

# НАБІР РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ СА 15-3 - РАКОВОГО АНТИГЕНА 15-3 МЕТОДОМ ІХЛА

## CA 15-3 Test System

Кат. №: 5675-300А

Дата випуску інструкції: 16-07-2019  
Версія: 3



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

### 1.0 ВВЕДЕННЯ

**Призначення:** Кількісне визначення концентрації ракового антигена 15-3 (CA-15-3) в сироватці людини за допомогою мікропланшетного імуноферментного аналізу, хемілюмінесцентного.

### 2.0 ВСТУП

Хоча для раку молочної залози було описано кілька сироваткових ракових маркерів, таких як СА 15-3, BR 27-29, карциноембріональний антиген (РЕА), антиген тканинного поліпептиду (ТРА), специфічний антиген тканинного поліпептиду та HER-2 (позаклітинний домен), найбільш використовуваними є СА 15-3 і СЕА. СА 15-3 вважається одним із перших циркулюючих прогностичних факторів раку молочної залози.<sup>1</sup> Таким чином, передопераційні концентрації можна поєднувати з прогностичними факторами для прогнозування результату у пацієнтів із вперше діагностованим раком молочної залози.<sup>2</sup> Наразі найважливіше клінічне застосування СА 15-3 використовується для моніторингу терапії у пацієнтів із прогресуючим раком молочної залози, який недоступний за допомогою існуючих клінічних або радіологічних процедур.<sup>3</sup>

Аналіз СА 15-3 вимірює білковий продукт гена *MUC1*. Білок *MUC1* - це велика трансмембранна глікозильована молекула, що містить три основні домени, велику позаклітинну область, послідовність, що охоплює мембрану, і цитоплазматичний домен.<sup>4</sup> Хоча фізіологічна функція *MUC1* не зовсім зрозуміла, глікопротеїн бере участь у клітинній адгезії, імунитеті та метастазуванні. Порівняно зі здоровою тканиною молочної залози, *MUC1* присутній у вищих концентраціях, але менш глікозильований у карциномі молочної залози.<sup>5-8</sup>

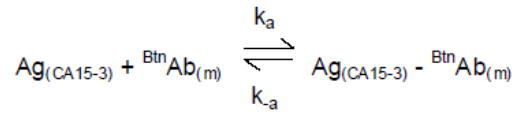
У цьому методі попередньо розведений калібратор СА 15-3, розведений зразок пацієнта або контроль спочатку додають до лунки, вкритої стрептавідином. Додають біотинильовані моноклональні антитіла (специфічні для СА 15-3) і змішують реагенти. Реакція між антитілами до СА 15-3 і нативним СА 15-3 утворює комплекс, який зв'язується зі стрептавідином, нанесеним в лунках. Надлишок білка сироватки вимивається під час кроку промивання. До лунок додається інше антитіло, мічене ферментом, специфічне для іншого розпізнавання епітопів СА 15-3. Антитіло, мічене ферментом, зв'язується з СА 15-3, уже іммобілізованим в лунці, через його зв'язування з біотинильованим моноклональним антитілом. Надлишок ферменту вимивається на етапі промивання. Світло генерується шляхом додавання субстрату. Інтенсивність генерації світла прямо пропорційна концентрації СА 15-3 у зразку.

### 3.0 ПРИНЦИП МЕТОДУ

#### Імуноферментний послідовний аналіз (Тип 4):

Основні реагенти, необхідні для імуноферментного аналізу, включають високоафінні та специфічні антитіла (ферментні та іммобілізовані), з різним та чітким розпізнаванням епітопів, у надлишку, та нативний антиген. У цій процедурі іммобілізація відбувається під час аналізу на поверхні лунки мікропланшета шляхом взаємодії стрептавідину, нанесеного в лунці, та екзогенно доданого біотинильованого моноклонального антитіла до СА 15-3.

