

For the Quantitative Measurement of Prostate-Specific Antigen (PSA) in Human Serum and Plasma

The concentration of 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 PSA assay method used. Values obtained with different assay methods cannot be used interchangeably. If, in the course of monitoring a patient, the assay method used for determining PSA levels serially is changed, additional sequential testing should be carried out to confirm baseline values.

PSA concentrations are dependent on the standard used to calibrate the assay. PSA concentrations based on calibration to the WHO 96/670 Reference Preparation will differ significantly from 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.

INTENDED USE

The FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay is a paramagnetic particle immunoassay for the *in vitro* quantitative determination of prostate-specific antigen (PSA) in human serum and plasma as an aid in the management of patients with prostate cancer. The FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay is designed for use with the FastPack® IP System.

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. The two immunodetectable forms are PSA complexed with the serine protease inhibitor α -1-antichymotrypsin and free or uncomplexed PSA.^{4, 5, 6} The third form, which 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} 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 biopsy and colonoscopy, etc.) can result in PSA elevations of varying duration and magnitude.

Determination of PSA is an integral part in monitoring the efficiency of therapy in patients with prostate cancer, for example, radical prostatectomy, radiotherapy or patients receiving hormonal therapy.⁹

TEST PRINCIPAL

The FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay is a chemiluminescence assays based on the "sandwich" principle.

- Primary incubation: Specimen, control or calibrator [25 μ L] and antibody solution (mixture of a biotinylated monoclonal PSA-specific antibody and a monoclonal PSA-specific antibody labeled with alkaline phosphatase) [100 μ L] react to form a sandwich complex.
- Secondary incubation: Streptavidin-coated paramagnetic particle solution 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 μ L] is added to the solid-phase bound complex and results in "glow" chemiluminescence, which is measured using the FastPack® IP System analyzer.
- The amount of bound labeled-antibody is directly proportional to the concentration of PSA in the sample.

REAGENTS - Content and Concentration

FastPack® IP Total PSA Kit - Cat. No. 25000079

Each FastPack® IP kit contains:

- 30 FastPacks
- 1 Control 1 vial x 5mL
- 1 Control 2 vial x 5mL
- 1 Control Range Card

FastPack® Total PSA Kit - Cat. No. 25000078

Each FastPack® kit contains:

- 50 FastPacks
- 1 Control 1 vial x 5mL
- 1 Control 2 vial x 5mL
- 1 Control Range Card

Each FastPack® IP or FastPack® Contains:

- Paramagnetic Particles, 150 µL
Streptavidin-coated paramagnetic particles in buffer containing 0.1% sodium azide as a preservative.
- 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, 145 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-phosphate and lucigenin in buffer containing preservatives.

Control Information:

- 5mL / vial. Liquid.
- Components of human origin prepared in a Tris Buffer with protein stabilizers and 0.1% Sodium Azide.
- The total PSA target values and ranges are printed on the Control Range Card.
- Mix contents by gently inverting before use. Avoid bubble formation.

Materials required but not provided

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA Calibrator Kit - Cat. No. 25000077

WARNING AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- **Human source material. Treat as potentially infectious.**
- Do not eat, drink or smoke in designated work areas.
- Do not mix controls from different lots.
- After opening, controls remain stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use controls beyond the expiration date.
- Avoid microbial contamination of reagent when removing aliquots from the bottles.
- 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 or plasma 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 and FastPack® reagents are stable until the expiration date on the label when stored and handled as directed. Do not use FastPack® IP and FastPack® reagents beyond expiration date.
- Discard used FastPacks into a biohazard container.
- Discard unused or expired control material, in stoppered vial, 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:

R28	Very Toxic if swallowed.
R32	Contact with acids liberates very toxic gas.
R50/53	Very Toxic to aquatic organisms may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.
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.

SPECIMEN COLLECTION/PREPARATION

1. Serum or plasma samples can be used for the FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay.
2. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) provides recommendations for handling, processing, and storing blood.^{10,11}
3. Collect all blood samples observing routine precautions for venipuncture.
4. It is not required that patients fast prior to blood collection.
5. 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.
6. For plasma samples:
 - Collect samples in Lithium Heparin tubes. Citrate tubes should not be used.
 - Plasma should be centrifuged and separated within 3 hours from time of collection.
 - Remove plasma 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.
7. Do not freeze samples (-20° C) for more than two months.
8. Frozen samples should be thawed completely and mixed by gentle inversion prior to use.
9. Samples should be free of Fibrin, Red Blood Cells, or other particulate material for optimal results. Samples showing turbidity and/or particulate matter should be centrifuged prior to use.
10. Ensure the samples are free of bubbles.
11. Samples collected up to 2 hours after DRE show no significant increases in PSA.¹⁹
12. Human samples should be handled in accordance with the OSHA standard on Bloodborne Pathogens.²⁰

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 and FastPack® production process, Qualigen generates a master standard curve and places this information in the barcode of each FastPack® IP and FastPack® label, where it can be read by the FastPack® IP System analyzer during the testing sequence. The FastPack® IP System analyzer must be calibrated by the user to ensure that it is properly adjusted for the particular lot of FastPacks that is 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 and FastPack® Total PSA Immunoassay, the FastPack® IP System analyzer must be calibrated once every 30 days or whenever a new lot of Total 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 “Calibrating the FastPack® IP System”.

Use FastPack® Total PSA Calibrator Kit – Cat. No. 25000077

RESULTS

The FastPack® IP System 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 “Control Testing”.

The included PSA controls are assayed quality control materials used for the verification of the accuracy and precision of the FastPack® IP System when used for the quantitative determination of PSA in human serum and plasma. The use of control material is indicated as an objective assessment of the precision of methods and techniques in use. Two levels of control are provided to allow performance monitoring within the clinical range.

LIMITATION OF PROCEDURE

- The FastPack® IP and FastPack® Total 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, 50 ng/mL (40 ng/mL WHO).
- Samples >50 ng/mL (>40 ng/mL WHO), or where there is the clinical possibility of a “high-dose hook effect”, should be run using another method. Dilution of out of range results is not recommended.
- In a two-site immunoassay, samples with extremely high concentrations may paradoxically read within the calibration range of the assay. This possibility should be considered in patients with disseminated cancer of the prostate manifesting clinically inappropriately low total PSA concentrations. The FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay does not show a high dose hook effect up to 7,500 ng/mL.
- 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 employing mouse monoclonal antibodies.^{12,13}
- 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.^{14, 15, 16}
- Heterophilic antibodies in a sample have the potential to cause interference in immunoassay systems.^{17, 18} Infrequently, PSA levels may appear elevated due to heterophilic antibodies present in the patient’s serum or plasma 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.
- Some cases of early prostate cancer will not be detected by PSA testing; the same is true for DRE. Biopsy of the prostate is the standard method used to confirm the presence or absence of prostate cancer. For diagnostic purposes, the FastPack® IP and FastPack® Total PSA Immunoassay should always be assessed in conjunction with the patient’s medical history, clinical examination and other findings.

EXPECTED RANGE

Normal, Healthy Male Samples			PSA Level Distribution			
Age (years)	n	Median PSA Level, ng/mL PSA	0 - 4 ng/mL	4.1 - 10.0 ng/mL	10.1 - 30.0 ng/mL	>30.0 ng/mL
30 - 40	9	0.63	9	0	0	0
41 - 50	22	1.24	22	0	0	0
51 - 60	37	0.99	37	0	0	0
61 - 70	25	0.79	24	1	0	0
71 - 80	7	3.42	5	2	0	0
Total male samples	100	0.99	97	3	0	0

Normal, Healthy Male Samples			WHO PSA Level Distribution			
Age (years)	n	Median PSA Level, ng/mL PSA	0 – 3.2 ng/mL	3.3 - 8.0 ng/mL	8.1 - 24.0 ng/mL	>24.0 ng/mL
30 - 40	9	0.50	9	0	0	0
41 - 50	22	0.99	22	0	0	0
51 - 60	37	0.79	37	0	0	0
61 - 70	25	0.63	24	1	0	0
71 - 80	7	2.74	5	2	0	0
Total male samples	100	0.79	97	3	0	0

Normal, Healthy Female Samples			PSA Level Distribution			
	n	Median PSA Level, ng/mL	0 - 4 ng/mL	4.1 - 10.0 ng/mL	10.1 - 30.0 ng/mL	>30.0 ng/mL
	50	0.03	50	0	0	0

Normal, Healthy Female Samples			WHO PSA Level Distribution			
	n	Median PSA Level, ng/mL	0 – 3.2 ng/mL	3.3 - 8.0 ng/mL	8.1 - 24.0 ng/mL	>24.0 ng/mL
	50	0.02	50	0	0	0

Malignant Diseases			PSA Level Distribution			
	n	Median PSA Level, ng/mL	0 - 4 ng/mL	4.1 - 10.0 ng/mL	10.1 - 30.0 ng/mL	>30.0 ng/mL
Kidney	5	0.00	5	0	0	0
Bladder	5	0.44	5	0	0	0
Pancreas	5	0.18	5	0	0	0
Liver	5	0.12	5	0	0	0
Breast	5	0.08	5	0	0	0
Testicles	5	0.61	5	0	0	0
Total Malignant Diseases	30	0.15	30	0	0	0

Malignant Diseases			WHO PSA Level Distribution			
	n	Median PSA Level, ng/mL	0 – 3.2 ng/mL	3.3 - 8.0 ng/mL	8.1 - 24.0 ng/mL	>24.0 ng/mL
Kidney	5	0.00	5	0	0	0
Bladder	5	0.35	5	0	0	0
Pancreas	5	0.14	5	0	0	0
Liver	5	0.12	5	0	0	0
Breast	5	0.10	5	0	0	0
Testicles	5	0.49	5	0	0	0
Total Malignant Diseases	30	0.12	30	0	0	0

Non Malignant Diseases	n	Median PSA Level, ng/mL	PSA Level Distribution			
			0 - 4 ng/mL	4.1 - 10.0 ng/mL	10.1 - 30.0 ng/mL	>30.0 ng/mL
Benign Prostate Hyperplasia	40	1.41	38	2	0	0

Non Malignant Diseases	n	Median PSA Level, ng/mL	WHO PSA Level Distribution			
			0 – 3.2 ng/mL	3.3 - 8.0 ng/mL	8.1 - 24.0 ng/mL	>24.0 ng/mL
Benign Prostate Hyperplasia	40	1.13	38	2	0	0

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision

The reproducibility of the Total 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	0.59	0.48	6.739	3.437	0.000	7.565	13.995	33.6
2	2.98	2.38	4.488	1.720	0.000	4.807	18.464	33.6
3	10.91	8.73	7.479	1.015	2.276	7.883	28.001	33.6
4	22.12	17.69	6.888	0.000	4.976	8.498	31.480	33.6
5	31.06	24.85	6.561	4.417	1.664	8.082	19.158	33.6

Lot 2

Sample	Average, ng/mL		Within Run	Between Run	Between Day	Total Precision	%TE	%T'Ea
	Hybritech	WHO	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0.56	0.45	10.123	3.649	1.157	10.823	29.573	33.6
2	2.70	2.16	9.274	2.895	2.952	10.154	22.425	33.6
3	10.36	8.29	9.451	0.000	1.710	9.605	21.788	33.6
4	20.81	16.65	9.597	4.642	7.917	13.278	28.592	33.6
5	31.30	25.04	7.329	3.742	4.296	9.283	22.439	33.6

Spike Recovery:

Serum - Known samples of PSA were added to female serum specimens. The concentration of PSA was determined before and after the addition of the exogenous PSA and the percent recovery was calculated.

Concentration Added (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
5	4.80	95.9
25	24.64	98.6
40	42.79	107.0

Plasma - Known samples of PSA were added to a normal Heparin pool and a normal EDTA pool. The concentration of PSA was determined and the percentage recoveries were calculated.

Expected ng/mL PSA (Heparin)	Observed ng/mL PSA (Heparin)	Recovery (%)
5.3	5.3	100.0
9.8	9.35	95.4
23.3	29.55	126.8
	Mean	107.4

Expected ng/mL PSA (EDTA)	Observed ng/mL PSA (EDTA)	Recovery (%)
5.0	4.4	88.0
9.5	8.75	92.1
23.0	26.95	117.2
—	Mean	99.1

Dilution Recovery:

Serum - 5 patient pools were diluted 50%, 25% and 12.5% using the zero calibrator and the percentage recoveries were calculated.

Pool #1	Expected Concentration (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
Neat	0.94	0.94	—
50%	0.47	0.44	94.6
25%	0.23	0.28	120.4
12.5%	0.12	0.13	111.8

Pool #2	Expected Concentration (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
Neat	57.07	>50	—
50%	28.53	27.91	97.8
25%	14.27	14.6	102.4
12.5%	7.13	7.13	100.0

Pool #3	Expected Concentration (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
Neat	16.17	16.17	—
50%	8.08	7.62	94.3
25%	4.04	4.43	109.5
12.5%	2.02	2.18	107.9

Pool #4	Expected Concentration (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
Neat	72.5	>50	—
50%	36.25	35.32	97.4
25%	18.12	17.74	97.9
12.5%	9.06	9.06	100.0

Pool #5	Expected Concentration (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
Neat	34.79	34.79	—
50%	17.39	18.09	104.0
25%	8.70	8.45	94.21
12.5%	4.35	4.56	104.8

Plasma - Three EDTA and three Heparin patient pools were diluted 50%, 25%, and 12.5% using the appropriate normal pool (i.e., EDTA patient pool diluted with EDTA normal pool) and the percentage recoveries were calculated.

% of Neat EDTA Pool 1	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	45.5	45.5	—
50	22.9	28.1	122.7
25	11.1	12.2	109.9
12.5	5.7	6.2	108.8
Endogenous Value (ng/mL)	0.31		

% of Neat EDTA Pool 2	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	13.9	13.9	—
50	7.1	6.9	97.2
25	3.7	3.5	94.6
12.5	2.0	2.0	100.0
Endogenous Value (ng/mL)	0.35		

% of Neat EDTA Pool 3	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	24.0	24.0	—
50	12.3	11.5	93.5
25	6.4	6.0	93.8
12.5	3.5	3.4	97.1
Endogenous Value (ng/mL)	0.59		

% of Neat Heparin Pool 1	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	5.3	5.3	—
50	3.1	3.3	106.5
25	2.0	2.1	105.0
12.5	1.4	1.3	92.9
Endogenous Value (ng/mL)	0.85		

% of Neat Heparin Pool 2	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	6.7	6.7	—
50	3.8	4.5	118.4
25	2.3	2.4	104.3
12.5	1.6	1.5	93.8
Endogenous Value (ng/mL)	0.88		

% of Neat Heparin Pool 3	Expected, ng/mL PSA	Observed, ng/mL PSA	Recovery (%)
100	2.2	2.2	—
50	1.5	1.6	106.7
25	1.2	1.2	100.0
12.5	1.0	1.0	100.0
Endogenous Value (ng/mL)	0.88		

Plasma/Serum Comparison

Clinical samples were used to compare the values obtained from plasma and serum samples from the same patient using the FastPack® IP and FastPack® Total PSA method. The values were evaluated for agreement using Deming regression analysis.

n	Range of Observation (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	r
130	0.0 - 49.1	-0.0597	0.9855	0.97

Method Comparison

189 serum samples were used to compare FastPack® tPSA, 25µL against predicate Beckman Access Hybritech PSA. Evaluation was performed using Passing-Bablok regression analysis.

N	Range of Values (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	R
189	0.06 to 46.8	-0.230	1.082	0.985

N	Range of Values, WHO (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	R
189	0.05 to 37.4	-0.184	1.082	0.985

Equimolarity Studies

Three samples containing approximately 2.5, 5 and 10 ng/mL of PSA and varying proportions of free PSA and PSA ACT complex (0 to 100%) were assayed. Statistical analysis at the 95% confidence interval demonstrated that the proportions of free PSA and PSA-ACT complex did not affect the PSA values (P-value 0.324).

INTERFERING SUBSTANCES

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

Test Compound	Test Concentration	Chemotherapeutic Agents	Concentration
d-Biotin	100 ng/mL	Cyclophosphamide	700 µg/mL
Bilirubin	49 mg/dL	Diethylstilbestrol	1 µg/mL
Hemoglobin	600 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Human IgG	1900 mg/dL	Methotrexate	8 µg/mL
Prostatic Acid Phosphatase (PAP)	1000 ng/dL	Megestrol Acetate	90 µg/mL
Triglycerides	3000 mg/dL	Flutamide	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*Interference was found with Human Serum Albumin at 3 g/dL above the endogenous levels. Interference was found with d-Biotin above 100 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 TPSA.

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 0.01 ng/mL TPSA.

The LOQ was determined as the lowest sample which provided <20% CV. The LOQ was set to 0.04 ng/mL.

Analytical Specificity

For the monoclonal antibodies used, the following cross-reactivities were determined: PAP: none; PSA and PSA-ACT are recognized on an equimolar basis.

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.
- 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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Technical Support
(760) 918-9165
(877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germany



© 2000 Qualigen, Inc. All rights reserved. Qualigen and FastPack are trademarks or registered trademarks of Qualigen, Inc.
All other trademarks are the property of their respective owners.

