

The FastPack® IP Free PSA Assay should be used only with the FastPack® IP and FastPack® Total PSA Assay to calculate the ratio of free PSA to total PSA (percent free PSA). Results contained in this insert apply only to percent free PSA as measured by the FastPack® IP Free PSA and Total PSA Assays.

The concentration of free PSA and total PSA in a given specimen determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods and reagent specificity. The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the free and total PSA assay method used. Values obtained using different assay methods cannot be used interchangeably.

Free PSA concentrations are dependent on the standard used to calibrate the assay. Free PSA concentrations based on calibration to the WHO 96/670 Reference Preparation will differ significantly from Free PSA concentrations based on calibration to the original Hybritech assay. The concentrations are not inter-changeable. If the calibration is changed, accepted laboratory practice is to establish a new baseline for patient monitoring.¹ For more information on WHO and Hybritech configuration reference your instrument procedure manual.

CAUTION: United States Federal law restricts this device to sale and distribution by or on the order of a physician, or to a clinical laboratory; and use is restricted to, by or on the order of a physician.

INTENDED USE

The FastPack® IP Free PSA Immunoassay is a paramagnetic particle immunoassay for the in vitro quantitative determination of free prostate-specific antigen (free PSA) in human serum. The FastPack® IP Free PSA Immunoassay is designed for use in conjunction with the FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay and the FastPack® IP System for calculating the ratio of free/total PSA, expressed as a percentage (percent free PSA).

The percent free PSA, as measured by the FastPack® IP System, is intended for use as an aid to differentiate between prostate cancer and benign prostatic conditions, in male patients over 50 with total PSA values between 4 and 10 ng/ml and digital rectal examinations that are not suspicious for cancer. Prostatic biopsy is required for diagnosis of cancer.

SUMMARY

Prostate-specific antigen (PSA) is a glycoprotein (molecular weight 30,000-34,000 Daltons), which exhibits a high degree of homology with serine proteases of the kallikrein family. It has the function of serine protease with chymotrypsin-like activity.² The proteolytic activity of PSA in blood is inhibited by the irreversible formation of complexes with protease inhibitors such as α -1- antichymotrypsin (ACT), α -2-macroglobulin and other acute phase proteins.³ PSA occurs in three forms in blood: two immunodetectable forms are PSA complexed with the serine protease inhibitor α -1-antichymotrypsin; the second form is free or uncomplexed PSA.^{4, 5, 6} The third form that is undetectable in conventional immunoassay is PSA complexed with α -2 macroglobulin. This is due to engulfment and masking of PSA epitopes by the α -2 macroglobulin molecule.

Elevated levels of PSA in serum are generally indicative of a pathological condition of the prostate, for example, carcinoma, benign prostatic hyperplasia (BPH) or prostatitis.^{7,8,9} Prostate Specific Antigen is also present in paraurethral and anal glands, as well as breast tissue. An inflammation, trauma or stimulation of the prostate (e.g. following digital rectal examination, biopsy and colonoscopy, etc.) can result in PSA elevations of varying duration and magnitude. It has been demonstrated that the proportion of PSA-ACT in serum is higher in prostate cancer patients than in normal subjects and/or in patients with noncancerous prostatic diseases such as BPH or prostatitis.¹⁰

Determination of the free PSA level in a patient's sample and calculation of the percentage of free to Total PSA enhances the ability to differentiate between prostate cancer and prostatic diseases such as BPH. Measurement of free PSA thus reduces unnecessary biopsies and results in a reduction in cost.

TEST PRINCIPAL

The FastPack® IP Free PSA Immunoassay is a chemiluminescence assay based on the "sandwich" principle.

- Primary incubation: Specimen, control or calibrator [100 μ L] and antibody solution (mixture of a biotinylated monoclonal PSA-specific antibody and a monoclonal free PSA-specific antibody labeled with alkaline phosphatase) [100 μ L] react to form a sandwich complex.
- Secondary incubation: Streptavidin-coated paramagnetic particle solution (solid-phase) is added to the reaction mixture. During this incubation, the sandwich complex is bound to the solid-phase via the interaction of biotin and streptavidin.
- Removal of unbound materials: The paramagnetic particles are washed with wash buffer [0.2 mL/wash] to remove unbound materials.

- Substrate addition and detection: Chemiluminogenic substrate [140 µL] is added to the solid-phase bound complex and results in “glow” chemiluminescence, which is measured using the FastPack® IP Analyzer.
- The amount of bound labeled-antibody is directly proportional to the concentration of free PSA in the sample.

REAGENTS - Content and Concentration

FastPack IP® Free PSA Immunoassay Kit – Cat. No. 25000045

Each FastPack® IP carton contains:

- 30 FastPack® IPs

Each FastPack® IP Contains:

- Paramagnetic Particles, 150 µL
Streptavidin-coated paramagnetic particles in buffer containing 0.1% sodium azide as a preservative.
- Free PSA Antibody Solution, 100 µL
Antibody solution containing mouse monoclonal antibody coupled to biotin and mouse monoclonal antibody labeled with alkaline phosphatase in a protein matrix containing 0.1% sodium azide as preservative.
- Wash Buffer, 2.0 mL
Tris buffer containing surfactants.
- Substrate, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-phosphate and lucigenin in buffer containing preservatives.

Materials required but not provided

- FastPack® IP System
- FastPack® Free PSA Calibrator Kit - Cat. No. 25000008
- FastPack® PSA Control Kit - Cat. No. 25000003 (International)

WARNING AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke in designated work areas.
- Wash hands thoroughly after handling specimen.
- HAMA Interference: some individuals have antibodies to mouse protein (HAMA), which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. In particular, it has been reported that serum samples from patients who have undergone therapy or diagnostic procedures that include infusion of mouse monoclonal antibody may produce erroneous results in such assays.
- FastPack® IP reagents are stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use FastPack® IP reagents beyond expiration date.
- Discard used FastPacks into a biohazard container.
- The components containing Sodium Azide are classified per applicable European Economic Community (EEC) Directives as: Harmful (Xn). The following are appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases:

R22 Harmful if swallowed.
 R32 Contact with acids liberates very toxic gas.
 S2 Keep out of reach of children.
 S13 Keep away from food, drink and animal feeding stuffs.
 S36 Wear suitable protective clothing.
 S46 If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

STORAGE INSTRUCTIONS

Store at 2 - 8 °C. Protect from light.

SPECIMEN COLLECTION/PREPARATION

1. Serum is required for the FastPack® IP Free PSA Immunoassay. Plasma samples should not be used.
2. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) provides the following recommendations for handling, processing, and storing blood.^{11,12}
 - Collect all blood samples observing routine precautions for venipuncture.
3. It is not required that patients fast prior to blood collection.
4. For serum samples:
 - Ensure that complete clot formation has occurred before centrifugation. This takes approximately 30 minutes. Some samples may exhibit increased clotting time, especially those from patients receiving anticoagulant or thrombolytic therapy.
 - Serum should be centrifuged and separated from the clot within 3 hours from time of collection.
 - Remove serum from the cells prior to storage at 2-8 °C.
 - If not tested within 24 hours, the sample should be frozen at -20 °C or colder.
5. Do not freeze samples (-20 °C) for more than two months.
6. Frozen samples should be thawed completely and mixed by gentle inversion prior to use.
7. Samples should be free of Fibrin, Red Blood Cells, or other particulate material for optimal results. Serum samples showing turbidity and/or particulate matter should be centrifuged prior to use.
8. Ensure the samples are free of bubbles.

9. Samples collected up to 2 hours after DRE show no significant increases in PSA.¹³
10. Human samples should be handled in accordance with the OSHA standard on Bloodborne Pathogens.²¹

ASSAY PROCEDURE

See the FastPack® IP System Procedure Manual for information on operating the FastPack® IP System.

INSTRUMENTATION

FastPack® IP System

DETAILS OF CALIBRATION

During the FastPack® IP production process, Qualigen generates a master standard curve and places this information in the barcode of each FastPack® IP label, where it can be read by the FastPack® IP Analyzer during the testing sequence. The FastPack® IP Analyzer must be calibrated by the user to ensure that it is properly adjusted for the particular lot of FastPacks that are being used. Separate calibrations must be run for each type of test, i.e. Free PSA, Total PSA or Testosterone. The frequency of calibration varies for each test type. For the FastPack® IP Free PSA Immunoassay, the FastPack® IP Analyzer must be calibrated once every 14 days or whenever a new lot of Free PSA FastPacks are to be used.

Whenever the user performs an initial calibration for a particular lot of FastPacks or uses a new lot of calibrator, 2 FastPacks must be run for calibration (duplicates). Whenever recalibration is performed with the same lot of FastPacks and calibrator, 2 FastPacks must be run for calibration. See FastPack® IP System Procedure Manual for "Running a Calibration".

Use FastPack® Free PSA Calibrator Kit – Cat. No. 25000008

RESULTS

The FastPack® IP Analyzer uses the information from the barcode to construct a lookup table of x,y values that represent the standard curve and estimates the concentration of unknown samples by linear interpolation.

QUALITY CONTROL

Quality control materials simulate real specimens and are essential for monitoring the system performance of assays. Good Laboratory Practices (GLP) include the use of control specimens to ensure that all reagents and protocols are performing properly. See FastPack® IP System Procedure Manual for "Running Controls".

Controls available: FastPack® PSA Control Kit – Cat. No. 25000003 (International)

LIMITATION OF PROCEDURE

- The FastPack® IP Free PSA is not intended to be used to diagnose prostate cancer.
- Samples can be accurately measured within the reportable range of the analytical sensitivity and the highest calibrator, 20 ng/mL (16.0 ng/mL WHO).
- Samples > 20 ng/mL (16.0 ng/mL WHO) should be run using another method. Dilution of out of range results is not recommended.
- FastPack® IP Free PSA Immunoassay is tested up to 1000 ng/mL and showed no hook effect.
- Samples from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such samples may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits that employ mouse monoclonal antibodies.^{14,15}
- It is known that in rare cases PSA isoforms do exist which may be measured differently by different PSA tests. Findings of this kind have occasionally been reported for PSA tests from various manufacturers.^{16,17,18}
- Heterophilic antibodies in serum have the potential to cause interference in immunoassay systems.^{19,20} Infrequently, PSA levels may appear elevated due to heterophilic antibodies present in the patient's serum or to nonspecific protein binding. If the PSA level is inconsistent with clinical evidence, additional PSA testing is suggested to confirm the result.
- Prostatic massage, ultrasonography and needle biopsy may cause clinically significant elevation in PSA levels. Hormonal therapy may affect PSA expression, therefore a low PSA level after treatment that includes hormonal therapy may not adequately reflect the presence of residual or recurrent disease.
- The results from the FastPack® IP Free PSA Immunoassay should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Prostate cancer is more likely to produce bound PSA. Therefore, the ratio of free to total PSA is used to determine how much PSA exists as bound PSA. The relative risk of prostate cancer is as low as 8% if the free PSA ratio is over 25% and as high as 56% if the ratio is <10%. In Caucasian men with total PSA between 4 & 10 ng/mL, 95% of those found to have cancer by biopsy have a free to total ratio of <24% and 90% have a ratio of <22%. Based on these results, some urologists recommend prostate biopsy for men with ratios <25%. Men with higher ratios can be followed with annual examinations. Using a single decision point of 25% free PSA as an indication for biopsy will detect 95% of cancers and avoid 25% of unnecessary biopsies. Free PSA ratio can also be used to counsel patients about their individual cancer risk. Patients can then decide to have a biopsy or wait and reevaluate PSA in 6 months.²¹ Note: referenced study was not using the FP system and is only presented as a basis for scientific validity.

A total of 101 patient samples with the 100µL tPSA assay and 100 samples with the 25µL tPSA assay recovered between the 4-10 ng/mL. The table below represents a distribution of results that fell within each of the Free to Total PSA ratios at a certain age using the FP system and do not represent cancer probability.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Free to Total ratio (%)	Age (years)		
		50-59	60-69	70+
4 to 10	<10	36.4% (8)	11.1% (5)	20.6% (7)
4 to 10	10-25	54.5% (12)	68.9% (31)	64.7% (22)
4 to 10	>25	9.1% (2)	20% (9)	14.7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA (ng/mL)	Free to Total ratio (%)	Age (years)		
		50-59	60-69	70+
4 to 10	<10	31.8% (7)	17.4% (8)	25% (8)
4 to 10	10-25	63.6% (14)	65.2% (30)	65.6% (21)
4 to 10	>25	4.5% (1)	17.4% (8)	9.4% (3)

Total PSA 100 µL

WHO PSA (ng/mL)	Free to Total ratio (%)	Age (years)		
		50-59	60-69	70+
3.2 to 8	<10	36.4% (8)	11.1% (5)	20.6% (7)
3.2 to 8	10-25	54.5% (12)	68.9% (31)	64.7% (22)
3.2 to 8	>25	9.1% (2)	20% (9)	14.7% (5)

Total PSA 25 µL

WHO PSA (ng/mL)	Free to Total ratio (%)	Age (years)		
		50-59	60-69	70+
3.2 to 8	<10	31.8% (7)	17.4% (8)	25% (8)
3.2 to 8	10-25	63.6% (14)	65.2% (30)	65.6% (21)
3.2 to 8	>25	4.5% (1)	17.4% (8)	9.4% (3)

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

The reproducibility of the Free PSA assay was measured by assaying five different levels (n=80, for each level) twenty non-consecutive days using two analyzers and two lots of reagents. The coefficient of variation (%CV) between analyzers, between runs was calculated using analysis of variance.

Lot 1

Sample	Average, ng/mL		Within Run	Between Run	Between Day	Total Precision	%TE	%T'Ea
	Hybritech	WHO	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0.34	0.27	10.416	2.812	6.019	12.354	27.454	30
2	1.84	1.47	7.065	0.000	5.761	9.116	28.344	30
3	5.55	4.44	6.554	2.725	6.618	9.705	17.550	30
4	10.86	8.69	6.770	0.000	7.026	9.757	21.756	30
5	16.60	13.28	5.434	1.852	8.890	10.582	23.599	30

Lot 2

Sample	Average, ng/mL		Within Run	Between Run	Between Day	Total Precision	%TE	%T'Ea
	Hybritech	WHO	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0.44	0.35	5.794	4.492	0.534	7.351	19.438	30
2	2.28	1.82	5.241	0.000	2.078	5.638	10.917	30
3	6.16	4.93	4.527	0.000	1.361	4.727	12.199	30
4	11.19	8.96	4.519	2.102	0.516	5.011	11.174	30
5	16.17	12.93	5.520	0.000	2.482	6.053	11.688	30

Method Comparison

152 serum samples were used to compare FastPack® Free PSA against predicate Beckman Access Hybritech free PSA. Evaluation was performed using Passing-Bablok regression analysis, with a slope of 1.09, intercept of 0.006 ng/mL (Hybritech) and r-value of 0.986.

N	Range of Values (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	R
152	0.16 to 17.2	0.006	1.09	0.986

N	Range of Values, WHO (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	R
152	0.13 to 13.8	0.005	1.09	0.986

INTERFERING SUBSTANCES

Interfering substances were added to serum pools or controls containing known amounts of free PSA. The value obtained for the sample with each interfering substance was compared to the value obtained for the sample without the interfering substance. The following compounds did not show interference at the levels indicated.

Test Compound	Test Concentration	Chemotherapeutic Agents	Concentration
d-Biotin	500 ng/mL	Cyclophosphamide	700 µg/mL
Bilirubin	49 mg/dL	Diethylstilbestrol	2 µg/mL
Hemoglobin	600 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Human IgG	1000 mg/dL	Methotrexate	8 µg/mL
Prostatic Acid Phosphatase (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Triglycerides	1000 mg/dL	Hytrin	40 µg/mL
Total Protein	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Ketoconazole	200 µg/mL

* Interferences was found with d-Biotin above 500 ng/mL.

Analytical Sensitivity:**Limit of Blank (LOB), Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantitation (LOQ)**

The limit of blank (LOB, the highest measurement likely to be observed for a blank sample), limit of detection (LOD, the lowest amount of analyte in a sample that can be detected with type I and II error rates set to 5%), and limit of quantitation (LOQ, the lowest amount of analyte in a sample that can be reliably detected) were determined according to CLSI EP17-A2. In this study the limit of blank was determined from 240 replicate determinations of a blank sample tested on six different FastPack® analyzers using three reagent lots. Raw RLUs from the assays were converted to apparent ng/mL based on the calibration curve for each assay. The LOB was determined as the 228th rank of the sorted distribution of values. This value was 0.01 ng/mL FPSA.

The LOD was estimated from 180 replicate determinations of four low level samples. Per the CLSI EP17-A2 guideline, the parametric LOD calculation was utilized and yielded 0.03 ng/mL FPSA.

The LOQ was determined as the lowest sample which provided <20% CV. The LOQ was set to 0.05 ng/mL.