Після змішування моноклонального біотинильованого антитіла і сироватки, що містить нативний антиген, відбувається реакція між нативним антигеном і антитілами з утворенням комплексу антитіло-антиген. Взаємодія ілюструється наступним рівнянням:



$\text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(\text{m})}$  = Біотинильоване моноклональне антитіло (надлишкова кількість)

$\text{Ag}_{(\text{CA}15-3)}$  = Нативний антиген (змінна кількість)

$\text{Ag}_{(\text{CA}15-3)} - \text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(\text{m})}$  = Комплекс Антиген-антитіло (змінна кількість)

$k_a$  = Константа швидкості асоціації

$k_a$  = Константа швидкості дисоціації

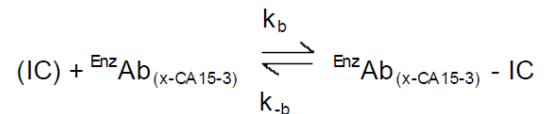
Одночасно комплекс осідає в лунці через реакцію високої афінності стрептавідину та біотинильованого антитіла. Ця взаємодія проілюстрована нижче:

$\text{Ag}_{(\text{CA}15-3)} - \text{B}^{\text{tn}}\text{Ab}_{(\text{m})} + \text{Стрептавідин}_{\text{C.W.}} \Rightarrow \text{Іммобілізований комплекс (ІС)}$

$\text{Стрептавідин}_{\text{C.W.}} = \text{Стрептавідин, іммобілізований в лунках}$

$\text{Іммобілізований комплекс (ІС)} = \text{Ag-Ab, пов'язаний з лункою}$

Після відповідного періоду інкубації зв'язану фракцію антитіло-антиген, відокремлюють від незв'язаного антигену шляхом декантації або аспірації. Додається інше антитіло (спрямоване на інший епітоп), мічене ферментом. Відбувається інша взаємодія з утворенням міченого ферментом комплексу антитіло-антиген-біотинильоване антитіло на поверхні лунок. Надлишок ферменту вимивається на етапі промивання. Додається відповідний субстрат для отримання кольору, який можна вимірювати за допомогою мікропланшетного спектрофотометра. Активність ферменту, яка визначається реакцією із субстратом (люмінол), який генерує світло, у фракції, зв'язаній з антитілами, прямо пропорційна концентрації нативного антигену. Використовуючи декілька різних калібраторів сироватки з відомою концентрацією антигена, можна створити криву доза-відповідь, на основі якої можна визначити невідому концентрацію антигена.



$\text{E}^{\text{nz}}\text{Ab}_{(\text{x-CA}15-3)}$  = Антитіла, мічені ферментом (надлишкова кількість)

$\text{E}^{\text{nz}}\text{Ab}_{(\text{x-CA}15-3)} - \text{ІС}$  = Комплекс антиген-антитіло

$k_b$  = Константа швидкості асоціації

$k_b$  = Константа швидкості дисоціації

### 4.0 РЕАГЕНТИ

#### Матеріали, що постачаються:

#### A. Калібратори СА 15-3 - 1.0 мл (мл)/флакон - позначки А-F

Шість (6) флаконів сироваткових референсних калібраторів з концентраціями 0 (А), 10 (В), 40 (С), 100 (D), 200 (Е) і 400 (F) О/мл (U/мл). Додано консервант. Зберігати при 2-8 °С (°C).

**Примітка 1:** Калібратори постачаються попередньо розведеними.

**Примітка 2:** Калібратори на основі людської сироватки були виготовлені з використанням очищеного препарату СА 15-3. Препарат був відкалібрований за тестом Centocor СА 15-3 IRMA.

#### B. Реагент Біотин СА 15-3 - 12 мл (мл)/флакон - позначка V

Один (1) флакон, що містить біотинильований анти-mIgG людини СА 15-3 в протеїн-стабілізованій матриці. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °С (°C).

#### C. Реагент Трейсер СА 15-3 - 12 мл (мл)/флакон - позначка E

Один (1) флакон, що містить пероксидазу хрому, об'єднану з анти-СА15-3 mIgG людини в білково-стабілізованій матриці. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °С (°C).

#### D. Світлові реакційні лунки - 96 лунок - позначка J

Один 96-лунковий мікропланшет, покритий стрептавідином і запакований в алюмінієвий пакет з осушувачем. Зберігати при 2-8 °С (°C).

#### E. Концентрат Промивного розчину - 20 мл (мл)/флакон - позначка K

Один (1) флакон, що містить поверхнево-активну речовину в забуференому фізіологічному розчині. Додано консервант. Зберігати при 2-8 °С (°C).

