

CA 15-3 Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4031

ANVISA 1000910473

REF 4031-50, 50 testes/kit

REF 4031-100, 100 testes/kit

Uso pretendido. Detecção quantitativa automática do marcador tumoral CA 15-3 em soro humano para auxílio no diagnóstico, monitoramento e prognóstico do câncer de mama.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analizador. Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo. O marcador tumoral CA 15-3 (*Cancer Antigen 15-3*) é um marcador sérico que detecta formas solúveis ou eliminadas da glicoproteína Mucina 1 (MUC 1)¹. O CA 15-3 é comumente encontrado na secreção luminal de células glandulares e não está presente no sangue. No entanto, quando as células se tornam malignas, este marcador pode ser detectável no sangue devido à permeabilidade das membranas celulares². As concentrações de CA 15-3 se elevam em aproximadamente 10%, 20%, 40% e 75% dos pacientes com câncer de mama nos estádios I, II, III e IV, respectivamente³. Dessa forma, esse marcador pode auxiliar no diagnóstico do câncer de mama. Além disso, o CA 15-3 pode apresentar concentrações elevadas em outros tipos de câncer e doenças benignas, como o câncer de ovário, pancreático, gástrico e pulmonar; bem como na hepatite crônica ativa, cirrose hepática, sarcoidose, hipotireoidismo e anemia megaloblástica¹. Em alguns casos, pessoas saudáveis também podem apresentar níveis elevados de CA 15-3⁴. Consequentemente, o CA 15-3 não é recomendado como um marcador de triagem para a população em geral para o diagnóstico de câncer de mama, devido à sua baixa sensibilidade e falta de especificidade para o câncer de mama. Embora o nível pré-operatório de CA 15-3 seja de pouco valor na detecção precoce de câncer de mama, o mesmo pode fornecer informações prognósticas⁵. Níveis pré-operatórios altos de CA 15-3 são tipicamente associados a resultados de tratamentos insatisfatórios⁵. O CA 15-3 também é capaz de prever a recorrência do câncer de mama, a qual aumenta em pacientes com concentrações seriadas aumentadas de CA 15-3⁶. Além disso, o CA 15-3 também pode ser usado para monitorar a resposta à terapia em doenças avançadas, pois a diminuição da concentração de CA 15-3 é consistente com a regressão do tumor.⁷

Princípio do método. A detecção do CA 15-3 ocorre por meio de um imunoenensaio do tipo sanduíche para detecção quantitativa do antígeno CA 15-3 em soro humano usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, a amostra é automaticamente pré-diluída (1:20) com o "Sample Diluent A Ref. 4060". Posteriormente, a amostra diluída e as micropartículas paramagnéticas revestidas com Anti-CA 15-3 são incubadas. O CA 15-3 presente na amostra liga-se ao Anti-CA 15-3 que reveste as micropartículas paramagnéticas. Após um passo de lavagem para a

remoção do CA 15-3 que não se ligou, ocorre a adição do conjugado Anti-CA 15-3 marcado com acridina, formando um complexo anticorpo-antígeno-anticorpo. Após um segundo passo de lavagem para a remoção do conjugado Anti-CA 15-3 marcado com acridina que não se ligou, ocorre a adição das soluções Pre-Trigger e Trigger, desencadeando a reação de quimioluminescência, a qual é medida em Unidades Relativas de Luz (RLUs). Existe uma relação diretamente proporcional entre a quantidade de CA 15-3 presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest. Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via *QR Code*, e adaptada ao analisador por meio de 2 calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4031-50	4031-100
Testes por kit	50	100
R11	6,0 mL	11,0 mL
M	6,0 mL	11,0 mL
CAL11	1,0 mL	1,0 mL
CAL12	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL
Tampas de silicone	2	2

R11 - Conjugado Anti-CA 15-3 marcado com acridina $\leq 0,6 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,3 \mu\text{g/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante, bloqueador e conservante.

M - Micropartículas $\leq 0,3 \text{ mg/mL}$ revestidas com Anti-CA 15-3 $\leq 3,0 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,3 \mu\text{g/mL}$, estabilizadores de proteína, surfactante e conservante.

