

REF



SYSTEM

07027001190

07027001500

300

cobas e 402

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

Nome abbreviato	ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione)
CA 15-3 2	10002

Nota

Il valore di CA 15-3 di un campione prelevato da un paziente può differire a seconda del metodo impiegato. Il risultato di laboratorio deve quindi sempre contenere un'indicazione relativa al metodo di determinazione di CA 15-3 utilizzato. I valori di CA 15-3 di campioni prelevati da pazienti che sono stati dosati con metodi diversi non possono essere paragonati l'uno con l'altro e possono causare interpretazioni mediche errate. Se nel corso del monitoraggio di una terapia avviene un cambio del metodo di determinazione di CA 15-3, i valori ottenuti durante la fase di passaggio vanno confermati mediante misurazioni parallele con entrambi i metodi.

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione quantitativa *in vitro* del CA 15-3 nel siero e nel plasma umani, eseguito per coadiuvare la gestione delle pazienti con cancro al seno. Insieme ad altri procedimenti clinici e diagnostici, le misurazioni seriali con questo test vengono impiegate per coadiuvare:

- la diagnosi precoce di recidive nelle pazienti con cancro mammario nello stadio II e III precedentemente trattato
- il monitoraggio della risposta alla terapia nelle pazienti con cancro mammario metastatico

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori **cobas e**.

Sommario

Il CA 15-3 (*Cancer Antigen* (antigene tumorale) 15-3) è derivato dalla glicoproteina mucina-1 (MUC-1).¹ Il test per il CA 15-3 impiega due anticorpi monoclonali (MAb), 115D8 e DF3, in un test sandwich per rilevare due siti antigenici associati alle cellule del carcinoma mammario. L'anticorpo MAb 115D8 è diretto contro le membrane globulari dei lipidi del latte umano,^{1,2,3} mentre l'anticorpo MAb DF3 è diretto contro la frazione membranosa del carcinoma mammario umano.⁴

L'antigene si trova normalmente nella secrezione luminale delle cellule ghiandolari e non circola nel sangue. Quando le cellule diventano maligne e le loro membrane basali diventano permeabili, l'antigene è rilevabile nel siero.⁵ La sovraespressione di MUC1 svolge un ruolo chiave nella transizione epitelio-mesenchimale, un fenomeno importante e complesso che determina la progressione del tumore.⁶ In una revisione di Duffy et al. è stato schematizzato un quadro delle linee guida relative al monitoraggio della malattia avanzata.⁷

L'approccio economico e minimamente invasivo del monitoraggio del CA 15-3 è indicato nelle linee guida dell'ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) e dell'EGTM (*European Group on Tumor Markers*), specialmente in presenza di una malattia non rilevabile con le tecniche di imaging convenzionali.⁸ Nelle linee guida dell'ESMO (*European Society for Medical Oncology*) sul carcinoma mammario si fa riferimento alla possibile utilità dei marcatori tumorali come il CA 15-3 ai fini della valutazione della risposta alla terapia, specialmente nelle pazienti con patologia metastatica non rilevabile. Una variazione nei marcatori tumorali non è, di per sé, un motivo per cambiare terapia.⁷

Principio del test

Principio sandwich. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 6 µL di campione vengono automaticamente prediluiti 1:20 con Diluent Universal. L'antigene (in 12 µL di campione prediluito), un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-CA 15-3 e un anticorpo monoclonale specifico anti-CA 15-3, marcato con un complesso di rutenio^{a)}, reagiscono formando un complesso sandwich.

- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.
- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell II M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita tramite **cobas link**.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e pack** è contrassegnato con CA15-3 2.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 fialone, 12,4 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Anticorpi anti-CA 15-3-biotina, 1 fialone, 19,7 mL: anticorpo (115D8; murino) monoclonale biotinilato 1.75 mg/L; tampone fosfato 20 mmol/L, pH 6.0; conservante.
- R2 Anticorpi anti-CA 15-3~Ru(bpy)₃²⁺, 1 fialone, 19,7 mL: anticorpo (DF3; murino) monoclonale anti-CA 15-3 marcato con un complesso di rutenio 10 mg/L; tampone fosfato 100 mmol/L, pH 7.0; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.



Avvertenza

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Prevenzione:

- P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
- P272 Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
- P280 Indossare guanti protettivi.

Reazione:

- P333 + P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
- P362 + P364 Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

Smaltimento rifiuti:

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento rifiuti approvato.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo del reattivo

I reattivi contenuti nella confezione formano un'unità inseparabile e sono pronti all'uso.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas** link.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e** pack in **posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

Stabilità:	
prima dell'apertura a 2-8 °C	fino alla data di scadenza indicata
sugli analizzatori	16 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.