#### F. Матриця розведення СА 15-3 - 50 мл (мл)/флакон - без позначки

Один (1) флакон, що містить буферні солі, білок та поверхнево-активні речовини. Зберігати при 2-8 °С (°C).

#### **G. Сигнальний реагент А - 7 мл (мл)/флакон - позначка С<sup>А</sup>**

Один (1) флакон, що містить люмінол у буфері. Зберігати при 2-8 °С (°С) (див. Розділ «Підготовка реагентів»).

#### **H. Сигнальний реагент В - 7 мл (мл)/флакон - позначка С<sup>В</sup>**

Один (1) флакон, що містить перекис водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) в буфері. Зберігати при 2-8 °С (°С) (див. Розділ «Підготовка реагентів»).

#### **I. Інструкція.**

**Примітка 1:** Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності набору.

**Примітка 2:** Уникайте тривалого впливу тепла та світла. Відкриті реагенти стабільні протягом шістдесяти (60) днів при зберіганні при 2-8 °С (°С). Стабільність набору та компонентів зазначено на етикетці.

**Примітка 3:** Наведені вище реагенти призначені для одного 96-лунокового мікропланшету.

#### **4.1 Необхідні матеріали, які не поставляються з набором**

1. Дозатор, здатний доставляти об'єми 0.025 мл (мл) (25 мкл (μл)) та 0.100 мл (мл) (100 мкл (μл)) з точністю вище 1.5%.
2. Диспенсер(и) для повторних поставок об'ємів 0.100 і 0.350 мл (мл) (100 і 350 мкл (μл)) з точністю вище 1.5%.
3. Дозатор (1000 мкл (μл)) для використання як розчинник сироватки при розведенні зразків пацієнтів.
4. Вошер для мікропланшетів або пляшка під тиском (опційно).
5. Мікропланшетний люмінометр.
6. Абсорбуючий папір для промокання лунок мікропланшета.
7. Поліетиленова плівка або кришка мікропланшета для етапів інкубації.
8. Вакуумний аспіратор (опційно) для етапів промивання.
9. Таймер.
10. Матеріали контролю якості.

#### **5.0 ЗАСТЕРЕЖЕННЯ**

**Тільки для використання в діагностиці *In vitro*  
Не для внутрішнього або зовнішнього використання  
на людях або тваринах**

Усі продукти, що містять людську сироватку, були визнані неактивними щодо поверхневого антигену гепатиту В, ВІЛ 1 і 2 та антитіл до ВГС згідно з вимогами УПМ. Оскільки жоден відомий тест не може забезпечити повну впевненість у відсутності інфекційних агентів, усі продукти людської сироватки слід розглядати як потенційно небезпечні та здатні передавати захворювання. Належні лабораторні процедури поводження з продуктами крові можна знайти в Центрі контролю захворювань/Національному інституті здоров'я, «Біологічна безпека в мікробіологічних і біомедичних лабораторіях», 2-е видання, 1988 р., НН5.

Безпечна утилізація компонентів набору має здійснюватися відповідно до місцевих нормативних та законодавчих вимог.

#### **6.0 ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ**

Зразками має бути сироватка або гепаринізована плазма за типом; слід дотримуватись звичайних запобіжних заходів для забору зразків венепункцією. Для точного порівняння з встановленими нормальними значеннями слід взяти ранковий зразок сироватки натщесерце. Кров слід забирати в звичайну пробірку для венепункції з червоним ковпачком (з або без гелевих добавок); для плазми використовуйте вакуумні пробірки, що містять гепарин. Дайте крові згорнутися для зразків сироватки. Центрифугуйте зразок, щоб відокремити сироватку або плазму від клітин.

У пацієнтів, які отримують терапію високими дозами біотину (тобто > 5 мг (мг)/день), не слід брати зразок принаймні через 8 годин після останнього введення біотину, бажано протягом ночі, щоб забезпечити зразок натщесерце.