Für die quantitative Messung von Prostata-Spezifischem Antigen (PSA) in menschlichem Serum und Plasma

Die Konzentration von PSA in ein und derselben Probe, die mit Assays verschiedener Hersteller ermittelt wurde, kann infolge unterschiedlicher Assaymethoden und Reagenzienspezifität variieren. Die vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnisse müssen daher einen Hinweis auf die verwendete PSA-Assaymethode enthalten. Mit unterschiedlichen Assaymethoden erhaltene Werte können nicht austauschbar verwendet werden. Wird im Laufe der Patientenüberwachung die zur seriellen Bestimmung der PSA-Werte verwendete Assaymethode gewechselt, sind zur Kontrolle der Basiswerte zusätzliche sequentielle Untersuchungen vorzunehmen.

PSA-Konzentrationen hängen ab von dem Standard, der zur Kalibration des Assays verwendet wird. PSA-Konzentrationen, die auf der Kalibration nach der WHO 96/670 Referenzpräparation basieren, unterscheiden sich erheblich von 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.

VERWENDUNGSZWECK

FastPack® IP und FastPack® Total PSA-Immunoassay ist ein Immunoassay mit paramagnetischen Partikeln zur quantitativen *In-vitro* Bestimmung von prostata-spezifischem Antigen (PSA) in menschlichem Serum und Plasma als Hilfe zur Behandlung von Patienten mit Prostatakrebs. Der FastPack® IP und FastPack® Total PSA Immunoassay ist zur Verwendung mit dem FastPack® IP System vorgesehen.

ÜBERSICHT

Prostata-spezifisches Antigen (PSA) ist ein Glykoprotein (Molekulargewicht 30.000-34.000 Dalton), welches einen hohen Grad an Homologie mit Serinproteasen der Kallikrein-Familie aufweist. Es besitzt die Funktion von Serinprotease mit chymotrypsinähnlicher 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 anderen Proteine akuter Phasen, verhindert.³ PSA tritt im Blut in drei Formen auf. Die zwei durch Antikörper nachweisbaren Formen sind PSA in Komplexen mit Serinproteaseinhibitor α -1-Antichymotrypsin und freies 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} Prostata-spezifisches Antigen ist auch in paraurethralen und analen Drüsen einschließlich dem Brustgewebe anwesend. Entzündung, Trauma oder Reizung der Prostata (z.B. nach einer Biopsie und Kolonoskopie u.ä.) kann zu Erhöhungen der PSA-Werte unterschiedlicher Dauer und Größenordnung führen.

Die Bestimmung der PSA-Werte spielt eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der Therapiewirksamkeit bei Patienten mit Prostatakrebs, wie z.B. radikale Prostatektomie, Strahlentherapie oder Patienten unter Hormontherapie.⁹

TESTPRINZIP

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

- Primärinkubation: Probe, Kontrolle bzw. Kalibrator [25 μ L] und Antikörperlösung (Gemisch aus biotinyliertem monoklonalem PSA-spezifischem Antikörper und einem mit alkalischer Phosphatase markiertem, monoklonalem PSA-spezifischen Antikörper) [100 μ L] reagieren miteinander und bilden dabei einen Sandwich-Komplex.
- Sekundärinkubation: Dem Reaktionsgemisch wird eine Lösung aus streptavidinbeschichteten paramagnetischen Partikeln 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 Partikeln mit Waschpuffer [0,2 mL/Waschlösung] gewaschen.
- Substratzugabe und Nachweis: Dem an die Festphase gebundenen Komplex wird chemoluminogenes Substrat [140 μ L] zugefügt, wodurch Chemolumineszenz entsteht, die mit dem FastPack® IP Analyzer gemessen wird.
- Die Menge des gebundenen markierten Antikörpers verhält sich direkt proportional zur PSA-Konzentration in der Probe.

REAGENZIEN – Inhalt und Konzentration

FastPack® IP Total PSA-Immunoassay - Kat.-Nr. 25000079

Jedes FastPack®-IP-Kit enthält:

- 30 FastPacks
- 1 Kontrollfläschchen 1 x 5 ml
- 1 Kontrollfläschchen 2 x 5 ml
- 1 Kontrollbereichskarte

FastPack® Total PSA-Immunoassay - Kat.-Nr. 25000078

Jedes FastPack®-Kit enthält:

- 50 FastPacks
- 1 Kontrollfläschchen 1 x 5 ml
- 1 Kontrollfläschchen 2 x 5 ml
- 1 Kontrollbereichskarte

Jeder FastPack® IP oder FastPack® enthält:

- Paramagnetische Partikel, 150 µL
Streptavidin-beschichtete paramagnetische Partikel in Puffer mit 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel.
- 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.
- Waschpuffer, 2,0 mL
TRIS-Puffer mit oberflächenaktiven Substanzen.
- Substrat, 145 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-Phosphat und Lucigenin in Puffer mit Konservierungsstoffen.

Kontrollinformationen:

- 5 ml / Fläschchen. Flüssig.
- Komponenten menschlichen Ursprungs, präpariert in einem Tris-Puffer mit Proteinstabilisatoren und 0,1% Natriumazid.
- Die Gesamt-PSA-Zielwerte und -bereiche sind auf der Kontrollbereichskarte aufgedruckt.
- Mischen Sie den Inhalt vor Gebrauch durch sanftes Umkippen. Blasenbildung vermeiden.

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang inbegriffen sind

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA-Kalibrator-Kit - Kat.-Nr. 25000077

WARNUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- **Menschliches Quellmaterial. Als potenziell ansteckend behandeln.**
- In den betreffenden Arbeitszonen weder essen, trinken noch rauchen.
- Kontrollen verschiedener Chargen nicht miteinander vermischen.
- Nach dem Öffnen bleiben die Kontrollen bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil, wenn sie wie angegeben gelagert und gehandhabt werden. Die Kontrollen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Mikrobielle Verschmutzung des Reagens bei der Entnahme von Aliquoten aus den Flaschen vermeiden.
- Hände nach dem Umgang mit Proben gründlich waschen.
- HAMA-Interferenz: Einige Personen besitzen Antikörper zu Mausproteinen (HAMA), was zu Interferenzen in Immunoassays führen kann, welche von Mäusen gewonnene Antikörper verwenden. Insbesondere ist bekannt, dass Serum- oder Plasmaproben von Patienten, die aus therapeutischen oder diagnostischen Gründen eine Infusion von monoklonalen Antikörper aus Mäusen erhalten haben, zu fehlerhaften Resultaten in solchen Assays führen können.
- Bei vorgeschriebener Lagerung und Handhabung sind FastPack® IP und FastPack® Reagenzien bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. FastPack® IP und FastPack® Reagenzien dürfen nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden.
- Die gebrauchten FastPack® IP und FastPack® in einem Sonderbehälter für Bioabfall entsorgen.
- Ungebrauchtes oder abgelaufenes Kontrollmaterial in verschlossenen Fläschchen in einen Behälter für biologisch gefährlichen Abfall entsorgen. Die Bestandteile, die Natriumazid enthalten, sind gemäß der entsprechenden Richtlinien der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EWG) eingestuft als: Schädlich (Xn). Die folgenden sind Risiko- (R) und Sicherheitshinweise (S):

R28	Bei Verschlucken sehr giftig.
R32	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
R50/53	Sehr giftig für Wasserorganismen, kann langfristige negative Auswirkungen auf die Wasserumgebung verursachen.
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 und FastPack® Total PSA-Immunoassay können Serum- und Plasmaproben verwendet werden.
2. Das National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) erteilt Empfehlungen für die Handhabung, Aufbereitung und Lagerung von Blut.^{10,11}
3. Bei der Entnahme von Blutproben sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen bei der Venenpunktion zu beachten.
4. Patienten brauchen vor der Blutentnahme nicht zu fasten.
5. 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 beimindestens –20 °C eingefroren werden.
6. Für Plasmaproben:
 - Proben in Lithium-Heparin-Röhrchen auffangen. Zitratröhrchen dürfen nicht verwendet werden.
 - Das Plasma innerhalb von 3 Stunden nach der Entnahme trennen, und dann bei 2 – 8 °C lagern.
 - Plasma von den Zellen trennen und anschließend bei 2 – 8 °C lagern.
 - Proben, die nicht innerhalb von 24 Stunden analysiert werden, müssen beimindestens –20 °C eingefroren werden.
7. Proben nicht länger als zwei Monate (bei –20 °C) einfrieren.
8. Eingefrorene Proben sollten vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut und durch sanftes Umdrehen gemischt werden.
9. Für optimale Ergebnisse müssen Proben frei von Fibrin, roten Blutzellen oder anderen Partikelstoffen sein. Proben mit Anzeichen von Trübung und/oder Partikelstoffen sind vor der Verwendung zu zentrifugieren.
10. Die Proben dürfen keine Blasen aufweisen.
11. Proben, die bis zu 2 Stunden nach einer digitalen Rektaluntersuchung entnommen wurden, zeigen keine signifikante Zunahme der PSA-Werte.¹⁹
12. Humanproben sind entsprechend dem OSHA-Standard für blutübertragene Krankheitserreger zu behandeln.²⁰

ASSAYVERFAHREN

Zum Gebrauch des FastPack® IP Systems siehe das entsprechende Bedienungshandbuch.

ANALYSEGERÄT

FastPack® IP System

EINZELHEITEN ZUR KALIBRIERUNG

Während des FastPack® IP und FastPack®-Produktionsprozesses generiert Qualigen eine Standardkurve und schreibt diese Informationen in den Barcode jedes FastPack® IP und FastPack® 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 und FastPack® Total PSA-Immunoassay muss der FastPack® IP Analyzer alle 30 Tage oder vor jedem Gebrauch einer neuen Charge von Gesamt-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® Total PSA-Kalibrator-Kit – Kat.-Nr. 25000077.

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.

Die enthaltenen PSA-Kontrollen sind getestete Qualitätskontrollmaterialien zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision des FastPack® IP-Systems bei Verwendung für die quantitative Bestimmung von PSA in menschlichem Serum und Plasma. Die Verwendung von Kontrollmaterialien ist zur objektiven Beurteilung der Präzision der verwendeten Methoden und Techniken indiziert. Es stehen zwei verschiedene Kontrollen zur Überprüfung der Leistung innerhalb des klinischen Bereichs zur Verfügung.

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Der FastPack® IP und FastPack® Total PSA ist nicht zur Verwendung bei der Diagnose von Prostatakrebs vorgesehen.
- Eine exakte Messung der Proben ist innerhalb des messbaren Bereichs der Analyseempfindlichkeit und des höchsten Kalibrators von 50 ng/mL (40 ng/mL WHO) möglich.
- Proben von >50 ng/ml (>40 ng/ml WHO) oder wenn die klinische Möglichkeit eines "Hook-Effekts" bei hohen Dosen (High Dose Hook Effect) besteht, sollten mit einer anderen Methode überprüft werden. Die Verdünnung von Ergebnissen, die außerhalb des Bereichs liegen, wird nicht empfohlen.
- In einem Two-Site-Immunoassay können Proben mit extrem hohen Konzentrationen paradoxerweise Werte innerhalb des Kalibrationsbereichs des Assay aufweisen. Diese Möglichkeit sollte bei Patienten mit verstreutem Prostatakarzinom, bei denen sich klinisch ungewöhnlich niedrige Total-PSA-Konzentrationen zeigen, in Betracht gezogen werden. Der FastPack® PSA-Immunoassay weist bis zu 7,500 ng/ml keinen "Hook Effekt" bei hohen Dosen auf.
- 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 von Mäusen verwenden, können diese Proben fälschlicherweise entweder erhöhte oder verringerte Werte aufweisen.^{12,13}
- 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.^{14,15,16}
- Heterophile Antikörper in Proben können eventuell zu Interferenzen in Immunoassaysystemen führen.^{17,18} In seltenen Fällen können erhöhte PSA-Werte aufgrund von heterophilen Antikörpern im Serum oder Plasma des Patienten oder infolge unspezifischer Proteinbindung auftreten. Steht der PSA-Wert im Widerspruch zur klinischen Beurteilung, werden zur Untermauerung der Ergebnisse weitere PSA-Test empfohlen.
- Prostatamassage, 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.
- Einige Fälle von Prostatakarzinom im Frühstadium werden nicht durch die PSA-Prüfung erkannt; das Gleiche gilt für die digitale Rektaluntersuchung. Die Standardmethode zur Prüfung der An- oder Abwesenheit eines Prostatakarzinoms ist die Prostatabiopsie. Zu Diagnosezwecken sollte der FastPack® IP Total PSA-Immunoassay stets zusammen mit der Krankengeschichte, mit klinischen Untersuchungen des Patienten und sonstigen Erkenntnissen herangezogen werden.

ERWARTETER BEREICH

Proben von normalen, gesunden Männern			PSA-Wert-Verteilung			
Alter (Jahre)	n	Mittlerer PSA Wert ng/mL PSA	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
30 - 40	9	0,63	9	0	0	0
41 - 50	22	1,24	22	0	0	0
51 - 60	37	0,99	37	0	0	0
61 - 70	25	0,79	24	1	0	0
71 - 80	7	3,42	5	2	0	0
Gesamtzahl männlicher Proben	100	0,99	97	3	0	0

Proben von normalen, gesunden Männern			WHO PSA-Wert-Verteilung			
Alter (Jahre)	n	Mittler PSA-Wert ng/mL PSA	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
30 - 40	9	0,50	9	0	0	0
41 - 50	22	0,99	22	0	0	0
51 - 60	37	0,79	37	0	0	0
61 - 70	25	0,63	24	1	0	0
71 - 80	7	2,74	5	2	0	0
Gesamtzahl männlicher Proben	100	0,79	97	3	0	0

Proben von normalen, gesunden Frauen			PSA-Wert-Verteilung			
	n	Mittlerer PSA Wert ng/mL	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
	50	0,03	50	0	0	0

Proben von normalen,			WHO PSA-Wert-Verteilung			
	n	Mittler PSA-Wert ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL

gesunden Frauen	50	0,02	50	0	0	0
			PSA-Wert-Verteilung			
Bösartige Erkrankungen	n	Mittlerer PSA-Wert ng/mL	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Niere	5	0,00	5	0	0	0
Blase	5	0,44	5	0	0	0
Bauchspeicheldrüse	5	0,18	5	0	0	0
Liber	5	0,12	5	0	0	0
Brust	5	0,08	5	0	0	0
Hoden	5	0,61	5	0	0	0
Gesamtzahl bösartiger Erkrankungen	30	0,15	30	0	0	0

			WHO PSA-Wert-Verteilung			
Bösartige Erkrankungen	n	Mittler PSA-Wert ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Niere	5	0,00	5	0	0	0
Blase	5	0,35	5	0	0	0
Bauchspeicheldrüse	5	0,14	5	0	0	0
Leber	5	0,12	5	0	0	0
Brust	5	0,10	5	0	0	0
Hoden	5	0,49	5	0	0	0
Gesamtzahl bösartiger Erkrankungen	30	0,12	30	0	0	0

			PSA-Wert-Verteilung			
Gutartige Erkrankungen	n	Mittlerer PSA-Wert ng/mL PSA	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Gutartige Prostatavergrößerung	40	1,41	38	2	0	0

			WHO PSA-Wert-Verteilung			
Gutartige Erkrankungen	n	Mittler PSA-Wert ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Gutartige Prostatavergrößerung	40	1,13	38	2	0	0

SPEZIFISCHE LEISTUNGSKENNWERTE

Genauigkeit

Die Reproduzierbarkeit des Total PSA-Assays 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

<u>Probe</u>	<u>Durchschnitt, ng/ml</u>		<u>Innerhalb von Durchlauf</u>	<u>Zwischen Durchläufen</u>	<u>Zwischen Tagen</u>	<u>Präzision insgesamt</u>		
	<u>Hybritech</u>	<u>WHO</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% TE</u>	<u>% T'Ea</u>
1	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Charge 2

<u>Probe</u>	<u>Durchschnitt, ng/ml</u>		<u>Innerhalb von Durchlauf</u>	<u>Zwischen Durchläufen</u>	<u>Zwischen Tagen</u>	<u>Präzision insgesamt</u>		
	<u>Hybritech</u>	<u>WHO</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% CV</u>	<u>% TE</u>	<u>% T'Ea</u>
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Rückgewinnung bei Spitzenkonzentrationen

Serum - Weiblichem Serum wurden bekannte PSA-Proben beigefügt. Die PSA-Konzentration wurde vor und nach der Zufügung des exogenen PSA bestimmt und daraus die prozentuale Rückgewinnung berechnet.

Zugefügte Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma - Bekannte PSA-Proben wurde einem normalen Heparinpool und einem normalen EDTA-Pool zugefügt. Die PSA-Konzentration wurde ermittelt und daraus die prozentuale Rückgewinnung berechnet.

Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL (Heparin)	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL (Heparin)	Rückgewinnung (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4
23,3	29,55	126,8
	Mittelwert	107,4

Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL (EDTA)	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL (EDTA)	Rückgewinnung (%)
5,0	4,4	88,0
9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Mittelwert	99,1

Rückgewinnung bei Verdünnung

Serum - 5 Patientenpools wurden mit Nullkalibrator auf 50%, 25% und 12,5% verdünnt und die prozentuale Rückgewinnung wurde jeweils berechnet.

Pool 1	Erwartete Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
Unverdünnt	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Pool 2	Erwartete Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
Unverdünnt	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Pool 3	Erwartete Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
Unverdünnt	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Pool 4	Erwartete Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
Unverdünnt	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Pool 5	Erwartete Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Konzentration (ng/mL)	Rückgewinnung (%)
Unverdünnt	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma - Je drei Patientenpools mit EDTA und Heparin wurden auf 50%, 25% und 12,5% mit der entsprechenden Normalprobe verdünnt (d.h. EDTA-Patientenproben verdünnt mit EDTA-Normalproben) und die prozentuale Rückgewinnung wurde jeweils berechnet.

% unverdünnter EDTA-Pool 1	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Endogener Wert (ng/mL)	0,31		

% unverdünnter EDTA-Pool 2	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Endogener Wert (ng/mL)	0,35		

% unverdünnter EDTA-Pool 3	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Endogener Wert (ng/mL)	0,59		

% unverdünnter Heparinpool 1	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Endogener Wert (ng/mL)	0,85		

% unverdünnter Heparinpool 2	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Endogener Wert (ng/mL)	0,88		

% unverdünnter Heparinpool 3	Erwartete PSA-Konzentration in ng/mL	Beobachtete PSA-Konzentration in ng/mL	Rückgewinnung (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Endogener Wert (ng/mL)	0,88		

Plasma/Serum-Vergleich

Klinische Proben wurden herangezogen, um die mit Hilfe der FastPack® IP und FastPack® PSA-Methode gewonnenen Ergebnisse aus Plasma- und Serumproben ein und desselben Patienten miteinander zu vergleichen. Die Werte wurde anhand der Deming- Regressionsanalyse auf Übereinstimmung überprüft.

n	Beobachteter Bereich (ng/mL)	Schnittpunkt (ng/mL)	Steigung	r
130	0,0 - 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Methodenvergleich

189 Serumproben wurden zum Vergleich von FastPack® tPSA, 25 µl, mit dem Beckman Access Hybritech PSA-Prädikaten verwendet. Die Evaluation wurde anhand der Passing-Bablok-Regressionanalyse durchgeführt.

N	Wertebereich (ng/ml)	Schnittpunkt (ng/ml)	Neigung	R
189	0,06 bis 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Wertebereich, WHO (ng/ml)	Schnittpunkt (ng/ml)	Neigung	R
189	0,05 bis 37,4	-0,184	1,082	0,985

Äquimolaritätsstudien

Drei Proben mit ca. 2,5, 5 und 10 ng/mL PSA und unterschiedlichen Konzentrationen von freiem PSA und PSA-ACT Komplex (0-100%) wurden analysiert. Statistische Untersuchungen mit 95% iger Zuverlässigkeit haben erwiesen, dass die PSA-Werte nicht durch das Verhältnis von freiem PSA und PSA-ACT-Komplex beeinflusst werden (P-Wert 0,324).

STÖRENDE SUBSTANZEN

Störsubstanzen wurden Serumpools mit bekanntem Gehalt an 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	100 ng/mL	Cyclophosphamid	700 µg/mL
Bilirubin	49 mg/dL	Diethylstilbestrol	1 µg/mL
Hämoglobin	600 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Menschliches IgG	1900 mg/dL	Methotrexat	8 µg/mL
Saure Phosphatase der Prostata (PAP)	1000 ng/dL	Megestrolacetat	90 µg/mL
Triacylglycerine	3000 mg/dL	Flutamid	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*Bei menschlichem Serumalbumin wurde eine Interferenz bei 3 g/dl über den endogenen Werten festgestellt. Interferenzen gab es mit d-Biotin bei über 100 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 TPSA.

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 0,01 ng/ml TPSA.

Die LOQ wurde als die geringste Probe bestimmt, die <20 % CV bereitstellte. Die LOQ wurde auf 0,04 ng/ml festgelegt.

Analysespezifizität

Für die verwendeten monoklonalen Antikörper wurden die folgenden Kreuzreaktivitäten festgestellt: PAP: keine; PSA und PSAACT werden auf äquimolarer Basis erkannt.

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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The „correct“ PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



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 Marken sind Eigentum der jeweiligen Besitzer.

Pour la mesure quantitative de l'antigène prostatique-spécifique (PSA) dans le sérum et le plasma humain

La concentration de PSA 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 du PSA utilisée. En effet, les valeurs obtenues par des méthodes de dosage différentes ne peuvent pas être utilisées de manière interchangeable. Si, au cours de l'observation d'un patient, la méthode de dosage utilisée pour la détermination en série des niveaux de PSA est changée, des tests séquentiels supplémentaires doivent être effectués pour confirmer les valeurs de référence.

Les concentrations en PSA dépendent de l'étalon utilisé pour étalonner le dosage. Les concentrations en PSA basées sur l'étalonnage conformément à la Préparation de référence WHO 96/670 présenteront des différences significatives par rapport aux concentrations en PSA 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.

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® Total PSA est un dosage immunologique à particules paramagnétiques destiné à la détermination quantitative *in vitro* d'antigènes prostatiques spécifiques (PSA) dans le sérum et le plasma humains dans le cadre du traitement des patients atteints de cancer de la prostate. Le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® Total PSA est conçu pour être utilisé avec FastPack® IP.

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 α -1 antichymotrypsine (ACT), α -2-macroglobuline et d'autres protéines de phase aiguë.³ Le PSA est présent dans le sang sous trois formes. Les 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 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} L'antigène prostatique spécifique est également présent dans les glandes paraurétrales et anales, y compris le tissu mammaire. Une inflammation, un traumatisme ou une stimulation de la prostate (à la suite d'une biopsie et d'une colonoscopie, etc.) peut élever le niveau du PSA d'un degré et pendant une durée variés.

La détermination du PSA fait partie intégrante de la surveillance de l'efficacité du traitement chez les patients atteints de cancer de la prostate, dont la prostatectomie radicale, la radiothérapie ou un traitement hormonal.⁹

PRINCIPE DU TEST

Le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® Total PSA est un dosage à chimioluminescence basé sur le principe du « sandwich ».

- Incubation primaire : L'échantillon, le contrôle ou l'étalon [25 μ L] et la solution d'anticorps (mélange d'un anticorps monoclonal biotinylé spécifique au PSA et d'un anticorps monoclonal spécifique au PSA marqué avec de la phosphatase alcaline) [100 μ L] réagissent pour former un complexe en sandwich.
- Incubation secondaire : Une solution de particules paramagnétiques recouvertes de streptavidine 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 μ L] 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 dans l'échantillon.

RÉACTIFS – Contenu et concentration

Dosage immunologique FastPack® IP Total PSA - N° de cat. 25000079

Chaque kit FastPack® IP contient :

- 30 FastPacks
- 1 flacon de contrôle 1 x 5 ml
- 1 flacon de contrôle 2 x 5 ml
- 1 fiche de plage de contrôle

Dosage immunologique FastPack® IP Total PSA - N° de cat. 25000078

Chaque kit FastPack® contient :

- 50 FastPacks
- 1 flacon de contrôle 1 x 5 ml
- 1 flacon de contrôle 2 x 5 ml
- 1 fiche de plage de contrôle

Chaque de FastPack® IP ou FastPack® 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, 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
Tampon TRIS contenant des agents tensio-actifs.
- Substrat, 145 µL
ImmuGlow™ : Indoxyle-3-phosphate et lucigénine en solution tampon contenant des agents de conservation.

Informations de contrôle :

- 5 ml/flacon. Liquide.
- Composants d'origine humaine préparés dans un tampon tris avec des stabilisateurs protéiques et de l'azoture de sodium à 0,1%.
- Les valeurs PSA cibles totales et les plages sont imprimées sur la fiche de plage de contrôle.
- Mélanger le contenu en retournant doucement le produit avant utilisation. Éviter la formation de bulles.

Produits nécessaires mais non fournis

- Système FastPack® IP
- Kit d'étalonnage FastPack® Total PSA – N° de cat. 25000077

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- **Produit d'origine humaine. À traiter comme potentiellement infectieux.**
- Ne pas manger, boire ni fumer dans les zones de travail désignées.
- Ne pas mélanger les contrôles de différents lots.
- Après ouverture, les contrôles restent stables jusqu'à la date d'expiration sur l'étiquette quand ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions. Ne pas utiliser les contrôles après la date d'expiration.
- Éviter toute contamination microbienne du réactif lorsque les aliquotes sont retirées des bouteilles.
- 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 ou de plasma 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 et FastPack® 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 et FastPack® usagés dans un récipient pour produits biologiques dangereux.
- Jeter les produits de contrôle non utilisés ou périmés dans un flacon bouché et dans un conteneur pour substances biologiques dangereuses. Les composants contenant de l'azoture de sodium sont classés par les directives applicables de la Communauté économique européenne (CEE) de la manière suivante : Dangereux (Xn). Les phrases de risque (R) et de sécurité (S) appropriées figurent ci-dessous :

R28	Très toxique en cas d'ingestion.
R32	Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
R50/53	Très toxique pour les organismes aquatiques, peut provoquer des effets indésirables sur le long terme dans l'environnement aquatique
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	If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

CONSERVATION

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

PRÉLÈVEMENT / PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

- Des échantillons de sérum ou de plasma peuvent être utilisés pour le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® Total PSA.
- Le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) fournit des recommandations pour la manipulation, le traitement et la conservation du sang.^{10,11}
- Prélever tous les échantillons de sang en observant les précautions habituelles en rapport avec la ponction veineuse.
- Il n'est pas nécessaire que les patients jeûnent avant le prélèvement des échantillons.
- Pour les échantillons de sérum :
 - 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.
- Pour les échantillons de plasma
 - Recueillir les échantillons dans des tubes d'héparine lithium. Ne pas utiliser de tubes de citrate.
 - Le plasma doit être séparé dans les 3 heures à compter du moment de son prélèvement, et conservé entre 2 et 8 °C.
 - Séparer le plasma 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.
- Ne pas congeler les échantillons (-20 °C) pendant plus de deux mois.
- Les échantillons congelés doivent être dégelés complètement et mélangés délicatement par inversion avant leur emploi.
- Pour obtenir les meilleurs résultats, les échantillons doivent être exempts de fibrine, de globules rouges ou d'autres particules. Les échantillons troubles ou contenant des particules doivent être centrifugés avant leur utilisation.
- Veiller à ce que les échantillons soient exempts de bulles d'air. **PLAGE ATTENDUE**
- Les échantillons prélevés jusqu'à 2 heures après un examen rectal digital ne présentent pas d'augmentation significative des antigènes prostatiques spécifiques (PSA).¹⁹
- Traiter les échantillons humains conformément aux normes OSHA relatives aux agents pathogènes à diffusion hémato-gène.²⁰

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 et FastPack®, Qualigen génère une courbe de référence puis transfère les informations correspondantes sur le code à barres de chaque étiquette FastPack® IP et FastPack®, 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® IP ou 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 et FastPack® Total PSA, l'analyseur FastPack® IP doit être étalonné tous les 30 jours ou à chaque fois qu'un nouveau lot de FastPack® IP ou FastPack® est utilisé.

Lors de l'étalonnage initial pour un lot de FastPack® IP ou FastPack® particulier ou de l'utilisation d'un nouveau lot d'étalons, 2 FastPack® IP ou FastPack® sont requis pour l'étalonnage (doubles). Lorsqu'un réétalonnage est effectué avec le même lot de FastPack® IP ou FastPack® et d'étalons, 2 FastPack® IP ou FastPack® 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 FastPack® Total PSA – N° de cat. 25000077

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.

Les contrôles PSA inclus sont des dispositifs dosés de contrôle qualité utilisés pour la vérification de l'exactitude et de la précision du système FastPack® IP lorsqu'il est utilisé pour la détermination quantitative de PSA dans du sérum et du plasma humain. L'utilisation de dispositif de contrôle est indiquée pour l'évaluation objective de la précision des méthodes et techniques utilisées. Deux niveaux de contrôle sont proposés pour permettre le contrôle de la performance dans la plage d'utilisation clinique.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Le FastPack® IP et FastPack® Total 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 et de l'étalon le plus élevé, 50 ng/mL (40 ng/mL WHO).
- Les échantillons >50 ng/ml (>40 ng/ml WHO ou pour lesquels il existe une possibilité clinique d'un « effet crochet à haute dose » doivent être traités à l'aide d'une méthode différente. La dilution des résultats hors-plage n'est pas recommandée.
- Dans un dosage immunologique à deux sites, les résultats d'échantillons ayant des concentrations extrêmement élevées peuvent paradoxalement tomber dans la plage d'étalonnage du dosage. Cette éventualité doit être considérée chez les patients atteints d'un cancer de la prostate disséminé présentant des concentrations de PSA total trop basses au vu des circonstances cliniques. Le dosage immunologique FastPack® PSA ne présente pas d'effet de crochet à haute dose jusqu'à 7,500 ng/ml.
- 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). Ils peuvent indiquer des valeurs faussement élevées ou faussement basses lorsqu'ils sont testés avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux d'origine murine.^{12,13}
- 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.^{14,15,16}
- Les anticorps hétérophiles d'un échantillon peuvent causer des interférences dans les systèmes de dosages immunologiques.^{17,18} Il arrive, infrequently, que les niveaux de PSA paraissent élevés à cause d'anticorps hétérophiles présents dans le sérum ou le plasma 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 récidivante.
- Certains cas précoces de cancer de la prostate ne seront pas détectés au moyen du dosage de PSA ; il en est de même pour l'examen rectal digital. Une biopsie de la prostate est la méthode standard utilisée pour confirmer la présence ou l'absence du cancer de la prostate. À des fins de diagnostic, le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® PSA doit toujours être évalué en conjonction avec les antécédents médicaux du patient, les examens cliniques et les autres constatations.

PLAGE ATTENDUE

Échantillons d'hommes sains, normaux			Distribution des niveaux de PSA			
Âge (ans)	n	Niveau de PSA moyen (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
30 - 40	9	0,63	9	0	0	0
41 - 50	22	1,24	22	0	0	0
51 - 60	37	0,99	37	0	0	0
61 - 70	25	0,79	24	1	0	0
71 - 80	7	3,42	5	2	0	0
Total des échantillons masculins	100	0,99	97	3	0	0

Échantillons d'hommes sains, normaux			Distribution des taux de PSA selon WHO			
Âge (ans)	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL PSA	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
30 - 40	9	0,50	9	0	0	0
41 - 50	22	0,99	22	0	0	0
51 - 60	37	0,79	37	0	0	0
61 - 70	25	0,63	24	1	0	0
71 - 80	7	2,74	5	2	0	0
Total des échantillons masculins	100	0,79	97	3	0	0

			Distribution des niveaux de PSA			
Échantillons de femmes saines, normales	n	Niveau de PSA moyen (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
	50	0,03	50	0	0	0

			Distribution des taux de PSA selon WHO			
Échantillons de femmes saines, normales	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
	50	0,02	50	0	0	0

			Distribution des niveaux de PSA			
Maladies cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Rein	5	0,00	5	0	0	0
Vessie	5	0,44	5	0	0	0
Pancréas	5	0,18	5	0	0	0
Foie	5	0,12	5	0	0	0
Sein	5	0,08	5	0	0	0
Testicules	5	0,61	5	0	0	0
Total des maladies cancéreuses	30	0,15	30	0	0	0

			Distribution des taux de PSA selon WHO			
Maladies cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Rein	5	0,00	5	0	0	0
Vessie	5	0,35	5	0	0	0
Pancréas	5	0,14	5	0	0	0
Foie	5	0,12	5	0	0	0
Sein	5	0,10	5	0	0	0
Testicules	5	0,49	5	0	0	0
Total des maladies cancéreuses	30	0,12	30	0	0	0

			Distribution des niveaux de PSA			
Maladies non cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL

Hyperplasie prostatique bénigne	40	1,41	38	2	0	0
---------------------------------	----	------	----	---	---	---

		Distribution des taux de PSA selon WHO				
Maladies non cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Hyperplasie prostatique bénigne	40	1,13	38	2	0	0

CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE PERFORMANCE

Précision

La reproductibilité du dosage de la PSA totale 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	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Lot 2

Échantillon	Moyenne, ng/ml		Intra-série	Entre séries	Entre jours	Précision totale	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Récupération de pics

Sérum - Des échantillons connus de PSA ont été ajoutés à des échantillons de sérum de femmes. La concentration de PSA a été déterminée avant et après l'addition de PSA exogène, et le pourcentage de récupération a été calculé.

Concentration ajoutée (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma - Des échantillons connus de PSA ont été ajoutés respectivement à un pool normal d'héparine et d'EDTA. La concentration de PSA a été déterminée, et le pourcentage de récupération a été calculé.