Analytical Specificity

Analytical Specificity was measured by spiking PSA/ACT complex into Calibrator Matrix at levels of 1000 ng/mL, 500 ng/mL, and 100 ng/mL. Less than 1% cross-reactivity was observed in each case.

REFERENCES

- ¹ Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- ¹ Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- ² Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- ³ Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- ⁴ Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- ⁵ Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- ⁶ Partin AW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- ⁷ Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- ⁸ Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- ⁹ Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- ¹⁰ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹¹ Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹² Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- ¹³ Primus FJ, Kelly EA, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- ¹⁴ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁵ Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- ¹⁶ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁷ Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- ¹⁸ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁹ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ²⁰ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- ²¹ Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542–1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011
USA
Technical Support
(760) 918-9165



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germany



Für die quantitative Messung von freiem prostata-spezifischem Antigen (freies PSA) in menschlichem Serum

Der FastPack® IP Freies PSA-Assay sollte nur zusammen mit dem FastPack® IP und FastPack® (Gesamt-) PSA-Assay verwendet werden, um das Verhältnis von freiem PSA zum gesamten PSA (Prozent an freiem PSA) zu berechnen. Die auf diesem Beipackzettel angegebenen Ergebnisse beziehen sich nur auf den mit den FastPack® IP Freies PSA und (Gesamt-) PSA-Assays gemessenen prozentualen Anteil freien PSAs.

Die Konzentration von freiem PSA und Gesamt-PSA in ein und derselben Probe, die mit Assays verschiedener Hersteller ermittelt wurde, kann infolge unterschiedlicher Assymethoden und Reagenzienspezifität variieren. Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse müssen daher einen Hinweis auf die verwendete freie und Gesamt-PSA-Assymethode enthalten. Mit unterschiedlichen Assymethoden erhaltene Werte können nicht austauschbar verwendet werden.

Freie PSA-Konzentrationen hängen ab von dem Standard, der zur Kalibration des Assays verwendet wird. Freie PSA-Konzentrationen, die auf der Kalibration nach der WHO 96/670 Referenzpräparation basieren, unterscheiden sich erheblich von Freien PSA-Konzentrationen, die auf der Kalibration nach dem Hybritech-Originalassay basieren. Die Konzentrationen sind nicht austauschbar. Wird die Kalibration geändert, muss gemäß akzeptierter Laborpraxis eine neue Grundlinie zur Patientenüberwachung erstellt werden. ¹ Weitere Informationen mit Hinweisen zur WHO- und Hybritech-Konfiguration sind dem Verfahrenshandbuch zum Instrument zu entnehmen.

VORSICHT: Der Verkauf dieses Artikels ist gesetzlich nur an Ärzte oder im Auftrag eines Arztes bzw. nur an klinische Labors zugelassen. Der Gebrauch ist nur durch einen Arzt oder im Auftrag eines Arztes zulässig.

VERWENDUNGSZWECK

FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay ist ein Immunoassay mit paramagnetischen Partikeln zur quantitativen In-vitro- Bestimmung von freiem prostata-spezifischem Antigen (freies PSA) in menschlichem Serum. Er ist zur Verwendung mit dem FastPack® IP und FastPack® (Gesamt-) PSA-Immunoassay und dem FastPack® IP System vorgesehen, um das Verhältnis von freiem zu gesamtem PSA (ausgedrückt in Prozent an freiem PSA) zu berechnen.

Der durch das FastPack® IP System gemessene Prozentsatz an freiem PSA dient als Hilfe zur Unterscheidung zwischen Prostatakrebs und gutartigen Prostatazuständen an männlichen Patienten über 50, die einen Gesamt-PSA-Wert zwischen 4 und 10 ng/mL vorweisen und bei denen die digitale Rektaluntersuchung nicht auf Krebs schließen lässt. Zur Krebsdiagnose ist eine Prostatabiopsie erforderlich.

ÜBERSICHT

Prostata-spezifisches Antigen (PSA) ist ein Glykoprotein (Molekulargewicht 30.000-34.000 Dalton), welches einen hohen Grad an Übereinstimmung mit Serinproteasen der Kallikrein-Familie aufweist. Es besitzt die Funktion von Serinprotease mit chymotrypsin-ähnlicher Aktivität.² Die proteolytische Aktivität von PSA im Blut wird durch die irreversible Bildung von Komplexen mit Proteaseinhibitoren, wie z.B. α -1-Antichymotrypsin (ACT), α -2-Makroglobulin und andere Proteine akuter Phasen, verhindert.³ PSA tritt im Blut in drei Formen auf: Die zwei durch Antikörper nachweisbaren Formen sind PSA in Komplexen mit dem Serinproteaseinhibitor α -1-Antichymotrypsin, und freies oder komplexloses PSA.^{4,5,6} Bei der dritten Form, welche sich durch herkömmliche Immunoassays nicht nachweisen lässt, handelt es sich um PSA in Komplexen mit α -2-Makroglobulin. Der Grund für die mangelnde Nachweisbarkeit ist die Penetration und Maskierung der PSA-Epitope durch das α -2- Makroglobulinmolekül.

Erhöhte PSA-Werte in Serum lassen im Allgemeinen auf einen pathologischen Zustand der Prostata schließen, z.B. Karzinom, gutartige Prostatavergrößerung (BPH) oder Prostatitis.^{7,8,9} Prostata-spezifisches Antigen ist auch in paraurethralen und analen Drüsen einschließlich dem Brustgewebe anwesend. Entzündung, Trauma oder Reizung der Prostata (z.B. nach einer digitalen Rektaluntersuchung, Biopsie und Kolonoskopie u.Ä.) kann zu Erhöhungen der PSA-Werte unterschiedlicher Dauer und Größenordnung führen. Es wurde nachgewiesen, dass der Anteil an PSA-ACT im Serum von Patienten mit Prostatakrebs höher liegt als bei normalen Männern und/oder bei Patienten mit gutartigen Prostataerkrankungen wie z.B. BPH oder Prostatitis.¹⁰

Die Bestimmung der freien PSA-Konzentration in einer Probe des Patienten und die Berechnung des Prozentsatzes an freiem relativ zum gesamten PSA verbessert die Möglichkeit, zwischen Prostatakrebs und Prostataerkrankungen wie BPH unterscheiden zu können. Die Messung des freien PSA reduziert daher unnötige Biopsien und sorgt für Kostenersparnis.

TESTPRINZIP

Bei dem FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay handelt es sich um ein Chemolumineszenzassay nach dem Sandwich-Prinzip.

- Primärinkubation: Probe, Kontrolle bzw. Kalibrator [100 µL] und Antikörperlösung (Gemisch aus biotinyliertem monoklonalem PSA-spezifischem Antikörper und einem mit alkalischer Phosphatase markiertem, monoklonalen freien PSA-spezifischen Antikörper) [100 µL] reagieren miteinander und bilden dabei einen Sandwich-Komplex.
- Sekundärinkubation: Dem Reaktionsgemisch wird eine Lösung aus streptavidin-beschichteten paramagnetischen Partikeln (feste Phase) zugefügt. Während der Inkubation wird der Sandwich-Komplex durch die Reaktion zwischen dem Biotin und Streptavidin an die feste Phase gebunden.
- Entfernung der ungebundenen Stoffe: Zur Entfernung der ungebundenen Stoffe werden die paramagnetischen Partikel mit Waschlösung [0,2 mL/Waschlösung] gewaschen.
- Substratzugabe und Nachweis: Dem an die Festphase gebundenen Komplex wird chemoluminogenes Substrat [140 µL] zugefügt, wodurch Chemolumineszenz entsteht, die mit dem FastPack® IP Analyzer gemessen wird.
- Die Menge des gebundenen markierten Antikörpers verhält sich direkt proportional zur Konzentration an freiem PSA in der Probe.

REAGENZIEN – Inhalt und Konzentration

FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay - Kat.-Nr. 25000045

Jeder FastPack® IP-Karton enthält:

- 30 FastPacks

Jeder FastPack® IP enthält:

- Paramagnetische Partikel, 150 µL
Streptavidin-beschichtete paramagnetische Partikel in Puffer mit 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.
- Freie PSA-Antikörperlösung, 100 µL
Antikörperlösung mit monoklonalem Mäuse-Antikörper gekoppelt an mit Biotin und alkalischer Phosphatase markierten monoklonalen Mäuse-Antikörper in einer Proteinmatrix, welche einen Zusatz von 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.
- Waschlösung, 2,0 mL
Oberflächenaktive Substanzen mit Tris-Puffer.
- Substrat, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-Phosphat und Lucigenin in Puffer mit Konservierungsstoffen.

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang inbegriffen sind

- FastPack® IP System
- FastPack® Freies PSA Kalibrator-Kit - Kat. Nr. 25000008
- FastPack® Kontroll-Kit - FastPack® PSA Kontroll-Kit - Kat. Nr. 25000003 (International)

WARNUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den betreffenden Arbeitszonen weder essen, trinken noch rauchen.
- Hände nach dem Umgang mit Proben gründlich waschen.
- HAMA-Interferenz: Einige Personen besitzen Antikörper zu Mausproteinen (HAMA), was zu Interferenz in Immunoassays führen kann, welche von Mäusen gewonnene Antikörper verwenden. Insbesondere ist bekannt, dass Serumproben von Patienten, die aus therapeutischen oder diagnostischen Gründen eine Infusion von monoklonalem Antikörper aus Mäusen erhalten haben, zu fehlerhaften Resultaten in solchen Assays führen können.
- Bei vorgeschriebener Lagerung und Handhabung sind FastPack® IP Reagenzien bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. FastPack® IP Reagenzien dürfen nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden.
- Die gebrauchten FastPack® IP und FastPack® in einem Sonderbehälter für Bioabfall entsorgen.
- Bestandteile, welche Natriumazid enthalten, sind gemäß einschlägiger Richtlinie der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EWG) als „Schädlich (Xn)“ eingestuft. Dabei kommen folgende Risiko- (R) und Sicherheitsbestimmungen (S) zur Anwendung:

- R22 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
- R32 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
- S2 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
- S13 Von Nahrungsmitteln, Getränken und Futtermitteln fernhalten.
- S36 Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.
- S46 Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat einholen und Verpackung oder Etikett vorzeigen.

LAGERUNG

Bei 2 - 8 °C Lagern. Vor Licht schützen.

ENTNAHME UND AUFBEREITUNG DER PROBEN

1. Für den FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay ist Serum erforderlich. Plasmaproben dürfen nicht verwendet werden.

2. Das National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) erteilt folgende Empfehlungen für die Handhabung, Aufbereitung und Lagerung von Blut.^{11,12}
 - Bei der Entnahme von Blutproben sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen bei der Venenpunktion zu beachten.
3. Patienten brauchen vor der Blutentnahme nicht zu fasten.
4. Für Serumproben:
 - Erst nach vollständiger Gerinnung zentrifugieren. Dieses dauert ca. 30 Minuten. Bei manchen Proben kann die Gerinnung länger dauern, besonders bei Proben von Patienten unter Antikoagulantien- oder Thrombolysetherapie.
 - Das Serum innerhalb von 3 Stunden nach der Entnahme zentrifugieren und vom geronnenen Blut trennen.
 - Das Serum von den Zellen trennen und anschließend bei 2 – 8 °C lagern.
 - Proben, die nicht innerhalb von 24 Stunden analysiert werden, müssen bei mindestens –20 °C eingefroren werden.
5. Proben nicht länger als zwei Monate (bei –20 °C) einfrieren.
6. Eingefrorene Proben sollten vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut und durch sanftes Umdrehen gemischt werden.
7. Für optimale Ergebnisse müssen Proben frei von Fibrin, roten Blutzellen oder anderen Partikelstoffen sein. Serumproben mit Anzeichen von Trübung und Partikelstoffen sind vor der Verwendung zu zentrifugieren.
8. Die Proben dürfen keine Blasen aufweisen.
9. Proben, die bis zu 2 Stunden nach einer digitalen Rektaluntersuchung entnommen wurden, zeigen keine signifikante Zunahme der PSA-Werte.¹³
10. Humanproben sind entsprechend dem OSHA-Standard für blutübertragene Krankheitserreger zu behandeln.²¹

ASSAYVERFAHREN

Zum Einfüllen der Probe in den FastPack® IP und zur Bedienung des FastPack® IP Analyzers siehe das Bedienungshandbuch des FastPack Systems.

ANALYSEGERÄT

FastPack® IP System

EINZELHEITEN ZUR KALIBRIERUNG

Während des FastPack® IP Produktionsprozesses generiert Qualigen eine Standardkurve und schreibt diese Informationen in den Barcode jedes FastPack® IP Etiketts, aus dem sie vom FastPack® IP Analyzer während der Testsequenz gelesen werden können. Der FastPack® IP Analyzer muss vom Benutzer kalibriert werden, um sicherzustellen, dass er für die verwendete Charge von FastPacks ordnungsgemäß justiert ist. Für jeden Testtyp, z. B. freies PSA, gesamtes PSA oder Testosteron, müssen separate Kalibrierungen vorgenommen werden. Die Kalibrierungshäufigkeit ist für jeden Testtyp verschieden. Für den FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay muss der FastPack® IP Analyzer alle 14 Tage oder vor jedem Gebrauch einer neuen Charge von Freies-PSA FastPacks kalibriert werden.

Jedes Mal, wenn der Benutzer eine Anfangskalibration für eine bestimmte FastPack® IP und FastPack®-Charge vornimmt oder eine neue Kalibrator-Charge benutzt, müssen zur Kalibrierung 2 FastPacks (Duplikate) analysiert werden. Wird eine Neukalibrierung mit der gleichen Charge von FastPacks und Kalibrator vorgenommen, sind zwei FastPacks erforderlich. Siehe hierzu „Kalibrierung“ im Bedienungshandbuch des FastPack® IP Systems.

Zur Kalibrierung dient das FastPack® Freies PSA-Kalibrator-Kit – Kat.-Nr. 25000008.

ERGEBNISSE

Der FastPack® IP Analyzer verwendet die Informationen vom Barcode zum Aufbau einer Suchtabelle von x-y-Werten, welche die Standardkurve darstellen, aus der die Konzentration unbekannter Proben durch lineare Interpolation bestimmt wird.

QUALITÄTSKONTROLLE

Stoffe zur Qualitätskontrolle werden zur Simulation echter Proben verwendet und sind von wesentlicher Bedeutung für die Leistungsüberwachung der Assays. Zu den Arbeitsgrundsätzen jedes guten Labors sollte die Verwendung von Kontrollproben gehören, um zu gewährleisten, dass alle Reagenzien und Protokolle sich einwandfrei verhalten. Siehe das Bedienungshandbuch des FastPack® IP Systems zur Bearbeitung der Kontrollen.

Verfügbare Kontrollen: FastPack® PSA Kontroll-Kit – Kat. Nr. 25000003 (International)

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Der FastPack® IP Free PSA ist nicht zur Verwendung bei der Diagnose von Prostatakrebs vorgesehen.
- Eine exakte Messung der Proben ist innerhalb des erkennbaren Bereichs der Analyseempfindlichkeit von 20 ng/mL (16.0 ng/mL WHO) möglich.
- Proben >20 ng/mL (>16 ng/mL WHO) sollten mit einem anderen Verfahren analysiert werden. Die Verdünnung von aus dem zulässigen Bereich fallenden Ergebnissen wird nicht empfohlen.
- FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay wurde mit bis zu 1.000 ng/mL getestet, ohne dass sich ein Hook-Effekt einstellte.
- Proben von Patienten, welche aus diagnostischen oder therapeutischen Gründen Präparate aus monoklonalen Antikörpern von Mäusen erhalten haben, enthalten eventuell menschliche Anti-Maus-Antikörper (HAMA). Durch Analyse mit Assay-Kits, die monoklonale Mäuse-Antikörper verwenden, können diese Proben fälschlicherweise entweder erhöhte oder verringerte Werte aufweisen.^{14,15}
- Es ist bekannt, dass in seltenen Fällen PSA-Isoformen existieren, die in unterschiedlichen PSA-Tests zu unterschiedlichen Messungen führen. Erkenntnisse dieser Art bei PSA-Tests von verschiedenen Herstellern wurden gelegentlich berichtet.^{16,17,18}
- Heterophile Antikörper im Serum können eventuell zu Interferenzen in Immunoassaysystemen führen.^{19,20} In seltenen Fällen können erhöhte PSA-Werte aufgrund von heterophilen Antikörpern im Serum des Patienten oder infolge unspezifischer Proteinbindung auftreten. Steht der PSA-Wert im Widerspruch zur klinischen Beurteilung, werden zur Untermauerung der Ergebnisse weitere PSA-Tests empfohlen.
- Prostata Massage, Sonographie und Nadelbiopsie können dagegen eine klinisch signifikante Erhöhung verursachen. Da das PSA-Bild durch Hormontherapie verfälscht werden kann, ist es möglich, dass der PSA-Wert nach einer Behandlung mit Einschluss von Hormontherapie das Vorhandensein einer Rest- oder Rückfallerkrankung nicht korrekt widerspiegelt.
- Die mit dem FastPack® IP Freies PSA-Immunoassay gewonnenen Ergebnisse stets zusammen mit der Krankengeschichte, mit klinischen Untersuchungen des Patienten und sonstigen Erkenntnissen herangezogen werden.