Зразки можна зберігати в холодильнику при 2-8 °С (°С) протягом максимального періоду п'ять (5) днів. Якщо зразок(и) неможливо проаналізувати протягом цього часу, зразок(и) можна зберігати при температурі -20 °С (°С) протягом 30 днів. Уникайте використання забруднених пристроїв. Уникайте повторного заморожування та розморожування. При аналізі в дублях потрібно 0.050 мл (мл) (50 мкл (μл)) розведеного зразка.

#### **7.0 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ**

Кожна лабораторія повинна аналізувати контролю на рівнях у низькому, середньому та високому діапазоні для моніторингу ефективності аналізу. Ці контролю слід розглядати як невідомі, а значення повинні визначитися в кожній проведеній процедурі тестування. Для відстеження ефективності наданих реагентів слід підтримувати карти контролю якості. Для встановлення тенденцій слід використовувати відповідні статистичні методи. Значні відхилення від встановлених характеристик можуть свідчити про непомічену зміну умов аналізу або погіршення якості реагентів набору. Щоб визначити причину відхилень, слід використовувати свіжі реагенти.

#### **8.0 ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ**

##### **1. Промивний буфер**

Розвести вміст Промивного розчину до 1000 мл (мл) з дистильованою або деіонізованою водою у відповідному контейнері для зберігання. Зберігати розведений буфер при температурі 2-30 °С (°С) до 60 днів.

##### **2. Робочий розчин Сигнального реагенту** - Зберігати при 2-8 °С (°С).

Визначте необхідну кількість реагенту та приготуйте, змішавши рівні порції Сигнального реагенту А та Сигнального реагенту В у чистому контейнері. Наприклад, додайте 1 мл (мл) А та 1 мл (мл) В на два (2) 8-лунокових стрипи (Розчин готується з невеликим надлишком). Утилізуйте залишки, якщо вони не використані протягом 36 годин після змішування. Якщо очікується повне використання реагентів протягом зазначеного вище часового обмеження, вилийте вміст Сигнального реагенту В до Сигнального реагенту А та позначте відповідним чином.

##### **3. Розведення зразків пацієнтів (1:21)**

Дозуйте 0.025 мл (мл) (25 мкл (μл)) кожного контролю та/або зразка пацієнта в 0.500 мл (мл) (500 мкл (μл)) матриці для розведення СА 15-3 в чистий контейнер(и) з відповідним маркуванням, і ретельно перемішайте перед використанням. Зберігайте в холодильнику при 2-8 °С (°С) до 48 годин.

**Зауваження 1:** Не використовуйте забруднені реагенти, або реагенти, де спостерігається ріст бактерії.

#### **9.0 ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ**

Перед початком аналізу всі реагенти, сироваткові референсні калібратори і контролю повинні досягти кімнатної температури (20-27 °С (°С)).

**\*\*Процедуру тестування повинна виконувати кваліфікована особа або навчений фахівець\*\***

1. Відформатуйте лунки мікропланшета для кожного референсного калібратора сироватки, контролю та зразка пацієнта для аналізу в дублях. Поверніть невикористані мікролунокові стрипи назад в алюмінієвий пакет, закрийте та зберігайте при 2-8 °С (°С).
2. Дозуйте 0.025 мл (мл) (25 мкл (μл)) відповідного розведеного референсного калібратора сироватки, контролю або зразка у призначену лунку.
3. Додайте 0.100 мл (мл) (100 мкл (μл)) біотинільованого міченого антитіла в кожну лунку. Дуже важливо дозувати всі реагенти близько до дна лунки з покриттям.
4. Обережно покрутіть мікропланшет протягом 20-30 секунд, щоб перемішати та накрийте його.
5. Інкубуйте 45 хвилин при кімнатній температурі.
6. Видаліть вміст мікропланшета декантацією або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.
7. Додайте 0.350 мл (мл) (350 мкл (μл)) промивного буфера (див. розділ «Підготовка реагентів»), декантуйте (постукайте та промокніть) або аспіруйте. Повторіть ще чотири (4) рази, щоб загалом було п'ять (5) промивань. Можна використовувати автоматичний або ручний вошер планшетів. Для правильного використання дотримуйтесь інструкцій виробника. Якщо використовується пляшка під тиском, заповніть кожну лунку, натиснувши на ємність (уникаючи бульбашок повітря), щоб розподілити розчин. Злийте промивну рідину та повторіть ще чотири (4) рази.
8. Додайте 0.100 мл (мл) (100 мкл (μл)) реагенту Трейсера СА 15-3 в кожну лунку.