PSA en ng/mL attendu (Héparine)	PSA en ng/mL observée (Héparine)	Récupération (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4
23,3	29,55	126,8
	Mean	107,4

PSA en ng/mL attendu (EDTA)	PSA en ng/mL observée (EDTA)	Récupération (%)
5,0	4,4	88,0

9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Mean	99,1

Récupération lors de dilution

Sérum - 5 pools de sérum de patients ont été dilués à 50%, 25% et 12,5% en utilisant l'étalon zéro, et le pourcentage de récupération a été calculé.

Pool n° 1	Concentration attendue (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
Non dilué	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Pool n° 2	Concentration attendue (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
Non dilué	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Pool n° 3	Concentration attendue (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
Non dilué	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Pool n° 4	Concentration attendue (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
Non dilué	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Pool n° 5	Concentration attendue (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
Non dilué	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma - Trois pools de plasma de patients avec EDTA et trois avec héparine ont été dilués à 50%, 25% et 12,5% en utilisant le pool normal approprié (c.-à-d. le pool de patients EDTA dilué avec le pool normal EDTA) et le pourcentage de récupération a été calculé.

% de pool n° 1 avec EDTA pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Valeur endogène (ng/mL)	0,31		

% de pool n° 2 avec EDTA pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Valeur endogène (ng/mL)	0,35		

% de pool n° 3 avec EDTA pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Valeur endogène (ng/mL)	0,59		

% de pool n° 1 avec héparine pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Valeur endogène (ng/mL)	0,85		

% de pool n° 2 avec héparine pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Valeur endogène (ng/mL)	0,88		

% de pool n° 3 avec héparine pur	PSA en ng/mL attendu	PSA en ng/mL observée	Récupération (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Valeur endogène (ng/mL)	0,88		

Comparaison plasma / sérum

Des échantillons cliniques ont été utilisés pour comparer les valeurs obtenues à partir des échantillons de plasma et de serum du même patient en utilisant la méthode FastPack® IP et FastPack® PSA. Les valeurs ont été évaluées pour déterminer si elles concordaient en utilisant l'analyse de régression de Deming.

n	Plage d'observation (ng/mL)	Coordonnée d'origine (ng/mL)	Pente	r
130	0,0 - 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Comparaison des méthodes

189 échantillons de sérum ont été utilisés pour comparer le FastPack® tPSA, 25 µl, au prédictat Beckman Access Hybritech PSA. L'évaluation a été réalisée en utilisant une analyse de régression de Passing-Bablok.

N	Plage de valeurs (ng/ml)	Intercept (ng/ml)	Pente	R
189	0,06 à 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Plage de valeurs, OMS (ng/ml)	Intercept (ng/ml)	Pente	R
189	0,05 à 37,4	-0,184	1,082	0,985

Études d'équimolarité

Trois échantillons contenant environ 2,5, 5 et 10 ng/mL de PSA avec des proportions variées de PSA libre et de complexe PSA-ACT (0 à 100%) ont été dosés. L'analyse statistique à un intervalle de confiance de 95% a démontré que les proportions de PSA libre et de complexe PSA-ACT n'affectaient pas les valeurs de PSA (valeur P = 0,324).

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Des substances interférentes ont été ajoutées à des pools de sérum contenant des quantités connues de PSA. La valeur obtenue pour les pools de sérum avec chaque substance interférente a été comparée à la valeur obtenue pour ce même pools 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	100 ng/mL	Cyclophosphamide	700 µg/mL
Bilirubine	49 mg/dL	Diéthylstilbestrol	1 µg/mL
Hémoglobine	600 mg/dL	Chorhydrate de doxorubicine	16 µg/mL
IgG humaine	1 900 mg/dL	Methotrexate	8 µg/mL
Phosphatase acide prostatique (PAP)	1 000 ng/dL	Megestrol Acetate	90 µg/mL
Triglycérides	3 000 mg/dL	Flutamide	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*Une interférence a été trouvée avec de la sérumalbumine humaine à 3 g/dL au-dessus des niveaux endogènes. Des interférences ont été observées avec la d-biotine au-dessus de 100 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 TPSA.

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 0,01 ng/ml de TPSA.

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 0,04 ng/ml.

Spécificité analytique

Pour les anticorps monoclonaux utilisés, les réactivités croisées suivantes ont été déterminées : PAP : aucune ; PSA et PSA-ACT sont reconnus sur une base équimolaire.

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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



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.

Para la medición cuantitativa del **antígeno específico de la próstata (PSA)** en el suero y el plasma humanos

La concentración de PSA 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. Los valores obtenidos con distintos métodos de análisis no se pueden usar de forma intercambiable. Si durante la monitorización de un paciente se cambia el método utilizado para determinar secuencialmente los niveles de PSA, se deben realizar pruebas secuenciales adicionales para confirmar los valores de referencia.

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.

USO PREVISTO

El inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® es un inmunoensayo con partículas paramagnéticas destinado a la determinación cuantitativa *in vitro* del antígeno específico de la próstata (PSA) en el suero y el plasma humanos, como elemento de ayuda para el tratamiento de pacientes que padecen cáncer de próstata. El inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® está concebido para uso con el Sistema FastPack® IP.

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 calicreína. 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 antitripsina (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-antitripsina y el PSA libre o no complexado.^{4,5,6} La tercera forma, que no es detectable por medio de los inmunoensayos 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} 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 prostate (por ejemplo, tras una biopsia y colonoscopia, etc.) puede causar una elevación del PSA con una duración y magnitud variadas.

La determinación del PSA forma parte integral de la evaluación de la eficiencia de la terapia en pacientes de cancer de próstata, por ejemplo, pacientes sometidos a una prostatectomía radical, a radioterapia o pacientes que están recibiendo terapia hormonal.⁹

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® es un análisis de quimioluminiscencia basado en el principio del "sándwich".

- Incubación primaria: La muestra, el control o calibrador [25 μ L] y la solución de anticuerpo (mezcla de un anticuerpo monoclonal biotinilado del PSA con un anticuerpo monoclonal del PSA marcado con fosfatasa alcalina) [100 μ L] 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. 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 μ L] 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 en la muestra.

REACTIVOS – Contenido y concentración

Inmunoensayo de FastPack® IP Total PSA - Núm. de catálogo 25000079

Cada kit FastPack® IP contiene:

- 30 FastPacks
- 1 control de 1 frasco ampolla x 5 ml
- 1 control de 2 frascos ampolla x 5 ml
- 1 tarjeta de control de rango

Inmunoensayo de FastPack® Total PSA - Núm. de catálogo 25000078

Cada kit FastPack® contiene:

- 50 FastPacks
- 1 control de 1 frasco ampolla x 5 ml
- 1 control de 1 frasco ampolla x 5 ml
- 1 tarjeta de control de rango

Cada FastPack® IP o FastPack® 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, 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.
- Substrato, 145 µL
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato y lucigenina en una solución tampón que contiene agentes conservadores.

Información de control:

- 5 ml / frasco ampolla. Líquido.
- Componentes de origen humano preparados en una solución tampón Tris con estabilizantes de proteínas y 0,1% de azida sódica.
- Los valores y los rangos totales de PSA se imprimen en la tarjeta de control de rango.
- Antes de utilizar, invierta suavemente para mezclar el contenido. Evite la formación de burbujas.

Materiales requeridos pero no provistos

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibrador de PSA Total FastPack® – Núm. de catálogo 25000077

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- No administrar oralmente con pipeta.
- **Material de origen humano. Trate como potencialmente infeccioso.**
- No comer, beber o fumar en las áreas de trabajo designadas.
- No mezcle controles de distintos lotes.
- Después de abierto, el control permanece estable hasta la fecha de caducidad en la etiqueta, siempre que sea almacenado y manipulado según las instrucciones. No utilice controles cuya fecha de caducidad haya pasado.
- Evite la contaminación microbiana del reactivo cuando elimine alícuotas de los frascos.
- 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 inmunoensayo que emplean anticuerpos de origen murino. En particular, se ha reportado que las muestras de suero o de plasma 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 y FastPack® son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre y cuando se guarden y se manipulen de conformidad con las instrucciones. No use los reactivos de FastPack® IP y FastPack® más allá de la fecha de caducidad.
- Deseche los FastPacks usados en un recipiente para productos biológicos peligrosos.
- El material de control que no haya sido utilizado o que haya caducado deséchelo en frascos ampolla con tapón en un contenedor para residuos biológicos. Los componentes que contienen azida sódica están clasificados en las Directivas de la Comunidad Económica Europea (CEE) como: Nociva (Xn). Las siguientes son las frases apropiadas de Riesgo (R) y Seguridad (S):

R28 Muy tóxico por ingestión.

R32 En contacto con un ácido, emite un gas muy tóxico.

R50/53 Muy tóxico para los organismos acuáticos; puede causar efectos perjudiciales a largo plazo en el medio acuático.

S2 Mantenerlo fuera del alcance de los niños.

S13 Mantenerlo apartado de la comida, bebida y alimentos para animales.

S36 Vestir ropa protectora apropiada.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

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

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. El inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® puede usarse para analizar muestras de suero o de plasma.
2. El National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) emite recomendaciones para la manipulación, el procesamiento y la conservación de sangre.^{10,11}
3. Recoger todas las muestras de sangre, observando las precauciones habituales para la punción venosa.
4. No se requiere que los pacientes ayunen antes de la extracción de sangre.
5. 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.
 - Retire 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.
6. Para las muestras de plasma:
 - Recoger las muestras en tubos de heparina litio. No se deben usar tubos de citrato.
 - El plasma debe centrifugarse y separarse dentro de un plazo de 3 horas de su recolección.
 - Retirar el plasma 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.
7. No congelar las muestras (–20 °C) más de dos meses.
8. Antes de usarlas, las muestras congeladas deben descongelarse totalmente y mezclarse por inversión suave.
9. Para obtener resultados óptimos, las muestras no deben contener fibrina, glóbulos rojos, u otros materiales particulados. Las muestras que exhiban turbidez y/o material particulado deben centrifugarse antes de usarlas.
10. Asegurarse de que las muestras no tengan burbujas.
11. Las muestras recogidas hasta 2 horas después del DRE no muestran aumentos significativos del PSA.¹⁹
12. Las muestras humanas deben manipularse de conformidad con la norma de OSHA para patógenos sanguíneos.²⁰

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 y FastPack®, Qualigen genera una curva maestra estándar y coloca esta información, en forma de código de barras, en cada etiqueta de FastPack® IP y FastPack®, 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 Total FastPack® IP y FastPack®, el analizador FastPack® IP debe calibrarse una vez cada 30 días, o cada vez que se va a utilizar un Nuevo lote de FastPacks de PSA Total.

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 Total FastPack® – Núm. de catálogo 25000077

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 procedimientos del Sistema FastPack® IP.

Los controles PSA que se incluyen materiales de control con ensayos de calidad utilizados para comprobar la exactitud y la precisión del sistema FastPack® IP cuando se utiliza para la determinación cuantitativa de PSA en plasma y suero humanos. El uso de materiales de control está indicado para la evaluación objetiva de la precisión de

los métodos y las técnicas utilizadas. Se ofrecen dos niveles de control para permitir la supervisión del rendimiento dentro del rango clínico.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El FastPack® IP y FastPack® Total 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, 50 ng/mL (40 ng/mL WHO).
- Las muestras >50 ng/ml (>40 ng/ml WHO), o cuando exista la posibilidad clínica "de una alta dosis de efecto gancho", deben procesarse mediante otros métodos. No se recomienda diluir los resultados fuera del rango.
- En un inmunoensayo realizado en dos sitios, las muestras con concentraciones extremadamente altas pueden, paradójicamente, leerse como dentro del rango de calibración del análisis. Esta posibilidad debe considerarse en los pacientes que tienen cáncer de próstata diseminado que manifiestan concentraciones bajas de PSA total que son clínicamente inapropiadas. El inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® no indica un "efecto gancho" hasta los 7,500 ng/mL.
- 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.^{12,13}
- 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.^{14,15,16}
- Los anticuerpos heterofílicos presentes en una muestra pueden causar interferencias en los sistemas de inmunoensayo.^{17,18} Infrecuentemente, los niveles de PSA pueden aparecer elevados debido a la presencia de anticuerpos heterofílicos en el suero o el plasma 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.
- Algunos casos de cáncer de próstata precoz pueden no ser detectados por las pruebas de PSA; lo mismo puede decirse del DRE. La biopsia de la próstata es el método estándar utilizado para confirmar la presencia o la ausencia de cáncer de próstata. Con fines de diagnóstico, el inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® debe siempre evaluarse junto con el historial médico del paciente, un examen clínico y otros datos.¹⁹

RANGO ESPERADO

Muestras de varones normales sanos			Nivel de distribución de PSA			
Edad (años)	n	Nivel medio de PSA, ng/mL	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
30 - 40	9	0,63	9	0	0	0
41 - 50	22	1,24	22	0	0	0
51 - 60	37	0,99	37	0	0	0
61 - 70	25	0,79	24	1	0	0
71 - 80	7	3,42	5	2	0	0
Total de muestras de varones	100	0,99	97	3	0	0

Muestras de hombre sano y normal			Distribución de nivel de PSA de la WHO			
Edad (años)	n	Nivel de PSA medio, ng/mL PSA	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
30 - 40	9	0,50	9	0	0	0
41 - 50	22	0,99	22	0	0	0
51 - 60	37	0,79	37	0	0	0
61 - 70	25	0,63	24	1	0	0
71 - 80	7	2,74	5	2	0	0
Muestras totales de hombre	100	0,79	97	3	0	0

			Nivel de distribución de PSA			
Muestras de mujeres normales sanas	n	Nivel medio de PSA, ng/mL	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
	50	0,03	50	0	0	0

			Distribución de nivel de PSA de la WHO			
Muestras de mujer sana y normal	n	Nivel de PSA medio, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
	50	0,02	50	0	0	0

			Distribución de nivel de PSA de la WHO			
Enfermedades malignas	n	Nivel de PSA medio, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Riñón	5	0,00	5	0	0	0
Vejiga	5	0,35	5	0	0	0
Pancreas	5	0,14	5	0	0	0
Hígado	5	0,12	5	0	0	0
Mama	5	0,10	5	0	0	0
Testículos	5	0,49	5	0	0	0
Enfermedades malignas totales	30	0,12	30	0	0	0

			Nivel de distribución de PSA			
Enfermedades no malignas	n	Nivel medio de PSA, ng/mL	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Hiperplasia de próstata benigna	40	1,41	38	2	0	0

Enfermedades no malignas	n	Nivel de PSA medio, ng/mL	Distribución de nivel de PSA de la OMS			
			0 – 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Hiperplasia benigna de próstata	40	1,13	38	2	0	0

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE FUNCIONAMIENTO

Precisión

La reproducibilidad en el análisis de PSA total se midió analizando a 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	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Lote 2

Muestra	Media, ng/mL		En la serie	Entre series	Entre días	Precisión total	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Recuperación tras la adición:

Suero – Se añadieron muestras conocidas de PSA a las muestras de suero femenino. La concentración de PSA se determina antes y después de la adición del PSA exógeno, y se calculó el porcentaje de recuperación.

Concentración añadida (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma – Se añadieron muestras conocidas de PSA a un pool normal de heparina y a un pool normal de EDTA. Se calculó la concentración de PSA y los porcentajes de recuperación.

PSA esperado, ng/mL (Heparina)	PSA observado, ng/mL (Heparina)	Recuperación (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4
23,3	29,55	126,8
	Media	107,4

PSA esperado, ng/mL (EDTA)	PSA observado, ng/mL (EDTA)	Recuperación (%)
5,0	4,4	88,0
9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Media	99,1

Recuperación tras la dilución:

Suero – Cinco pools de suero de pacientes se diluyeron al 50%, 25% y 12,5% utilizando el calibrador de cero y se calcularon los porcentajes de recuperación.

Pool Núm. 1	Concentración esperada (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
Sin diluir	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Pool Núm. 2	Concentración esperada (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
Sin diluir	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Pool Núm. 3	Concentración esperada (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
Sin diluir	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Pool Núm. 4	Concentración esperada (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
Sin diluir	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Pool Núm. 5	Concentración esperada (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
Sin diluir	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma – Tres pools de plasma de pacientes con EDTA y tres con heparina se diluyeron al 50%, 25% y 12,5% utilizando el grupo normal de pacientes de EDTA diluido con el grupo normal de EDTA, y se calcularon los porcentajes de recuperación.

% del Pool Núm. 1 con EDTA sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Valor endógeno (ng/mL)	0,31		

% del Pool Núm. 2 con EDTA sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Valor endógeno (ng/mL)	0,35		

% del Pool Núm. 3 con EDTA sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Valor endógeno (ng/mL)	0,59		

% del Pool Núm. 1 con heparina sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Valor endógeno (ng/mL)	0,85		

% del Pool Núm. 2 con heparina sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Valor endógeno (ng/mL)	0,88		

% del Pool Núm. 3 con heparina sin diluir	PSA esperado, ng/mL	PSA observado, ng/mL	Recuperación (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Valor endógeno (ng/mL)	0,88		

Comparación entre plasma y suero

Se utilizaron muestras clínicas para comparar los valores obtenidos a partir de las muestras de plasma y de suero del mismo paciente, mediante el método de PSA Total FastPack® IP y FastPack®. Los valores se evaluaron para determinar si concordaban, utilizando para ello el análisis de regresión de Deming.

n	Rango de observación (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	r
130	0,0 - 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Comparación de métodos

Se utilizaron 189 muestras de suero para comparar 25 µL de tPSA de FastPack® con el valor de PSA homologado de Beckman Access Hybritech. La evaluación se realizó mediante un análisis de regresión de Passing-Bablok.