KLINISCHE SIGNIFIKANZ

Prostatakrebs produziert mit größerer Wahrscheinlichkeit gebundenes PSA. Daher wird das Verhältnis von freiem PSA zum Gesamt-PSA herangezogen, um zu bestimmen, wieviel PSA als gebundenes PSA vorliegt. Das relative Risiko für Prostatakrebs liegt bei nur 8 %, wenn das freie PSA-Verhältnis über 25 % beträgt, und bei bis zu 56 %, wenn das Verhältnis unter 10 % liegt. Bei weißen Männern mit einem Gesamt-PSA von 4 bis 10 ng/ml haben 95 % der Männer, bei denen anhand einer Biopsie Krebs festgestellt wurde, ein Verhältnis des freien PSA zum Gesamt-PSA von unter 24 % und 90 % ein Verhältnis von unter 22 %. Auf Grundlage dieser Ergebnisse empfehlen manche Urologen eine Prostatabiopsie für Männer mit einem Verhältnis von unter 25 %. Bei Männern mit einem höheren Verhältnis können jährliche Untersuchungen zur Kontrolle durchgeführt werden. Mit der Verwendung eines einzigen Entscheidungspunkts, nämlich 25 % freies PSA, als Indikation für Biopsie werden 95 % der Karzinome nachgewiesen und 25 % unnötige Biopsien vermieden. Das freie PSA-Verhältnis kann auch zur Beratung von Patienten in Bezug auf ihr individuelles Krebsrisiko herangezogen werden. Patienten können dann entscheiden, sich einer Biopsie zu unterziehen oder zu warten und das PSA in 6 Monaten erneut zu bewerten. 21 Hinweis: Bei der referenzierten Studie wurde nicht das FP-System verwendet und es wird lediglich als Grundlage für die wissenschaftliche Gültigkeit präsentiert.

Insgesamt 101 Patientenproben mit dem 100 µl tPSA-Assay und 100 Proben mit dem 25 µl tPSA-Assay ergaben eine Rückgewinnung von 4–10 ng/ml. Die Tabelle unten repräsentiert eine Verteilung von Ergebnissen, die unter jedes der Verhältnisse von freiem zum Gesamt-PSA in einem bestimmten Alter unter Verwendung des FP-Systems fielen und diese stehen nicht für die Wahrscheinlichkeit von Krebs.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Anteil an freiem (%)	Alter (Jahre)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
4 - 10	10 - 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
4 - 10	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA (ng/mL)	Frei zu Gesamtverhältnis (%)	Alter (Jahre)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
4 - 10	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
4 - 10	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

Total PSA 100 µL

WHO PSA (ng/mL)	Anteil an freiem (%)	Alter (Jahre)		
		50-59	60-69	70+
3,2 bis 8	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
3,2 bis 8	10 - 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
3,2 bis 8	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

WHO PSA (ng/mL)	Frei zu Gesamtverhältnis (%)	Alter (Jahre)		
		50-59	60-69	70+
3,2 bis 8	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
3,2 bis 8	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
3,2 bis 8	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

SPEZIFISCHE LEISTUNGSKENNWERTE

Genauigkeit

Die Reproduzierbarkeit des Free PSA-Assay wurde durch Tests von fünf verschiedenen Stufen (n=80, für jede Stufe) an zwanzig nicht aufeinanderfolgenden Tagen mithilfe von zwei Analysegeräten und zwei Reagenzienchargen getestet. Der Variationskoeffizient (% CV) zwischen Analysegeräten und zwischen Durchläufen wurde mithilfe einer Varianzanalyse berechnet.

Charge 1

Probe	Durchschnitt, ng/ml		In Durchlauf	Zwischen Durchläufen	Zwischen Tagen	Präzision insgesamt	% TE	% T'Ea
	Hybritech	WHO	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,34	0,27	10,416	2,812	6,019	12,354	27,454	30
2	1,84	1,47	7,065	0,000	5,761	9,116	28,344	30
3	5,55	4,44	6,554	2,725	6,618	9,705	17,550	30
4	10,86	8,69	6,770	0,000	7,026	9,757	21,756	30
5	16,60	13,28	5,434	1,852	8,890	10,582	23,599	30

Charge 2

Probe	Durchschnitt, ng/ml		In Durchlauf	Zwischen Durchläufen	Zwischen Tagen	Präzision insgesamt	% TE	% T'Ea
	Hybritech	WHO	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,44	0,35	5,794	4,492	0,534	7,351	19,438	30
2	2,28	1,82	5,241	0,000	2,078	5,638	10,917	30
3	6,16	4,93	4,527	0,000	1,361	4,727	12,199	30
4	11,19	8,96	4,519	2,102	0,516	5,011	11,174	30
5	16,17	12,93	5,520	0,000	2,482	6,053	11,688	30

Methodenvergleich

152 Serumproben wurden zum Vergleich von FastPack® Free PSA mit dem Beckman Access Hybritech PSA-Prädikaten verwendet. Die Evaluation wurde unter Verwendung der Passing-Bablok-Regressionsanalyse durchgeführt, mit einer Neigung von 1,09, einem Schnittpunkt von 0,006 ng/ml (Hybritech) und R-Wert von 0,986.

N	Wertebereich (ng/ml)	Schnittpunkt (ng/ml)	Neigung	R
152	0,16 bis 17,2	0,006	1,09	0,986

N	Wertebereich, WHO (ng/ml)	Schnittpunkt (ng/ml)	Neigung	R
152	0,13 bis 13,8	0,005	1,09	0,986

STÖRENDE SUBSTANZEN

Störsubstanzen wurden Serumpools mit bekanntem Gehalt an freiem PSA hinzugefügt. Der für jedes Serumpool mit Störsubstanz gewonnene Wert wurde mit dem Wert des Serumpools ohne Störsubstanz verglichen. Bei den folgenden Stoffen wurden keine Störeinflüsse bei den angegebenen Konzentrationen festgestellt.

Prüfstoff	Prüfkonzentration	Chemotherapeutische Mittel	Konzentration
d-Biotin	500 ng/mL	Cyclophosphamid	700 µg/mL
Bilirubin	49 mg/dL	Diethylstilbestrol	2 µg/mL
Hämoglobin	600 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Menschliches IgG	1000 mg/dL	Methotrexat	8 µg/mL
Saure Phosphatase der Prostata (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Triacylglycerine	1000 mg/dL	Hytrin	40 µg/mL
Gesamtprotein	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Ketoconazole	200 µg/mL

* Interferenzen gab es mit d-Biotin bei über 500 ng/ml.

Analytische Sensitivität:

Leerwert-Obergrenze (LOB), Nachweisgrenze (LOD) und Quantifizierungsgrenze (LOQ)

Die Leerwert-Obergrenze (LOB, die höchste Messung, die wahrscheinlich für eine leere Probe beobachtet wird), Nachweisgrenze (LOD, die geringste Analyt-Menge in einer Probe, die mit einer festgesetzten Fehlerquote von 5 % Typ I und II nachgewiesen werden kann) und Quantifizierungsgrenze (LOQ, die geringste Menge in einer Probe, die zuverlässig nachgewiesen werden kann) wurden gemäß CLSI EP17-A2 bestimmt. In dieser Studie wurde die Leerwert-Obergrenze von 240 Wiederholbestimmungen einer leeren Probe bestimmt, die mit sechs verschiedenen FastPack® Analysegeräten unter Verwendung von drei Reagenzienchargen getestet wurden. Unbearbeitete RLUs der Assays wurden auf Grundlage der Kalibrierungskurve für jeden Assay zu scheinbar ng/ml konvertiert. Die LOB wurde als 228. Rang der sortierten Werteverteilung bestimmt. Dieser Wert war 0,01 ng/ml FPSA.

Die LOD wurde aus 180 Wiederholbestimmungen von vier Proben mit geringem Spiegel geschätzt. Gemäß der CLSI EP17-A2 Richtlinie wurde die parametrische LOD-Berechnung verwendet und ergab 0,03 ng/ml FPSA.

Die LOQ wurde als die geringste Probe bestimmt, die <20 % CV bereitstellte. Die LOQ wurde auf 0,05 ng/ml festgelegt.

Analysespezifizität

Die Analysespezifizität wurde durch Beifügung des PSA/ACT-Komplexes in die Kalibratormatrix bei Konzentrationen von 1000 ng/mL, 500 ng/mL und 100 ng/mL gemessen. In sämtlichen Fällen wurde eine Kreuzreaktivität von weniger als 1% beobachtet.

REFERENZEN

- ¹ Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- ² Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- ³ Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- ⁴ Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- ⁵ Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- ⁶ Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- ⁷ Partin AW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- ⁸ Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- ⁹ Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- ¹⁰ Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- ¹¹ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹² Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹³ Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- ¹⁴ Primus FJ, Kelly EA, et al. „Sandwich“-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- ¹⁵ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁶ Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- ¹⁷ Wians FH. The „correct“ PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁸ Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- ¹⁹ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ²⁰ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ²¹ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- ²¹ Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542–1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Technische Unterstützung:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Deutschland



© 2000 Qualigen, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Qualigen und FastPack sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen von Qualigen, Inc. Alle sonstigen Warenzeichen sind Eigentum der jeweiligen Besitzer.

Le dosage immunologique de PSA libre FastPack® IP ne doit être utilisé qu'avec le dosage immunologique PSA (total) FastPack® IP et FastPack® pour calculer le rapport PSA libre / PSA total (pourcentage de PSA libre). Les résultats figurant sur cette notice ne s'appliquent qu'au pourcentage de PSA libre mesuré par les dosages immunologiques de PSA libre et de PSA (total) FastPack® IP et FastPack®.

La concentration de PSA libre et de PSA total d'un échantillon donné déterminée à l'aide de dosages immunologiques provenant de fabricants différents peut varier en raison des différences entre les méthodes de dosage et la spécificité des réactifs. Les résultats rapportés au médecin par le laboratoire doivent identifier la méthode de dosage de PSA libre et de PSA total utilisée. En effet, les valeurs obtenues en utilisant des méthodes de dosage différentes ne peuvent pas être utilisées de manière interchangeable.

Les concentrations en PSA libre dépendent de l'étalon utilisé pour étalonner le dosage. Les concentrations en PSA libre basées sur l'étalonnage conformément à la Préparation de référence WHO 96/670 présenteront des différences significatives par rapport aux concentrations en PSA libre basées sur l'étalonnage conformément au dosage Hybritech d'origine. Les concentrations ne sont pas interchangeables. En cas de modification de l'étalonnage, la pratique de laboratoire admise consiste à définir une nouvelle valeur de référence pour la surveillance du patient. ¹ Pour plus d'informations sur la configuration de l'OMS et d'Hybritech, consulter le manuel de procédure de l'instrument.

ATTENTION : en vertu de la loi fédérale des États-Unis, ce produit ne peut être vendu qu'à un médecin ou à un laboratoire clinique, et ne doit être utilisé que par un médecin ou sur son ordre.

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage immunologique de PSA libre FastPack® IP est un dosage à particules paramagnétiques destiné à la détermination quantitative in vitro d'antigènes prostatiques spécifiques libres (PSA libre) dans le sérum humain. Il est conçu pour être utilisé avec le dosage immunologique de PSA (total) FastPack® IP et l'analyseur FastPack® IP pour calculer le rapport PSA libre / PSA total, exprimé en pourcentage (pourcentage de PSA libre).

Le pourcentage de PSA libre, tel que mesuré par le système FastPack® IP, permet d'aider à différencier le cancer de la prostate des affections prostatiques bénignes, chez les patients masculins âgés de plus de 50 ans dont le PSA total se situe entre 4 et 10 ng/mL et chez qui le toucher rectal ne donne pas lieu de suspecter le cancer. Une biopsie prostatique est obligatoire pour le diagnostic du cancer.

RÉSUMÉ

L'antigène prostatique spécifique (PSA) est une glycoprotéine (poids moléculaire de 30 000 à 34 000 daltons) montrant un haut degré d'homologie avec les sérines protéases de la famille des kallikréines. Il présente la fonction de la sérine protéase avec une activité semblable à celle de la chymotrypsine.² L'activité protéolytique du PSA dans le sang est inhibée par la formation irréversible de complexes avec des inhibiteurs de protéase tels que l' α -1 antichymotrypsine (ACT), l' α -2-macroglobuline et d'autres protéines de phase aiguë.³ Le PSA est présent dans le sang sous trois formes : deux formes détectables immunologiquement sont le PSA en complexe avec l'inhibiteur de sérine protéase α -1-antichymotrypsine et le PSA libre, ou non complexé.^{4,5,6} La troisième forme, indétectable par les dosages immunologiques conventionnels, est le PSA en complexe avec l' α -2-macroglobuline ; elle n'est pas détectable en raison de l'absorption et du masquage des épitopes du PSA par la molécule α -2-macroglobuline.

Des niveaux élevés de PSA dans le sérum indiquent généralement un état pathologique de la prostate, par exemple un carcinome, une hyperplasie bénigne de la prostate ou une prostatite.^{7,8,9} L'antigène prostatique spécifique est également présent dans les glandes paraauréales et anales, y compris le tissu mammaire. Une inflammation, un traumatisme ou une stimulation de la prostate (à la suite d'un toucher rectal, d'une biopsie et d'une colonoscopie, etc.) peut élever le niveau du PSA d'un degré et pendant une durée variés. Il a été démontré que la proportion de PSA-ACT dans le sérum est plus élevée chez les patients atteints du cancer de la prostate que chez les sujets normaux et / ou les patients affectés de maladies prostatiques non cancéreuses telles que l'HBP ou la prostatite.¹⁰

La détermination du niveau de PSA libre dans un échantillon de patient et le calcul du pourcentage de PSA libre par rapport au PSA total permet de mieux différencier entre le cancer de la prostate et les maladies prostatiques telles que l'HBP. La mesure du PSA libre diminue ainsi le nombre de biopsies inutiles et réduit par conséquent les frais.

PRINCIPE DU TEST

Le dosage immunologique de PSA libre FastPack® IP est un dosage à chimioluminescence basé sur le principe du « sandwich »

- Incubation primaire : l'échantillon, le contrôle ou l'étalon [100 µL] et la solution d'anticorps (mélange d'un anticorps monoclonal biotinylé spécifique au PSA et d'un anticorps monoclonal spécifique au PSA libre marqué avec de la phosphatase alcaline) [100 µL] réagissent pour former un complexe en sandwich.
- Incubation secondaire : une solution de particules paramagnétiques recouvertes de streptavidine (en phase solide) est ajoutée au mélange réactionnel. Pendant cette incubation, le complexe en sandwich est lié à la phase solide par l'interaction de la biotine et de la streptavidine.
- Élimination des produits non liés : les particules paramagnétiques sont lavées avec un tampon de lavage [solution / 0,2 mL] pour éliminer les produits non liés.
- Addition du substrat et détection : un substrat chimioluminogénique [140 µL] est ajouté au complexe lié à la phase solide, et résulte en chimioluminescence mesurée à l'aide de l'analyseur FastPack® IP.
- La quantité d'anticorps marqués liés est directement proportionnelle à la concentration de PSA libre dans l'échantillon.

RÉACTIFS – Contenu et concentration

Dosage immunologique FastPack® IP PSA libre - N° de cat. 25000045

Chaque carton de FastPack® IP contient :

- 30 FastPacks

Chaque de FastPack® IP contient :

- Particules paramagnétiques, 150 µL
Particules paramagnétiques recouvertes de streptavidine en solution tampon contenant 0,1 % d'azoture de sodium en tant qu'agent de conservation.
- Solution d'anticorps PSA libre, 100 µL
Solution d'anticorps contenant des anticorps monoclonaux d'origine murine couplés à des anticorps monoclonaux biotinylés et murins marqués avec de la phosphatase alcaline dans une matrice de protéines contenant 0,1 % d'azoture de sodium en tant qu'agent de conservation.
- Tampon de lavage, 2,0 mL
Agents tensio-actifs à tampon TRIS.
- Substrat, 140 mL
ImmuGlow™ : indoxyle-3-phosphate et lucigénine en solution tampon contenant des agents de conservation.

