

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

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

INTENDED USE

The FastPack® IP 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 [100 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 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. 25000040

Each FastPack® IP carton contains:

- 30 FastPacks

FastPack® Total PSA Kit - Cat. No. 25000001

Each FastPack® carton contains:

- 50 FastPacks

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, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-phosphate and lucigenin in buffer containing preservatives.

Materials required but not provided

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA Calibrator Kit - Cat. No. 25000002
- FastPack® Control Kit – Cat. No. 25000056 (US) or FastPack® PSA Control Kit - Cat. No. 25000003 (International)

WARNING AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink or smoke in designated work areas.
- Wash hands thoroughly after handling specimen.
- HAMA Interference: some individuals have antibodies to mouse protein (HAMA), which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. In particular, it has been reported that serum 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.
- The components containing Sodium Azide are classified per applicable European Economic Community (EEC) Directives as: Harmful (Xn). The following are appropriate Risk (R) and Safety (S) phrases:

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

STORAGE INSTRUCTIONS

Store at 2 - 8 °C.

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 or EDTA 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 Analyzer during the testing sequence. The FastPack[®] IP Analyzer must be calibrated by the user to ensure that it is properly adjusted for the particular lot of FastPacks that 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 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 "Running a Calibration".

Use FastPack[®] Total PSA Calibrator Kit – Cat. No. 25000002

RESULTS

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

QUALITY CONTROL

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

Controls available: FastPack[®] Control Kit – Cat. No. 25000056 (US) or
FastPack[®] PSA Control Kit – Cat. No. 25000003 (International)

LIMITATION OF PROCEDURE

- 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 an "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 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

			PSA Level Distribution (%)			
Normal, Healthy Female Samples	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

			WHO PSA Level Distribution (%)			
Normal, Healthy Female Samples	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

			PSA Level Distribution (%)			
Malignant Diseases	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

			WHO PSA Level Distribution (%)			
Malignant Diseases	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 PSA assay was measured by assaying tri-level samples (n=120, for each level) twenty times using three analyzers and two lots of reagents. The coefficient of variation (% CV) between analyzers, between reagent lots and between runs was calculated using analysis of variance.

Sample	Mean (ng/mL)	Between Run %CV	Between Analyzer %CV	Between Reagent Lot %CV
Low Control	0.75	13.1	6.2	1.7
Medium Control	2.94	11.2	3.7	5.0
High Control	23.41	9.4	1.1	1.4

Sample	WHO Mean (ng/mL)	Between Run %CV	Between Analyzer %CV	Between Reagent Lot %CV
Low Control	0.60	13.1	6.2	1.7
Medium Control	2.35	11.2	3.7	5.0
High Control	18.73	9.4	1.1	1.4

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

Clinical samples were used to compare the serum values obtained using the FastPack[®] IP and FastPack[®] Total PSA method and the serum value obtained using the Abbott IMx[®] PSA method. The values were evaluated for agreement using Deming regression analysis. Spearman rank correlation was used to test association between the values.

n	Range of Observation (ng/mL)	Intercept (ng/mL)	Slope	r
138	0.0 - 42.0	0.03	0.955	0.967

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

*Interference was found with Human Serum Albumin at 3 g/dL above the endogenous levels.

Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the FastPack[®] IP and FastPack[®] Total PSA Immunoassay is 0.04 ng PSA/mL. This value was interpolated from the dose-response curve that was plus two standard deviations above the average of the zero calibrator signal (n=21).

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 Boscatto 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



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

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

VERWENDUNGSZWECK

FastPack® IP 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 [100 μ L] und Antikörperlösung (Gemisch aus biotinyliertem monoklonalem PSA-spezifischem Antikörper und einem mit alkalischer Phosphatase markiertem, monoklonalen 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 Waschlösung [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. 25000040

Jeder FastPack® IP-Karton enthält:

- 30 FastPacks

FastPack® Total PSA-Immunoassay - Kat.-Nr. 25000001

Jeder FastPack®-Karton enthält:

- 50 FastPacks

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, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-Phosphat und Lucigenin in Puffer mit Konservierungsstoffen.

