

MAGLUMI™ CA 15-3 (CLIA)

НАЗНАЧЕНИЕ

Данный набор реактивов предназначен для проведения хемилюминесцентного иммуноанализа *in vitro* с целью количественного определения ракового антигена 15-3 (CA 15-3) в сыворотке крови человека с помощью автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI (включая модели Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000 и Maglumi 4000 Plus).

КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Обозначение «CA 15-3» отражает молекулярную структуру антигена и специфику анализов, разработанных для его обнаружения. Цифры «15-3» относятся к антигенам, используемым в иммуноанализах для выявления этих антигенов¹. CA 15-3 — это углеводосодержащий белковый антиген муцинового типа (MUC). Муцины представляют собой высокомолекулярные трансмембранные гликопротеины с внеклеточным доменом, образованным из сильно гликозилированного белкового ядра с O-сцеплением, содержащего различное число высококонсервативных повторов из 20 аминокислот. В зависимости от генетических и биомолекулярных характеристик выделяют 7 семейств муцинов, которые обозначаются, соответственно, аббревиатурами от MUC1 до MUC7². Антиген CA 15-3 относится к семейству MUC1. Ген MUC1 экспрессируется в разных видах тканей, но, по-видимому, кодирует синтез идентичных ядерных белков. Степень гликозилирования (присоединения простых углеводов к молекулам белка) является отличительной характеристикой белков, содержащихся в разных тканях. В тканях молочной железы содержание углеводов составляет около 50 %. Точные физиологические функции белков MUC1 до сих пор неизвестны, но, по-видимому, они снижают межклеточное взаимодействие и, возможно, подавляют лизис опухолевых клеток³. Сверхэкспрессия гена MUC1 наблюдается при злокачественных опухолях молочной железы, что позволяет использовать генный продукт CA 15-3 в качестве маркера этих образований². Уровень CA 15-3 в крови может использоваться для скрининга не только рака молочной железы, но и для других злокачественных новообразований, включая рак поджелудочной железы, легких, яичников, толстой кишки и печени. Однако имеются данные о повышении уровня этого антигена при доброкачественных опухолях печени и молочной железы (ложноположительные результаты)⁴. Этот маркер имеет большее прогностическое значение при раке молочной железы и может использоваться для контроля эффективности лечения, поскольку его повышенная концентрация в сыворотке крови чаще наблюдается у пациентов с более поздней стадией рака и/или большим размером опухоли. Имеются данные о том, что уровень CA 15-3 является независимым прогностическим фактором при метастатическом раке молочной железы^{4,5}.

ПРИНЦИП ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

Анализ на CA 15-3 представляет собой хемилюминесцентный сэндвич-анализ.

Проба (либо, в соответствующих случаях, калибратор или контроль), буфер и магнитные микрочастицы, покрытые моноклональными антителами к CA 15-3, тщательно перемешиваются и инкубируются, после чего выполняется осаждение частиц в магнитном поле и цикл промывки. После добавления моноклональных антител к CA 15-3, меченых аминобутил-этил-изолюминолом (ABEI), в результате реакции образуется сэндвич-комплекс, который затем инкубируется. После осаждения частиц в магнитном поле надосадочная жидкость фильтруется, а затем выполняется цикл промывки. После этого добавляются стартовые реактивы 1 и 2 для начала хемилюминесцентной реакции. Световой сигнал измеряется в течение трех секунд в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи фотоумножителя. Полученное количество ОСЕ пропорционально концентрации CA 15-3 в пробе (или, в соответствующих случаях, в калибраторе или контроле).

СОСТАВ НАБОРА

Предоставляемые материалы

Компоненты	Состав	100 тестов (номер по каталогу: 130201010M)	50 тестов (номер по каталогу: 130601010M)
Магнитные микрочастицы	Микрочастицы, покрытые моноклональными антителами к CA 15-3; в буфере, содержащем бычий сывороточный альбумин (БСА) и азид натрия (NaN ₃) (<0,1 %)	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор низкой концентрации	Антигены CA 15-3 в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	2,5 мл	2,0 мл
Калибратор высокой концентрации	Антигены CA 15-3 в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	2,5 мл	2,0 мл
Буфер	Содержит БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	12,5 мл	7,5 мл
Моноклональные антитела, меченые АВЕИ	Моноклональные антитела к CA 15-3, меченые аминобутил-этил-изолюминолом (ABEI); в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	12,5 мл	7,5 мл
Внутренний контроль качества	Антигены CA 15-3 в буфере, содержащем БСА и NaN ₃ (<0,1 %)	2,0 мл	2,0 мл

Все реактивы поставляются готовыми к использованию.