Produits nécessaires mais non fournis

- Système FastPack® IP
- Kit d'étalonnage de PSA libre FastPack® – N° de cat. 25000008
- Kit de contrôle FastPack® PSA - Réf. 25000003(International)

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ni fumer dans les aires de travail désignées.
- Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons.
- Interférence HAMA : certains individus ont des anticorps réagissant avec les protéines murines (HAMA), ce qui peut causer une interférence dans les dosages immunologiques utilisant des anticorps dérivés des souris. En particulier, il a été signalé que des échantillons de sérum provenant de patients ayant subi des procédures de traitement ou de diagnostic comprenant l'infusion d'anticorps monoclonaux d'origine murine peuvent produire des résultats erronés dans le cadre de ces dosages.
- Les réactifs FastPack® IP sont stables jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette s'ils ont été conservés et manipulés comme indiqué. Ne pas utiliser les réactifs FastPack® IP et Fastpack® après leur date d'expiration.
- Jeter les dosages FastPack® IP usagés dans un récipient pour produits biologiques dangereux.
- Selon les directives de la Communauté économique européenne (CEE), les composants contenant de l'azide de sodium sont classés comme : dangereux (Xn). Liste des indications de danger (R) et de sécurité (S) pertinentes :
 - R22 Nocif en cas d'ingestion.
 - R32 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
 - S2 Conserver hors de la portée des enfants.
 - S13 Conserver à l'écart des aliments et boissons, y compris ceux pour animaux.
 - S36 Porter un vêtement de protection approprié.
 - S46 En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

CONSERVATION

Conserver entre 2 et 8 °C. Garder à l'abri de la lumière.

PRÉLÈVEMENT / PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

1. Un échantillon de sérum est requis pour le dosage immunologique FastPack® IP PSA libre. Les échantillons de plasma ne doivent pas être utilisés.

2. Le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) fournit les recommandations suivantes pour la manipulation, le traitement et la conservation du sang.^{11,12}
 - Prélever tous les échantillons de sang en observant les précautions habituelles en rapport avec la ponction veineuse.
3. Il n'est pas nécessaire que les patients jeûnent avant le prélèvement des échantillons.
4. Pour les échantillons de serum :
 - S'assurer de la formation complète du caillot avant la centrifugation, ce qui prend environ 30 minutes. Certains échantillons peuvent nécessiter un temps de coagulation plus long, en particulier ceux provenant de patients traités avec des anticoagulants ou des agents thrombolytiques.
 - Le sérum doit être centrifugé et séparé du caillot dans les 3 heures à compter du moment de son prélèvement.
 - Séparer le sérum des cellules et le conserver entre 2 et 8 °C.
 - Un échantillon non testé dans les 24 heures doit être congelé à une température de –20 °C ou inférieure.
5. Ne pas congeler les échantillons (-20 °C) pendant plus de deux mois.
6. Les échantillons congelés doivent être dégelés complètement et mélangés délicatement par inversion avant leur emploi.
7. Pour obtenir les meilleurs résultats, les échantillons doivent être exempts de fibrine, de globules rouges ou d'autres particules. Les échantillons de sérum troubles ou contenant des particules doivent être centrifugés avant leur utilisation.
8. Veiller à ce que les échantillons soient exempts de bulles d'air.
9. Les échantillons prélevés jusqu'à 2 heures après un examen rectal digital ne présentent pas d'augmentation significative des antigènes prostatiques spécifiques (PSA).¹³
10. Traiter les échantillons humains conformément aux normes OSHA relatives aux agents pathogènes à diffusion hémato-gène.²¹

PROCÉDURE DE DOSAGE

Pour tout renseignement sur le fonctionnement du système FastPack® IP, voir le manuel de l'opérateur.

INSTRUMENTATION

Système FastPack® IP

DÉTAILS DE L'ÉTALONNAGE

Au cours du processus de fabrication des FastPack® IP, Qualigen génère une courbe de référence puis transfère les informations correspondantes sur le code à barres de chaque étiquette FastPack® IP, où elles sont lues par l'analyseur FastPack® IP pendant la séquence de test. L'analyseur FastPack® IP doit être étalonné par l'utilisateur pour assurer qu'il est correctement réglé pour le lot particulier de FastPack® utilisé. Des étalonnages séparés doivent être effectués pour chaque type de dosage, par ex. PSA libre, PSA total, ou testostérone. La fréquence d'étalonnage varie selon le type de dosage. Pour le dosage immunologique FastPack® IP PSA libre, l'analyseur FastPack® IP doit être étalonné tous les 14 jours ou à chaque fois qu'un nouveau lot de FastPack® IP est utilisé.

Lors de l'étalonnage initial pour un lot de FastPacks particulier ou de l'utilisation d'un nouveau lot d'étalons, 2 FastPacks sont requis pour l'étalonnage (doubles). Lorsqu'un réétalonnage est effectué avec le même lot de FastPacks et d'étalons, un seul FastPacks est nécessaire. Voir le manuel de l'opérateur du système FastPack® IP pour la marche à suivre pour l'étalonnage.

Utiliser le kit d'étalonnage de PSA libre FastPack® – N° de cat. 25000008

RÉSULTATS

L'analyseur FastPack® IP utilise les informations contenues dans le code à barres pour établir une table de consultation des valeurs de x et y représentant la courbe de référence et estime les concentrations d'échantillons inconnus par interpolation linéaire.

CONTRÔLE QUALITÉ

Les produits de contrôle qualité simulent les échantillons réels et sont essentiels pour surveiller la performance des dosages du système. Les bonnes pratiques de travail en laboratoire comprennent l'utilisation d'échantillons de contrôle pour assurer que tous les réactifs et protocoles se comportent correctement. Voir le manuel de l'utilisateur du système FastPack® IP pour la marche à suivre pour les tests de contrôle.

Contrôles disponibles : Kit de contrôle FastPack® PSA – Réf. 25000003 (International)

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Le FastPack® IP Free PSA n'est pas destiné à être utilisé pour le diagnostic du cancer de la prostate.
- Les échantillons peuvent être mesurés avec précision dans la plage de sensibilité analytique de 20 ng/mL (16 ng/mL WHO).
- Les échantillons >20 ng/mL (>16 ng/mL WHO) doivent être analysés en utilisant une autre méthode. La dilution de résultats hors plage n'est pas recommandée.
- Le dosage immunologique de PSA libre FastPack® IP a été testé jusqu'à 1 000 ng/mL et n'a pas présenté d'effet de crochet.
- Les échantillons provenant de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux d'origine murine à des fins de diagnostic ou de traitement peuvent contenir des anticorps anti-souris humains (HAMA). Ces échantillons peuvent présenter des valeurs faussement élevées ou faussement basses lorsqu'ils sont testés avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux d'origine murine.^{14,15}
- Dans de rares cas, l'existence d'isoformes PSA pouvant être mesurés différemment par des tests PSA différents a été signalée. Cela a été le cas, à l'occasion, pour les dosages de PSA provenant de différents fabricants.^{16,17,18}
- Les anticorps hétérophiles dans le sérum peuvent causer des interférences dans les systèmes de dosages immunologiques.^{19,20} Il arrive, fréquemment, que les niveaux de PSA paraissent élevés à cause d'anticorps hétérophiles présents dans le sérum du patient ou à cause d'une liaison non spécifique à des protéines. Si le niveau de PSA est en contradiction avec les constatations cliniques, il est conseillé d'effectuer d'autres tests de PSA pour confirmer le résultat.
- Un massage prostatique, une ultrasonographie et une biopsie à l'aiguille peuvent causer une élévation cliniquement significative. Un traitement hormonal peut affecter la sécrétion du PSA ; par conséquent, il est possible qu'un niveau de PSA bas après un traitement hormonal ne reflète pas adéquatement la présence de maladie résiduelle ou récurrente.
- Les résultats du dosage immunologique de PSA libre FastPack® IP doivent toujours être évalués en conjonction avec les antécédents médicaux du patient, les examens cliniques et les autres constatations.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le cancer de la prostate est davantage susceptible de produire de la PSA liée. En conséquence, le rapport PSA libre/PSA totale permet de déterminer la quantité de PSA existant en tant que PSA liée. Le risque relatif de cancer de la prostate tombe à 8 % si le rapport de PSA libre est supérieur à 25 % et augmente à 56 % si le rapport est <10 %. Chez les hommes de type caucasien présentant une PSA totale comprise entre 4 et 10 ng/ml, 95 % des personnes chez qui on diagnostique un cancer par biopsie présentent un rapport PSA libre/PSA totale <24 % et 90 % présentent un rapport <22 %. Sur la base de ces résultats, certains urologues recommandent une biopsie de la prostate pour les hommes affichant un rapport <25 %. Les hommes présentant des rapports plus élevés peuvent faire l'objet d'un suivi avec des examens annuels. L'utilisation d'un point de décision unique de 25 % de PSA libre comme indication pour la biopsie permettra de détecter 95 % des cancers et d'éviter 25 % des biopsies superflues. Le rapport de PSA libre peut également être utilisé pour conseiller les patients sur leur risque de cancer particulier. Les patients peuvent alors décider de subir une biopsie ou d'attendre et de réévaluer leur PSA dans 6 mois. 21 Remarque : l'étude référencée n'utilise pas le système FP et n'est présentée que comme base de validité scientifique.

Au total, 101 échantillons de patients testés avec le dosage tPSA 100 µl et 100 échantillons testés avec le dosage tPSA 25 µl ont affiché une récupération entre 4-10 ng/ml. Le tableau ci-dessous représente la distribution des résultats correspondant à chacun des rapports PSA libre/PSA totale à un certain âge avec le système FP et n'indique pas la probabilité de cancer.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Rapport libre / total (%)	Âge (ans)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	36,4 % (8)	11,1 % (5)	20,6 % (7)
4 - 10	10 - 25	54,5 % (12)	68,9 % (31)	64,7 % (22)
4 - 10	>25	9,1 % (2)	20 % (9)	14,7 % (5)

Total PSA 25 µL

PSA (ng/mL)	Rapport Libre/Total (%)	Âge (ans)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	31,8 % (7)	17,4 % (8)	25 % (8)
4 - 10	10 - 25	63,6 % (14)	65,2 % (30)	65,6 % (21)
4 - 10	>25	4,5 % (1)	17,4 % (8)	9,4 % (3)

Total PSA 100 µL

PSA WHO (ng/mL)	Rapport libre / total (%)	Âge (ans)		
		50-59	60-69	70+
3,2 à 8	<10	36,4 % (8)	11,1 % (5)	20,6 % (7)

3,2 à 8	10 - 25	54,5 % (12)	68,9 % (31)	64,7 % (22)
3,2 à 8	>25	9,1 % (2)	20 % (9)	14,7 % (5)

Total PSA 25 µL

PSA WHO (ng/mL)	Rapport Libre/Total (%)	Âge (ans)		
		50-59	60-69	70+
3,2 à 8	<10	31,8 % (7)	17,4 % (8)	25 % (8)
3,2 à 8	10 - 25	63,6 % (14)	65,2 % (30)	65,6 % (21)
3,2 à 8	>25	4,5 % (1)	17,4 % (8)	9,4 % (3)

CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE PERFORMANCE

Précision

La reproductibilité du dosage de la PSA libre a été mesurée en dosant cinq niveaux différents (n=80, pour chaque niveau) pendant vingt jours non consécutifs en utilisant deux analyseurs et deux lots de réactifs. Le coefficient de variation (%CV) entre les analyseurs et entre les séries a été calculé à l'aide de l'analyse de la variance.

Lot 1

Échantillon	Moyenne, ng/ml		Intra-série	Entre séries	Entre jours	Précision totale	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,34	0,27	10,416	2,812	6,019	12,354	27,454	30
2	1,84	1,47	7,065	0,000	5,761	9,116	28,344	30
3	5,55	4,44	6,554	2,725	6,618	9,705	17,550	30
4	10,86	8,69	6,770	0,000	7,026	9,757	21,756	30
5	16,60	13,28	5,434	1,852	8,890	10,582	23,599	30

Lot 2

Échantillon	Moyenne, ng/ml		Intra-série	Entre séries	Entre jours	Précision totale	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,44	0,35	5,794	4,492	0,534	7,351	19,438	30
2	2,28	1,82	5,241	0,000	2,078	5,638	10,917	30
3	6,16	4,93	4,527	0,000	1,361	4,727	12,199	30
4	11,19	8,96	4,519	2,102	0,516	5,011	11,174	30
5	16,17	12,93	5,520	0,000	2,482	6,053	11,688	30

Comparaison des méthodes

152 échantillons de sérum ont été utilisés pour comparer le FastPack® Free PSA au prédictat Beckman Access Hybritech free PSA. L'évaluation a été réalisée en utilisant une analyse de régression de Passing-Bablok, avec une pente de 1,09, une intersection de 0,006 ng/ml (Hybritech) et une valeur r de 0,986.

N	Plage de valeurs (ng/ml)	Intersection (ng/ml)	Pente	R
152	0,16 à 17,2	0,006	1,09	0,986

N	Plage de valeurs, OMS (ng/ml)	Intersection (ng/ml)	Pente	R
152	0,13 à 13,8	0,005	1,09	0,986

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Des substances interférentes ont été ajoutées à des pools de sérum contenant des quantités connues de PSA libre. La valeur obtenue pour le pool de sérum avec chaque substance interférente a été comparée à la valeur obtenue pour ce même pool sans substance interférente. Les composés suivants n'ont pas montré d'interférence aux concentrations indiquées.

Composé de test	Concentration de test	Agents chimiothérapeutiques	Concentration
d-Biotine	500 ng/mL	Cyclophosphamide	700 µg/mL
Bilirubine	49 mg/dL	Diéthylstilbestrol	2 µg/mL
Hémoglobine	600 mg/dL	Chlorhydrate de doxorubicine	16 µg/mL
IgG humaine	1 000 mg/dL	Méthotrexate	8 µg/mL
Phosphatase acide prostatique (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Triglycérides	1 000 mg/dL	Hytrin	40 µg/mL
Protéine totale	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Ketoconazole	200 µg/mL

* Des interférences ont été observées avec la d-biotine au-dessus de 500 ng/ml.

Sensibilité analytique :

Limite de blanc (LOB), limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

La limite de blanc (LOB, mesure la plus élevée susceptible d'être observée pour un échantillon à blanc), la limite de détection (LOD, plus faible quantité d'analyte dans un échantillon qui puisse être détectée avec des taux d'erreur de type I et II fixés à 5 %) et la limite de quantification (LOQ, plus faible quantité d'analyte dans un échantillon qui puisse être détectée de manière fiable) ont été déterminées selon le document EP17-A2 du CLSI. Dans cette étude, la limite de blanc a été déterminée à partir de 240 déterminations répétées d'un échantillon à blanc testé sur six analyseurs FastPack® avec trois lots de réactifs. Les RLU brutes des dosages ont été converties en ng/ml apparents sur la base de la courbe d'étalonnage de chaque dosage. La limite de blanc a été déterminée comme le 228^e rang de la distribution triée des valeurs. Cette valeur était de 0,01 ng/ml de FPSA.

La limite de détection a été estimée à partir de 180 déterminations répétées de quatre échantillons de bas niveau. Selon la directive EP17-A2 du CLSI, le calcul de la limite de détection paramétrique a été utilisé et a donné 0,03 ng/ml de FPSA.

La limite de quantification a été déterminée comme correspondant à l'échantillon le plus faible qui a donné un CV <20 %. La limite de quantification a été fixée à 0,05 ng/ml

Spécificité analytique

La spécificité analytique a été mesurée en ajoutant des quantités connues de complexe PSA / ACT à la matrice de l'étalon à des niveaux de 1 000 ng/mL, 500 ng/mL et 100 ng/mL. Une réactivité croisée inférieure à 1 % a été observée dans chaque cas.

RÉFÉRENCES

- ¹ Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- ² Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- ³ Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- ⁴ Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- ⁵ Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- ⁶ Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- ⁷ Partin AW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- ⁸ Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- ⁹ Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- ¹⁰ Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- ¹¹ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹² Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹³ Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- ¹⁴ Primus FJ, Kelly EA, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- ¹⁵ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁶ Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- ¹⁷ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁸ Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- ¹⁹ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ²⁰ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ²¹ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- ²¹ Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542-1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 États-Unis
Assistance technique:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Allemagne



© 2000 Qualigen, Inc. Tous droits réservés. Qualigen et FastPack sont des marques commerciales ou des marques déposées de Qualigen Inc. Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

El immunoensayo de PSA libre FastPack® IP sólo debe usarse con el immunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® para calcular la relación entre PSA libre y PSA total (porcentaje de PSA libre). Los resultados contenidos en este prospecto solamente se aplican al porcentaje de PSA libre medido por los análisis FastPack® IP de PSA libre y de PSA total.

La concentración de PSA libre y PSA total en una determinada muestra mediante los análisis de distintos fabricantes puede variar debido a las diferencias en los métodos de análisis y en la especificidad de los reactivos. Los resultados reportados por el laboratorio al médico deben identificar el método de análisis de PSA utilizado para el PSA libre y el PSA total. Los valores obtenidos con distintos métodos de análisis no se pueden usar de forma intercambiable.

Las concentraciones de PSA dependen de la normativa utilizada para calibrar el ensayo. Las concentraciones de PSA basadas en la preparación de referencia 96/670 de la WHO difieren significativamente de las concentraciones de PSA basadas en la calibración del ensayo Hybritech original. Las concentraciones no son intercambiables. Si la calibración se modifica, la práctica de laboratorio aceptada debe establecer nuevas directrices para llevar a cabo la monitorización de paciente.¹ Para más información sobre la configuración de la OMS y de Hybritech, consulte el manual de procedimientos de su instrumento.