Erforderliche Materialien, die nicht im Lieferumfang inbegriffen sind

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA-Kalibrator-Kit - Kat.-Nr. 25000002
- FastPack® Kontroll-Kit - Kat. Nr. 25000056 (USA) oder FastPack® PSA Kontroll-Kit - Kat. Nr. 25000003 (International)

WARNUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den betreffenden Arbeitszonen weder essen, trinken noch rauchen.
- Hände nach dem Umgang mit Proben gründlich waschen.
- HAMA-Interferenz: Einige Personen besitzen Antikörper zu Mausproteinen (HAMA), was zu 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.
- Bestandteile, welche Natriumazid enthalten, sind gemäß einschlägiger Richtlinie der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EWG) als „Schädlich (Xn)“ eingestuft. Dabei kommen folgende Risiko- (R) und Sicherheitsbestimmungen (S) zur Anwendung:

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

LAGERUNG

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

ENTNAHME UND AUFBEREITUNG DER PROBEN

1. Für den FastPack® IP 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-oder EDTA-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. 25000002.

ERGEBNISSE

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

QUALITÄTSKONTROLLE

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

Verfügbare Kontrollen: FastPack® Kontroll-Kit – Kat. Nr. 25000056 (USA) oder
FastPack® PSA Kontroll-Kit – Kat. Nr. 25000003 (International)

GRENZEN DES VERFAHRENS

- 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 mit einer Konzentration über 50 ng/mL (40 ng/mL WHO) oder bei denen die klinische Möglichkeit eines Hook Effekt bei hohen Dosen besteht, sollten mit einem anderen Verfahren analysiert werden.
- 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.
- 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 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

			PSA-Wert-Verteilung (%)			
Proben von normalen, gesunden Frauen	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

			WHO PSA-Wert-Verteilung (%)			
Proben von normalen, gesunden Frauen	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
	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

Bösartige Erkrankungen	n	Mittler PSA-Wert ng/mL	WHO PSA-Wert-Verteilung (%)			
			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 böartiger Erkrankungen	30	0,12	30	0	0	0

Gutartige Erkrankungen	n	Mittlerer PSA-Wert ng/mL PSA	PSA-Wert-Verteilung (%)			
			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

Gutartige Erkrankungen	n	Mittler PSA-Wert ng/mL	WHO PSA-Wert-Verteilung (%)			
			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 PSA-Assays wurde durch zwanzigfache Analyse von Proben in drei Konzentrationen (n=120 für jede Ebene) unter Verwendung von drei Analyzern und zwei Reagenzienchargen gemessen. Dabei wurde der Variationskoeffizient (% CV) zwischen den einzelnen Analyzern, Reagenzienchargen und Analyseläufen mit Hilfe der Varianzanalyse ermittelt.

Probe	Mittelwert (ng/mL)	Zwischen einzelnen Analyseläufen %CV	Zwischen einzelnen Analyzern %CV	Zwischen einzelnen Reagenzienchargen %CV
Niedrige Kontrolle	0,75	13,1	6,2	1,7
Mittlere Kontrolle	2,94	11,2	3,7	5,0
Hohe Kontrolle	23,41	9,4	1,1	1,4

Probe	WHO-Mittel (ng/mL)	Zwischen Durchgängen %VK	Zwischen Analysegerät %VK	Zwischen einzelnen Reagenzienchargen %CV
Niedrige Kontrolle	0,60	13,1	6,2	1,7
Mittlere Kontrolle	2,35	11,2	3,7	5,0
Hohe Kontrolle	18,73	9,4	1,1	1,4

Rückgewinnung bei Spitzenkonzentrationen

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

Zugegebte 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 wurden einem normalen Heparinpool und einem normalen EDTA-Pool beigelegt. 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

Unter Verwendung von klinischen Proben wurden die anhand der FastPack® IP und FastPack® PSA-Methode gewonnenen Serumwerte mit den anhand der Abbott IMx® PSA-Methode ermittelten Serumwerten verglichen. Die Werte wurde anhand der Deming- Regressionsanalyse auf Übereinstimmung überprüft. Zur Ermittlung der gegenseitigen Wertebeziehung wurde eine Spearman- Rangkorrelation angewandt.

n	Beobachteter Bereich (ng/mL)	Schnittpunkt (ng/mL)	Steigung	r
138	0,0 - 42,0	0,03	0,955	0,967

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

*Bei menschlichem Serumalbumin wurde eine Interferenz bei 3 g/dl über den endogenen Werten festgestellt.

