes).

##### Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 3000 mg/dL e proteína total até 10,0 g/dL não vão interferir no ensaio de CA15-3 da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada a partir de fator reumatóide até 1500 UI/mL ou anticorpo antinuclear até 4000 U/L.

Testes de substância de interferência foram realizados em catorze produtos farmacêuticos normalmente utilizados. Estes compostos apresentaram interferência inferior a 10% no ensaio de CA15-3 da série CL, aos níveis a seguir indicados.

Composto de teste	Substância de interferência Concentração
Paracetamol	200 µg/mL
Metotrexato	1 mg/dL
Ciclofosfamida	8,38 mg/dL
Cloridrato de doxorubicina	6,6 µg/mL
5-fluorouracil	9,76 mg/dL
Aspirina	500 µg/mL
Folinato de cálcio	200 µg/mL
Ibuprofeno	400 µg/mL
Hidrocloreto de mitoxantrona	150 µg/dL
Vimblastina	1,2 µg/dL
Estradiol	6,7 µg/mL
Cisplatina	66,7 µg/mL

Testosterona	33,0 µg/mL
Megestrol	39,6 µg/mL

O Calibrador de CA125 Mindray C0 foi suplementado com outros marcadores tumorais, como a alfafetoproteína (AFP), antígeno de câncer 125 (CA125), antígeno carcinoembrionário (CEA), antígeno de carboidrato 19-9 (CA19-9), antígeno prostático específico (PSA) e ferritina (FERR) em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada visto que todos os resultados foram  $\leq 10,0$  U/mL. Os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Marcador de tumor	Concentração de reatividade cruzada	CA15-3 relatado (U/mL)	Critério de aceitação
AFP	1000 ng/mL	0,35	CA15-3 relatado $\leq 10,0$ U/mL
CA125	1000 U/mL	2,82	
CEA	1000 ng/mL	0,36	
CA19-9	1000 U/mL	0,47	
PSA	100 ng/mL	0,39	
FERR	1000 ng/mL	0,43	

##### Gancho de alta dosagem

Para o ensaio de CA15-3 da série CL, nenhum efeito de gancho da dose alta foi observado quando as amostras que contêm até cerca de 20.000 U/mL de CA15-3 foram testadas.

##### Exatidão

Foi realizado teste de recuperação de cravação para verificar a precisão deste ensaio. Duas amostras diferentes, com elevados níveis de CA15-3 foram misturadas em uma amostra de base que tem um baixo nível de CA15-3, respectivamente, a uma razão de volume de 1:9. Os resultados mostraram que este ensaio teve uma recuperação média de  $100 \pm 15\%$ . Os resultados são mostrados na tabela abaixo.

Amostra Par	CA15-3 não diluído (U/mL)	CA15-3 cravado (U/mL)	Média Recuperação
1	Inferior: 7,04 Superior: 407,81	43,03	89,98%
2	Inferior: 7,04 Superior: 163,25	21,89	95,28%

##### Precisão

O ensaio de CA15-3 da série CL é projetado para ter uma precisão de  $\leq 10\%$  (CV dentro do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Protocolo EP5-A2 do Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (NCCLS). Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicado em duas experiências separadas por dia, por um total de 20 dias, utilizando-se um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	CA15-3 médio (U/mL)	No CV em execuções	Entre-CV em execuções	No CV no dispositivo
1	7,95	3,75 %	4,08 %	8,37 %
2	17,04	2,99 %	3,96 %	7,16 %

1	7,95	3,75 %	4,08 %	8,37 %
2	17,04	2,99 %	3,96 %	7,16 %

##### Linearidade

Uma amostra de alta concentração de CA15-3 (aproximadamente 350 U/mL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa ( $< 1,0$  U/mL) em diferentes proporções, gerando uma série de diluições. A CA15-3 de cada diluição foi determinada usando o ensaio de CA15-3 da Série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada na gama de 1,0 U/mL a 350 U/mL, o coeficiente de correlação  $r$  é  $> 0,9900$ . Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (U/mL)	1	2	3	4	5	6
CA15-3 esperado	0,51	81,34	162,16	242,98	323,81	404,63
CA15-3 medido	0,51	70,53	149,38	233,60	328,52	404,63

##### Comparação de métodos

O ensaio de CA15-3 da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 1285 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

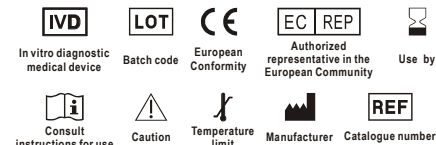
Intervalo de concentração (U/mL)	Queda	Intercepto	Correlação Coeficiente
1,35~431,55	0,978	-0,019	0,994

##### Avisos e precauções

- Apenas para diagnóstico in vitro.
- Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.
- Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados do teste de uma mesma amostra podem ser diferentes ao usar kits de reagentes a partir de diferentes fabricantes, no sistema Mindray, ou usando kits de reagentes Mindray em outros sistemas.
- Não utilize kits de reagentes vencidos.
- Não utilize reagentes misturados de diferentes lotes.
- Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
- Pacote de reagente aberto por mais de 28 dias não é recomendado para uso.
- A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
- Todos os resíduos de amostras e de reação deverão ser considerados potencialmente de risco biológico. A manipulação das amostras e resíduos de reação deve estar de acordo com os regulamentos e orientações locais.

10. A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

##### Símbolos gráficos



##### Referências

- Hayes DF, Zurawski VR Jr, Kufe DW. Comparison of Circulating CA15-3 and Carcinoembryonic Antigen Levels in Patients with Breast Cancer. Journal of Clinical Oncology, 1986,4(10): 1542-1550.
- Sekine H, Ohno T, et al. Purification and characterization of a high molecular weight glycoprotein detectable in human milk and breast carcinomas. J Immunology, 1985,135(5): 3610-3615.
- Robertson JF, Pearson D, Price MR, et al. Assessment of Four Monoclonal Antibodies as Serum Markers in Breast Cancer. Eur J Cancer, 1990, 26(11-12): 1127-1132.
- Safi F, Kohler L, et al. The value of the tumor marker CA15-3 in diagnosing and monitoring breast cancer. Cancer, 1991, 68(3): 574-582.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

**Fabricante:** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

**Endereço:** Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, P.R. China.

**E-mail:** service@mindray.com

**Website:** www.mindray.com

**Tel:** +86-755-26582888

**Fax:** +86-755-26582680

**Representantes da UE:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

**Endereço:** Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

**Tel:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726