N	Rango de valores (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	R
189	0,06 a 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Rango de valores, OMS (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	R
189	0,05 a 37,4	-0,184	1,082	0,985

Estudios de equimolaridad

Se analizaron tres muestras que contenían aproximadamente 2,5, 5 y 10 ng/mL de PSA y proporciones variables de PSA libre y complejo PSA-ACT (0 a 100%). El análisis estadístico en el rango de confianza del 95% demostró que las proporciones de PSA libre y de complejo PSA-ACT no afectaban a los valores de PSA (valor P: 0,324).

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se añadieron sustancias interferentes a pools de suero que contenían cantidades conocidas de PSA. El valor obtenido para el pool de suero con cada sustancia interferente se comparó con el valor obtenido para el pool de suero sin dicha sustancia interferente. Estos compuestos no indicaron interferencia a los niveles indicados.

Compuesto de prueba	Concentración de prueba	Agentes quimioterapéuticos	Concentración
d-Biotina	100 ng/mL	Ciclofosfamida	700 µg/mL
Bilirrubina	49 mg/dL	Dietilestilbestrol	1 µg/mL
Hemoglobina	600 mg/dL	Doxorrubicina HCl	16 µg/mL
IgG humano	1900 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatasa ácida prostática (PAP)	1000 ng/dL	Megestrol acetato	90 µg/mL
Triglicéridos	3000 mg/dL	Flutamida	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

* Se detectó interferencia con la albúmina de suero humano a 3 g/dL por encima de los niveles endógenos.

* Se encontraron interferencias con la D-biotina por encima de 100 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 CLSI 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 TPSA.

El LOD se estimó a partir de 180 determinaciones repetidas de cuatro muestras de bajo nivel. Según la norma CLSI EP17-A2, se utilizó el cálculo paramétrico de LOD y se obtuvo 0,01 ng/mL de TPSA.

El LOQ se determinó como la muestra más baja que proporcionó <20 %CV. El LOQ se estableció en 0,04 ng/mL.

Especificidad analítica

La sensibilidad analítica del inmunoensayo de PSA Total FastPack® IP y FastPack® es 0,04 ng PSA/mL. Este valor se interpoló a partir de la curva dosis-respuesta que era dos desviaciones estándar por encima del valor medio de la señal cero del calibrador (n=21).

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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



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.

Para a medição quantitativa de Antígeno Específico da Próstata (PSA) em soro e plasma humanos

A concentração de PSA 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 utilizado. Os valores obtidos com diferentes métodos de ensaio não podem ser utilizados de forma intercambiável. Se, no decorrer da vigilância de um doente, o método de ensaio utilizado para determinar em série os níveis de PSA for alterado, devem ser realizados testes sequenciais adicionais para confirmar os valores de referência.

As concentrações de PSA dependem da norma seguida para calibrar o ensaio. As concentrações de PSA baseadas na calibração da Preparação de referência WHO 96/670 irão variar significativamente em relação às concentrações de PSA 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 Para mais informações sobre a configuração WHO e Hybritech consulte o seu manual de procedimento do instrumento.

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® é um imunoensaio de partículas paramagnéticas para a determinação quantitativa *in vitro* de antígeno específico da próstata (PSA) em soro e plasma humanos como um auxiliar para o tratamento de doentes com cancro da próstata. O imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® destina-se a ser utilizado com o sistema FastPack® IP.

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 epítomos 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 prostate (HBP) ou prostatite.^{7,8} 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 uma biopsia e colonoscopia, etc.) pode resultar em elevações do PSA de duração e magnitude variáveis.

A determinação do PSA é uma parte integrante da supervisão da eficácia da terapêutica em doentes com cancro da próstata, por exemplo, prostatectomia radical, radioterapia ou doentes que recebem terapêutica hormonal.⁹

PRINCÍPIO DO TESTE

O imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® é um ensaio de quimioluminescência baseado no princípio de "sanduíche".

- Incubação primária: A amostra, o controlo, o calibrador [25 μ L] e a solução de anticorpos (mistura de um anticorpo monoclonal biotilado específico ao PSA e de um anticorpo monoclonal específico ao PSA marcado com fosfatase alcalina) [100 μ L] reagem para formar um complexo em sanduíche.
- Incubação secundária: É acrescentada uma solução de partículas paramagnéticas revestidas com estreptavidina 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 μ L] 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 na amostra.

REAGENTES – Conteúdo e concentração

Imunoensaio de PSA Total FastPack® IP - N.º de Cat. 25000079

Cada kit IP FastPack® contém:

- 30 FastPacks
- 1 frasco 1 de controlo x 5mL
- 1 frasco 2 de controlo x 5mL
- 1 Cartão de intervalo de controlo

Imunoensaio de PSA Total FastPack® - N.º de Cat. 25000078

Cada kit FastPack® contém:

- 50 FastPacks
- 1 frasco 1 de controlo x 5mL
- 1 frasco 2 de controlo x 5mL
- 1 Cartão de intervalo de controlo

Cada FastPack® IP ou FastPack® 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, 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 tensioactivos.
- Substrato, 145 µL
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato e lucigenina em tampão contendo conservantes.

Informação de controlo:

- 5mL / frasco. Líquido.
- Componentes de origem humana preparados num tampão Tris com estabilizadores de proteínas e 0,1% de Azida de Sódio.
- Os valores-alvo PSA totais e intervalos são impressos no Cartão de Intervalo de Controlo.
- Misture o conteúdo com uma ligeira inversão antes de utilizar. Evite a formação de bolhas.

Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema FastPack® IP
- Conjunto de calibradores de PSA total FastPack® – N.º de Cat. 25000002

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização de diagnóstico *in vitro*.
- Não pipete com a boca.
- **Material de origem humana. Tratar como potencialmente infeccioso.**
- Não coma, beba ou fume em áreas de trabalho designadas.
- Não misture controlos de lotes diferentes.
- Após a abertura, os controlos permanecem estáveis até à data de validade no rótulo, quando armazenados e manuseados conforme indicado. Não use controlos além da data de validade.
- Evite a contaminação microbiana do reagente ao remover alíquotas das garrafas.
- 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 e FastPack® 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 e FastPack® após a data de validade.
- Descarte os FastPacks usados num recipiente de eliminação de riscos biológicos.
- Descarte o material de controlo não utilizado ou expirado, em frasco tapado, num recipiente com risco biológico. Os componentes que contêm azida de sódio são classificados de acordo com as diretivas aplicáveis da Comunidade Económica Europeia (CEE) como: Nocivos (Xn). As seguintes são frases adequadas de Risco (R) e Segurança (S):

R28	Muito tóxico se ingerido.
R32	Em contacto com ácidos, liberta gases muito tóxicos.
R50/53	Muito tóxico para os organismos aquáticos pode causar efeitos nefastos a longo prazo no ambiente aquático.
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	If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM

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

COLHEITA/PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

1. Podem ser utilizadas amostras de soro ou de plasma para o imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack®.
2. O Comitê Nacional para as Normas Laboratoriais Clínicas (NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards) fornece recomendações para o manuseamento, processamento e armazenamento de sangue.^{10,11}
3. Colha todas as amostras de sangue respeitando as precauções de rotina para a punção cirúrgica de veias.
4. Não é necessário que os doentes se encontrem em jejum antes da colheita de sangue.
5. Para as amostras de soro:
 - Certifique-se de que ocorreu uma formação completa de coágulo antes da centrifugação. Isto demora cerca de 30 minutos. Algumas amostras podem apresentar tempos de coagulação alargados, nomeadamente aquelas de doentes submetidos a terapêutica anticoagulante ou trombolítica.
 - O 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.
6. Para amostras de plasma:
 - Colha amostras em tubos de heparina de lítio. Não devem ser utilizados tubos de citrato.
 - O plasma deve ser centrifugado e separado no prazo de 3 horas após a colheita.
 - Retire o plasma 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.
7. Não congele amostras (-20 °C) durante mais de dois meses.
8. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e misturadas por inversão cuidadosa antes de serem utilizadas.
9. Para produzir os melhores resultados, as amostras devem estar livres de fibrina, glóbulos vermelhos ou outras matérias em partículas. As amostras turvas e/ou com matérias em partículas devem ser centrifugadas antes da utilização.
10. Certifique-se de que as amostras estão isentas de bolhas.
11. As amostras colhidas até 2 horas após um exame digital rectal não apresentam qualquer aumento significativo dos níveis de PSA.¹⁹
12. As amostras humanas devem ser manuseadas de acordo com a norma OSHA sobre agentes patogénicos de transmissão sanguínea.²⁰

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack® IP para obter informações sobre a utilização do sistema FastPack® IP.

INSTRUMENTAÇÃO

Sistema FastPack® IP

PORMENORES DE CALIBRAÇÃO

Durante o processo de produção FastPack® IP e FastPack®, a Qualigen produz uma curva-padrão principal e coloca esta informação no código de barras de cada rótulo FastPack® IP e FastPack®, 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 calibrações autónomas para cada tipo de teste, ou seja, para PSA livre, PSA total ou testosterona. A frequência de calibração varia para cada tipo de teste. Para o imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack®, o analisador FastPack® IP tem de ser calibrado a cada 30 dias ou sempre que for utilizado um novo lote de FastPacks de PSA total.

Sempre que o utilizador efectuar uma calibração inicial para um determinado lote de FastPacks ou utilizar um novo lote de calibrador, têm de ser executados 2 FastPacks para calibração (duplicados). Quando a recalibração é efectuada com o mesmo lote de FastPacks e calibrador, necessário 2 FastPacks. Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack® IP para obter mais informações sobre a “Execução de uma calibração”.

Utilize o conjunto de calibradores de PSA total FastPack® – N.º de Cat. 25000077

RESULTADOS

O analisador FastPack® IP utiliza a informação do código de barras para construir uma tabela de consulta com valores x,y que representam a curva-padrão e produz uma estimativa da concentração de amostras desconhecidas por interpolação linear.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os materiais do controlo de qualidade simulam amostras reais e são essenciais para a supervisão da execução de ensaios do sistema. As boas práticas de laboratório (BPL) incluem a utilização de amostras de controlo para garantir que todos os reagentes e protocolos apresentam uma execução devida. Consulte o manual de procedimentos do sistema FastPack® IP para obter mais informações sobre a “Execução de controlos”.

Os controlos de PSA incluídos são materiais de controlo de qualidade testados utilizados para a verificação da exatidão e precisão do Sistema IP FastPack® quando utilizados para a determinação quantitativa de PSA em soro e plasma humanos. A utilização de material de controlo é indicada como uma avaliação objetiva da precisão dos métodos e técnicas em uso. São fornecidos dois níveis de controlo para permitir a monitorização do desempenho dentro do intervalo clínico.

LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

- O PSA Total FastPack® IP e FastPack® 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, 50 ng/ml (40 ng/mL WHO).
- Amostras >50 ng/mL (>40 ng/mL OMS), ou quando houver a possibilidade clínica de um "efeito de gancho de alta dose", devem ser realizadas usando outro método. A diluição de resultados fora do intervalo não é recomendada.
- Num imunoensaio efectuado em dois centros, as amostras com concentrações extremamente elevadas podem apresentar uma leitura paradoxalmente compreendida na amplitude de calibração do ensaio. Esta possibilidade deve ser considerada em doentes com cancro disseminado da próstata apresentando concentrações de PSA total inapropriadamente baixas a título clínico. O imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® não apresenta um efeito de gancho por dosagem elevada até 7,500 ng/ml.
- 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.^{12,13}
- 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.^{14,15,16}
- Os anticorpos heterofílicos numa amostra podem eventualmente causar interferência em sistemas de imunoensaios.^{17,18} Raras vezes, os níveis de PSA podem apresentar-se elevados devido a anticorpos heterofílicos presentes no soro ou no plasma 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 inclua terapêutica hormonal pode não reflectir de forma adequada a presença de doença residual ou recorrente.
- Alguns casos de cancro da próstata em fase inicial podem não ser detectados por testes de PSA; o mesmo se aplica ao exame digital rectal. A biopsia da próstata é o método comum utilizado para confirmar a presença ou a ausência de cancro da próstata. Para fins de diagnóstico, o imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® deve ser sempre avaliado em conjunto com os antecedentes clínicos e/ou o exame clínico do doente e outras conclusões.

AMPLITUDE ESPERADA

Amostras de homens saudáveis e normais			Distribuição do nível de PSA			
Idade (anos)	n	Nível médio de PSA, ng/ml de PSA	0 a 4 ng/mL	4,1 a 10,0 ng/mL	10,1 a 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
30 a 40	9	0,63	9	0	0	0
41 a 50	22	1,24	22	0	0	0
51 a 60	37	0,99	37	0	0	0
61 a 70	25	0,79	24	1	0	0
71 a 80	7	3,42	5	2	0	0
Total de amostras de homens	100	0,99	97	3	0	0

Amostras de homens saudáveis e normais			Distribuição do nível de PSA WHO			
Idade (anos)	n	Nível médio de PSA, ng/mL de PSA	0 a 3,2 ng/mL	3,3 a 8,0 ng/mL	8,1 a 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
30 a 40	9	0,50	9	0	0	0
41 a 50	22	0,99	22	0	0	0
51 a 60	37	0,79	37	0	0	0
61 a 70	25	0,63	24	1	0	0
71 a 80	7	2,74	5	2	0	0
Total de amostras de homens	100	0,79	97	3	0	0

			Distribuição do nível de PSA			
Amostras de mulheres saudáveis sanas	n	Nível médio de PSA, ng/ml de PSA	0 a 4 ng/mL	4,1 a 10,0 ng/mL	10,1 a 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
	50	0,03	50	0	0	0

			Distribuição do nível de PSA WHO			
Amostras de mulheres saudáveis e normais	n	Nível médio de PSA, ng/mL	0 a 3,2 ng/mL	3,3 a 8,0 ng/mL	8,1 a 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
	50	0,02	50	0	0	0

			Distribuição do nível de PSA			
Doenças malignas	n	Nível médio de PSA, ng/ml de PSA	0 a 4 ng/mL	4,1 a 10,0 ng/mL	10,1 a 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Rim	5	0,00	5	0	0	0
Bexiga	5	0,44	5	0	0	0
Pâncreas	5	0,18	5	0	0	0
Fígado	5	0,12	5	0	0	0
Mama	5	0,08	5	0	0	0
Testículos	5	0,61	5	0	0	0
Total de doenças malignas	30	0,15	30	0	0	0

			Distribuição do nível de PSA WHO			
Doenças malignas	n	Nível médio de PSA, ng/mL	0 a 3,2 ng/mL	3,3 a 8,0 ng/mL	8,1 a 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Rim	5	0,00	5	0	0	0
Bexiga	5	0,35	5	0	0	0
Pâncreas	5	0,14	5	0	0	0
Fígado	5	0,12	5	0	0	0
Mama	5	0,10	5	0	0	0
Testículos	5	0,49	5	0	0	0
Total de doenças malignas	30	0,12	30	0	0	0

Doenças não malignas	n	Nível médio de PSA, ng/ml de PSA	Distribuição do nível de PSA			
			0 a 4 ng/mL	4,1 a 10,0 ng/mL	10,1 a 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Hiperplasia benigna da próstata	40	1,41	38	2	0	0

Doenças não malignas	n	Nível médio de PSA, ng/mL	Distribuição do nível de PSA WHO			
			0 a 3,2 ng/mL	3,3 a 8,0 ng/mL	8,1 a 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Hiperplasia benigna da próstata	40	1,13	38	2	0	0

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Precisão

A reprodutibilidade do ensaio de PSA total 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	OMS	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Lote 2

Amostra	Média, ng/ml		Na mesma execução	Entre execuções	Entre dias	Precisão total	% TE	% T'Ea
	Hybritech	OMS	% CV	% CV	% CV	% CV		
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Recuperação de amostras infectadas:

Soro – Amostras conhecidas de PSA foram acrescentadas a amostras de soro de mulheres. A concentração de PSA foi determinada antes e depois do acréscimo do PSA exógeno e foi calculada a percentagem de recuperação.

Concentração acrescentada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma – Amostras conhecidas de PSA foram acrescentadas a um grupo de heparina normal e a um grupo de EDTA normal. Foi determinada a concentração de PSA e foram calculadas as recuperações em percentagem.

ng/mL de PSA esperados (Heparina)	ng/mL de PSA observados (Heparina)	Recuperação (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4

23,3	29,55	126,8
	Mean	107,4

ng/mL de PSA esperados (EDTA)	ng/mL de PSA observados (EDTA)	Recuperação (%)
5,0	4,4	88,0
9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Mean	99,1

Recuperação por diluição:

Soro – 5 grupos de doentes foram diluídos a 50%, 25% e 12,5%, utilizando o calibrador zero e foram calculadas as recuperações em percentagem.