Analyseempfindlichkeit

Die Analyseempfindlichkeit des FastPack® IP und FastPack® Total PSA Immunoassay beträgt 0,04 ng PSA/mL. Dieser Wert wurde aus der Dosis- Reaktions-Kennlinie interpoliert, die zwei Standardabweichungen über dem Durchschnitt des Nullkalibratorsignals (n=21) liegt.

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 Boscatto 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



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

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

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage immunologique 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 [100 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 de détection : Un substrat chimioluminescent [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. 25000040

Chaque carton de FastPack® IP contient :

- 30 FastPacks

Dosage immunologique FastPack® IP Total PSA - N° de cat. 25000001

Chaque carton de FastPack® contient :

- 50 FastPacks

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, 140 µL
ImmuGlow™ : Indoxyle-3-phosphate et lucigénine en solution tampon contenant des agents de conservation.

Produits nécessaires mais non fournis

- Système FastPack® IP
- Kit d'étalonnage FastPack® Total PSA – N° de cat. 25000002
- Kit de contrôle FastPack® – Réf. 25000056 (É-U) ou kit de contrôle FastPack® PSA - Réf. 25000003 (International)

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ni fumer dans les aires de travail désignées.
- Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons.
- Interférence HAMA : certains individus ont des anticorps réagissant avec les protéines murines (HAMA), ce qui peut causer une interférence dans les dosages immunologiques utilisant des anticorps dérivés des souris. En particulier, il a été signalé que des échantillons de sérum 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.
- Selon les directives de la Communauté économique européenne (CEE), les composants contenant de l'azide de sodium sont classés comme : dangereux (Xn). Liste des indications de danger (R) et de sécurité (S) pertinentes :

R22 Nocif en cas d'ingestion.
R32 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
S2 Conserver hors de la portée des enfants.
S13 Conserver à l'écart des aliments et boissons, y compris ceux pour animaux.
S36 Porter un vêtement de protection approprié.
S46 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

1. Des échantillons de sérum ou de plasma peuvent être utilisés pour le dosage immunologique FastPack® IP et FastPack® Total PSA.
2. Le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) fournit des recommandations pour la manipulation, le traitement et la conservation du sang.^{10,11}
3. Prélever tous les échantillons de sang en observant les précautions habituelles en rapport avec la ponction veineuse.
4. Il n'est pas nécessaire que les patients jeûnent avant le prélèvement des échantillons.
5. 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.
6. Pour les échantillons de plasma
 - Recueillir les échantillons dans des tubes d'héparine lithium ou d'EDTA. 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.
 7. Ne pas congeler les échantillons (-20 °C) pendant plus de deux mois.
 8. Les échantillons congelés doivent être dégelés complètement et mélangés délicatement par inversion avant leur emploi.
 9. 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.
 10. Veiller à ce que les échantillons soient exempts de bulles d'air. **PLAGE ATTENDUE**
 11. Les échantillons prélevés jusqu'à 2 heures après un examen rectal digital ne présentent pas d'augmentation significative des antigènes prostatiques spécifiques (PSA).¹⁹
 12. 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. 25000002

RÉSULTATS

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

CONTRÔLE QUALITÉ

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

Contrôles disponibles : Kit de contrôle FastPack® – Réf. 25000056 (É-U) ou
Kit de contrôle FastPack® PSA – Réf. 25000003 (International)

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- 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'effet crochet à haute dose doivent être traités à l'aide d'une méthode différente.
- 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.
- 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

Maladies cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL	Distribution des taux de PSA selon WHO (%)			
			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

Maladies non cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen (ng/mL)	Distribution des niveaux de PSA (%)			
			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

Maladies non cancéreuses	n	Niveau de PSA moyen, ng/mL	Distribution des taux de PSA selon WHO (%)			
			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 PSA a été mesurée en dosant vingt fois les échantillons à trois niveaux (n=120 pour chaque niveau) et en utilisant trois analyseurs et deux lots de réactifs. Le coefficient de variation (% CV) entre les analyseurs, entre les lots de réactif et entre les dosages a été calculé en utilisant l'analyse de variance.