Необходимые дополнительные принадлежности, не входящие в комплект поставки

Анализаторы серии MAGLUMI:

Реакционный модуль	Номер по каталогу: 630003
Стартовые реактивы 1 и 2	Номер по каталогу: 130299004M
Промывочный концентрат	Номер по каталогу: 130299005M
Раствор для проверки светового сигнала	Номер по каталогу: 130299006M

Дополнительные принадлежности заказываются у компании Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) или ее официальных представителей.

КАЛИБРОВКА

Обеспечение отслеживаемости: данный анализ был стандартизован относительно внутреннего референсного стандарта компании SNIBE.

Проверка калибраторов для определенных анализов позволяет получить значение ОСЕ для корректировки заданной основной кривой. Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, которая выстраивается в процессе двухточечной калибровки, и основной калибровочной кривой (определяется с помощью калибровочной кривой, считанной с чипа для радиочастотной идентификации реактива (чип RFID)).

Повторную калибровку рекомендуется проводить в следующих случаях:

- Перед началом использования новой партии (реактивов для анализа или стартовых реактивов 1 и 2).
- Каждые 2 недели и/или перед началом использования нового набора реактивов (рекомендуется).
- После проведения необходимого обслуживания системы.
- При выходе контролей за рамки установленного диапазона ожидаемых значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Периодичность проведения процедур контроля качества установлена нормативными актами или аккредитационными требованиями. Внутренний контроль качества предназначен только для систем MAGLUMI. Инструкции по применению и целевые значения содержатся в документе **со сведениями о контроле качества хемиллюминесцентного иммунологического анализа (ХЛИА) на СА 15-3**. При интерпретации результатов пользователь должен ориентироваться на собственные стандарты и знания. Подробная информация о вводе значений для контроля качества содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемиллюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Для контроля работы системы и построения диаграмм трендов необходимо использовать имеющиеся на рынке материалы для контроля качества. Правила обращения с пробами для контроля качества аналогичны правилам, установленным для проб пациентов. Считается, что система функционирует удовлетворительно, если получаемые значения концентрации анализата находятся в пределах допустимого контрольного диапазона, установленного для системы, или в пределах диапазона, установленного конкретной лабораторией в соответствии с надлежащей внутренней схемой контроля качества. Результаты процедур контроля качества, выходящие за пределы диапазона ожидаемых значений или диапазона измерения, установленного конкретной лабораторией, не включаются в отчет. Выполните следующие действия:

- Убедитесь, что не истек срок годности материалов.
- Убедитесь, что выполнялось необходимое техническое обслуживание.
- Убедитесь, что анализ был выполнен в соответствии со всеми инструкциями.
- Выполните анализ повторно, используя свежие пробы для контроля качества.
- При необходимости обратитесь за помощью в местную службу технической поддержки или к официальному дистрибьютору компании.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

- Используйте стандартные пробирки для проб или пробирки с сепарирующим гелем. Забор крови выполняется асептически с соблюдением универсальных мер предосторожности при венепункции.
- Центрифугирование образцов выполняется только после полного образования тромба (сгустка крови) в пробирке. Некоторые образцы, особенно взятые у пациентов, получающих антикоагулянтную или тромболитическую терапию, могут демонстрировать повышенное время свертывания.
- При выполнении центрифугирования образцов до полного образования тромба возможно получение неверных результатов анализа из-за наличия фибрина. Пробы не должны содержать фибрин и другие твердые частицы.
- Не используйте гемолизированные образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или большое количество липидов либо демонстрирующие признаки микробного загрязнения. Проверяйте все образцы на предмет наличия в них пузырьков воздуха и удаляйте пузырьки перед проведением анализа для получения оптимальных результатов.
- Избегайте повторного размораживания и замораживания образцов. Для образцов сыворотки крови цикл заморозки-разморозки можно повторять два раза. После хранения пробы необходимо тщательно перемешать перед использованием (с помощью вихревой мешалки). После разморозки образцы необходимо ТЩАТЕЛЬНО перемешать вихревым способом на НИЗКОЙ скорости. В случае возникновения любых сомнений обратитесь к местному представителю компании SNIBE за разъяснениями.
- Если после центрифугирования проба покрылась липидным слоем, ее следует перенести в кювету для анализа или дополнительную пробирку. Необходимо следить за тем, чтобы при переносе очищенной пробы молекулы липидов не попали в кювету или пробирку.
- Анализ любых проб (контролей или образцов, взятых у пациентов) должен быть выполнен в течение 3 часов после загрузки пробы в систему MAGLUMI. За более подробной информацией о хранении проб в аппарате обращайтесь в сервисный центр компании SNIBE.
- После отделения эритроцитов, сгустков крови или сепарирующего геля пробы можно хранить до 5 суток при температуре от 2 до 8 °С, а также замораживать и хранить до 3 месяцев при температуре не выше -20 °С.
- Перед транспортировкой рекомендуется отделить образцы от эритроцитов, сгустков крови или сепарирующего геля. При транспортировке образцов упаковка и маркировка должны соответствовать требованиям национальных и международных нормативных документов, регулирующих транспортировку клинических образцов и инфицированных веществ. Образцы необходимо транспортировать в замороженном состоянии.
- Для проведения одного анализа на СА 15-3 требуется проба объемом 20 мкл.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ

IVD

- Для диагностики *in vitro*.
- Следуйте всем инструкциям на вкладыше внутри упаковки. При несоблюдении любых инструкций на листке-вкладыше точность и надежность результатов анализа нельзя гарантировать.

Меры по обеспечению безопасности

- **ОСТОРОЖНО!** Использование этого продукта подразумевает выполнение определенных действий с образцами биологических материалов человека. Рекомендуется считать все биологические материалы человеческого происхождения потенциальными источниками инфекций и обращаться с ними в соответствии с требованиями раздела 29 Свода федеральных нормативных актов США (CFR), часть 1910.1030 «Occupational exposure to bloodborne pathogens» (Контакт с передающимися с кровью патогенными микроорганизмами на рабочем месте). При обращении с инфицированными или потенциально инфицированными материалами необходимо соблюдать меры по обеспечению 2-го уровня биологической безопасности или другие аналогичные процедуры по обеспечению безопасности.
- Все пробы, биологические реактивы и материалы, используемые для проведения этого анализа, должны считаться потенциально инфицированными материалами. Их утилизация должна осуществляться в соответствии с правилами, установленными в конкретном медицинском учреждении. Утилизация всех материалов должна осуществляться с соблюдением всех надлежащих процедур и мер безопасности в соответствии с действующими нормативными требованиями.
- Этот продукт содержит азид натрия. Утилизация содержимого и всех емкостей должна осуществляться с соблюдением всех соответствующих местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Необходимая информация содержится в паспортах безопасности, которые предоставляются по запросу.

Меры предосторожности при работе с реактивами

- Не используйте набор реактивов по истечении срока годности.
- Компоненты разных наборов реактивов или реактивы из разных партий не являются взаимозаменяемыми.
- Перед первой загрузкой набора реактивов в систему реактивы необходимо перемешать для ресуспендирования магнитных частиц, осевших при транспортировке.
- Инструкции по смешиванию магнитных микрочастиц содержатся в разделе данного листка-вкладыша, посвященном подготовке реактивов.
- Во избежание загрязнения при работе с наборами реактивов и пробами используйте чистые перчатки.
- Со временем при высыхании жидкости, попавшей на мембрану флакона, образуется налет. Обычно он представляет собой кристаллы солей и не влияет на эффективность анализа.
- Подробное описание мер предосторожности, которые необходимо соблюдать при эксплуатации системы, содержится в информации по обслуживанию, предоставляемой компанией SNIBE.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

- До вскрытия упаковки: хранить при температуре от 2 до 8 °С до истечения срока годности.
- После вскрытия упаковки хранить при температуре от 2 до 8 °С: минимальная стабильность составляет 4 недели.
- Хранение в аппарате: минимальная стабильность составляет 4 недели.
- Для максимального сохранения свойств реактивов рекомендуется хранить открытые наборы реактивов в холодильнике после завершения рабочего дня. Если контроли находятся в пределах диапазона ожидаемых значений, можно использовать наборы реактивов после вскрытия упаковки или загрузки в систему по истечении установленных сроков.
- Храните реактивы в вертикальном положении, чтобы облегчить ресуспендирование магнитных микрочастиц.
- Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Подготовка реактивов

- Ресуспендирование магнитных микрочастиц выполняется автоматически после успешной загрузки набора реактивов, что обеспечивает образование полностью гомогенной взвеси частиц до их использования.
- Для надлежащего выполнения анализов необходимо строго соблюдать инструкции по эксплуатации автоматического хемиллюминесцентного

иммунологического анализатора серии MAGLUMI. Каждый параметр исследования определяется с помощью чипа RFID, расположенного на наборе реактивов. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

РАЗВЕДЕНИЕ

Для этого набора реактивов не предусмотрено разведение проб с помощью анализатора.