##### **НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ ТРЕЙСЕРА**

9. Накрийте та інкубуйте 45 хвилин при кімнатній температурі.
10. Видаліть вміст мікропланшета декантацією або аспірацією. Висушіть планшет на фільтрувальному папері, якщо використовувалася декантація.

11. Додайте 0.350 мл (ml) (350 мкл (μl)) промивного буфера (див. розділ «Підготовка реагентів»), декантуйте (постукайте та промокніть) або аспіруйте. Повторіть ще чотири (4) рази, щоб загалом було п'ять (5) промивань. Можна використовувати автоматичний або ручний вошер планшетів. Для правильного використання дотримуйтесь інструкцій виробника. Якщо використовується пляшка під тиском, заповніть кожну лунку, натиснувши на ємність (уникаючи бульбашок повітря), щоб розподілити розчин. Злийте промивну рідину та повторіть ще чотири (4) рази.
12. Додайте 0.100 мл (ml) (100 мкл (μl)) робочого сигнального реагенту в кожну лунку (див. «Підготовка реагентів»). Завжди додавайте реагенти в одній і тій же послідовності, щоб уникнути розбіжностей в часі реакції в різних лунках.

#### НЕ СТРУШУЙТЕ ПЛАНШЕТ ПІСЛЯ ДОДАВАННЯ СИГНАЛЬНОГО РЕАГЕНТУ

13. Інкубуйте п'ять (5) хвилин при кімнатній температурі в темряві.
14. Зчитайте відносні світлові одиниці (RLU) у кожній лунці протягом 0.2-1.0 секунди. Результати можна зчитувати не пізніше тридцяти (30) хвилин після додавання сигнального розчину.

#### 10.0 РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

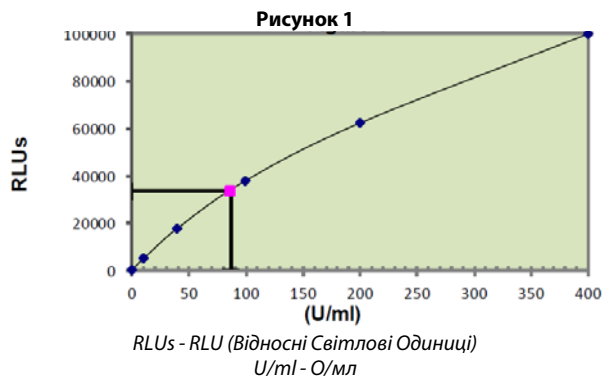
Для визначення концентрації СА 15-3 в невідомих зразках використовується крива доза-відповідь.

1. Запишіть RLU, отримані з роздруківки мікропланшетного люмінометра, як описано в Прикладі 1.
2. Відкладіть на лінійному міліметровому папері RLU для кожного дублю референсного калібратора сироватки проти відповідної концентрації СА 15-3 в О/мл (U/ml) (не слід виводити середні значення дублів референсної сироватки).
3. Накресліть найкращу криву через нанесені точки.
4. Щоб визначити концентрацію СА 15-3 людини для невідомого, знайдіть середні RLU для кожного невідомого на вертикальній осі графіка, знайдіть точку перетину на кривій і зчитайте концентрацію (в О/мл (U/ml)) на горизонтальній осі графіка (для дублікатів невідомого можуть бути виведені середні значення, як зазначено). У наступному прикладі середнє RLU (33622) невідомого перетинає калібрувальну криву при концентрації СА 15-3 86.7 О/мл (U/ml) (див. Рисунок 1).

**Примітка:** Комп'ютерне програмне забезпечення для аналізу даних, розроблене для аналізів ІХЛА, також може використовуватися. Якщо таке програмне забезпечення використовується, слід виконати його перевірку.