Échantillon	Moyenne (ng/mL)	%CV entre dosages	%CV entre analyseurs	%CV entre lots de réactifs
Contrôle bas	0,75	13,1	6,2	1,7
Contrôle moyen	2,94	11,2	3,7	5,0
Contrôle élevé	23,41	9,4	1,1	1,4

Échantillon	Moyenne WHO (ng/mL)	Entre chaque mesure %CV	Entre analyseurs %CV	Entre lots de réactifs %CV
Contrôle bas	0,60	13,1	6,2	1,7
Contrôle moyen	2,35	11,2	3,7	5,0
Contrôle élevé	18,73	9,4	1,1	1,4

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 sérum 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

Des échantillons cliniques ont été utilisés pour comparer les valeurs de sérum obtenues en utilisant la méthode FastPack® IP et FastPack® PSA et la valeur de sérum obtenue en utilisant la méthode Abbott IMx® PSA. Les valeurs ont été évaluées pour déterminer si elles concordaient en utilisant l'analyse de régression de Deming. La corrélation des rangs de Spearman a été utilisée pour tester la relation entre les valeurs.

n	Plage d'observation (ng/mL)	Coordonnée d'origine (ng/mL)	Pente	r
138	0,0 - 42,0	0,03	0,955	0,967

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
Bilirubine	49 mg/dL	Cyclophosphamide	700 µg/mL
Hémoglobine	600 mg/dL	Diéthylstilbestrol	1 µg/mL
IgG humaine	1 900 mg/dL	Chorhydrate de doxorubicine	16 µg/mL
Phosphatase acide prostatique (PAP)	1 000 ng/dL	Methotrexate	8 µg/mL
Triglycérides	3 000 mg/dL	Megestrol Acetate	90 µg/mL
		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.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du dosage immunologique de PSA total FastPack® IP et Fastpack® est de 0,04 ng/mL. Cette valeur a été interpolée à partir de la courbe de dose-effet à +2 écarts-types au-dessus de la moyenne du signal de l'étalon zéro (n=21).

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 prostate-specific 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



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 intercambiati. 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

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

INDICAZIONI

L'immunodosaggio FastPack® IP 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 elevati 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'infezione, 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 [100 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. 25000040

Ogni scatola di FastPack® IP contiene:

- 30 FastPack® IP

Immunodosaggio FastPack® PSA totale - N. cat. 25000001

Ogni scatola di FastPack® contiene:

- 50 FastPack®

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™ (140 µL) Indoxil-3-fosfato e lucigenina in tampone contenente conservanti.

Materiali necessari ma non forniti

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibratore FastPack® PSA totale - N. cat. 25000002
- Kit di controllo FastPack® - N. cat. 25000056 (USA) o kit di controllo PSA FastPack® - N. cat. 25000003 (Internazionale)

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro.
- Lavarsi bene le mani dopo avere maneggiato campioni.
- Interferenza degli HAMA: alcuni individui dispongono di anticorpi per le proteine di origine murina (HAMA) che possono causare interferenza negli immunodosaggi che impiegano anticorpi murini. In particolare è stato riscontrato che campioni di siero 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.
- I componenti che contengono sodio azide sono classificati, in base alle direttive della Comunità Economica Europea (CEE) applicabili, come: Nocivo (Xn). Seguono le diciture corrette relative ai rischi e alla protezione:

R22 Nocivo per ingestione.

R32 A contatto con acidi libera gas molto tossico.

S2 Conservare fuori della portata dei bambini.

S13 Conservare lontano da alimenti o mangimi e da bevande.

S36 Usare indumenti protettivi adatti.

S46 In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta.

ISTRUZIONI PER LA CONSERVAZIONE

Conservare a 2 - 8 °C. Proteggerne 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 o EDTA. 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 a 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. 25000002

RISULTATI

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

CONTROLLO DI QUALITÀ

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

Controlli disponibili: kit di controllo FastPack® - N. cat. 25000056 (USA) o
kit di controllo PSA FastPack® - N. cat. 25000003 (Internazionale)

LIMITI DELLA PROCEDURA

- 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) devono essere analizzati con un altro metodo. È sconsigliabile ricorrere alla diluizione per i risultati fuori intervallo.
- 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 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 del dosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA è stata misurata mediante il dosaggio in tre livelli di campioni (n=120, per ciascun livello), analizzati 20 volte utilizzando tre analizzatori e due lotti di reagenti. Il coefficiente di variazione (%CV) fra un analizzatore e l'altro, un lotto di reagenti e l'altro e una serie di analisi e l'altra è stato calcolato utilizzando l'analisi della varianza.