Пробы, концентрация которых превышает верхний предел диапазона измерений, можно разводить вручную. После разведения вручную умножьте результат на коэффициент разбавления. Для ручного разведения необходимо использовать подходящие разбавители. При необходимости предварительно проконсультируйтесь со специалистами компании SNIBE.

Хук-эффект

При концентрации СА 15-3 до 10 000 Ед/мл хук-эффект не наблюдался.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Для получения достоверных результатов анализа должны проводиться квалифицированными специалистами в точном соответствии с инструкциями. Для получения достоверных результатов необходимо точно следовать всем инструкциям и соблюдать меры предосторожности. Любые изменения процедур, скорее всего, повлияют на полученные результаты.
- При проведении анализов с использованием антител может возникнуть интерференция со стороны гетерофильных антител, содержащихся в пробе пациента. Пробы, взятые у пациентов, которые регулярно контактируют с животными или которым была проведена иммунотерапия, могут содержать человеческие антимышьи антитела (НАМА), и при анализе таких проб могут регистрироваться ложно повышенные или ложно пониженные значения. Пробы пациентов также могут содержать другие гетерофильные антитела, например, человеческие антикозьи антитела. Для оценки состояния пациента могут потребоваться дополнительные клинические или диагностические данные.
- При наличии злокачественных образований уровень СА 15-3 может находиться в пределах нормы. Концентрация СА 15-3 может быть повышена при циррозе печени, гепатите или тирозинемии. Поэтому результаты анализа на СА 15-3 больше подходят для контроля эффективности лечения и последующего наблюдения, чем для сопоставления с гистологическими данными. Значения концентрации СА 15-3 в сыворотке крови следует интерпретировать с учетом общей клинической картины и результатов других диагностических процедур. Уровень СА 15-3 не следует использовать в качестве единственного критерия для скрининга рака.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вычисление результатов

Анализатор автоматически рассчитывает значение концентрации СА 15-3 в каждой пробе с помощью двухточечной основной калибровочной кривой, которая строится в процессе калибровки. Результаты выражаются в Ед/мл. Дополнительная информация содержится в инструкциях по эксплуатации автоматического хемилюминесцентного иммунологического анализатора серии MAGLUMI.

Интерпретация результатов

Диапазон ожидаемых значений для анализа на СА 15-3 был получен путем исследования образцов, взятых у 280 практически здоровых жителей Китая, и имел следующую верхнюю границу:

<25 Ед/мл (95-й перцентиль).

Различия между результатами, полученными в разных лабораториях, могут быть обусловлены различными характеристиками пациентов и используемыми методами анализа. Каждой лаборатории рекомендуется установить собственный диапазон ожидаемых значений.

ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прецизионность

Прецизионность анализа на СА 15-3 определялась в соответствии с процедурой, описанной в протоколе EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Три пула образцов сыворотки крови человека и три контрольных материала, содержащих аналит в разной концентрации, исследовались в двух параллельных независимых анализах ежедневно в течение 20 дней. Результаты в обобщенном виде представлены в таблице ниже.

Проба	Среднее значение (Ед/мл) (N = 80)	В пределах серии		Между сериями		Всего	
		Стандартное отклонение (SD) (Ед/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (Ед/мл)	КВ (%)	Стандартное отклонение (SD) (Ед/мл)	КВ (%)
Пул образцов сыворотки крови 1	31,049	1,820	5,86	1,493	4,81	2,354	7,58
Пул образцов сыворотки крови 2	103,993	4,215	4,05	4,940	4,75	6,494	6,24
Пул образцов сыворотки крови 3	518,611	10,332	1,99	29,020	5,60	30,804	5,94
Контроль 1	27,800	1,464	5,27	1,236	4,45	1,916	6,89
Контроль 2	79,253	3,828	4,83	3,804	4,80	5,397	6,81
Контроль 3	166,412	4,441	2,67	11,800	7,09	12,608	7,58

Минимальная концентрация для холостой пробы (LoB)

Показатель LoB для анализа на СА 15-3 составляет 1,6 Ед/мл.

Минимальная выявляемая концентрация (LoD)

Показатель LoD для анализа на СА 15-3 составляет 2,0 Ед/мл.