Приклад 1

I.D. Зразка	№ лунки	RLU (A)	Середнє RLU (B)	Значення (О/мл (U/ml))
Калібратор А	A1	452	462	0
	B1	472		
Калібратор В	C1	4936	4920	10
	D1	4905		
Калібратор С	E1	17471	17886	40
	F1	18301		
Калібратор D	G1	37475	38072	100
	H1	38669		
Калібратор E	A2	61173	62300	200
	B2	63427		
Калібратор F	C2	103731	100000	400
	D2	96269		
Зразок	E2	33142	33622	86.7
	F2	34102		



\*Дані, представлені в Прикладі 1 і на Рисунок 1, наведені лише для ілюстрації і **не повинні** використовуватися замість кривої дози-відповіді, підготовленої для кожного аналізу. Крім того, RLU калібраторів нормалізовано до 100000 RLU для калібратора F (найбільша світловіддача). Це перетворення мінімізує відмінності, викликані ефективністю різних приладів, які можна використовувати для вимірювання світла.

#### 11.0 ПАРАМЕТРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Для того, щоб результати аналізу вважалися дійсними, повинні бути виконані наступні умови:

1. Крива доза-відповідь має бути в межах встановлених параметрів.
2. Чотири з шести пулів контролю якості повинні бути в межах встановлених діапазонів.

#### 12.0 АНАЛІЗ РИЗИКІВ

Форма Сертифікату безпечності матеріалу та форма Аналізу ризиків для цього продукту доступні за запитом від [Monobind Inc](mailto:Monobind Inc).

#### 12.1 Ефективність аналізу

1. Для досягнення відтворюваних результатів важливо підтримувати постійний час реакції в кожній лунці.
2. Дозування зразків не повинно тривати більше десяти (10) хвилин, щоб уникнути дрейфу аналізу.
3. Не можна використовувати високоліпемічні, гемолізовані або сильно забруднені зразки.
4. Якщо використовується більше одного (1) планшета, рекомендується повторити криву доза-відповідь.
5. Додавання сигнального реагенту ініціює кінетичну реакцію, тому сигнальний реагент(и) слід додавати в тій самій послідовності, щоб усунути будь-які відхилення в часі реакції.
6. Нездатність належним чином видалити прилиплий розчин аспірацією або декантацією на стадіях промивання може призвести до поганої реплікації та помилкових результатів.
7. Використовуйте компоненти з однієї партії. Не змішуйте реагенти із різних партій.
8. Зразки пацієнтів (розведені) з концентрацією СА 15-3 вище 400 О/мл (U/ml) можна ще розвести (наприклад, 1/10 або вище) розведеною сироваткою СА 15-3 і провести повторний аналіз. Концентрацію зразка отримують шляхом множення результату на коефіцієнт розведення.
9. Точне та чітке дозування, а також дотримання встановлених вимог щодо часу та температури є важливими. Будь-яке відхилення від інструкції з використання, наданої Monobind, може дати неточні результати.
10. Необхідно суворо дотримуватися всіх застосованих національних стандартів, правил і законів, включаючи належні лабораторні процедури, щоб забезпечити відповідність і належне використання набору.
11. Важливо відкалібрувати все обладнання, наприклад, дозатори, зчитувачі, вошери та/або автоматизовані інструменти, які використовуються з цим набором, а також проводити планове профілактичне обслуговування.
12. Аналіз ризиків - відповідно до вимог Директиви 98/79/ЕС щодо IVD, знак відповідності CE, щодо цього та інших наборів, виготовлених Monobind, можна запитувати електронною поштою за адресою [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com).

#### 12.2 Інтерпретація

1. Вимірювання та інтерпретація результатів повинні проводитися кваліфікованою особою або навченим фахівцем.
2. Самі по собі лабораторні результати є лише одним з аспектів призначення догляду за пацієнтом і не повинні бути єдиною основою для терапії, особливо якщо результати суперечать іншим детермінантам.
3. Реагенти для процедури з AccuLite® ІХЛА були сформульовані таким чином, щоб максимально усунути інтерференцію; однак потенційна взаємодія між поодинокими видами сироватки та тестовими реагентами може призвести до помилкових результатів. Гетерофільні антитіла часто спричиняють ці взаємодії та, як відомо, є проблемою для всіх видів імуноаналізів (Boscato LM, Stuart MC. «Гетерофільні антитіла: проблема для всіх імуноаналізів» Clin. Chem. 1988:3427-33). Для діагностичних цілей результати цього аналізу повинні поєднуватися з клінічним обстеженням, історією захворювання та іншими клінічними даними. Для дійсних результатів тесту адекватні контролю та інші

параметри повинні бути в межах перелічених діапазонів і вимог до аналізу.