Plasma con litio eparina, K₂-EDTA e K₃-EDTA.

Valutazione: slope 0.9-1.1 + intercetta entro $\leq \pm 2$ U/mL + coefficiente di correlazione ≥ 0.95 .

Stabilità: 48 ore a 20-25 °C, 5 giorni a 2-8 °C, 90 giorni a -20 °C (± 5 °C). Congelare solo 1 volta.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- REF 03045846122, CA 15-3 II CalSet, 4 x 1.0 mL
- REF 11776452122, PreciControl Tumor Marker, per 4 x 3.0 mL
- REF 07299001190, Diluent Universal, 45.2 mL di diluente per campioni
- Normale attrezzatura da laboratorio

Analizzatore **cobas e**

Altri materiali per gli analizzatori **cobas e** 402 e **cobas e** 801:

- REF 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
- REF 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
- REF 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M

- REF 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
- REF 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
- REF 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- REF 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- REF 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibrazione

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro il test Elecsys CA 15-3, il quale, a sua volta, è stato standardizzato contro il metodo Enzymun-Test CA 15-3 e contro il test CA 15-3 RIA di Fujirebio Diagnostics.

La curva master preimpostata viene adattata all'analizzatore impiegando l'appropriato CalSet.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto di reattivo con reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 12 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si impiega lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Tumor Marker.

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico della concentrazione dell'analita di ogni campione (in U/mL oppure in kU/L).

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

Composto	Concentrazione testata
Bilirubina	≤ 1130 μmol/L oppure ≤ 66 mg/dL
Emoglobina	≤ 0.621 mmol/L oppure ≤ 1000 mg/dL
Intralipid	≤ 1500 mg/dL
Biotina	≤ 287 nmol/L oppure ≤ 70 ng/mL
Fattori reumatoidi	≤ 1500 IU/mL

Criterio di valutazione: recupero ± 1.5 U/mL del valore iniziale per campioni ≤ 15 U/mL, entro ±10 % del valore iniziale per campioni da >15 a 50 U/mL ed entro ±13 % del valore iniziale per campioni > 50 U/mL.

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

Tipicamente, non può essere osservato alcun effetto hook^{b)} in caso di concentrazioni di CA 15-3 fino a 20000 U/mL. Tuttavia, a causa della natura eterogenea dell'antigene CA 15-3, non è possibile escludere del tutto l'effetto hook al di sotto di questo valore. In caso di risultato inaspettatamente basso, il campione va diluito 1:10 (consultare la sezione "Diluizione") e testato di nuovo.

Sostanze farmaceutiche

Tra 16 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza con il test.

Inoltre, sono stati testati i seguenti farmaci antitumorali speciali. Non è stata riscontrata alcuna interferenza con il test.

Farmaci antitumorali speciali

Farmaco	Concentrazione testata μg/mL
Carboplatino	200
Cisplatino	225
Ciclofosfamide	1000
Doxorubicina	75
Etoposide	400
5-FU	500
Flutamide	1000
Metotrexato	200
Mitomicina	25
Tamoxifene	50
Taxolo	5.5

Le interferenze da farmaci vengono misurate in base alle raccomandazioni contenute nelle linee guida EP07 e EP37 del CLSI e presenti in letteratura. Gli effetti causati dalle concentrazioni superiori a queste raccomandazioni non sono stati caratterizzati.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

b) Effetto hook: un campione con una concentrazione effettiva chiaramente al di sopra dell'intervallo di misura, ma che è rientrato nell'intervallo di misura.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

1.5-300 U/mL (definito dal limite di sensibilità e dal massimo valore della curva master). I valori al di sotto del limite di sensibilità vengono indicati come <1.5 U/mL. I valori al di sopra dell'intervallo di misura vengono indicati come >300 U/mL (oppure, su campioni diluiti 1:10, fino a 3000 U/mL).

Limiti inferiori di misura

Limite del bianco, limite di sensibilità e limite di quantificazione

Limite del bianco = 1.0 U/mL

Limite di sensibilità = 1.5 U/mL

Limite di quantificazione = 3 U/mL

Il limite del bianco, il limite di sensibilità ed il limite di quantificazione sono stati determinati in conformità ai requisiti EP17-A2 del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

Il limite del bianco corrisponde al valore del 95° percentile ottenuto in n ≥ 60 misurazioni di campioni privi di analiti in varie serie indipendenti l'una dall'altra. Il limite del bianco corrisponde alla concentrazione al di sotto della quale si riscontrano campioni privi di analiti con una probabilità del 95 %.