Grupo n.º 1	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
Puro	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Grupo n.º 2	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
Puro	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Grupo n.º 3	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
Puro	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Grupo n.º 4	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
Puro	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Grupo n.º 5	Concentração esperada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
Puro	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma – Três grupos de amostras de doentes anti-coaguladas com heparina e EDTA foram diluídos a 50%, 25% e 12,5%, utilizando o grupo normal apropriado (ou seja, o grupo de amostras de doentes anti-coaguladas com EDTA foi diluído com o grupo normal de EDTA) e foram calculadas as recuperações em percentagem.

% do grupo 1 de EDTA puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Valor endógeno (ng/mL)	0,31		

% do grupo 2 de EDTA puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Valor endógeno (ng/mL)	0,35		

% do grupo 3 de EDTA puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Valor endógeno (ng/mL)	0,59		

% do grupo 1 de heparina puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Valor endógeno (ng/mL)	0,85		

% do grupo 2 de heparina puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Valor endógeno (ng/mL)	0,88		

% do grupo 3 de heparina puro	Esperados, ng/mL de PSA	Observados, ng/mL de PSA	Recuperação (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Valor endógeno (ng/mL)	0,88		

Comparação entre plasma e soro

Foram utilizadas amostras clínicas para comparar os valores obtidos a partir de amostras de plasma e de soro do mesmo doente, utilizando o método de PSA total FastPack® IP e FastPack®. Os valores foram avaliados em relação a concordância utilizando a análise de regressão de Deming.

n	Amplitude de observação (ng/mL)	Intercepção (ng/mL)	Inclinação	r
130	0,0 a 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Comparação de métodos

Foram utilizadas 189 amostras de soro para comparar o FastPack® tPSA, 25 µl em relação ao PSA Beckman Access Hybritech predicado. A avaliação foi realizada utilizando a análise de regressão de Passing-Bablok.

N	Intervalo de valores (ng/ml)	Interceção (ng/ml)	Declive	R
189	0,06 a 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Intervalo de valores, OMS (ng/ml)	Interceção (ng/ml)	Declive	R
189	0,05 a 37,4	-0,184	1,082	0,985

Estudos de equimolaridade

Foram testadas três amostras contendo aproximadamente 2,5, 5 e 10 ng/mL de PSA e proporções variáveis de PSA livre e de complexo PSA-ACT (entre 0 e 100%). A análise estatística com um intervalo de confiança de 95% demonstrou que as proporções de PSA livre e de complexo PSA-ACT não afectavam os valores de PSA (valor P de 0,324).

SUBSTÂNCIAS QUE CAUSAM INTERFERÊNCIAS

Substâncias que causam interferências foram acrescentadas a grupos de soro contendo quantidades conhecidas de PSA. O valor obtido para o grupo de soro com cada substância causadora de interferências foi comparado com o valor obtido para o grupo de soro sem a substância causadora de interferências. Estes compostos não apresentaram qualquer interferência nos níveis indicados.

Composto de teste	Concentração de teste	Agentes quimioterapêuticos	Concentration
d-Biotina	100 ng/mL	Ciclofosfamida	700 µg/mL
Bilirrubina	49 mg/dL	Dietilstilbestrol	1 µg/mL
Hemoglobina	600 mg/dL	Hidrocloreto de doxorubicina	16 µg/mL
IgG humano	1.900 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatase ácida prostática (PAP)	1.000 ng/dL	Acetato de megestrol	90 µg/mL
Triglicéridos	3.000 mg/dL	Flutamida	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*Foi detectada interferência com albumina de soro humano a 3 g/dL acima dos níveis endógenos. Foram encontradas interferências com d-Biotina acima de 100 ng/ml.

Sensibilidade analítica:

Limite de branco (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 TPSA.

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 0,01 ng/ml de TPSA.

O LOQ foi determinado como a amostra mais baixa que forneceu <20% de CV. O LOQ foi definido para 0,04 ng/ml.

Especificidade analítica

Para os anticorpos monoclonais utilizados, foram determinadas as seguintes reactividades cruzadas: PAP: nenhuma; PSA e PSA-ACT são identificadas numa base equimolar.

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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



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.

Per la misurazione quantitativa dell'antigene prostatico specifico (PSA) nel siero e nel plasma umani

La concentrazione di PSA 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. I valori ottenuti con metodi di analisi diversi non possono essere interscambiati. Se, nel corso del monitoraggio di un paziente, si cambia il metodo di determinazione in serie dei livelli di PSA, è necessario effettuare ulteriori analisi sequenziali per avere conferma dei valori di base.

Le concentrazioni di PSA dipendono dallo standard impiegato per calibrare il dosaggio. Le concentrazioni di PSA basate sulla calibrazione secondo la preparazione di riferimento WHO 96/670 sono significativamente differenti dalle concentrazioni di PSA 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.

INDICAZIONI

L'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale impiega particelle paramagnetiche per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'antigene prostatico specifico (PSA) presente nel siero e nel plasma umani come supporto nel trattamento di pazienti con cancro alla prostata. L'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale è progettato per l'uso con il sistema FastPack® IP.

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 una con il PSA legato in complesso con l'inibitore della serina proteasi α -1-antichimotripsina e l'altra 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 elevate di PSA nel siero sono di solito indice di condizioni patologiche della prostata, ad esempio carcinoma, iperplasia prostatica benigna o prostatite.^{7,8} L'antigene prostatico specifico è inoltre presente nelle ghiandole parauretrali e anali, oltre che nel tessuto mammario. Un'infiammazione, trauma o stimolazione della prostata (ad esempio susseguente a biopsia, colonscopia, ecc.) può dare luogo a un rialzo dei valori del PSA di varia durata ed entità.

La determinazione del PSA costituisce parte integrante del monitoraggio dell'efficacia della terapia in pazienti affetti da cancro prostatico, ad esempio nei casi di prostatectomia radicale, radioterapia o pazienti sottoposti a terapia ormonale.⁹

PRINCIPIO DI ANALISI

L'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale è un dosaggio "sandwich" in chemiluminescenza.

- Incubazione primaria: il campione, controllo o calibratore [25 μ L] e la soluzione anticorpo (una miscela di anticorpo monoclonale biotinilato e anticorpo monoclonale marcato con fosfatasi alcalina, specifici per il PSA) [100 μ L] reagiscono in modo da formare un complesso sandwich.
- Incubazione secondaria: alla miscela reattiva viene aggiunta una soluzione di particelle paramagnetiche rivestite di streptavidina. 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 μ L] 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 nel campione.

REAGENTI – Contenuto e concentrazione

Immunodosaggio FastPack® IP PSA totale - N. cat. 25000079

Ciascun kit FastPack® IP contiene:

- 30 FastPack® IP
- 1 Fiala di controllo 1 x 5 ml
- 1 Fiala di controllo 2 x 5 ml
- 1 Scheda intervallo di controllo

Immunodosaggio FastPack® PSA totale - N. cat. 25000078

Ciascun kit FastPack® contiene:

- 50 FastPack®
- 1 Fiala di controllo 1 x 5 ml
- 1 Fiala di controllo 2 x 5 ml
- 1 Scheda intervallo di controllo

Ogni FastPack® IP o FastPack® contiene:

- Particelle paramagnetiche: particelle paramagnetiche rivestite di streptavidina (150 µL) in tampone contenente sodio azide allo 0,1% come conservante.
- Soluzione anticorpo per PSA: 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: tampone tris contenente tensioattivi (2,0 mL)
- Substrato: ImmuGlow™ (145 µL) Indoxil-3-fosfato e lucigenina in tampone contenente conservanti.

Informazioni di controllo:

- 5 ml/fiala Liquido.
- Componenti di origine umana preparati in tampone tris con stabilizzatori delle proteine e sodio azide allo 0,1%.
- I valori e gli intervalli target di PSA totale sono stampati sulla scheda intervallo di controllo.
- Mescolare il contenuto capovolgendo con cautela prima dell'uso. Evitare la formazione di bolle.

Materiali necessari ma non forniti

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibratore FastPack® PSA totale - N. cat. 25000077

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Non pipettare con la bocca.
- **Materiale di origine umana. Trattare come potenzialmente infettivo.**
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Non mescolare prodotti di controllo appartenenti a lotti diversi.
- Dopo l'apertura, il contenuto resta stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato e manipolato secondo quanto indicato. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza.
- Evitare la contaminazione microbica del reagente nel rimuovere parti del prodotto dalle fiale.
- 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 o plasma 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 e FastPack® sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati e trattati secondo le indicazioni. Non utilizzare i reagenti FastPack® IP e FastPack® oltre la data di scadenza.
- Smaltire i FastPack® IP e FastPack® usati in un contenitore per materiali a rischio biologico.
- Smaltire il materiale di controllo scaduto o inutilizzato in un contenitore per materiale a rischio biologico, avendo cura di tappare la fiala. I componenti contenenti sodio azide sono classificati secondo le direttive applicabile della Comunità Economica Europea (CEE) come: Nocivo (Xn). Quelle che seguono sono le frasi pertinenti relative al rischio (R) e alla sicurezza (S):

R28	Molto tossico se ingerito.
R32	A contatto con acidi libera gas molto tossico.
R50/53	Altamente tossico per gli organismi acquatici, può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico.
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. Proteggerle dalla luce.

PRELIEVO E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

1. Per l'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale possono essere utilizzati campioni di siero o plasma.
2. Il National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) fornisce le seguenti raccomandazioni per la gestione, il trattamento e la conservazione di sangue.^{10,11}
3. Prelevare tutti i campioni ematici seguendo le normali procedure per le punture venose.
4. Non è necessario che il paziente rimanga a digiuno prima del prelievo di sangue.
5. 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.
6. Per i campioni di plasma:
 - Raccogliere i campioni in provette con litio eparina. Non utilizzare provette con citrato.
 - Il plasma deve essere centrifugato e separato entro 3 ore dal prelievo.
 - Rimuovere il plasma 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.
7. Non conservare i campioni congelati (a -20 °C) per oltre due mesi.
8. I campioni congelati devono essere completamente scongelati e miscelati delicatamente mediante capovolgimento prima dell'uso.
9. Per ottenere risultati ottimali, i campioni devono essere privi di fibrina, globuli rossi o altro particolato. I campioni che si presentano torbidi o in cui sia presente particolato devono essere centrifugati prima dell'uso.
10. Verificare che i campioni siano privi di bolle d'aria.
11. I campioni raccolti fino a 2 ore dopo l'esame rettale digitale non mostrano incrementi significativi del PSA.¹⁹
12. I campioni di origine umana devono essere trattati conformemente allo standard OSHA relativo agli agenti patogeni presenti nel sangue.²⁰

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 e FastPack®, la Qualigen genera una curva master standard e inserisce queste informazioni nel codice a barre di ogni etichetta FastPack® IP e FastPack®, 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 o ciascun tipo di analisi. Per l'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale, l'analizzatore FastPack® IP deve essere calibrato una volta ogni 30 giorni o quando si deve utilizzare un nuovo lotto di FastPack® IP e FastPack® PSA totale.

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 totale - N. cat. 25000077

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.

I materiali di controllo PSA inclusi sono materiali di controllo della qualità dosati per la verifica della precisione del sistema FastPack® IP quando viene utilizzato per la determinazione quantitativa del PSA nel siero e nel plasma umano. L'uso del materiale di controllo è indicato quale valutazione oggettiva della precisione dei metodi e delle tecniche in uso. Sono previsti due livelli di controllo allo scopo di consentire il monitoraggio delle prestazioni nel range clinico.

LIMITI DELLA PROCEDURA

- Il FastPack® IP e FastPack® PSA totale 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, 50 ng/mL (40 ng/mL WHO).
- I campioni > 50 ng/ml (> 40 ng/ml WHO) o laddove vi sia la possibilità clinica di un effetto "high-dose hook" devono essere processati mediante un altro metodo. La diluizione di risultati fuori intervallo è sconsigliata.
- Effettuando l'immunodosaggio presso due centri, campioni con concentrazioni estremamente elevate possono paradossalmente presentare letture che rientrano nell'intervallo del dosaggio. Tenere presente questa possibilità nel caso di pazienti con cancro prostatico disseminato che manifestano basse concentrazioni del PSA totale clinicamente contrastanti con la diagnosi. L'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale non evidenzia effetto gancio per le alte dosi, fino a 7,500 ng/mL.
- 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.^{12,13}
- 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.^{14,15,16}
- Gli anticorpi eterofili contenuti in un campione possono causare interferenza nei sistemi di immunodosaggio.^{17,18} Raramente i livelli di PSA possono risultare elevati a causa degli anticorpi eterofili presenti nel siero o plasma del paziente o di legami proteici aspecifici. 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.
- Con l'analisi del PSA, come con l'esame rettale digitale, alcuni casi di cancro prostatico ad uno stadio precoce non vengono identificati. Di norma si ricorre alla biopsia per avere conferma della presenza o dell'assenza di cancro prostatico. L'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale deve sempre essere valutato a scopo diagnostico tenendo conto dell'anamnesi del paziente, degli esami clinici e di altri dati.

INTERVALLO PREVISTO

Campioni di pazienti di sesso maschile normali, sani			Distribuzione livello PSA			
Età (anni)	n	Livello PSA medio moyen (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
30 - 40	9	0,63	9	0	0	0
41 - 50	22	1,24	22	0	0	0
51 - 60	37	0,99	37	0	0	0
61 - 70	25	0,79	24	1	0	0
71 - 80	7	3,42	5	2	0	0
Totale campioni maschili	100	0,99	97	3	0	0

Campioni di pazienti di sesso maschile normali, sani			Distribuzione livello PSA WHO			
Età (anni)	n	Livello PSA medio, PSA (ng/mL)	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
30 - 40	9	0,50	9	0	0	0
41 - 50	22	0,99	22	0	0	0
51 - 60	37	0,79	37	0	0	0
61 - 70	25	0,63	24	1	0	0
71 - 80	7	2,74	5	2	0	0
Totale campioni maschili	100	0,79	97	3	0	0

			Distribuzione livello PSA			
Campione di pazienti di sesso femminile normali, sane	n	Livello PSA medio, PSA (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
	50	0,03	50	0	0	0

			Distribuzione livello PSA WHO			
Campioni di pazienti di sesso femminile normali, sane	n	Livello PSA medio, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
	50	0,02	50	0	0	0

Distribuzione livello PSA						
Patologie maligne	n	Livello PSA medio, PSA (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Reni	5	0,00	5	0	0	0
Vescica	5	0,44	5	0	0	0
Pancreas	5	0,18	5	0	0	0
Fegato	5	0,12	5	0	0	0
Mammella	5	0,08	5	0	0	0
Testicoli	5	0,61	5	0	0	0
Totale patologie maligne	30	0,15	30	0	0	0

Distribuzione livello PSA WHO						
Patologie maligne	n	Livello PSA medio, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Reni	5	0,00	5	0	0	0
Vescica	5	0,35	5	0	0	0
Pancreas	5	0,14	5	0	0	0
Fegato	5	0,12	5	0	0	0
Mammelle	5	0,10	5	0	0	0
Testicoli	5	0,49	5	0	0	0
Totale patologie maligne	30	0,12	30	0	0	0

Distribuzione livello PSA						
Patologie non maligne	n	Livello PSA medio, PSA (ng/mL)	0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Iperplasia prostatica benigna	40	1,41	38	2	0	0

Distribuzione livello PSA WHO						
Patologie non maligne	n	Livello PSA medio, ng/mL	0 - 3,2 ng/mL	3,3 - 8,0 ng/mL	8,1 - 24,0 ng/mL	>24,0 ng/mL
Iperplasia prostatica benigna	40	1,13	38	2	0	0

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

Precisione

La riproducibilità dell'analisi del PSA totale è stata misurata esaminando cinque diversi livelli (n=80 per ciascun livello) in venti giorni non consecutivi utilizzando due analizzatori e due lotti di reagenti. Il coefficiente di variazione (%CV) tra analizzatori e tra analisi è stato calcolato mediante l'analisi della varianza.

Lotto 1

Campione	Media, ng/ml		Nell'analisi	Tra analisi	Tra giorni	Precisione totale	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Lotto 2

Campione	Media, ng/ml		Nell'analisi	Tra analisi	Tra giorni	Precisione totale	%TE	%T'Ea
	Hybritech	OMS	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Recupero dell'aggiunta:

Siero – Campioni di PSA noti sono stati aggiunti a campioni di siero prelevati da pazienti di sesso femminile. Prima e dopo aver aggiunto il PSA esogeno è stata determinata la concentrazione del PSA ed è stata calcolata la percentuale di recupero.

Concentrazione aggiunta (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma – Campioni di PSA noti sono stati aggiunti a un pool normale con eparina e a un pool normale con EDTA. È stata determinata la concentrazione di PSA e sono state calcolate le percentuali di recupero.