Диапазон измерения

От 1,6 до 1000 Ед/мл (определяется предельными значениями для холостой пробы и верхним пределом основной кривой). Значения ниже минимального предела для холостой пробы определяются как <1,6 Ед/мл. Значения, превышающие верхний предел диапазона измерений, определяются как >1000 Ед/мл.

Линейность

Линейный диапазон измерения для этого анализа составляет от 2,0 до 1000 Ед/мл на основании исследования, выполненного в соответствии с протоколом EP6-A Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Девять проб с одинаковым распределением концентрации были получены путем смешивания образца сыворотки, содержащего СА 15-3 в концентрации 1050 Ед/мл, с образцом сыворотки, не содержащим СА 15-3 (0,0 Ед/мл). Среднее значение степени извлечения пробы варьировалось от 90 % до 110 %.

Сравнение методов

В общей сложности 132 проб в диапазоне от 1,958 до 953,074 Ед/мл были протестированы с использованием анализа на СА 15-3 (y) и имеющегося на рынке иммуноанализа (x). Данные, полученные с помощью построенных линейных регрессий, можно представить в виде следующего уравнения: $y = 0,922x + 2,8224$, $r^2 = 0,9827$.

Аналитическая специфичность

Значение специфичности анализа было получено путем добавления антигенов СА 125 (250 Ед/мл), СА 19-9 (250 Ед/мл) и СА 72-4 (250 Ед/мл) в образцы сыворотки крови в указанной концентрации. Не было выявлено интерференции.

Интерференция

Наличие перечисленных ниже веществ в концентрации, не превышающей указанных значений, не влияет на результаты данного анализа:

Интерференция	Концентрация
Билирубин	65 мг/дл
Гемоглобин	3000 мг/дл
Триглицериды	1500 мг/дл
Ревматоидный фактор (РФ)	1500 МЕ/мл
Цисплатин	165 мкг/мл
Блеомицин	30 мкг/мл
Карбоплатин	500 мкг/мл
Фторурацил	400 мкг/мл
Цитарабин	30 мкг/мл
Метотрексат	909 мкг/мл
Митомицин-С	100 мкг/мл
Паклитаксел	67 мкг/мл
Винбластин сульфат	500 мкг/мл
Доксорубицин гидрохлорид	40 мкг/мл
Тамоксифен	0,0228 мкг/мл
Циклофосфамид	1000 мкг/мл

ЛИТЕРАТУРА

1. Shao, Y., Sun, X., He, Y., Liu, C., & Liu, H. (2015). Elevated levels of serum tumor markers CEA and CA15-3 are prognostic parameters for different molecular subtypes of breast cancer. *PLoS one*, 10(7), e0133830.
2. Manuali, E., De Giuseppe, A., Feliziani, F., Forti, K., Casciari, C., Marchesi, M. C. & Król, M. (2012). CA 15–3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade. *BMC veterinary research*, 8(1), 86.
3. David, J. M., Hamilton, D. H., & Palena, C. (2016). MUC1 upregulation promotes immune resistance in tumor cells undergoing brachyury-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Oncolmmunology*, 5(4), e1117738.
4. Bahrami-Ahmadi, A., Makarian, F., Mortazavizadeh, M. R., Yazdi, M. F., & Chamani, M. (2012). Symptomatic metastasis prediction with serial measurements of CA 15.3 in primary breast cancer patients. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 17(9), 850.
5. Darlix, A., Lamy, P. J., Lopez-Crapez, E., Braccini, A. L., Firmin, N., Romieu, G. & Jacot, W. (2016). Serum HER2 extra-cellular domain, S100β and CA 15-3 levels are independent prognostic factors in metastatic breast cancer patients. *BMC cancer*, 16(1), 428.

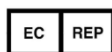


Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.16, Jinhui Road, Pingshan New District, Shenzhen, 518122, P.R.China

Тел.: 0086-755-21536601

Факс: 0086-755-28292740



Lotus Global Co., Ltd.

1 Four Seasons Terrace, West Drayton, Middlesex London, UB7 9GG, United Kingdom

Тел.: 0044-20-75868010

Факс: 0044-20-79006187

РАСШИФРОВКА СИМВОЛОВ

	См. инструкции по применению		Производитель
	Температурные пределы (температура хранения — от 2 до 8 °C)		Срок годности
	Содержимого достаточно для <n> анализов		Не подвергайте воздействию прямых солнечных лучей
	Этой стороной вверх		Официальный представитель в Европейском сообществе
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Состав набора
	Номер по каталогу		Код партии