Il limite di sensibilità viene determinato in base al limite del bianco e alla deviazione standard dei campioni con concentrazioni basse. Il limite di sensibilità corrisponde alla concentrazione minima dell'analita che può essere rilevata (valore superiore al limite del bianco con una probabilità del 95 %).

Il limite di quantificazione rappresenta la concentrazione minima dell'analita che può essere misurata in modo riproducibile con un CV della precisione intermedia ≤ 20 %.

È stato effettuato uno studio interno basato sulle informazioni contenute nel protocollo EP17-A2 del CLSI. Nella determinazione del limite del bianco e del limite di sensibilità sono stati ottenuti i seguenti risultati:

limite del bianco = 0.576 U/mL

limite di sensibilità = 1.10 U/mL

Per il limite di quantificazione sono stati misurati ≥4 campioni di siero umano per 5 giorni, con 5 replicati al giorno, su 1 analizzatore. Con un CV della precisione intermedia ≤ 20 %, il limite di quantificazione era pari a 1.60 U/mL.

Diluizione

Impiegare Diluent Universal per la prediluizione automatica dei campioni. I campioni con concentrazioni di CA 15-3 al di sopra dell'intervallo di misura possono essere diluiti con Diluent Universal. È raccomandata la diluizione 1:10 (automaticamente dall'analizzatore o manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere > 30 U/mL.

Dopo la diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Dopo la diluizione automatica, il software calcola automaticamente la concentrazione del campione.

Valori di riferimento

• Soggetti sani:

Risultati ottenuti in uno studio relativo all'intervallo di riferimento, condotto con un panel di campioni prelevati da 374 donne apparentemente sane e non in stato di gravidanza (N. di studio Roche: RD000788)

Percentile (%)	U/mL	Intervallo di confidenza (U/mL)
95	26.2	25.2-27.9
97.5	28.5	26.7-34.5
99	34.5	28.7-57.8

• Pazienti con malattie benigne e donne in gravidanza:

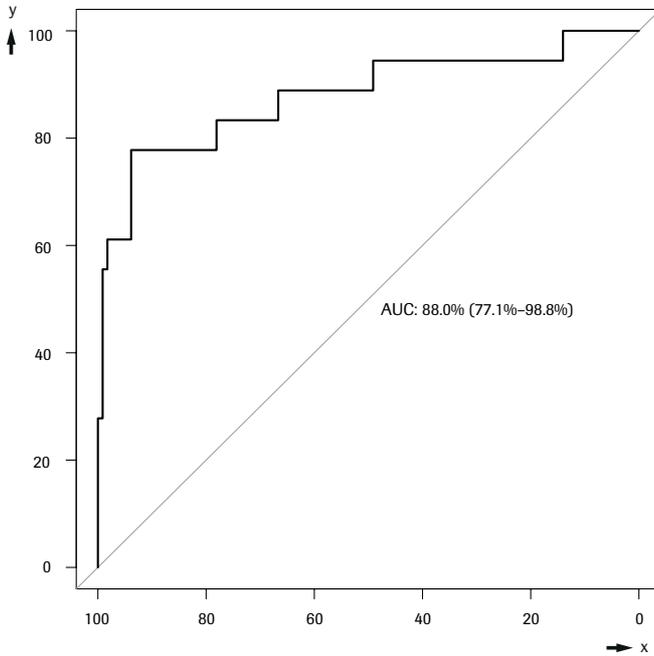
Distribuzione relativa delle concentrazioni di CA 15-3 nelle pazienti con malattie benigne e in stato di gravidanza (N. di studio Roche: B00P018)

	Totale di soggetti	<25 U/mL	25-50 U/mL	>50-200 U/mL	>200 U/mL
	N	Classificazione in percentuale (%)			
Malattia gastrointestinale	109	84	16	0	0
Malattia del seno	58	88	12	0	0
Malattie ginecologiche	42	83	12	5	0
Insufficienza renale	37	81	19	0	0
Malattie urologiche	34	82	18	0	0

I corrispondenti risultati per il valore predittivo positivo (VPP) ed il valore predittivo negativo (VPN), con intervallo di confidenza al 95 % per un cutoff pari al 25 % dell'aumento di CA 15-3, derivati dalla tabella, sono i seguenti:

Valore predittivo positivo: 40 % (24-58 %)

Valore predittivo negativo: 90 % (90-99 %)



x = specificità (%); y = sensibilità (%)

Figura 1: curva ROC; recidiva del carcinoma mammario in base alla variazione di CA 15-3 relativamente al valore di base.