PSA previsto (ng/mL) (Eparina)	PSA osservato (ng/mL) (Eparina)	Recupero (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4
23,3	29,55	126,8
	Media	107,4

PSA previsto (ng/mL) (EDTA)	PSA osservato (ng/mL) (EDTA)	Recupero (%)
5,0	4,4	88,0
9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Mean	99,1

Recupero della diluizione:

Siero – 5 pool di campioni di pazienti sono stati diluiti al 50%, 25% e 12,5% utilizzando il calibratore di zero e sono state calcolate le percentuali di recupero.

Pool n. 1	Concentrazione prevista (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
Non diluito	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Pool n. 2	Concentrazione prevista (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
Non diluito	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Pool n. 3	Concentrazione prevista (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
Non diluito	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Pool n. 4	Concentrazione prevista (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
Non diluito	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Pool n. 5	Concentrazione prevista (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
Non diluito	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma – Tre pool di campioni di pazienti con EDTA e tre con eparina sono stati diluiti al 50%, 25% e 12,5% utilizzando il normale pool corrispondente, (ad es: il pool di campioni pazienti con EDTA è stato diluito con il pool normale con EDTA), sono quindi state calcolate le percentuali di recupero.

% Pool 1 con EDTA	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Valore endogeno (ng/mL)	0,31		

% Pool 2 con EDTA	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Valore endogeno (ng/mL)	0,35		

% Pool 3 con EDTA	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Valore endogeno (ng/mL)	0,59		

% Pool 1 con erparina	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
-----------------------	--------------------	---------------------	--------------

100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Valore endogeno (ng/mL)	0,85		

% Pool 2 con erparina	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Valore endogeno (ng/mL)	0,88		

% Pool 3 con erparina	PSA previsto ng/mL	PSA osservato ng/mL	Recupero (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Valore endogeno (ng/mL)	0,88		

Confronto siero/plasma

Sono stati utilizzati campioni clinici per confrontare i valori ottenuti su siero e plasma dello stesso paziente utilizzando il metodo FastPack® IP e FastPack® PSA totale. È stata valutata la concordanza dei valori utilizzando l'analisi di regressione di Deming.

n	Intervallo di osservazione (ng/mL)	Intercettazione (ng/mL)	Pendenza	r
130	0.0 - 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Confronto dei metodi

Sono stati utilizzati 189 campioni di siero per confrontare il tPSA di FastPack®, 25 µl con il PSA di riferimento di Beckman Access Hybritech. La valutazione è stata eseguita mediante l'analisi di regressione Passing-Bablok.

N	Intervallo di valori (ng/ml)	Intercetta (ng/ml)	Pendenza	R
189	Da 0,06 a 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Intervallo di valori, OMS (ng/ml)	Intercetta (ng/ml)	Pendenza	R
189	Da 0,05 a 37,4	-0,184	1,082	0,985

Studi sulla equimolarità

Sono stati dosati tre campioni contenenti circa 2,5, 5 e 10 ng/mL di PSA e varie proporzioni di PSA libero e complesso PSA-ACT (da 0 al 100%). L'analisi statistica all'intervallo di confidenza al 95% ha dimostrato che le proporzioni di PSA libero e complesso PSA-ACT non influivano sui valori del PSA (valore P 0,324).

SOSTANZE INTERFERENTI

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

Composto analizzato	Concentrazione per l'analisi	Agenti chemioterapici	Concentrazione
d-Biotina	100 ng/mL	Ciclofosfamide	700 µg/mL
Bilirubina	49 mg/dL	Dietilstilbestrolo	1 µg/mL
Emoglobina	600 mg/dL	Doxorubicina HCl	16 µg/mL
IgG umane	1900 mg/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Fosfatasi acida prostatica (PAP)	1000 ng/dL	Megestrol acetato	90 µg/mL
Trigliceridi	3000 mg/dL	Flutamida	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*È stata riscontrata interferenza con l'albumina del siero umano a 3 g/dL sopra i livelli endogeni. Sono state rilevate interferenze con d-Biotina superiore a 100 ng/ml.

Sensibilità analitica:**Limite del bianco (LOB), limite di rilevamento (LOD) e limite di quantificazione (LOQ)**

Il limite del bianco (LOB, il più alto valore verosimilmente osservabile con un campione che non contiene analiti), il limite di rilevamento (LOD, la quantità più bassa di analiti rilevabile in un campione con tassi d'errore di tipo I e II fissati al 5%) e il limite di quantificazione (LOQ, la quantità più bassa di analiti rilevabile in modo affidabile in un campione) sono stati determinati in base alla norma CLSI EP17-A2. In questo studio, il limite del bianco è stato stabilito a partire da 240 determinazioni ripetute di un campione privo di analiti esaminato su sei diversi analizzatori FastPack® utilizzando tre lotti di reagenti. Le RLU grezze derivanti dalle analisi sono state convertite in ng/ml apparenti in base alla curva di calibrazione per ciascuna analisi. Il LOB è stato determinato come il 228° livello della distribuzione ordinata dei valori. Tale valore corrispondeva a un TPSA di 0,01 ng/ml.

Il LOD è stato stimato a partire da 180 determinazioni ripetute di quattro campioni di livello basso. Conformemente alla linea guida CLSI EP17-A2, è stato utilizzato il calcolo parametrico del LOD, che ha dato come risultato un TPSA di 0,01 ng/ml.

Il LOQ è stato determinato come il campione più basso con CV <20%. Il LOQ è stato fissato a 0,04 ng/ml.

Specificità analitica

Per gli anticorpi monoclonali utilizzati sono state determinate le seguenti reattività crociate: PAP: nessuna; il PSA e il complesso PSA-ACT vengono riconosciuti su base equimolare.

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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



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.

För kvantitativ bestämning av Prostata-Specifikt Antigen (PSA) i humant serum och plasma

Koncentrationen av PSA i ett bestämt prov, som analyserats med produkter från olika tillverkare, kan variera beroende på skillnader i analysmetoderna och reagensspecifitet. Rapporterat resultat från laboratoriet till läkaren skall inkludera vilken metod som använts för PSA-bestämningen. Värderna som rapporterats med olika bestämningsmetoder kan ej användas utbytbart. Ifall metoden för PSA-bestämning ändras under en monitoreringsperiod av en patient, så skall överlappande tester ske för att konfirmera basvärdena.

Koncentrationen av PSA beror på standarden som används för att kalibrera analysen. Koncentrationer av PSA som baserats på kalibrering med referenspreparatet WHO 96/670 skiljer sig signifikant från koncentrationer av PSA som baserats på kalibrering med Hybritech originalprodukt. Koncentrationerna är inte utbytbara. Om kalibreringen ändras är vedertagen laboratoriesed att upprätta en ny baslinje för patientövervakning.¹ För mer information om WHO- och Hybritech-konfigurering, se procedurmanualen för ditt instrument.

AVSEDD ANVÄNDNING

FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay är en immunanalys baserad på paramagnetiska partiklar för *in vitro* kvantitativ bestämning av prostata-specifikt antigen (PSA) i humant serum och plasma som hjälpmedel vid behandling av patienter med prostatacancer. FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay är utvecklat för användning med FastPack® IP System.

SAMMANFATTNING

Prostata-specifikt antigen (PSA) är ett glykoprotein (molekylärvikt 30,000-34,000 Dalton), som uppvisar en hög grad av homologi med serinproteaser inom kallikrein-familjen. Det har funktionen som ett serinproteas med kymotrypsin-lik aktivitet.² Den proteolytiska aktiviteten av PSA i blod hämmas genom den irreversibla bindningen i komplex med proteas-inhibitorer som α -1- anti-kymotrypsin (ACT), α -2-makroglobulin och andra akutfas proteiner.³ PSA förekommer i tre olika former i blodet. De två formerna som kan detekteras med immunbestämning är PSA i komplex med serineproteas-inhibitor α -1-antikymotrypsin och fritt eller ej komplexbundet PSA.^{4,5,6} Den tredje formen, som ej kan detekteras med konventionell immunanalys, är PSA i komplex med α -2 makroglobulin.

Detta orsakas av omgärdning och maskering av epitoper på PSA genom bindning till α -2-makroglobulin-molekylen. Förhöjda nivåer av PSA i serum är generellt indikativa för ett patologiskt tillstånd i prostata, till exempel, karcinom, benign prostathyperplasi (BPH) eller prostatit.^{7,8} Prostata-specifikt antigen finns också i såväl parauretral- och analkörtlar som i bröstvävnad. Inflammation, trauma eller stimulering av prostata (t.ex. efter biopsi och koleoskopi mm) kan resultera i förhöjda PSA värden av varierande tidslängd och omfattning.

Bestämning av PSA är en integrerad del i monitorering av effektivitet av terapeutiska åtgärder hos patienter med prostatacancer, t.ex., radikal prostatatektomi, radioterapi eller patienter under hormonterapi.⁹

TESTPRINCIP

FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay är en kemoluminiscensanalys baserad på "sandwich" principen.

- Primär inkubation: Prov, kontroll eller kalibrator [25 μ L] och antikroppslösning (blandning av biotinylerad monoklonal PSA-specifik antikropp och en monoklonal PSA-specifik antikropp som märkts med alkaliskt fosfatas) [100 μ L] reagerar och binder i ett sandwich-komplex.
- Andra inkubation: Lösningen med streptavidin-klädda paramagnetiska partiklar adderas till reaktionsblandningen. Under denna inkubering binds sandwich-komplexet till den fasta fasen, via interaktionen mellan biotin och streptavidin.
- Separation från obundet material: De paramagnetiska partiklarna tvättas med tvättbuffert [0,2 mL/tvättning] för att avlägsna obundet material.
- Substrattillsättning och detektering: Kemoluminescerande substrat [140 μ L] sätts till det fastfasbundna komplexet, vilket resulterar i en "glödande" kemoluminescens som mäts upp i FastPack® IP-analysatorn.
- Mängden av den bundna märkta antikroppen är direkt proportionell mot koncentrationen av PSA i provet.

REAGENS – Innehåll och koncentration

FastPack® IP Total PSA Immunoassay - Art. nr. 25000079

Varje sats FastPack® innehåller:

- 30 st FastPack® IP
- 1 Kontroll 1 flaska x 5 ml
- 1 Kontroll 2 flaska x 5 ml
- 1 Kontrollintervallkort

FastPack® Total PSA Immunoassay - Art. nr. 25000078

Varje sats FastPack® innehåller:

- 50 st FastPack®
- 1 Kontroll 1 flaska x 5 ml
- 1 Kontroll 2 flaska x 5 ml
- 1 Kontrollintervallkort

Varje FastPack® IP eller FastPack® innehåller:

- Paramagnetiska partiklar, 150 µL
Streptavidin-klädda paramagnetiska partiklar i en buffert innehållande 0,1% natriumazid som konserveringsmedel.
- PSA Antikroppslösning, 100 µL
Antikroppslösning som innehåller en monoklonal (mus) antikropp kopplad till biotin och en monoklonal (mus) antikropp märkt med alkaliskt fosfat i en proteinmatris med 0,1% natriumazid som konserveringsmedel.
- Tvättbuffert, 2,0 mL
Trisbuffert med ytspänningsnedsättande medel.
- Substrat, 145 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-phosphate och lucigenin i en buffert innehållande konserveringsmedel.

Kontrollinformation:

- 5ml/flaska. Vätska.
- Komponenter av mänskligt ursprung beredda i en trisbuffert med proteinstabilisatorer och 0.1% natriumazid.
- Totala PSA-målvärden och intervall står på kontrollintervallkortet.
- Blanda innehållet genom att försiktigt vända det upp och ned före användning. Undvik att bilda bubblor.

Nödvändigt material som ej medföljer

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA Calibrator Kit - Art. nr. 25000077

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.
- Munpipettera inte.
- **Humant källmaterial. Behandlas som potentiellt infektiöst.**
- Intag av mat eller dryck och rökning är inte tillåtet på utmärkta arbetsytor.
- Kontroller från olika partier får inte blandas.
- Efter att kontrollerna öppnats förblir de stabila tills det utgångsdatum som står på etiketten då de förvaras och hanteras enligt anvisningar. Kontrollerna får inte användas efter utgångsdatum.
- Undvik mikrobiell kontaminering av reagens när prover tas ut ur flaskorna.
- Tvätta händerna noggrant efter hantering av prover, använd handskar.
- HAMA Interferens: Vissa individer har antikroppar mot musproteiner, s.k. humana antimus antikroppar (HAMA), som kan orsaka interferens vid immunanalis som baseras på antikroppar med ursprung från mus. Detta har speciellt rapporterats kunna ge felaktiga resultat vid analys av serum eller plasmaprov från patienter som har genomgått terapi eller diagnostiska behandlingar som inneburit infusion av monoklonala antikroppar från möss.
- FastPack® IP och FastPack®-reagens är stabila till det utgångsdatum som anges på etiketten under förutsättning att de lagras och hanteras som angivet. Använd ej FastPack® IP och FastPack®-reagens efter utgångsdatum.
- Släng använda FastPack® IP och FastPack® i behållare för biologiskt riskavfall.
- Kassera oanvänt eller utgången kontrollmaterial, i tillproppad flaska, i en behållare för farligt avfall. De komponenter som innehåller natriumazid klassificeras enligt tillämpliga Direktiv från Europeiska Gemenskapen (EG) som: Skadliga (Xn). Följande är lämpliga fraser om risk (R) och säkerhet (S):

R28	Mycket giftig vid förtäring.
R32	Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.
R50/53	Mycket giftig för vattenlevande organismer, kan påverka vattenmiljön negativt under lång tid.
S2	Förvaras oåtkomligt för barn.
S13	Förvaras åtskilt från livsmedel och djurfoder.
S36	Använd lämpliga skyddskläder.
S46	Vid förtäring kontakta genast läkare och visa denna förpackning eller etikett.

FÖRVARINGSINSTRUKTIONER

Förvaras vid 2 - 8° C.

PROVTAGNING/PREPARATION

1. FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay kan användas för serum eller plasmaprov.
2. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) har utfärdat rekommendationer för hantering, beredning och lagring av blod.^{10,11}
3. Genomför blodprovtagning under iakttagande av rutinföreskrifter för venprovtagning.
4. Patienterna behöver ej vara fastande inför provtagning.
5. För serumprov:
 - Kontrollera att full koagulering har skett innan centrifugering. Detta tar ungefär 30 minuter. Vissa prov kan uppvisa en förlängd koagulationstid, speciellt för patienter under terapi med antikoagulantia eller trombolytika.
 - Serum skall centrifugeras och separeras från koaglet inom 3 timmar från provtagningen.
 - Särskilj serum från cellinnehåll innan lagring vid 2-8° C.
 - Ifall prov ej testas inom 24 timmar skall det frysas vid -20° C eller kallare.
6. För plasmaprover:
 - Samla prov i litium-heparin rör. Citratrör skall ej användas.
 - Plasma skall centrifugeras och separeras inom 3 timmar från provtagningen.
 - Särskilj plasma från cellinnehåll innan lagring vid 2-8° C.
 - Ifall prov ej testas inom 24 timmar skall det frysas vid -20° C eller kallare.
7. Frys ej prover (-20° C) under mer än två månader.
8. Frusna prover skall tinas fullständigt och blandas med försiktigt up-och-nedvändning innan användning.
9. Prov skall vara fria från fibrin, röda blodkroppar, eller annat partikulärt material för optimala resultat. Prov som uppvisar grumling och/eller partikulärt material skall centrifugeras innan användning.
10. Säkerställ att proverna ej innehåller luftbubblor.
11. Prov som tas upp till 2 timmar efter DRE uppvisar ingen signifikant ökning av PSA.¹⁹
12. Humana blodprover skall hanteras enligt lokala föreskrifter för hantering av blodsmitta (se även OSHA standard om blodöverförda patogener).²⁰

ANALYSPROCEDUR

Se FastPack® IP System Användarhandbok för information om hur man använder FastPack® IP-systemet.

INSTRUMENTERING

FastPack® IP System

KALIBRERING

Vid tillverkningen av FastPack® IP och FastPack® så genererar Qualigen en masterstandardkurva och överför den informationen till streckkoden på varje FastPack® IP och FastPack®-etikett, där den kan avläsas av FastPack® IP-analysatorn under testsekvensen. FastPack® IP-analysatorn måste kalibreras av användaren för att säkerställa att den är ordentligt anpassad för just den lot av FastPacks som är under användning. Separata kalibreringar måste utföras för varje typ av test t.ex. fritt PSA, total PSA eller testosteron. Frekvensen för kalibrering är olika för varje testtyp. För FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay, så måste FastPack® IP-analysatorn kalibreras en gång var 30:e dag eller när man skall använda en ny lot av Total PSA FastPack® IP och FastPack®.

När användaren utför en ny kalibrering för en enskild lot av FastPacks eller använder en ny lot av kalibrator, så måste man använda 2 st FastPack® IP eller FastPack® (duplikat). När omkalibrering sker med samma lot FastPacks och kalibrator, så måste man använda 2 st FastPack® IP eller FastPack® för kalibrering. Se FastPack® IP System Användarhandbok under "Utföra en kalibrering".

Använd FastPack® Total PSA Calibrator Kit – Art. nr. 25000077

RESULTAT

FastPack® IP-analysatorn använder informationen från streckkoden för att generera en x,y-tabell med värden som representerar standardkurvan och uppskattar sedan koncentrationen i ett okänt prov med linjär interpolering.