- Для дійсних результатів тесту адекватні контролю та інші параметри повинні бути в межах перелічених діапазонів і вимог до аналізу.
- Якщо тестові набори змінено, наприклад, шляхом змішування частин різних наборів, що може дати хибні результати тесту, або якщо результати неправильно інтерпретовані, Monobind не несе відповідальності.
- Якщо для інтерпретації результатів тесту використовується програмне забезпечення для аналізу даних, необхідно, щоб прогнозовані значення для калібраторів були в межах 10% від призначених концентрацій.
- CA 15-3 має низьку клінічну чутливість і специфічність як онкомаркер. Клінічно, підвищене значення CA-125 саме по собі не має діагностичного значення як тест на рак, і його слід використовувати лише разом з іншими клінічними проявами (спостереженнями) та діагностичними параметрами.

### 13.0 ОЧІКУВАНІ ДІАПАЗОНИ ЗНАЧЕНЬ

Рівень CA 15-3 у сироватці підвищений у 2% нормальних здорових жінок та у 7% пацієнтів із непухлинними захворюваннями. Крім того, повідомлялося, що він підвищений у випадках раку печінки, легенів, яєчників і колоректального раку. Немає повідомлень про остаточні діапазони для цих умов.

ТАБЛИЦЯ 1

Очікувані значення для Тест-системи CA 15-3 AccuLite® ІХЛА

Здорові жінки	≤ 37 О/мл (U/ml)
---------------	------------------

Важливо мати на увазі, що встановлення діапазону значень, які, як очікується, буде знайдено даним методом для популяції «нормальних» людей, залежить від безлічі факторів: специфіки методу, популяції, що тестується, і точності методу в руках аналітика. З цих причин кожна лабораторія повинна залежати від діапазону очікуваних значень, встановлених виробником, лише до тих пір, поки внутрішній діапазон не буде визначений аналітиками за допомогою методу з корінним населенням території, в якій розташована лабораторія.

### 14.0 ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРУ

#### 14.1 Точність

Точність Тест-системи CA 15-3 AccuLite® ІХЛА в аналізі та між аналізами визначали за допомогою аналізів трьох різних рівнів контрольної сироватки. Кількість, середнє значення, стандартне відхилення ( $\sigma$ ) та коефіцієнт варіації для кожної з цих контрольних сироваток представлені в Таблиці 2 і Таблиці 3.

ТАБЛИЦЯ 2

Точність в аналізі (Значення в О/мл (U/ml))

Зразок	N	x	$\sigma$	C.V., %
Рівень 1	20	20.9	1.91	9.1
Рівень 2	20	61.7	2.03	3.3
Рівень 3	20	96.9	2.67	2.8

ТАБЛИЦЯ 3

Точність між аналізами\* (Значення в О/мл (U/ml))

Зразок	N	x	$\sigma$	C.V., %
Рівень 1	10	22.2	2.0	9.1
Рівень 2	10	58.5	3.85	6.6
Рівень 3	10	104.6	9.33	8.9

\*Вимірювання проводились в десяти експериментах в дублях.

#### 14.2 Чутливість

Тест-система CA-125 AccuLite® ІХЛА має аналітичну чутливість 0.2 О/мл (U/ml) при трьох (3) стандартних відхиленнях (SD) від нульового калібатора. Чутливість була отримана шляхом визначення варіабельності калібатора «0» та використання статистики  $2\sigma$  (95% вірогідності) для розрахунку мінімальної дози. Встановлено, що функціональна чутливість (20% CV) становить 1.71 О/мл (U/ml).

#### 14.3 Достовірність

Тест-систему CA 15-3 AccuLite® ІХЛА було порівняно з референсним методом. Було проведено аналіз біологічних зразків із низькою, нормальною та підвищеною концентраціями. Загальна кількість таких зразків становила 43. Рівняння регресії найменших квадратів і коефіцієнт кореляції були

розраховані для CA 15-3 у порівнянні з референсним методом. Отримані дані відображені в Таблиці 4.