ATENCIÓN: Las leyes federales de los Estados Unidos restringen la venta y la distribución de este dispositivo a médicos o a laboratorios clínicos y en cuanto al uso del mismo, a médicos o bajo orden médica.

USO PREVISTO

El immunoensayo de PSA libre FastPack® IP es un immunoensayo con partículas paramagnéticas destinado a la determinación cuantitativa in vitro del antígeno específico de la próstata (PSA) libre en el suero humano. El immunoensayo de PSA libre FastPack® IP está concebido para uso con el immunoensayo de PSA total FastPack® IP y FastPack® y el Sistema FastPack® IP para calcular la relación entre PSA libre y total, expresado en forma de porcentaje (porcentaje de PSA libre).

El porcentaje de PSA libre, medido por el Sistema FastPack® IP, está destinado al uso como ayuda para diferenciar entre el cáncer de próstata y condiciones prostáticas benignas, en los pacientes varones mayores de 50 años con valores de PSA total entre 4 y 10 ng/ml y exámenes tacto-rectales que no presentan sospechas de cáncer. Para el diagnóstico de cáncer se requiere una biopsia prostática.

RESUMEN

El antígeno específico de la próstata (PSA) es una glicoproteína (peso molecular: 30.000 a 34.000 Daltons), que exhibe un alto grado de homología con las serina-proteasas de la familia de la caliceína. Tiene la función de la serina proteasa con una actividad semejante a la de la quimotripsina.² La actividad proteolítica del PSA en la sangre se ve inhibida por la formación irreversible de complejos con inhibidores de la proteasa, como la α -1-antiquimotripsina (ACT), α -2-macroglobulina y otras proteínas de fase aguda.³ El PSA se presenta en la sangre bajo tres formas: las dos formas inmunodetectables son el PSA complexado con el inhibidor de serina proteasa α -1-antiquimotripsina y el PSA libre o no complexado.^{4,5,6} La tercera forma, que no es detectable por medio de los immunoensayo convencionales, es el PSA complexado con α -2 macroglobulina. Esto se debe a la absorción y el enmascaramiento de los epítomos del PSA por la molécula de α -2-macroglobulina.

Por lo general, los niveles elevados de PSA en el suero indican un estado patológico de la próstata, por ejemplo, un carcinoma, una hiperplasia prostática benigna (BPH) o una prostatitis.^{7,8,9} El antígeno específico de la prostate también está presente en las glándulas parauretrales y anales, así como en el tejido del pecho. Una inflamación, un trauma o una estimulación de la próstata (por ejemplo, tras un examen tacto-rectal, una biopsia y colonoscopia, etc.) puede causar una elevación del PSA con una duración y magnitud variadas. Se ha demostrado que la proporción de PSA-ACT en el suero es mayor en los pacientes de cáncer de próstata que en las personas normales y/o en los pacientes que tienen enfermedades prostáticas no cancerosas como BPH o prostatitis.¹⁰

La determinación del nivel de PSA libre en la muestra de un paciente y el cálculo del porcentaje de PSA libre respecto al PSA total mejora la capacidad para diferenciar entre el cáncer de próstata y enfermedades prostáticas como la BPH. Por lo tanto, la medición del PSA libre reduce las biopsias innecesarias y permite ahorrar costos.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El immunoensayo de PSA libre FastPack® IP es un análisis de quimioluminiscencia basado en el principio del "sándwich".

- Incubación primaria: La muestra, el control o calibrador [100 µL] y la solución de anticuerpo (mezcla de un anticuerpo monoclonal biotinilado específico del PSA y de un anticuerpo monoclonal específico del PSA libre marcado con fosfatasa alcalina) [100 µL] reaccionan para formar un complejo en sándwich.
- Incubación secundaria: Se añade a la mezcla de la reacción una solución de partículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina (fase sólida). Durante esta incubación, el complejo en sándwich se liga a la fase sólida por medio de la interacción de la biotina y la estreptavidina.
- Eliminación de los materiales no ligados: Las partículas paramagnéticas se lavan con una solución tampón de lavado [0,2 mL/lavado] para eliminar los materiales no ligados.
- Adición y detección del sustrato: El sustrato quimioluminogénico [140 µL] se añade al complejo ligado a la fase sólida, obteniéndose una quimioluminiscencia de “resplandor” que se mide por medio del Analizador FastPack® IP.
- La cantidad de anticuerpo marcado ligado es directamente proporcional a la concentración de PSA libre en la muestra.

REACTIVOS – Contenido y concentración

Inmunoensayo de FastPack® IP PSA libre - Núm. de catálogo 25000045

Cada caja de FastPack® IP contiene:

- 30 FastPacks

Cada FastPack® IP contiene:

- Partículas paramagnéticas, 150 µL
Partículas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina en una solución tampón que contiene el 0,1% de ácido sódico como conservante.
- Solución de anticuerpo de PSA libre, 100 µL
Solución de anticuerpo, que contiene anticuerpo monoclonal murino acoplado con biotina y anticuerpo monoclonal murino marcado con fosfatasa alcalina en una matriz proteínica que contiene ácido sódico al 0,1% como conservante.
- Solución tampón de lavado, 2,0 mL
Solución tampón TRIS que contiene agentes tensoactivos.
- Sustrato, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato y lucigenina en una solución tampón que contiene agentes conservadores.

Materiales requeridos pero no provistos

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibrador de PSA libre FastPack® – Núm. de catálogo 25000008
- FastPack® Control Kit - FastPack® PSA Control Kit - Cat. No. 25000003 (International)

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- No administrar oralmente con pipeta.
- No comer, beber o fumar en las áreas de trabajo designadas.
- Lavarse muy bien las manos tras manipular la muestra.
- Interferencia de HAMA: algunas personas tienen anticuerpos a las proteínas murinas (HAMA), lo cual puede causar interferencias en los inmunoensayos que emplean anticuerpos de origen murino. En particular, se ha reportado que las muestras de suero de pacientes que han sido sometidos a terapias o procedimientos de diagnóstico que incluyen la infusión de anticuerpo monoclonal murino pueden generar resultados erróneos en dichos análisis.
- Los reactivos de FastPack® IP son estables hasta la fecha de caducidad marcada en la etiqueta, siempre y cuando se guarden y manipulen de conformidad con las instrucciones. No utilizar los reactivos FastPack® IP más allá de la fecha de caducidad.
- Deseche los FastPack® IP y FastPack® usados en un recipiente para productos biológicos peligrosos.
- Los componentes que contienen ácido sódico son clasificados por las correspondientes directivas de la Comunidad Económica Europea (CEE) como: Nocivos (Xn). Las siguientes son indicaciones pertinentes sobre el riesgo (R) y la seguridad (S):
 - R22 Es nocivo en caso de ingestión.
 - R32 En contacto con un ácido, emite un gas muy tóxico.
 - S2 Mantenerlo fuera del alcance de los niños.
 - S13 Mantenerlo apartado de la comida, bebida y alimentos para animales.
 - S36 Vestir ropa protectora apropiada.
 - S46 En caso de ingestión, obtener asistencia médica de inmediato y mostrar este envase o etiqueta.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

Conservarlo a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Protegerlo de la luz.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. Para el inmunoensayo de PSA libre FastPack® IP se requiere suero. No se deben usar muestras de plasma.

2. El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) emite recomendaciones para la manipulación, el procesamiento y la conservación de sangre.^{11,12}
 - Recoger todas las muestras de sangre, observando las precauciones habituales para la punción venosa.
3. No se requiere que los pacientes ayunen antes de la extracción de sangre.
4. Para las muestras de suero:
 - Asegurarse de que la coagulación sea completa antes de proceder a la centrifugación. Esto tarda aproximadamente 30 minutos. Algunas muestras pueden tener un tiempo de coagulación mayor, particularmente las de pacientes sometidos a terapia anticoagulante o trombolítica.
 - El suero debe centrifugarse y separarse del coágulo dentro de las 3 horas de su recolección.
 - Retirar el suero de las células antes de conservarlo a una temperatura de entre 2 y 8 °C.
 - Si no se analiza dentro de las 24 horas, la muestra debe congelarse a una temperatura de -20 °C o inferior.
5. No congelar las muestras (-20 °C) más de dos meses.
6. Antes de usarlas, las muestras congeladas deben descongelarse totalmente y mezclarse por inversión suave.
7. Para obtener resultados óptimos, las muestras no deben contener fibrina, glóbulos rojos, u otros materiales particulados. Las muestras de suero que exhiban turbidez y material particulado deben centrifugarse antes de usarlas.
8. Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas.
9. Las muestras recogidas hasta dos horas después del tacto rectal no muestran aumentos significativos de PSA.¹³
10. Las muestras humanas deben manipularse de conformidad con la norma de OSHA para patógenos sanguíneos.²¹

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Vea el Manual de procedimientos del Sistema FastPack® IP para obtener información sobre el uso de dicho sistema.

INSTRUMENTACIÓN

Sistema FastPack® IP

DETALLES DE CALIBRACIÓN

Durante el proceso de producción de FastPack® IP, Qualigen genera una curva maestra estándar y coloca esta información, en forma de código de barras, en cada etiqueta de FastPack® IP, donde puede ser leída por el analizador FastPack® IP durante la secuencia de análisis. El usuario debe calibrar el analizador FastPack® IP para asegurarse de que esté bien ajustado para el lote concreto de FastPacks que está utilizando. Se deben llevar a cabo calibraciones separadas para cada tipo de análisis, es decir, PSA Libre, PSA Total o Testosterona. La frecuencia de calibración varía para cada tipo de análisis. Para el inmunoensayo de PSA libre FastPack® IP, el analizador FastPack® IP debe calibrarse una vez cada 14 días, o cada vez que se va a utilizar un Nuevo lote de FastPacks de PSA libre.

Cada vez que el usuario lleva a cabo una calibración inicial para un lote determinado de FastPacks o utiliza un Nuevo lote de calibrador, se deben procesar 2 FastPacks para la calibración (duplicados). Cuando se realiza la recalibración con el mismo lote de FastPacks y calibrador, tiene que usar 2 FastPacks. Vea “Cómo realizar una calibración” en el Manual de procedimientos del Sistema FastPack® IP.

Utilice el Kit calibrador de PSA libre FastPack® – Núm. de catálogo 25000008

RESULTADOS

El analizador FastPack® IP utiliza la información del código de barras para construir una tabla de búsqueda de valores (x,y) que representan la curva estándar, y estima la concentración de muestras desconocidas mediante la interpolación lineal.

CONTROL DE CALIDAD

Los materiales de control de calidad simulan muestras reales y son esenciales para monitorizar el desempeño sistemático de los análisis. Las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP) incluyen el uso de muestras de control para asegurar que todos los reactivos y protocolos estén funcionando correctamente. Vea “Cómo ejecutar los controles” en el Manual de procedimiento del Sistema FastPack® IP.

Controles disponibles: kit de control FastPack® – Cat. N.º 25000003 (internacional)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El FastPack® IP Free PSA no está diseñado para diagnosticar el cáncer de próstata.
- Las muestras pueden medirse con precisión dentro del rango reportable de la sensibilidad analítica y el calibrador más alto, 20 ng/mL (16 ng/mL WHO).
- Las muestra > 20 ng/mL (>16 ng/mL WHO) deben procesarse mediante otro método. No se recomienda diluir los resultados fuera del rango.
- El inmunoensayo de PSA libre FastPack® IP se probó hasta 1000 ng/mL y no indicó efecto de “gancho”.
- Las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales murinos con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antimurinos (HAMA). Dichas muestras

pueden indicar valores falsamente elevados o falsamente bajos cuando se analizan con kits de análisis que emplean anticuerpos monoclonales murinos.^{14,15}

- Se sabe que, en casos raros, existen isoformas del PSA que pueden ser medidas de forma diferente por distintos análisis de PSA. Ocasionalmente, se han reportado hallazgos de este tipo para las pruebas de PSA de diversos fabricantes.^{16,17,18}
- Los anticuerpos heterofílicos presentes en el suero pueden causar interferencias en los sistemas de inmunoensayo.^{19,20} Infrecuentemente, los niveles de PSA pueden aparecer como elevados debido a la presencia de anticuerpos heterofílicos en el suero del paciente, o a la ligazón de proteínas no específicas. Si el nivel de PSA es incoherente con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales de PSA para confirmar el resultado.
- El masaje prostático, la ultrasonografía y la biopsia con aguja pueden causar una elevación clínicamente significativa de los niveles de PSA. La terapia hormonal puede afectar la expresión del PSA, por lo cual un nivel bajo de PSA tras un tratamiento que incluye la terapia hormonal puede no reflejar adecuadamente la presencia de una afección residual o recurrente.
- Los resultados del inmunoensayo de PSA libre FastPack® IP deben siempre evaluarse en conjunción con el historial médico del paciente, un examen clínico y otros datos.

IMPORTANCIA CLÍNICA

El probable que el cáncer de próstata produzca PSA ligado. Por lo tanto, la proporción entre el PSA libre y el total se utiliza para determinar la cantidad existente de PSA ligado. El riesgo relativo de cáncer de próstata es de apenas el 8 % si la proporción de PSA libre es mayor al 25 %, y es del 56 % si la proporción es menor que el 10 %. En los hombres caucásicos con PSA total entre 4 y 10 ng/mL, el 95 % de los que tienen cáncer por biopsia tiene una proporción entre el PSA libre y el total inferior al 24 % y el 90 % tiene una proporción inferior al 22 %. De acuerdo con estos resultados, algunos urólogos recomiendan una biopsia de próstata a los hombres con una proporción inferior al 25 %. Los hombres con proporciones más altas pueden ser controlados con exámenes anuales. El uso de un único punto de decisión del 25 % de PSA libre como indicación de biopsia permitirá detectar el 95 % de los cánceres y evitará el 25 % de biopsias innecesarias. La proporción del PSA libre también puede utilizarse para aconsejar a los pacientes sobre su riesgo individual de cáncer. Los pacientes pueden entonces decidir hacerse una biopsia o esperar y reevaluar el PSA en 6 meses. 21 Nota: el estudio referenciado no utilizó el sistema FP (falso positivo) y solo se presenta como base de validez científica.

En total, 101 muestras de pacientes con el análisis de 100 µL de tPSA y 100 muestras con el análisis de 25 µL de tPSA recuperaron entre 4 y 10 ng/mL. La tabla siguiente representa una distribución de los resultados que cayeron dentro de cada una de las proporciones de PSA libre a total a una determinada edad utilizando el sistema FP y no representan la probabilidad de cáncer.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Relación entre PSA libre y PSA total (%)	Edad (años)		
		50-59	60-69	70+
4 a 10	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
4 a 10	10 a 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
4 a 10	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA de WHO (ng/mL)	Relación libre/total (%)	Edad (años)		
		50-59	60-69	70+
4 a 10	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
4 a 10	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
4 a 10	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

Total PSA 100 µL

PSA de WHO (ng/mL)	Relación entre PSA libre y PSA total (%)	Edad (años)		
		50-59	60-69	70+
3,2 a 8	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
3,2 a 8	10 a 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
3,2 a 8	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA de WHO (ng/mL)	Relación libre/total (%)	Edad (años)		
		50-59	60-69	70+
3,2 a 8	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
3,2 a 8	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
3,2 a 8	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

Precisión

La reproducibilidad en el análisis de PSA libre se midió analizando cinco niveles diferentes (n = 80, para cada nivel) veinte días no consecutivos utilizando dos analizadores y dos lotes de reactivos. Se calculó el coeficiente de variación (%CV) entre los analizadores y entre series utilizando el análisis de varianza.

Lote 1

Muestra	Media, ng/mL		En la serie	Entre series	Entre días	Precisión total		
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV	%TE	%T'Ea
1	0,34	0,27	10,416	2,812	6,019	12,354	27,454	30
2	1,84	1,47	7,065	0,000	5,761	9,116	28,344	30
3	5,55	4,44	6,554	2,725	6,618	9,705	17,550	30
4	10,86	8,69	6,770	0,000	7,026	9,757	21,756	30
5	16,60	13,28	5,434	1,852	8,890	10,582	23,599	30

Lote 2

Muestra	Media, ng/mL		En la serie	Entre series	Entre días	Precisión total		
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV	%TE	%T'Ea
1	0,44	0,35	5,794	4,492	0,534	7,351	19,438	30
2	2,28	1,82	5,241	0,000	2,078	5,638	10,917	30
3	6,16	4,93	4,527	0,000	1,361	4,727	12,199	30
4	11,19	8,96	4,519	2,102	0,516	5,011	11,174	30
5	16,17	12,93	5,520	0,000	2,482	6,053	11,688	30

Comparación de métodos

Se utilizaron 152 muestras de suero para comparar el PSA libre de FastPack® con el PSA libre homologado de Beckman Access Hybritech. La evaluación se realizó mediante un análisis de regresión de Passing-Bablok, con una pendiente de 1,09, una intersección de 0,006 ng/mL (Hybritech) y un valor R de 0,986.