KVALITETSKONTROLL

Material för kvalitetskontroll skall motsvara riktiga prover och är en viktig del i övervakningen av full systemfunktion vid analyserna. God laboratoriesed (Good Laboratory Practices, GLP) inkluderar användning av kontrollprover för att säkerställa att alla reagens och analyssteg fungerar som de bör. Se FastPack® IP System Manual under "Kontrolltestning".

De inkluderade PSA-kontrollerna är analyserat kvalitetskontrollmaterial som används för att verifiera hur noggrant och exakt FastPack® IP-systemet är när det används för den kvantitativa bestämningen av PSA i humant serum och plasma. Användningen av kontrollmaterial indiceras som en objektiv bedömning av hur precisa de metoder och tekniker som används är. Två kontrollnivåer tillhandahålls för att tillåta prestandamonitorering inom det kliniska intervallet.

METODBEGRÄNSNINGAR

- FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay är inte avsett att användas för att diagnosticera prostatacancer.
- Prov kan bestämmas med noggrannhet inom den linjära delen av mätområdet mellan detektionsgänsen och den högsta kalibratorm, 50 µg/L (40 µg/L WHO).
- Prover >50 ng/ml (>40 ng/ml WHO), eller där det finns klinisk möjlighet för en "högdos-krokeffekt", ska köras med användning av en annan metod. Spädning av resultat utanför intervallet rekommenderas inte.
- Vid s.k. "two-site immunoassay", så kan paradoxalt nog, prov med extremt höga koncentrationer ge resultat inom det linjära mätområdet. Denna möjlighet skall beaktas för t.ex. patienter med disseminerad prostatacancer som visar en kliniskt oförklarligt låg total PSA-koncentration. FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay uppvisar ingen "high-dose hook effect" upp till 7,500 µg/L.
- Prov från patienter, som i terapeutiskt eller diagnostiskt syfte har givits preparat med monoklonala antikroppar från möss, kan innehålla s.k. "human anti-mouse antibodies" (HAMA). Sådana prov kan uppvisa antingen falskt förhöjda eller undertryckta värden när de testas med analyskit som baseras på monoklonala antikroppar från mus.^{12,13}
- I sällsynta fall är det känt att det finns isoformer av PSA som kan ge olika resultat i olika PSA tester. Denna typ av observation har rapporterats för PSA tester från flera olika tillverkare.^{14,15,16}
- Heterofila antikroppar i ett prov kan potentiellt leda till interferens vid immunanalyser.^{17,18} Då och då så kan PSA-nivåerna vara förhöjda till följd av heterofila antikroppar i patientserum och plasma eller genom ospecifika proteininteraktioner. Om PSA-nivån ej är i överensstämmelse med kliniska fynd så förslås ytterligare PSA-test för att konfirmera resultatet.
- Prostatamassage, ultrasonografi och nålbiopsi kan orsaka kliniskt signifikant förhöjning av PSA-nivåerna. Hormonterapi kan påverka PSA-produktionen, varför en låg PSA-nivå, efter behandling som inkluderar hormonterapi, kan vara missvisande vad gäller närvaro av kvarvarande eller återkommande sjukdom.
- Vissa fall av tidig prostatacancer kan ej upptäckas med PSA-test; vilket också gäller för palpation per rectum (DRE). Prostataprovtagning med biopsi utgör referensmetod för att konfirmera när- eller frånvaro av prostatacancer. För diagnostiska ändamål så skall FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay alltid bedömas sammanslaget med patientens medicinska bakgrund, klinisk undersökning och andra fynd.

FÖRVÄNTADE NIVÅOMRÅDEN

Prover från normala friska män			Fördelning över PSA-nivå			
Ålder (år)	n	Mediannivå PSA, µg/L PSA	0 - 4 µg/L	4,1 - 10,0 µg/L	10,1 - 30,0 µg/L	>30,0 µg/L
30 - 40	9	0,63	9	0	0	0
41 - 50	22	1,24	22	0	0	0
51 - 60	37	0,99	37	0	0	0
61 - 70	25	0,79	24	1	0	0
71 - 80	7	3,42	5	2	0	0
Prov män, totalt	100	0,99	97	3	0	0

Prover från normala, friska män			Fördelning över PSA-nivå med WHO			
Ålder (år)	n	Mediannivå PSA, µg/L PSA	0 - 3,2 µg/L	3,3 - 8,0 µg/L	8,1 - 24,0 µg/L	>24,0 µg/L
30 - 40	9	0,50	9	0	0	0
41 - 50	22	0,99	22	0	0	0
51 - 60	37	0,79	37	0	0	0
61 - 70	25	0,63	24	1	0	0
71 - 80	7	2,74	5	2	0	0
Prov män, totalt	100	0,79	97	3	0	0

			Fördelning över PSA-nivå			
Prov från normala, friska kvinnor	n	Mediannivå PSA, µg/L	0 - 4 µg/L	4,1 - 10,0 µg/L	10,1 - 30,0 µg/L	>30,0 µg/L
	50	0,03	50	0	0	0

			Fördelning över PSA-nivå med WHO			
Prov från normala, friska kvinnor	n	Mediannivå PSA, µg/L	0 - 3,2 µg/L	3,3 - 8,0 µg/L	8,1 - 24,0 µg/L	>24,0 µg/L
	50	0,02	50	0	0	0

Maligna Sjukdomar	n	Mediannivå PSA, µg/L	Fördelning över PSA-nivå			
			0 - 4 µg/L	4,1 - 10,0 µg/L	10,1 - 30,0 µg/L	>30,0 µg/L
Njure	5	0,00	5	0	0	0
Urinblåsa	5	0,44	5	0	0	0
Pankreas	5	0,18	5	0	0	0
Lever	5	0,12	5	0	0	0
Bröst	5	0,08	5	0	0	0
Testiklar	5	0,61	5	0	0	0
Malign sjukdom, totalt	30	0,15	30	0	0	0

Maligna sjukdomar	n	Mediannivå PSA, µg/L	Fördelning över PSA-nivå med WHO			
			0 - 3,2 µg/L	3,3 - 8,0 µg/L	8,1 - 24,0 µg/L	>24,0 µg/L
Njure	5	0,00	5	0	0	0
Urinblåsa	5	0,35	5	0	0	0
Pankreas	5	0,14	5	0	0	0
Lever	5	0,12	5	0	0	0
Bröst	5	0,10	5	0	0	0
Testiklar	5	0,49	5	0	0	0
Malign sjukdom, totalt	30	0,12	30	0	0	0

Ej maligna sjukdomar	n	Mediannivå PSA, µg/L	Fördelning över PSA-nivå			
			0 - 4 µg/L	4,1 - 10,0 µg/L	10,1 - 30,0 µg/L	>30,0 µg/L
Benign prostata-hyperplasi	40	1,41	38	2	0	0

Ej maligna sjukdomar	n	Mediannivå PSA, µg/L	Fördelning över PSA-nivå med WHO			
			0 - 3,2 µg/L	3,3 - 8,0 µg/L	8,1 - 24,0 µg/L	>24,0 µg/L
Benign prostata-hyperplasi	40	1,13	38	2	0	0

SPECIFIKA ANALYSPRESTANDA

Precision

Reproducerbarheten för den totala PSA-analysen mättes genom att fem olika nivåer analyserades (n = 80, för varje nivå) under tjugo icke-på varandra följande dagar med användning av två analysatorer och två reagenspartier. Variationskoefficienten (% CV) mellan analysatorer mellan körningar beräknades med hjälp av variansanalys.

Parti 1

Prov	Genomsnitt, ng/ml		Inom körning	Mellan körningar	Mellan dagar	Total precision	%TE	%T'Ea
	Hybritech	WHO	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,59	0,48	6,739	3,437	0,000	7,565	13,995	33,6
2	2,98	2,38	4,488	1,720	0,000	4,807	18,464	33,6
3	10,91	8,73	7,479	1,015	2,276	7,883	28,001	33,6
4	22,12	17,69	6,888	0,000	4,976	8,498	31,480	33,6
5	31,06	24,85	6,561	4,417	1,664	8,082	19,158	33,6

Parti 2

Prov	Genomsnitt, ng/ml		Inom körning	Mellan körningar	Mellan dagar	Total precision	%TE	%T'Ea
	Hybritech	WHO	%CV	%CV	%CV	%CV		
1	0,56	0,45	10,123	3,649	1,157	10,823	29,573	33,6
2	2,70	2,16	9,274	2,895	2,952	10,154	22,425	33,6
3	10,36	8,29	9,451	0,000	1,710	9,605	21,788	33,6
4	20,81	16,65	9,597	4,642	7,917	13,278	28,592	33,6
5	31,30	25,04	7,329	3,742	4,296	9,283	22,439	33,6

Utbyte vid spikning:

Serum – Prov med känd mängd PSA adderades till serumprov från kvinnor. Koncentrationen av PSA bestämdes före och efter tillsatsen av exogent PSA och det procentuella utbytet beräknades.

Tillsatt koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
5	4,80	95,9
25	24,64	98,6
40	42,79	107,0

Plasma – Prover med känd mängd PSA adderades till en normal heparin-pool och en normal EDTA-pool. Koncentrationen av PSA bestämdes och det procentuella utbytet beräknades.

Förväntad µg/L PSA (Heparin)	Observerad µg/L PSA (Heparin)	Utbyte (%)
5,3	5,3	100,0
9,8	9,35	95,4
23,3	29,55	126,8
	Medelvärde	107,4

Förväntad µg/L PSA (EDTA)	Observerad µg/L PSA (EDTA)	Utbyte (%)
5,0	4,4	88,0
9,5	8,75	92,1
23,0	26,95	117,2
—	Medelvärde	99,1

Utbyte vid spädning:

Serum - 5 patientpooler späddes till 50%, 25% and 12,5% med kalibratornivå 0 och det procentuella utbytet beräknades.

Pool #1	Förväntad koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
Ren pool	0,94	0,94	—
50%	0,47	0,44	94,6
25%	0,23	0,28	120,4
12,5%	0,12	0,13	111,8

Pool #2	Förväntad koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
Ren pool	57,07	>50	—
50%	28,53	27,91	97,8
25%	14,27	14,6	102,4
12,5%	7,13	7,13	100,0

Pool #3	Förväntad koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
Ren pool	16,17	16,17	—
50%	8,08	7,62	94,3
25%	4,04	4,43	109,5
12,5%	2,02	2,18	107,9

Pool #4	Förväntad koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
Ren pool	72,5	>50	—
50%	36,25	35,32	97,4
25%	18,12	17,74	97,9
12,5%	9,06	9,06	100,0

Pool #5	Förväntad koncentration (µg/L)	Observerad koncentration (µg/L)	Utbyte (%)
Ren pool	34,79	34,79	—
50%	17,39	18,09	104,0
25%	8,70	8,45	94,21
12,5%	4,35	4,56	104,8

Plasma - Tre EDTA och tre heparin patientpools spädades till 50%, 25%, och 12,5% med motsvarande normal pool (dvs. EDTA patientpool spädades med EDTA normalpool etc.) och det procentuella utbytet beräknades.

% av ren EDTA Pool 1	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	45,5	45,5	—
50	22,9	28,1	122,7
25	11,1	12,2	109,9
12,5	5,7	6,2	108,8
Endogen nivå (µg/L)	0,31		

% av ren EDTA Pool 2	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	13,9	13,9	—
50	7,1	6,9	97,2
25	3,7	3,5	94,6
12,5	2,0	2,0	100,0
Endogen nivå (µg/L)	0,35		

% av ren EDTA Pool 3	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	24,0	24,0	—
50	12,3	11,5	93,5
25	6,4	6,0	93,8
12,5	3,5	3,4	97,1
Endogen nivå (µg/L)	0,59		

% av ren Heparin Pool 1	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	5,3	5,3	—
50	3,1	3,3	106,5
25	2,0	2,1	105,0
12,5	1,4	1,3	92,9
Endogen nivå (µg/L)	0,85		

% av ren Heparin Pool 2	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	6,7	6,7	—
50	3,8	4,5	118,4
25	2,3	2,4	104,3
12,5	1,6	1,5	93,8
Endogen nivå (µg/L)	0,88		

% av ren Heparin Pool 3	Förväntad, µg/L PSA	Observerad, µg/L PSA	Utbyte (%)
100	2,2	2,2	—
50	1,5	1,6	106,7
25	1,2	1,2	100,0
12,5	1,0	1,0	100,0
Endogen nivå (µg/L)	0,88		

Jämförelse Plasma/Serum

Kliniska prover användes för att jämföra värden som erhållits från plasma respektive serumprover från samma patient med FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay. Värden utvärderades avseende överensstämmelse med Demings regressionsanalys.

n	Observationsområde (µg/L)	Intercept (µg/L)	Lutning	r
130	0,0 - 49,1	-0,0597	0,9855	0,97

Metodjämförelse

189 serumprover användes för att jämföra FastPack® tPSA, 25 µL med predikat Beckman Access Hybritech PSA. Utvärdering utfördes med hjälp av Passing-Bablok-regressionsanalys.

N	Värdeintervall (ng/ml)	Intercept (ng/ml)	Dosering	R
189	0,06 till 46,8	-0,230	1,082	0,985

N	Värdeintervall, WHO (ng/ml)	Intercept (ng/ml)	Dosering	R
189	0,05 till 37,4	-0,184	1,082	0,985

Ekvimolaritetsstudier

Analys utfördes på tre olika prover innehållande ungefär 2,5, 5 och 10 µg/L av PSA med varierande proportion av fritt PSA och PSA ACT komplex (0 till 100%). Statistisk analys med 95% konfidensintervall visade att PSA-värdena ej påverkades av de olika proportionerna av fritt PSA och PSA-ACT komplex (P-värde 0,324).

INTERFERERANDE SUBSTANSER

Interfererande substanser adderades till serumpooler innehållande kända mängder av PSA. Det värde som erhöles med serumpool som innehöll de olika interfererande substanserna jämfördes med det värde som erhöles med en serumpool utan den interfererande substansen. Nedanstående ämnen uppvisade ej någon interferens vid de angivna nivåerna.

Testat ämne	Test koncentration	Kemoterapeutika	Test koncentration
d-Biotin	100 ng/mL	Cyclophosphamid	700 µg/mL
Bilirubin	49 mg/dL	Diethylstilbestrol	1 µg/mL
Hemoglobin	600 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Humant IgG	1 900 mg/dL	Methotrexat	8 µg/mL
Prostatic Acid Phosphatase (PAP)	1 000 mg/dL	Megestrolacetat	90 µg/mL
Triglycerider	3 000 mg/dL	Flutamid	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

*Interferens identifierades med humant serumalbumin vid 3 g/dL ovanför endogen nivå.

Analytisk känslighet:

Blankgräns (LOB), Detektionsgräns (LOD) och Kvantifieringsgräns (LOQ)

Blankgränsen (LOB, den högsta mätningen som sannolikt kommer att observeras för ett blankt prov), detektionsgräns (LOD, den lägsta mängden analyt i ett prov som kan detekteras med typ I och II-felfrekvenser inställda på 5 %) och kvantifieringsgräns (LOQ, den lägsta mängden analyt i ett prov som kan detekteras pålitligt) bestämdes enligt CLSI EP17-A2. I denna studie bestämdes blankgränsen från 240 replikatbestämningar av ett blankprov testat på sex olika FastPack®-analysatorer med användning av tre reagenspartier. Råa RLU från analyserna konverterades till uppenbar ng/ml baserat på kalibreringskurvan för varje analys. LOB bestämdes som den 228:e rankningen för den sorterade fördelningen av värden. Detta värde var 0,01 ng/ml TPSA.

LOD uppskattades från 180 replikatbestämningar av fyra lågnivåprover. Enligt CLSI EP17-A2-riktlinjen användes den parametriska LOD-beräkningen och gav 0,01 ng/ml TPSA.

LOQ bestämdes som det lägsta provet som gav <20 % CV. LOQ sattes till 0,04 ng/ml.

Analytisk specificitet

Följande korsreaktiviteter bestämdes för de tre ingående monoklonala antikropparna: PAP: ingen; PSA and PSA-ACT igenkänns ekvimolärt.

REFERENSER

- 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 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 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.
- ¹³ Schroff RJ, Foon KA, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-885.
- ¹⁴ 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.
- ¹⁵ Wians FH. The "correct" PSA concentration. *Clin Chem*. 1996;42(11):1882-1885.
- ¹⁶ 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.
- ¹⁷ Nahm MH, Hoffman JW. Heteroantibody: Phantom of the immunoassay. *Clin Chem* 1990;36(6):829.
- ¹⁸ Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
- ¹⁹ 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.
- 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.



Qualigen, Inc.
Carlsbad, CA 92011 USA
Technical Support
+1 (760) 918-9165
+1 (877) 709-2169



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Germany



© 2000 Qualigen, Inc. Alla rättigheter förbehålls. Qualigen och FastPack är varumärken eller registrerade varumärken för Qualigen, Inc. Alla andra varumärken tillhör respektive ägare.