ТАБЛИЦЯ 4

Метод	Середнє (x)	Аналіз регресії найменших квадратів	Коефіцієнт кореляції
Monobind (x)	180.2	$y = -0.219 + 1.008 (x)$	0.999
Референсний (y)	178,6		

#### 14.4 Специфічність

Щоб перевірити специфічність пари антитіл, що використовується в Тест-системі CA 15-3 AccuLite® ІХЛА, значні концентрації можливих перехресних реагентів додавали до відомих пулів сироватки та аналізували паралельно з базовими сироватками. Перехресної реакції не виявлено. Відсоток перехресних реакцій для деяких із цих добавок наведено нижче в Таблиці 5.

ТАБЛИЦЯ 5

Аналіт	Концентрація	Інтерференція
CA 15-3	-	1.000
CA 125	10000 О/мл (U/ml)	0.001
CA 19-9	5000 О/мл (U/ml)	0.001
ПСА	1000 нг/мл (ng/ml)	0.026
АФП	30.000 нг/мл (ng/ml)	НВ*
РЕА	5.000 нг/мл (ng/ml)	НВ*
ХГЛ	125.000 мМО/мл (mIU/ml)	НВ*
РФ	12.500 МО/мл (IU/ml)	0.001
Білірубін	200 мкг/мл ( $\mu$ g/ml)	НВ*
Гемоліз	30 мкл/мл ( $\mu$ l/ml)	НВ*
Ліпіди	50 мкг/мл ( $\mu$ g/ml)	-0.009

#### 15.0 ЛІТЕРАТУРА

- Duffy MJ, 'Serum tumor markers in breast cancer: Are they of clinical value?', Clin Chem, 52: 3, 345-351 (2006).
- Duffy MJ, 'CA 15-3 and related mucins as circulating markers for breast cancer', Ann Clin Biochem, 36, 579-586 (1999).
- Elston CW, Ellis IO, Pinder SE, 'Pathologic prognostic factors in breast cancer', Cri Rev Oncol Hematol, 31, 209-223 (1999).
- Duffy MJ, Shering S, Sherry F, McDermott E, O'Higgins N, 'CA 15-3: a prognostic marker in breast cancer' Int J Biol Markers 15, 330-334 (2000).
- Duffy MJ, 'Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful', Clin Biochem; 34, 347-352 (2001).
- Gion M, Boracchi P, Dittadi R, Biganzoli E, Peloso L, Mione R, et al, 'Prognostic role of serum CA 15-3 in node negative breast cancer. An old player for a new game', Eur J Cancer; 38, 1181-1188 (2002).
- Zamcheck, N, Adv Intern Med, 19, 413 (1974).
- Harrison, Principles of Internal Medicine, McGraw Hill Book Company, New York, 12th Ed. (1991).
- Wild D, The Immunoassay Handbook, Stockton Press, 444 (1994).
- Ali SM, Leitzel K, Vernon M, Chinchilli, Eagle L, Demers L, Harvey HA, Carney W, Allard JW and Lipton A, 'Relationship of serum Her-2/neu and serum CA 15-3 in patients with metastatic breast cancer', Clin Chem, 48; 8,1314-1320 (2002).
- Center for Disease Control / National Institute of Health, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2nd Edition, HHS Publication No. (CDC) 88-8395 (1988). 12. NCCLS. "Assessment of Laboratory Tests When Proficiency Testing is Not Available; Approved Guidelines." (2008).



#### ВИРОБНИК

MONOBIND INC.  
100 North Pointe Dr.  
Lake Forest, CA 92630 - USA  
Phone: 949.951.2665  
Fax: 949.951.3539  
[www.monobind.com](http://www.monobind.com)

МОНОБАЙНД ІНК  
100 Норд Поінт Драйв  
Лейк Форест, Каліфорнія 92630 - США  
Тел.: 949.951.2665  
Факс: 949.951.3539  
[www.monobind.com](http://www.monobind.com)



#### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»  
вул. Симона Петлюри, 25  
м. Івано-Франківськ, 76014  
тел.: +38 (0342) 775 122  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