N	Rango de valores (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	R
152	0,16 a 17,2	0,006	1,09	0,986

N	Rango de valores, OMS (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	R
152	0,13 a 13,8	0,005	1,09	0,986

* Se encontraron interferencias con la D-biotina por encima de 500 ng/mL.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se añadieron sustancias interferentes a controles o pools de suero que contenían cantidades conocidas de PSA libre. El valor obtenido para la muestra con cada sustancia interferente se comparó con el valor obtenido para la muestra sin dicha sustancia interferente. Los siguientes compuestos no indicaron interferencia a los niveles indicados.

Compuesto de prueba	Concentración de prueba	Agentes quimioterapéuticos	Concentración
d-Biotina	500 ng/mL	Ciclofosfamida	700 µg/mL
Bilirrubina	49 mg/dL	Dietilestilbestrol	2 µg/mL
Hemoglobina	600 mg/dL	Doxorrubicina HCl	16 µg/mL
IgG humano	1000 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatasa ácida prostática (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Triglicéridos	1000 mg/dL	Hitrina	40 µg/mL
Proteína total	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Ketoconazol	200 µg/mL

* Se encontraron interferencias con la D-biotina por encima de 500 ng/mL.

Sensibilidad analítica:

Límite del blanco (LOB), límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ)

El límite del blanco (LOB, la medición más alta que puede observarse en una muestra en blanco), el límite de detección (LOD, la cantidad más baja de analito en una muestra que puede detectarse con tasas de error de tipo I y II establecidas en el 5 %) y el límite de cuantificación (LOQ, la cantidad más baja de analito en una muestra que puede detectarse de forma fiable) se determinaron de acuerdo con la norma EP17-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI). En este estudio, el límite del blanco se determinó a partir de 240 determinaciones repetidas de una muestra en blanco analizada en seis analizadores FastPack® diferentes utilizando tres lotes de reactivos. Las unidades relativas de luz (RLU) sin procesar de los ensayos se convirtieron en ng/mL aparentes sobre la base de la curva de calibración para cada ensayo. El LOB se determinó como el rango N.º 228 de la distribución ordenada de valores. Este valor fue de 0,01 ng/mL de FPSA.

El LOD se estimó a partir de 180 determinaciones repetidas de cuatro muestras de bajo nivel. Según la norma EP17-A2 del CLSI, se utilizó el cálculo paramétrico de LOD y se obtuvo 0,03 ng/mL de FPSA.

El LOQ se determinó como la muestra más baja que proporcionó <20 %CV. El LOQ se estableció en 0,05 ng/mL.

Especificidad analítica

La especificidad analítica se midió introduciendo complejo PSA/ACT en la matriz del calibrador, con niveles de 1000 ng/mL, 500 ng/mL y 100 ng/mL. En cada caso, se observó una reactividad cruzada inferior al 1%.

REFERENCIAS

- ¹ Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- ² Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- ³ Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- ⁴ Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- ⁵ Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- ⁶ Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- ⁷ Partin AW, et al. Prostate-specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- ⁸ Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- ⁹ Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- ¹⁰ Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- ¹¹ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹² Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹³ Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- ¹⁴ Primus FJ, Kelly EA, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- ¹⁵ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁶ Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- ¹⁷ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁸ Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- ¹⁹ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ²⁰ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ²¹ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- ²¹ Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542–1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 EE.
UU.
Soporte técnico:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Alemania



© 2000 Qualigen, Inc. Quedan reservados todos los derechos. Qualigen y FastPack son marcas comerciales o marcas registradas de Qualigen Inc. Todas las demás marcas son propiedad de sus respectivos propietarios.

O ensaio de PSA livre FastPack® IP deve apenas ser utilizado com o ensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® para calcular a razão entre o PSA livre e o PSA total (percentagem de PSA livre). Os resultados constantes neste folheto informativo aplicam-se apenas à percentagem de PSA livre, conforme medida pelos ensaios de PSA livre e de PSA total FastPack® IP.

A concentração de PSA livre e de PSA total numa dada amostra, determinada através de ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio e na especificidade dos reagentes. Os resultados comunicados pelo laboratório ao médico têm de incluir a identidade do método de ensaio de PSA livre e total utilizado. Os valores obtidos com diferentes métodos de ensaio não podem ser utilizados de forma intercambiável. Para mais informações sobre a configuração WHO e Hybritech consulte o seu manual de procedimento do instrumento.

As concentrações de PSA livre dependem da norma seguida para calibrar o ensaio. As concentrações de PSA livre baseadas na calibração da Preparação de referência WHO 96/670 irão variar significativamente em relação às concentrações de PSA livre baseadas na calibração segundo o ensaio Hybritech original. As concentrações não são intercambiáveis. Se a calibração for alterada, a prática laboratorial aceite consiste em estabelecer uma nova referência para monitorização do doente.¹

AVISO: A lei federal dos Estados Unidos limita a venda e distribuição deste dispositivo por ou a pedido de um médico, ou a um laboratório clínico; e a sua utilização é limitada a ou a pedido de um médico.

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP é um Imunoensaio de partículas paramagnéticas para a determinação quantitativa in vitro de antígeno específico da próstata livre (PSA livre) em soro humano. O Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP e FastPack® destina-se a ser utilizado em conjunto com o Imunoensaio de PSA total FastPack® IP e com o sistema FastPack® IP para calcular a razão entre o PSA livre/total, expressa em percentagem (percentagem de PSA livre).

A percentagem de PSA livre, conforme medida pelo sistema FastPack® IP, destina-se a ser utilizada para diferenciar entre cancro da próstata e doenças benignas da próstata, em doentes masculinos com mais de 50 anos de idade e valores de PSA total entre 4 e 10 ng/ml e com exames digitais rectais que não apresentem suspeitas de cancro. É necessária uma biópsia prostática para o diagnóstico de cancro.

RESUMO

O antígeno específico da próstata (PSA) é uma glicoproteína (peso molecular entre 30.000 e 34.000 Daltons), que apresenta um elevado grau de homologia com proteases da serina da família da calicreína. Tem a função de protease da serina com uma actividade semelhante à da quimotripsina.² A actividade proteolítica do PSA no sangue é inibida pela formação irreversível de complexos com inibidores de protease, como α -1-antiquimotripsina (ACT), α -2-macroglobulina e outras proteínas de fase aguda.³ O PSA está presente sob três formas no sangue. As duas formas imuno-detectáveis são o PSA complexado com o inibidor de protease da serina α -1-antiquimotripsina e o PSA livre ou não complexado.^{4,5,6} A terceira forma, que não é detectável através de um Imunoensaio convencional, é o PSA complexado com α -2-macroglobulina. Isto deve-se à absorção e ocultação de epitópos do PSA pela molécula de α -2-macroglobulina.

Níveis elevados de PSA no soro são geralmente indícios de uma condição patológica da próstata, por exemplo, carcinoma, hiperplasia benigna da próstata (HBP) ou prostatite.^{7,8,9} O Antígeno Específico da Próstata também está presente nas glândulas parauretrais e anais, bem como no tecido da mama. Uma inflamação, traumatismo ou estimulação da próstata (por exemplo, na sequência de exame digital rectal, biópsia e colonoscopia, etc.) pode resultar em elevações do PSA de duração e magnitude variáveis. Foi demonstrado que a proporção de PSA-ACT no soro é mais elevada em doentes com cancro da próstata do que em doentes normais e/ou em doentes com doenças prostáticas não cancerígenas, como HBP ou prostatite.¹⁰

A determinação do nível de PSA livre na amostra de um doente e o cálculo da percentagem de PSA livre ao total melhora a capacidade de diferenciação entre cancro da próstata e doenças prostáticas como HBP. A medição do PSA livre reduz assim biópsias desnecessárias, resultando numa redução de custos.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP é um ensaio de quimioluminescência baseado no princípio de “sanduíche”.

- Incubação primária: A amostra, o controlo ou o calibrador [100 µl] e a solução de anticorpos (mistura de um anticorpo monoclonal biotilado específico ao PSA e de um anticorpo monoclonal específico ao PSA livre marcado com fosfatase alcalina) [100 µl] reagem para formar um complexo em sanduíche.
- Incubação secundária: É acrescentada uma solução de partículas paramagnéticas revestidas com estreptavidina (de fase sólida) à mistura de reacção. Durante esta incubação, o complexo em sanduíche é ligado à fase sólida através da interacção da biotina e da estreptavidina.
- Eliminação de matérias não ligadas: As partículas paramagnéticas são lavadas com tampão de lavagem [0,2 ml/lavagem] para eliminar as matérias não ligadas.
- Acréscimo e detecção de substrato: É acrescentado substrato quimioluminogénico [140 µl] ao complexo ligado de fase sólida, resultando em quimioluminescência “brilhante”, que é medida utilizando o analisador FastPack® IP.
- A quantidade de anticorpo marcado ligado é directamente proporcional à concentração de PSA livre na amostra.

REAGENTES – Conteúdo e concentração

Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP - N.º de Cat. 25000045

Cada embalagem de FastPack® IP contém:

- 30 FastPacks

Cada FastPack® IP contém:

- Partículas paramagnéticas, 150 µl
Partículas paramagnéticas revestidas com estreptavidina em tampão contendo 0,1% de azida sódica como conservante.
- Solução de anticorpos de PSA livre, 100 µl
Solução de anticorpos contendo anticorpo monoclonal de rato associado a biotina e anticorpo monoclonal de rato marcado com fosfatase alcalina numa matriz de proteínas contendo 0,1% de azida sódica como conservante.
- Tampão de lavagem, 2,0 ml
Tampão Tris contendo agentes tensoactivos.
- Substrato, 140 µl
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato e lucigenina em tampão contendo conservantes.

Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema FastPack® IP
- Conjunto de calibradores de PSA livre FastPack® – N.º de Cat. 25000008
- Conjunto de controlos FastPack® - conjunto de controlos de PSA FastPack® - N.º de Cat. 25000003 (Internacional)

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização de diagnóstico *in vitro*.
- Não pipete com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho designadas.
- Lave muito bem as mãos após o manuseamento de amostras.
- Interferência HAMA: algumas pessoas possuem anticorpos contra a proteína de rato (HAMA), o que pode causar interferência em Imunoensaios que utilizam anticorpos derivados de ratos. Em particular, foi relatado que amostras de soro ou de plasma de doentes submetidos a terapêutica ou a procedimentos de diagnóstico que incluem a infusão de anticorpo monoclonal de rato podem produzir resultados erróneos em tais ensaios.
- Os reagentes FastPack® IP permanecem estáveis até à data de validade indicada no rótulo, quando armazenados e manuseados de acordo com as instruções. Não utilize os reagentes FastPack® IP após a data de validade.
- Descarte os FastPacks usados num recipiente de eliminação de riscos biológicos.
- Os componentes que contêm azida sódica são classificados de acordo com as directivas aplicáveis da Comunidade Económica Europeia (CEE) como: Nocivo (Xn). Seguem-se as legendas apropriadas de Risco (R) e de Segurança (S):
 - R22 Nocivo por ingestão.
 - R32 Em contacto com ácidos, liberta gases muito tóxicos.
 - S2 Manter fora do alcance das crianças.
 - S13 Manter longe de alimentos e bebidas, incluindo os dos animais.
 - S36 Usar vestuário de protecção adequado.
 - S46 Em caso de ingestão, consultar imediatamente um médico e mostrar o rótulo ou a embalagem.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM

Armazene entre 2 e 8 °C. Proteja da luz.

COLHEITA/PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

1. É necessário soro para o Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP. Não devem ser usadas amostras de plasma.

2. Comit  Nacional para as Normas Laboratoriais Clínicas (NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards) fornece recomenda es para o manuseamento, processamento e armazenamento de sangue.^{11,12}
 - Colha todas as amostras de sangue respeitando as precau es de rotina para a pun o cirúrgica de veias.
3. Não   necessário que os doentes se encontrem em jejum antes da colheita de sangue.
4. Para as amostras de soro:
 - Certifique-se de que ocorreu uma forma o completa de coágulo antes da centrifuga o. Isto demora cerca de 30 minutos. Algumas amostras podem apresentar tempos de coagula o alargados, nomeadamente aquelas de doentes submetidos a terapêutica anticoagulante ou trombolítica.
 - Soro deve ser centrifugado e separado do coágulo no prazo de 3 horas após a colheita.
 - Retire o soro das células antes do armazenamento a uma temperatura entre 2 e 8  C.
 - Se não for testada num prazo de 24 horas, a amostra deve ser congelada a uma temperatura de –20  C ou inferior.
5. Não congele amostras (–20  C) durante mais de dois meses.
6. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e misturadas por inversão cuidadosa antes de serem utilizadas.
7. Para produzir os melhores resultados, as amostras devem estar livres de fibrina, glóbulos vermelhos ou outras matérias em partículas. As amostras de soro que se apresentem turvas e com matérias em partículas devem ser centrifugadas antes da utiliza o.
8. Certifique-se de que as amostras estão isentas de bolhas.
9. As amostras colhidas até 2 horas após um exame digital rectal não apresentam qualquer aumento significativo dos níveis de PSA.¹³
10. As amostras humanas devem ser manuseadas de acordo com a norma OSHA sobre agentes patog nicos de transmissão sanguínea.²¹

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack[ ] IP para obter informa es sobre a utiliza o do sistema FastPack[ ] IP.

INSTRUMENTA O

Sistema FastPack[ ] IP

PORMENORES DE CALIBRA O

Durante o processo de produ o FastPack[ ] IP, a Qualigen produz uma curva-padrão principal e coloca esta informa o no código de barras de cada rótulo FastPack[ ] IP, onde pode ser lido pelo analisador FastPack[ ] IP durante a sequência de teste. O analisador FastPack[ ] IP tem de ser calibrado pelo utilizador de forma a garantir que está devidamente regulado para o lote específico de FastPacks que está a ser utilizado. Têm de ser realizadas calibra es aut nomas para cada tipo de teste, ou seja, para PSA livre, PSA total ou testosterona. A frequência de calibra o varia para cada tipo de teste. Para o Imunoensaio de PSA livre FastPack[ ] IP, o analisador FastPack[ ] IP tem de ser calibrado a cada 14 dias ou sempre que for utilizado um novo lote de FastPacks de PSA livre.

Sempre que o utilizador efectuar uma calibra o inicial para um determinado lote de FastPacks ou utilizar um novo lote de calibrador, têm de ser executados 2 FastPacks para calibra o (duplicados). Quando a recalibra o   efectuada com o mesmo lote de FastPacks e calibrador, necessário 2 FastPacks. Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack[ ] IP para obter mais informa es sobre a “Execu o de uma calibra o”.

Utilize o conjunto de calibradores de PSA livre FastPack[ ] – N.  de Cat. 25000008

RESULTADOS

O analisador FastPack[ ] IP utiliza a informa o do código de barras para construir uma tabela de consulta com valores x,y que representam a curva-padrão e produz uma estimativa da concentra o de amostras desconhecidas por interpola o linear.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os materiais do controlo de qualidade simulam amostras reais e são essenciais para a supervisão da execu o de ensaios do sistema. As boas práticas de laboratório (BPL) incluem a utiliza o de amostras de controlo para garantir que todos os reagentes e protocolos apresentam uma execu o devida. Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack[ ] IP para obter mais informa es sobre a “Execu o de controlos”.

Controlos disponíveis: Conjunto de controlos de PSA FastPack[ ] – N.  de Cat. 25000003 (Internacional)

LIMITA O DO PROCEDIMENTO

- O PSA livre FastPack[ ] IP não se destina a ser utilizado para diagnosticar o cancro da próstata.
- As amostras podem ser medidas com precisão dentro da amplitude comunicável da sensibilidade analítica e do calibrador mais elevado, 20 ng/mL (16 ng/mL WHO).
- As amostras > 20 ng/mL (>16 ng/mL WHO) devem ser testadas utilizando outro método. Não se recomenda a dilui o de resultados fora da amplitude.

- Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP foi testado até 1.000 ng/mL e não demonstrou qualquer efeito de gancho por dosagem elevada.
- As amostras de doentes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de rato para efeitos de diagnóstico ou terapêutica podem conter anticorpos humanos anti-rato (HAMA). Tais amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos quando testadas com conjuntos de ensaio que utilizam anticorpos monoclonais de rato.^{14,15}
- É sabido que, em casos raros, existem isoformas de PSA que podem ser medidas de forma distinta através de testes de PSA diferentes. Conclusões deste tipo têm sido ocasionalmente relatadas relativamente a testes de PSA de vários fabricantes.^{16,17,18}
- Os anticorpos heterofílicos numa amostra podem eventualmente causar interferência em sistemas de Imunoensaios.^{19,20} Raras vezes, os níveis de PSA podem apresentar-se elevados devido a anticorpos heterofílicos presentes no soro do doente ou devido à ligação de proteínas não específicas. Se o nível de PSA não for coerente com os indícios clínicos, sugere-se a realização de testes complementares de PSA para confirmar o resultado.
- A massagem prostática, a ultra-sonografia e a biopsia aspirativa podem causar um aumento clinicamente significativo dos níveis de PSA. A terapêutica hormonal pode afectar a expressão do PSA; assim, um nível baixo de PSA após um tratamento que incluía terapêutica hormonal pode não reflectir de forma adequada a presença de doença residual ou recorrente.
- Os resultados do Imunoensaio de PSA livre FastPack® IP devem ser sempre avaliados em conjunto com os antecedentes clínicos e/ou o exame clínico do doente e outras conclusões.