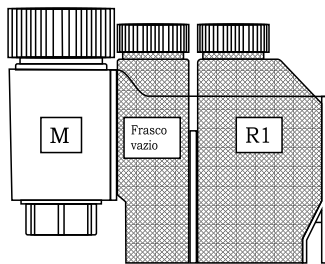
CAL11 - Preparação liofilizada. Antígeno CA 15-3 em tampão $\leq 5,56 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CAL12 - Preparação liofilizada. Antígeno CA 15-3 em tampão $\leq 5,56 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): Preparação liofilizada. Antígeno CA 15-3 em tampão $\leq 5,56 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): Preparação liofilizada. Antígeno CA 15-3 em tampão $\leq 5,56 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

*Para média e intervalo ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico "Calibração".
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume dos componentes R1 e M do kit em alíquotas.

Precações de segurança

Cuidado . Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspendidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Retire a tampa do R2 (frasco vazio) e substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.

6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Preparação dos controles e calibradores . Dissolver cuidadosamente o conteúdo de cada calibrador ou frasco de controle adicionando a correta quantidade de água destilada ou deionizada. Manter o frasco em repouso fechado por 15 minutos para sua reconstituição. Misturar cuidadosamente, evitando a formação de espuma. Colocar os calibradores e controles na rack verde dedicada para frascos liofilizados e testar no equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Atenção: Nos casos em que sejam feitas alíquotas dos calibradores e controles reconstituídos, deve-se manter a embalagem original para a leitura do código de barras pelo equipamento. O volume da alíquota deve considerar o volume necessário por teste e o volume morto e/ou adicional descritos no manual do equipamento.

A quantidade de água destilada ou deionizada para reconstituição dos calibradores e controles é listada abaixo:

REF	4031-50	4031-100
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,0 mL

Nos casos em que sejam feitas alíquotas dos calibradores e controles reconstituídos, deve-se manter a embalagem original para a leitura do código de barras pelo equipamento. O volume da alíquota deve considerar o volume necessário por teste e o volume morto e/ou adicional descritos no manual do equipamento.

Armazenamento e estabilidade . Armazene o CA 15-3 Reagent Kit Ref. 4031 na **posição vertical** para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade dos reagentes (não congelar):

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Os calibradores e controles liofilizados são estáveis até a data de vencimento indicada.

Estabilidade dos controles/calibradores reconstituídos:

20 - 25 °C	8 horas
2 - 8 °C	14 dias
≤ -15 °C	45 dias (evite congelamento e descongelamento por mais de 1 vez)

Indicações de deterioração dos reagentes R1 e M. A deterioração de ambos os reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras. Utilizar soros coletados em tubos com ou sem gel separador. A amostra é estável por 2 dias a 20 - 25 °C, 5 dias a 2 - 8 °C, 3 meses a -20 °C (± 5 °C)⁸. Centrifugue as amostras contendo precipitados antes de realizar o ensaio. Para obter resultados precisos, as amostras de soro devem estar livres de fibrina, hemácias e outras partículas. As amostras de soro de pacientes recebendo terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina devido à formação incompleta do coágulo. Certifique-se de que as amostras estejam em 20 - 25 °C antes da medição. Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001.
2. Trigger Solution Ref. 4002.
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003.
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004.
5. Sample Diluent A Ref. 4060.
6. Água deionizada ou destilada.
7. Cubetas de reação para equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de ensaio. Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é de 10 μ L sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração. Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos que passaram por atribuição de valor utilizando outro ensaio disponível comercialmente. Todos CA 15-3 Reagent Kits Ref. 4031 são rotulados com um *QR Code* contendo informações específicas de calibração por lote. A *Master Curve* predefinida é adaptada ao analisador usando dois calibradores que acompanham o kit. Os controles devem ser ensaiados para avaliar a calibração do produto. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional. Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de um novo lote for utilizado;

- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 14 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade. O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles. Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu QR code, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do QR code, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (Upper Limit), o inferior LL (Lower Limit) e a média (Target), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo. O ensaio CA 15-3 utiliza um método de redução de dados com adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC, Y-ponderada) para gerar a calibração e resultados.