L'area sotto la curva (AUC) è di 0.8796 (IC al 95 %: 0.7709-0.9884).

Monitoraggio della risposta alla terapia

15 pazienti con carcinoma mammario metastatico hanno seguito una terapia, e la risposta alla terapia è stata valutata in base a dei criteri clinici. Le valutazioni eseguite sono state in totale 72 (mediana: 4 valutazioni per ogni paziente). 14 pazienti hanno risposto alla terapia.

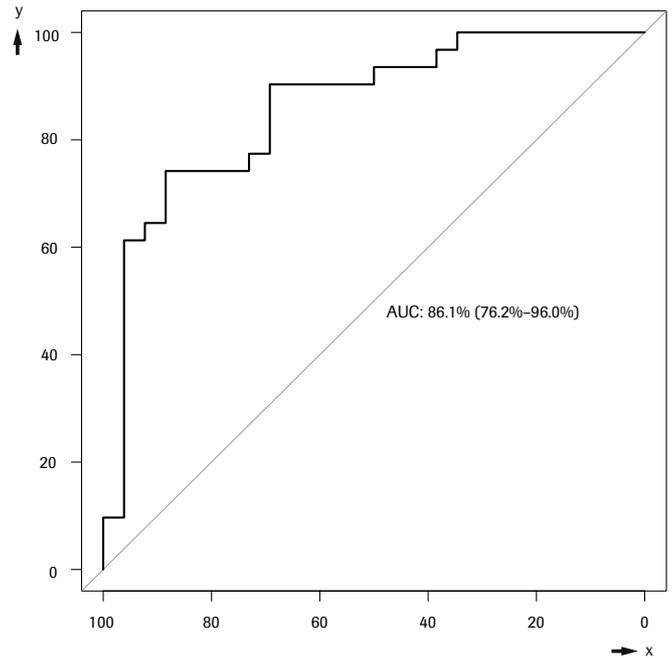
Tabella 2 x 2 per la risposta alla terapia

Riduzione di CA 15-3 > 25 %	Risposta	
	no	sì
no	25	19
sì	1	12

I corrispondenti risultati per il valore predittivo positivo (VPP) ed il valore predittivo negativo (VPN), con l'intervallo di confidenza al 95 %, derivati dalla tabella, sono i seguenti:

Valore predittivo positivo: 92 % (64-100 %)

Valore predittivo negativo: 57 % (41-72 %)



x = specificità (%); y = sensibilità (%)

Figura 2: curva ROC; risposta alla terapia contro il carcinoma mammario in base alla variazione di CA 15-3 relativamente al valore di base

L'area sotto la curva (AUC) è di 0.8610 (IC al 95 %: 0.7623-0.9598).

Letteratura

- Duffy MJ. CA 15-3 and related mucins as circulating markers in breast cancer. *Ann Clin Biochem*, 1999;36:579-586.
- Hilkens J, Buijs F, Hilgers J, et al. Monoclonal antibodies against human milk-fat globule membranes detecting differentiation antigens of the mammary gland. *Prot Biol Fluids* 1982;29:813-816.
- Hilkens J, Buijs F, Hilgers J, et al. Monoclonal antibodies against human milk-fat globule membranes detecting differentiation antigens of the mammary gland and its tumors. *Int J Cancer* 1984;34:197-206.
- Kufe D, Inghirami G, Abe M, et al. Differential reactivity of a novel monoclonal antibody (DF3) with human malignant versus benign breast tumor. *Hybridoma* 1984;(3):223-232.
- Sekine H, Ohno T, Kufe DW. Purification and characterization of a high molecular weight glycoprotein detectable in human milk and breast carcinomas. *J Immunol* 1985;135(5):3610-3615.
- Ponnusamy MP, Seshacharyulu P, Lakshmanan I, et al. Emerging role of mucins in epithelial to mesenchymal transition. *Curr cancer drug targets* 2013;13(9):945-56.
- Duffy MJ, Walsh S, McDermott EW, et al. Chapter One - Biomarkers in Breast Cancer: Where Are We and Where Are We Going?, In: Gregory S. Makowski, Editor(s), *Advances in Clinical Chemistry*, Elsevier, 2015;71: 1-23, ISSN 0065-2423, ISBN 9780128022566.
- Cardoso F, et al. ESMO Guidelines for advanced breast cancer. *Annals of Oncology*, 2018;29: 1634-1657.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Elecsys CA 15-3 II

cobas[®]

CA 15-3 è un marchio registrato di
Fujirebio Diagnostics, Inc.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog.roche.com):

	Contenuto della confezione
	Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati
	Reattivo
	Calibratore
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