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

O cancro da próstata é mais suscetível de produzir PSA ligado. Por conseguinte, a razão entre o PSA livre e total é utilizada para determinar quanto PSA existe como PSA ligado. O risco relativo de cancro da próstata é tão baixo quanto 8%, se a razão do PSA livre for superior a 25% e tão alto quanto 56%, se a razão for <10%. Em homens caucasianos com PSA total entre 4 e 10 ng/ml, 95% dos que se descobriu terem cancro por biopsia têm uma razão entre o livre e o total <24% e 90% têm uma razão <22%. Com base nestes resultados, alguns urologistas recomendam a biopsia da próstata para homens com razões <25%. Os homens com razões mais elevadas podem ser seguidos com exames anuais. Utilizando um único ponto de decisão de 25% de PSA livre como indicação para biopsia, detetará 95% dos cancros e evitará 25% de biopsias desnecessárias. A razão do PSA livre também pode ser utilizada para aconselhar os doentes sobre o seu risco individual de cancro. Os doentes podem então decidir fazer uma biopsia ou esperar e reavaliar o PSA em 6 meses. 21 Nota: o estudo referenciado não estava a utilizar o sistema FP e é apresentado apenas como base para a validade científica.

Um total de 101 amostras de doentes com o ensaio tPSA de 100 µl e 100 amostras com o ensaio tPSA de 25 µl recuperaram entre os 4-10 ng/ml. O quadro abaixo representa uma distribuição de resultados que se enquadram em cada uma das razões entre PSA livre e total numa determinada idade utilizando o sistema FP e não representam a probabilidade de cancro.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Razão entre PSA livre e total (%)	Idade (anos)		
		50-59	60-69	70+
4 a 10	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
4 a 10	10 a 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
4 a 10	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA (ng/mL)	Razão entre PSA livre e total (%)	Idade (anos)		
		50-59	60-69	70+
4 a 10	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
4 a 10	10 a 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
4 a 10	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

Total PSA 100 µL

PSA WHO (ng/mL)	Razão entre PSA livre e total (%)	Idade (anos)		
		50-59	60-69	70+
3,2 a 8	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
3,2 a 8	10 a 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
3,2 a 8	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA WHO (ng/mL)	Razão entre PSA livre e total (%)	Idade (anos)		
		50-59	60-69	70+
3,2 a 8	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)

3,2 a 8	10 a 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
3,2 a 8	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Precisão

A reprodutibilidade do ensaio de PSA livre foi medida através dos testes em cinco níveis diferentes (n=80, para cada nível) durante vinte dias não consecutivos, utilizando dois analisadores e dois lotes de reagentes. O coeficiente de variação (% CV) entre analisadores e entre execuções foi calculado utilizando a análise da variância.

Lote 1

Amostra	Média, ng/ml		Na mesma execução	Entre execuções	Entre dias	Precisão total	% TE	% T'Ea
	Hybritech	WHO	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,34	0,27	10,416	2,812	6,019	12,354	27,454	30
2	1,84	1,47	7,065	0,000	5,761	9,116	28,344	30
3	5,55	4,44	6,554	2,725	6,618	9,705	17,550	30
4	10,86	8,69	6,770	0,000	7,026	9,757	21,756	30
5	16,60	13,28	5,434	1,852	8,890	10,582	23,599	30

Lote 2

Amostra	Média, ng/ml		Na mesma execução	Entre execuções	Entre dias	Precisão total	% TE	% T'Ea
	Hybritech	WHO	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,44	0,35	5,794	4,492	0,534	7,351	19,438	30
2	2,28	1,82	5,241	0,000	2,078	5,638	10,917	30
3	6,16	4,93	4,527	0,000	1,361	4,727	12,199	30
4	11,19	8,96	4,519	2,102	0,516	5,011	11,174	30
5	16,17	12,93	5,520	0,000	2,482	6,053	11,688	30

Comparação de métodos

Foram utilizadas 152 amostras de soro para comparar o PSA livre FastPack® contra o PSA livre Beckman Access Hybritech predicado. A avaliação foi realizada utilizando a análise de regressão Passing-Bablok, com uma inclinação de 1,09, interceção de 0,006 ng/ml (Hybritech) e valor r de 0,986.

N	Intervalo de valores (ng/ml)	Interceção (ng/ml)	Inclinação	R
152	0,16 a 17,2	0,006	1,09	0,986

N	Intervalo de valores, WHO (ng/ml)	Interceção (ng/ml)	Inclinação	R
152	0,13 a 13,8	0,005	1,09	0,986

SUBSTÂNCIAS QUE CAUSAM INTERFERÊNCIAS

Substâncias que causam interferências foram acrescentadas a grupos de soro ou controles contendo quantidades conhecidas de PSA livre. O valor obtido para a amostra com cada substância causadora de interferências foi comparado com o valor obtido para a amostra sem a substância causadora de interferências. Os compostos que se seguem não apresentaram qualquer interferência nos níveis indicados.

Composto de teste	Concentração de teste	Agentes quimioterapêuticos	Concentração
d-Biotina	500 ng/mL	Ciclofosfamida	700 µg/mL
Bilirrubina	49 mg/dL	Dietilstilbestrol	2 µg/mL
Hemoglobina	600 mg/dL	Hidroclorato de doxorubicina	16 µg/mL
IgG humano	1.000 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatase ácida prostática (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Triglicéridos	1.000 mg/dL	Hytrin	40 µg/mL
Proteína total	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Cetoconazole	200 µg/mL

* Foram encontradas interferências com d-Biotina acima de 500 ng/ml.

Sensibilidade analítica:

Limite de vazio (LOB), Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

O limite de branco (LOB, a medição mais elevada suscetível de ser observada para uma amostra em branco), limite de detecção (LOD, a menor quantidade de analito numa amostra que pode ser detetada com taxas de erro de tipo I e II definidas para 5%) e limite de quantificação (LOQ, a menor quantidade de analito numa amostra que pode ser detetada de forma fiável) foram determinados de acordo com a diretriz CLSI EP17-A2. Neste estudo, o limite de branco foi determinado a partir de 240 determinações em réplicas de uma amostra em branco testada em seis analisadores diferentes FastPack®, utilizando três lotes de reagentes. As RLU brutas dos ensaios foram convertidas em ng/ml aparentes com base na curva de calibração para cada ensaio. O LOB foi determinado como a 228.^a posição da distribuição ordenada de valores. Este valor foi de 0,01 ng/ml de FPSA.

O LOD foi estimado a partir de 180 determinações em réplicas de quatro amostras de baixo nível. De acordo com a diretriz CLSI EP17-A2, o cálculo paramétrico do LOD foi utilizado e produziu 0,03 ng/ml de FPSA.

O LOQ foi determinado como a amostra mais baixa que forneceu <20% de CV. O LOQ foi definido para 0,05 ng/ml.

Especificidade analítica

A especificidade analítica foi medida através da aplicação de complexo PSA/ACT em matriz de calibrador aos níveis de 1.000 ng/mL, 500 ng/mL e 100 ng/mL. Em todos os casos, foi observada uma reactividade cruzada inferior a 1%.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- ² Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- ³ Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- ⁴ Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- ⁵ Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- ⁶ Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- ⁷ Partin AW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- ⁸ Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- ⁹ Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- ¹⁰ Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- ¹¹ Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹² Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- ¹³ Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- ¹⁴ Primus FJ, Kelly EA, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- ¹⁵ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁶ Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- ¹⁷ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁸ Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- ¹⁹ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ²⁰ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ²¹ US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- ²¹ Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542-1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 —
E.U.A.
Apoio técnico:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Alemanha



© 2000 Qualigen, Inc. Todos os direitos reservados. Qualigen e FastPack são marcas comerciais ou marcas registradas da Qualigen Inc. Todas as outras marcas comerciais constituem propriedade dos seus respectivos proprietários.

Il dosaggio FastPack® IP PSA libero deve essere utilizzato esclusivamente con il dosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale per calcolare il rapporto fra PSA libero e PSA totale (percentuale di PSA libero). I risultati contenuti in questo foglio illustrativo si applicano esclusivamente al PSA libero percentuale misurato mediante i dosaggi FastPack® IP PSA libero e PSA totale.

La concentrazione di PSA libero e PSA totale in un dato campione determinata con dosaggi di diversi produttori può variare a causa delle differenze nei metodi di dosaggio e nella specificità del reagente. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere il tipo di metodo utilizzato per il dosaggio del PSA libero e totale. I valori ottenuti utilizzando metodi di analisi diversi non possono essere interscambiati.

Le concentrazioni di PSA libero dipendono dallo standard impiegato per calibrare il dosaggio. Le concentrazioni di PSA libero basate sulla calibrazione secondo la preparazione di riferimento WHO 96/670 sono significativamente differenti dalle concentrazioni di PSA libero basate sulla calibrazione secondo il dosaggio Hybritech originale. Le concentrazioni non sono intercambiabili. In caso di modifica della calibrazione, la definizione di un nuovo valore di base per il monitoraggio del paziente è considerata una pratica di laboratorio riconosciuta.¹ Per ulteriori informazioni sulla configurazione WHO e Hybritech consultare il manuale delle procedure dello strumento in uso.

ATTENZIONE: la legge Federale degli Stati Uniti limita la vendita e la distribuzione di questo sistema ai soli medici o sulla base di loro prescrizioni, o a un laboratorio clinico. L'uso è limitato ai medici o in caso di prescrizione medica.

INDICAZIONI

L'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero impiega particelle paramagnetiche per la determinazione quantitativa in vitro dell'antigene prostatico specifico libero (PSA libero) presente nel siero umano. L'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero è progettato per l'uso con l'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale e il sistema FastPack® IP per calcolare il rapporto fra il PSA libero e il PSA totale, in forma di percentuale (percentuale di PSA libero).

La percentuale di PSA libero, misurata dal sistema FastPack® IP, deve essere utilizzata come supporto per distinguere fra cancro della prostata e patologie prostatiche benigne, in pazienti di sesso maschile oltre i 50 anni, con valori del PSA totale compresi fra 4 e 10 ng/mL ed esami rettali digitali non indicanti di cancro. Per formulare la diagnosi di cancro è necessaria la biopsia prostatica.

RIEPILOGO

L'antigene prostatico specifico (PSA) è una glicoproteina (peso molecolare 30.000-34.000 Dalton) che mostra un elevato grado di omologia con le serine proteasi della famiglia delle callicreine. Ha funzione di serina proteasi con attività simile alla chimotripsina.² L'attività proteolitica del PSA nel sangue viene inibita dalla formazione irreversibile di complessi con inibitori della proteasi, quali l' α -1-antichimotripsina (ACT), l' α -2-macroglobulina e altre proteine di fase acuta.³ Il PSA è presente nel sangue in tre forme: due forme immunorilevabili vedono il PSA legato in complesso con l'inibitore della serina proteasi α -1-antichimotripsina, la seconda forma è priva di PSA non legato in complesso,^{4,5,6} la terza forma, non rilevabile mediante gli immunodosaggi convenzionali, vede il PSA legato in complesso con l' α -2-macroglobulina. Ciò è dovuto al fatto che gli epitopi del PSA sono sommersi e mascherati dalla molecola dell' α -2-macroglobulina.

Livelli elevati di PSA nel siero sono di solito indice di condizioni patologiche della prostata, ad esempio carcinoma, iperplasia prostatica benigna o prostatite.^{7,8,9} L'antigene prostatico specifico è inoltre presente nelle ghiandole parauretrali e anali, oltre che nel tessuto mammario. Un'inflammatione, trauma o stimolazione della prostata (ad esempio susseguente ad esame rettale digitale, biopsia, colonscopia, ecc.) può dare luogo a un rialzo dei valori del PSA di varia durata ed entità. È stato dimostrato che la proporzione fra PSA e ACT nel siero è più elevata in pazienti affetti da cancro prostatico che nei soggetti normali e/o nei pazienti con patologie prostatiche di origine non cancerosa, quali l'iperplasia prostatica benigna o la prostatite.¹⁰

La determinazione del livello di PSA libero nel campione di un paziente e il calcolo della percentuale di PSA libero sul totale aumenta la capacità di distinguere fra cancro alla prostata e altre patologie prostatiche quali l'iperplasia benigna. La misurazione del PSA libero riduce pertanto il ricorso alla biopsia, riducendo nel contempo i costi.

PRINCIPIO DI ANALISI

L'immunodosaggio FastPack® IP libero è un dosaggio "sandwich" in chemiluminescenza.

- Incubazione primaria: il campione, controllo o calibratore [100 µL] e la soluzione anticorpo (una miscela di anticorpo monoclonale biotinilato, specifico per il PSA, e un anticorpo monoclonale libero, specifico per il PSA, marcato con fosfatasi alcalina) [100 µL] reagiscono in modo da formare un complesso sandwich.
- Incubazione secondaria: alla miscela reattiva viene aggiunta una soluzione di particelle paramagnetiche rivestite di streptavidina (fase solida). Durante questa incubazione, il complesso sandwich si lega alla fase solida mediante l'interazione della biotina e della streptavidina.
- Rimozione dei materiali non legati: le particelle paramagnetiche vengono lavate con tampone di lavaggio [0,2 mL/lavaggio] per rimuovere i materiali non legati.
- Aggiunta del substrato e rilevazione: al complesso legato con la fase solida viene aggiunto un substrato chemiluminescente [140 µL] e il "bagliore" chemiluminescente che ne risulta viene misurato utilizzando l'analizzatore FastPack® IP.
- La quantità di anticorpo marcato legato è direttamente proporzionale alla concentrazione di PSA libero nel campione.

REAGENTI – Contenuto e concentrazione

Immunodosaggio FastPack® IP PSA libero - N. cat. 25000045

Ogni scatola di FastPack® IP contiene:

- 30 FastPack® IP

Ogni FastPack® IP contiene:

- Particelle paramagnetiche: particelle paramagnetiche rivestite di streptavidina (150 µL) in tampone contenente sodio azide allo 0,1% come conservante.
- Soluzione anticorpo per PSA libero: soluzione anticorpo (100 µL) contenente anticorpo monoclonale murino legato alla biotina e anticorpo monoclonale murino marcato con la fosfatasi alcalina in matrice proteica, contenente sodio azide allo 0,1% come conservante.
- Tampone di lavaggio: tensioattivo in tampone tris (2,0 mL)
- Substrato: ImmuGlow™ (140 µL) Indoxil-3-fosfato e lucigenina in tampone contenente conservanti.

Materiali necessari ma non forniti

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibratore FastPack® PSA libero - N. cat. 25000008
- Kit di controllo FastPack® - kit di controllo PSA FastPack® - N. cat. 25000003 (Internazionale)

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro.
- Lavarsi bene le mani dopo avere maneggiato campioni.
- Interferenza degli HAMA: alcuni individui dispongono di anticorpi per le proteine di origine murina (HAMA) che possono causare interferenza negli immunodosaggi che impiegano anticorpi murini. In particolare è stato riscontrato che campioni di siero di pazienti sottoposti a terapia o procedure diagnostiche che prevedevano l'infusione di anticorpo monoclonale murino possono dare luogo a risultati errati di questi dosaggi.
- I reagenti FastPack® IP sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati e trattati secondo le indicazioni. Non utilizzare i reagenti FastPack® IP oltre la data di scadenza.
- Smaltire i FastPack® IP e FastPack® usati in un contenitore per materiali a rischio biologico.
- I componenti che contengono sodio azide sono classificati, in base alle direttive della Comunità Economica Europea (CEE) applicabili, come: Nocivo (Xn). Seguono le diciture corrette relative ai rischi (R) e alla protezione (S):

- R22 Nocivo per ingestione.
- R32 A contatto con acidi libera gas molto tossico.
- S2 Conservare fuori della portata dei bambini.
- S13 Conservare lontano da alimenti o mangimi e da bevande.
- S36 Usare indumenti protettivi adatti.
- S46 In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

Conservare a 2 - 8 °C. Proteggere dalla luce.

PRELIEVO E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

1. Per l'esecuzione dell'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero sono necessari campioni di siero. Non utilizzare campioni di plasma.
2. Il National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) fornisce le seguenti raccomandazioni per la gestione, il trattamento e la conservazione del sangue.^{11,12}
 - Prelevare tutti i campioni ematici seguendo le normali procedure per le punture venose.
3. Non è necessario che il paziente rimanga a digiuno prima del prelievo di sangue.