Procedimentos de diluição de amostra. Amostras com concentrações de CA 15-3 acima da faixa de medição devem ser diluídas com Sample Diluent A Ref. 4060. A diluição recomendada é 1:10 (automática pelos analisadores ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do procedimento

- Resultados falsos positivos podem ser esperados com qualquer kit de teste. A proporção dessas amostras falsamente reativas depende da especificidade do kit de teste, a integridade da amostra e a características da população local que está sendo rastreada.

Características de desempenho. Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos

em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . O Limite do Branco $\leq 0,3$ U/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Esse limite foi determinado de acordo com o CLSI EP17-A2.⁹ O Limite de Detecção de 0,3 U/mL foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de uma amostra de baixa concentração (n=20).

O Limite de Quantificação de 0,8 U/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com CV $\leq 20\%$.

Faixa de medição . 1,00 a 260,00 U/mL. Valores abaixo do limite de detecção são reportados como $< 1,00$ U/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como $> 260,00$ U/mL.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	50
Equação da regressão	Método Labtest = 1,0011 x Método comparativo + 2,2999
Coefficiente de correlação	0,9975

Utilizando a equação da regressão, o Erro Sistemático (Bias) foi igual a 11,6% e 2,4% nas concentrações de 20 U/mL e 100 U/mL, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação do Erro sistemático ($\leq 15\%$).

Valores esperados . A concentração de CA 15-3 em soro de pacientes saudáveis é igual a¹⁰:

Percentil (%)	U/mL	Intervalo de confiança (U/mL)
95	26,2	25,5 – 27,9
97,5	28,5	26,9 – 34,5
99	34,5	28,7 – 57,8

Cada laboratório deve investigar a adequação dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando amostras com concentrações iguais a 31 U/mL e 102 U/mL de CA 15-3.

Repetibilidade - imprecisão intraensaio

	N	Média (U/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	31,45	0,70	2,24
Amostra 2		103,76	2,19	2,11

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média (U/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	40	30,20	1,32	4,38
Amostra 2		102,32	5,19	5,07

Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para Coeficiente de Variação ($\leq 10\%$ para reprodutibilidade e $\leq 8\%$ para repetibilidade).

Interferência

O CA 15-3 Reagent Kit Ref. 4031 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	≤ 1000 mg/dL
Bilirrubina	≤ 66 mg/dL
Biotina	≤ 70 ng/dL
Triglicérides	≤ 1500 mg/dL

Referências

- Duffy, M. J., Evoy, D. & McDermott, E. W. CA 15-3: Uses and limitation as a biomarker for breast cancer. Clinica Chimica Acta 411, 1869–1874 (2010).
- Sekine, H., Ohno, T. & Kufe, D. W. Purification and characterization of a high molecular weight glycoprotein detectable in human milk and breast carcinomas. The Journal of Immunology 135, 3610–3615 (1985).
- Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. Adopted on May 17, 1996 by the American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol 14, 2843–2877 (1996).
- Duffy, M. J. Serum Tumor Markers in Breast Cancer: Are They of Clinical Value? Clinical Chemistry 52, 345–351 (2006).
- Park, B.-W. et al. Preoperative CA 15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes. Annals of Oncology 19, 675–681 (2008).
- Keshaviah, A. et al. CA15-3 and alkaline phosphatase as predictors for breast cancer recurrence: a combined analysis of seven International Breast Cancer Study Group trials. Ann Oncol 18, 701–708 (2007).
- Molina, R. et al. Tumor Markers in Breast Cancer – European Group on Tumor Markers Recommendations. TBI 26, 281–293 (2005).
- World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>. (2002).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation. Approved guideline - Second edition. CLSI document EP17-A.

- Wayne, PA. (2004).
10. Roche. Elecsys CA 15-3 II. Instructions of use. 2023-05, V 24.0 English.
11. Labtest: Dados de arquivo.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

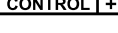
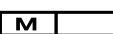
Edição: Outubro, 2024
Revisão: -
Ref.: 311224(01)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos comburentes Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Periodo post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device Identifier		

Ref.: 260624 |