4. Per i campioni di siero:
 - Accertarsi che la formazione del coagulo sia completa prima di passare alla centrifugazione. Occorrono circa 30 minuti. Alcuni campioni possono avere tempi di coagulazione più lunghi, soprattutto se prelevati da pazienti sottoposti a terapia anticoagulante o trombolitica.
 - Il siero deve essere centrifugato e separato dal coagulo entro 3 ore dal prelievo.
 - Rimuovere il siero dalla frazione cellulare prima della conservazione a 2-8 °C.
 - Se non vengono analizzati entro 24 ore, i campioni devono essere congelati ad una temperatura di -20 °C o inferiore.
5. Non conservare i campioni congelati (a -20 °C) per oltre due mesi.
6. I campioni congelati devono essere completamente scongelati e miscelati delicatamente mediante capovolgimento prima dell'uso.
7. Per ottenere risultati ottimali, i campioni devono essere privi di fibrina, globuli rossi o altro particolato. I campioni di siero che si presentano torbidi o in cui sia presente particolato devono essere centrifugati prima dell'uso.
8. Verificare che i campioni siano privi di bolle d'aria.
9. I campioni raccolti fino a 2 ore dopo l'esame rettale digitale non mostrano incrementi clinicamente significativi del PSA.¹³
10. I campioni di origine umana devono essere trattati conformemente allo standard OSHA relativo agli agenti patogeni presenti nel sangue.²¹

PROCEDURA DI ANALISI

Per informazioni sul funzionamento del sistema FastPack® IP consultare il relativo manuale delle procedure.

STRUMENTAZIONE

Sistema FastPack® IP

INFORMAZIONI DETTAGLIATE SULLA CALIBRAZIONE

Durante il processo di produzione di FastPack® IP, la Qualigen genera una curva master standard e inserisce queste informazioni nel codice a barre di ogni etichetta FastPack® IP, da cui possono essere lette mediante l'analizzatore FastPack® IP nel corso della sequenza di analisi. L'analizzatore FastPack® IP deve essere calibrato dall'utente per assicurare che sia regolato correttamente per il lotto di FastPack® IP e FastPack® utilizzato. Devono essere effettuate calibrazioni distinte per ogni tipo di analisi, ad esempio del PSA libero, del PSA totale o del testosterone. La frequenza di calibrazione varia in base a ciascun tipo di analisi. Per l'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero, l'analizzatore FastPack® IP deve essere calibrato una volta ogni 14 giorni o quando si deve utilizzare un nuovo lotto di FastPack® IP e FastPack® PSA libero.

Quando si esegue la calibrazione iniziale per un determinato lotto di FastPack® IP o FastPack® o si usa un nuovo lotto di calibratore, si devono analizzare 2 FastPack® IP o FastPack®, ossia ricorrere a un'analisi in duplicato. Quando si effettua una seconda calibrazione con lo stesso lotto di FastPack® IP o FastPack® e calibratore, è necessario 2 FastPack® IP o FastPack®. Per l'esecuzione della calibrazione, consultare il manuale delle procedure del sistema FastPack® IP.

Utilizzare il kit calibratore FastPack® PSA libero - N. cat. 25000008

RISULTATI

L'analizzatore FastPack® IP utilizza le informazioni del codice a barre per costruire una tabella di consultazione di valori x, y, che rappresentano la curva standard, e stima la concentrazione dei campioni non noti mediante interpolazione lineare.

CONTROLLO DI QUALITÀ

I materiali per il controllo di qualità simulano campioni reali e sono essenziali per il monitoraggio delle prestazioni del sistema per i dosaggi. Una buona prassi di laboratorio prevede l'utilizzo di campioni di controllo per assicurare che tutti i reagenti e i protocolli funzionino correttamente. Per l'analisi dei controlli, consultare il manuale delle procedure del sistema FastPack® IP.

Controlli disponibili: kit di controllo PSA FastPack® - N. cat. 25000003 (Internazionale)

LIMITI DELLA PROCEDURA

- Il PSA libero IP FastPack® non è indicato per essere utilizzato come strumento diagnostico del cancro alla prostata.
- La misurazione dei campioni può essere effettuata con precisione nell'ambito dell'intervallo di valori della sensibilità analitica ed entro il limite superiore del calibratore, 20 ng/mL (16 ng/mL WHO).
- I campioni >20 ng/mL (>16 ng/mL WHO) devono essere analizzati con un altro metodo. È sconsigliabile ricorrere alla diluizione per i risultati fuori intervallo.
- L'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero è stato verificato per concentrazioni fino a 1.000 ng/mL e non ha mostrato alcun effetto gancio.

- I campioni dei pazienti a cui vengono somministrate preparazioni di anticorpi monoclonali murini a scopo terapeutico o diagnostico possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali campioni possono mostrare valori falsamente positive o negativi se analizzati con kit di dosaggio che impiegano anticorpi monoclonali murini.^{14,15}
- È noto che, in rari casi, esistono isoforme del PSA che possono dare luogo a misurazioni diverse con diverse analisi del PSA. Risultati di questo genere sono stati occasionalmente segnalati da diversi produttori in merito alle analisi del PSA.^{16,17,18}
- Gli anticorpi eterofili contenuti nel siero possono causare interferenza nei sistemi di immunodosaggio.^{19,20} Raramente i livelli di PSA possono risultare elevati a causa degli anticorpi eterofili presenti nel siero del paziente o di legami proteici non specifici. Se il livello di PSA non è compatibile con le prove cliniche, si consiglia di effettuare un'altra analisi del PSA per avere conferma dell'esito.
- Il massaggio prostatico, l'ecografia e l'ago biopsia possono causare rialzi clinicamente significativi dei livelli di PSA. La terapia ormonale può influire sull'espressione del PSA, pertanto un basso livello di PSA dopo un trattamento comprensivo di terapia ormonale può non rispecchiare adeguatamente la presenza di una patologia irrisolta o ricorrente.
- I risultati dell'immunodosaggio FastPack® IP PSA libero devono sempre essere valutati tenendo conto dell'anamnesi del paziente, degli esami clinici e di altri dati.

RILEVANZA CLINICA

Vi sono maggiori probabilità che il cancro alla prostata produca PSA legato. Pertanto, il tasso di PSA libero rispetto a quello totale viene utilizzato per determinare quanto PSA esista come PSA legato. Il rischio relativo di cancro alla prostata è limitato all'8% se il tasso di PSA libero supera il 25% e arriva al 56% se il tasso è < 10%. Negli uomini caucasici con un PSA totale tra 4 e 10 ng/ml, il 95% di coloro ai quali è stato diagnosticato il cancro tramite biopsia presenta un tasso tra PSA libero e totale < 24% e il 90% presenta un tasso < 22%. In base a questi risultati, alcuni urologi consigliano la biopsia alla prostata per uomini con tassi < 25%. Gli uomini con tassi più elevati possono essere monitorati con esami annuali. L'impiego di un singolo punto decisionale di PSA libero al 25% come indicazione per la biopsia rileva il 95% dei casi di cancro ed evita il 25% di biopsie non necessarie. Il tasso di PSA libero può essere utilizzato anche per consigliare i pazienti riguardo al loro rischio individuale di cancro. I pazienti possono quindi decidere di sottoporsi a una biopsia o aspettare e ricontrollare il PSA dopo 6 mesi.²¹ Nota: lo studio a cui si fa riferimento non ha utilizzato il sistema FP e viene presentato solo come base per una validità scientifica.

Un totale di 101 campioni di pazienti con il dosaggio tPSA di 100 µl e 100 campioni con il dosaggio tPSA di 25 µl hanno recuperato tra 4 e 10 ng/ml. La tabella seguente indica una distribuzione dei risultati che rientravano in ognuno dei tassi di PSA tra Libero e Totale a una determinata età utilizzando il sistema FP. Tali risultati non rappresentano probabilità di cancro.

Total PSA 100 µL

PSA (ng/mL)	Rapporto PSA libero/totale (%)	Età (anni)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
4 - 10	10 - 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
4 - 10	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA (ng/mL)	Rapporto libero-totale (%)	Età (anni)		
		50-59	60-69	70+
4 - 10	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
4 - 10	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)
4 - 10	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)

Total PSA 100 µL

PSA WHO (ng/mL)	Rapporto PSA libero/totale (%)	Età (anni)		
		50-59	60-69	70+
3,2 - 8	<10	36,4% (8)	11,1% (5)	20,6% (7)
3,2 - 8	10 - 25	54,5% (12)	68,9% (31)	64,7% (22)
3,2 - 8	>25	9,1% (2)	20% (9)	14,7% (5)

Total PSA 25 µL

PSA WHO (ng/mL)	Rapporto libero-totale (%)	Età (anni)		
		50-59	60-69	70+
3,2 - 8	<10	31,8% (7)	17,4% (8)	25% (8)
3,2 - 8	10 - 25	63,6% (14)	65,2% (30)	65,6% (21)

3,2 - 8	>25	4,5% (1)	17,4% (8)	9,4% (3)
---------	-----	----------	-----------	----------

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

Precisione

La riproducibilità del dosaggio di PSA Libero è stata misurata analizzando cinque diversi livelli (n=80, per ogni livello) per venti giorni non consecutivi, utilizzando due analizzatori e due lotti di reagenti. Il coefficiente di variazione (CV%) tra analizzatori e tra cicli è stato calcolato utilizzando l'analisi della varianza.

Lotto 1

Campione	Media, ng/ml		Intraciclo	Tra un ciclo e l'altro	Tra un giorno e l'altro	Precisione totale	TE%	T'Ea%
	Hybritech	WHO	CV%	CV%	CV%	CV%		
1	0,34	0,27	10,416	2,812	6,019	12,354	27,454	30
2	1,84	1,47	7,065	0,000	5,761	9,116	28,344	30
3	5,55	4,44	6,554	2,725	6,618	9,705	17,550	30
4	10,86	8,69	6,770	0,000	7,026	9,757	21,756	30
5	16,60	13,28	5,434	1,852	8,890	10,582	23,599	30

Lotto 2

Campione	Media, ng/ml		Intraciclo	Tra un ciclo e l'altro	Tra un giorno e l'altro	Precisione totale	TE%	T'Ea%
	Hybritech	WHO	CV%	CV%	CV%	CV%		
1	0,44	0,35	5,794	4,492	0,534	7,351	19,438	30
2	2,28	1,82	5,241	0,000	2,078	5,638	10,917	30
3	6,16	4,93	4,527	0,000	1,361	4,727	12,199	30
4	11,19	8,96	4,519	2,102	0,516	5,011	11,174	30
5	16,17	12,93	5,520	0,000	2,482	6,053	11,688	30

Confronto dei metodi

Sono stati utilizzati 152 campioni di siero per confrontare il PSA Libero FastPack® con il PSA libero Access Hybritech Beckman predicato. La valutazione è stata eseguita utilizzando l'analisi di regressione di Passing-Bablok, con una pendenza di 1,09, un'intercetta di 0,006 ng/ml (Hybritech) e un valore R di 0,986.

N	Intervallo di valori (ng/ml)	Intercetta (ng/ml)	Pendenza	R
152	Da 0,16 a 17,2	0,006	1,09	0,986

N	Intervallo di valori, WHO (ng/ml)	Intercetta (ng/ml)	Pendenza	R
152	Da 0,13 a 13,8	0,005	1,09	0,986

SOSTANZE INTERFERENTI

Al pool di sieri o controlli contenenti quantità note di PSA libero sono state aggiunte sostanze interferenti. Il valore ottenuto per il campione con ciascuna sostanza interferente è stato confrontato con il valore ottenuto per il campione senza la sostanza interferente. I seguenti composti non hanno mostrato interferenza ai livelli indicati.

Composto analizzato	Concentrazione per l'analisi	Agenti chemioterapici	Concentrazione
d-Biotina	500 ng/mL	Ciclofosfamide	700 µg/mL
Bilirubina	49 mg/dL	Dietilstilbestrolo	2 µg/mL
Emoglobina	600 mg/dL	Doxorubicina HCl	16 µg/mL
IgG umane	1.000 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatasi acida prostatica (PAP)	1 µg/dL	Lupron	100 µg/mL
Trigliceridi	1.000 mg/dL	Hytrin	40 µg/mL
Proteine totali	5 gm/dL	Proscar	100 µg/mL
		Ketoconazolo	200 µg/mL

* Sono state rilevate interferenze con d-Biotina superiore a 500 ng/ml.

Sensibilità analitica:

Limite di bianco (LOB), Limite di rilevazione (LOD) e Limite di quantificazione (LOQ)

Il limite di bianco (LOB, la misurazione più elevata probabilmente osservabile per un campione bianco), il limite di rilevazione (LOD, la quantità più bassa di analita in un campione che possa essere rilevata con tassi di errore di tipo I e II impostati sul 5%) e il limite di quantificazione (LOQ, la quantità più bassa di analita in un campione che possa essere rilevata affidabilmente) sono stati determinati secondo CLSI EP17-A2. In questo studio il limite di bianco è stato determinato da 240 determinazioni replicate di un campione bianco testato su sei diversi analizzatori FastPack® utilizzando tre lotti di reagenti. RLU grezze dai dosaggi sono state convertite in ng/ml apparenti in base alla curva di calibrazione per ogni dosaggio. Il LOB è stato determinato al 228° posto della distribuzione ordinata di valori. Questo valore era un FPSA di 0,01 ng/ml.

Il LOD è stato stimato da 180 determinazioni replicate di quattro campioni a livelli bassi. Conformemente alla linea guida CLSI EP17-A2, è stato utilizzato il calcolo parametrico del LOD, con il risultato di FPSA di 0,03 ng/ml.

Il LOQ è stato determinato come il campione più basso, con conseguente CV < 20%. Il LOQ è stato impostato su 0,05 ng/ml.

Specificità analitica

La specificità analitica è stata misurata aggiungendo il complesso PSA/ACT alla matrice calibratore a livelli di 1.000 ng/mL, 500 ng/mL e 100 ng/mL. In tutti i casi è stata osservata una reattività crociata inferiore all'1%.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Lilja H, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines (LMPG): Practice Guidelines and Recommendations for Use of Tumor Markers in the Clinic, Prostate Cancer (Section B), Draft 2006. National Academy of Clinical Biochemistry.
- 2 Henttu P, Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: Two kallikreins of the human prostate. *Ann Med* 1994;26:157-164.
- 3 Tewari PC, Bluestein BI. Multiple forms of prostate specific antigen and the influences of immunoassay design on their measurement in patient serum. *J Clin Ligand Assay*, 18 1995;3:186-196.
- 4 Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and characterization of different molecular forms of prostatespecific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41(11):1567-1573.
- 5 Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest* 1995;55 Suppl221:32-34.
- 6 Scher HI, Kelly WK. Flutamide withdrawal syndrome: Its impact on clinical trials in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 1993;11(8):1566-1572.
- 7 Partin AW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990; 143:747-752.
- 8 Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, Hertle L. Discrepancies in assays impair the interpretation of prostate-specific antigen. *Urology* 1995;34:303-315.
- 9 Armbruster DA. Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical, and Clinical Application [Review]. *Clin Chem* 1993; 39:181.
- 10 Christenson A, Bjork T Nilsson O, Dakleen U, Matikainen MT, Cockett ATK, Abrahamsson PA to α -1- antichymotrypsin and an indicator of Prostate Cancer. *J. Urol* 150: 100-105, 1993
- 11 Approved Standard – procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 5th Edition; H3-A5; 23(32), 2003, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- 12 Approved guideline – procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2;19(21), 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).
- 13 Chybowski FM, Berstralh EJ, Oesterling JE. The effect of digital rectal examination on the serum prostate specific antigen concentration: Results of a randomized study. *J Urol* 1992;148:83-86.
- 14 Primus FJ, Kelly EA, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine monoclonal antibodies for diagnosis and therapy. *Clin Chem*. 1988;34(2):261-264.
- 15 Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- 16 Van Duijnhoven HLP, Pérquériaux NCV, van Zon JPHM, Blankenstein MA. Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clin Chem* 1996;42(4):637-641.
- 17 Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- 18 Cohen RJ, Haffejee Z, Steele GS, Naylar SJ. Advanced prostate cancer with normal serum prostate-specific antigen levels. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:1123-1126.
- 19 Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom Pf the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- 20 Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- 21 US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. *Federal Register* 1991; 56(235): 64175-82.
- 21 Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the Percentage of Free Prostate-Specific Antigen to Enhance Differentiation of Prostate Cancer From Benign Prostatic Disease: A Prospective Multicenter Clinical Trial. *JAMA*. 1998;279(19):1542-1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Assistenza tecnica:
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germania



© 2000 Qualigen, Inc. Tutti i diritti riservati. Qualigen e FastPack sono marchi commerciali o registrati della Qualigen Inc. Tutti gli altri marchi sono di proprietà dei rispettivi detentori.