Campione	medio (ng/mL)	%CV tra le serie	%CV tra analizzatori	%CV tra lotti di reagenti
Controllo limite inferiore	0,75	13,1	6,2	1,7
Controllo medio	2,94	11,2	3,7	5,0
Controllo limite superiore	23,41	9,4	1,1	1,4

Campione	Media WHO (ng/mL)	Tra le serie %CV	Controllo medio %CV	Between Reagent Lot %CV
Low Control	0,60	13,1	6,2	1,7
Controllo medio	2,35	11,2	3,7	5,0
Controllo limite superiore	18,73	9,4	1,1	1,4

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 campioni clinici per confrontare i valori del siero ottenuti con il metodo FastPack® IP PSA totale e il valore del siero ottenuto utilizzando il metodo Abbott IMx® PSA. È stata valutata la concordanza dei valori utilizzando l'analisi di regressione di Deming. Per valutare l'associazione fra i valori è stata utilizzata la correlazione tra ranghi di Spearman.

n	Intervallo di osservazione (ng/mL)	Intercettazione (ng/mL)	Pendenza	r
138	0,0 - 42,0	0,03	0,955	0,967

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
Bilirubina	49 mg/dL	Ciclofosfamide	700 µg/mL
Emoglobina	600 mg/dL	Dietilstilbestrolo	1 µg/mL
IgG umane	1900 mg/dL	Doxorubicina HCl	16 µg/mL
Fosfatasi acida prostatica (PAP)	1000 ng/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Trigliceridi	3000 mg/dL	Megestrol acetato	90 µg/mL
		Flutamide	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.

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica dell'immunodosaggio FastPack® IP e FastPack® PSA totale è di 0,04 ng di PSA/mL. Questo valore è stato ottenuto per interpolazione dalla curva dose-risposta che era di +2 deviazioni standard al di sopra della media del segnale del calibratore di zero (n=21).

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 prostate-specific 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 Boscatto 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



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

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

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O imunoensaio de PSA 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 próstata (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 biópsia 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 [100 μ L] e a solução de anticorpos (mistura de um anticorpo monoclonal biotinilado 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. 25000040

Cada embalagem de FastPack® IP contém:

- 30 FastPacks

Imunoensaio de PSA Total FastPack® - N.º de Cat. 25000001

Cada embalagem de FastPack® contém:

- 50 FastPacks

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, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato e lucigenina em tampão contendo conservantes.

Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema FastPack® IP
- Conjunto de calibradores de PSA total FastPack® – N.º de Cat. 25000002
- Conjunto de controlos FastPack® - N.º de Cat. 25000056 (EUA) ou conjunto de controlos de PSA FastPack® - N.º de Cat. 25000003 (Internacional)

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para utilização de diagnóstico *in vitro*.
- Não pipete com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho designadas.
- Lave muito bem as mãos após o manuseamento de amostras.
- Interferência HAMA: algumas pessoas possuem anticorpos contra a proteína de rato (HAMA), o que pode causar interferência em imunoensaios que utilizam anticorpos derivados de ratos. Em particular, foi relatado que amostras de soro ou de plasma de doentes submetidos a terapêutica ou a procedimentos de diagnóstico que incluem a infusão de anticorpo monoclonal de rato podem produzir resultados erróneos em tais ensaios.
- Os reagentes FastPack® IP 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.
- Os componentes que contêm azida sódica são classificados de acordo com as directivas aplicáveis da Comunidade Económica Europeia (CEE) como: Nocivo (Xn). Seguem-se as legendas apropriadas de Risco (R) e de Segurança (S):

R22 Nocivo por ingestão.

R32 Em contacto com ácidos, liberta gases muito tóxicos.

S2 Manter fora do alcance das crianças.

S13 Manter longe de alimentos e bebidas, incluindo os dos animais.

S36 Usar vestuário de protecção adequado.

S46 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 Comité 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 ou EDTA. 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. 25000002

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”.

Controlos disponíveis: Conjunto de controlos FastPack® – N.º de Cat. 25000056 (EUA) ou
Conjunto de controlos de PSA FastPack® – N.º de Cat. 25000003 (Internacional)

LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

- 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).
- As amostras > 50 ng/ml (>40 ng/mL WHO), ou sempre que exista a possibilidade clínica de um “efeito de gancho por dosagem elevada”, devem ser testadas utilizando outro método. Não se recomenda a diluição de resultados fora da amplitude.
- 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 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

			Distribuição do nível de PSA (%)			
Doenças não 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
Hiperplasia benigna da próstata	40	1,41	38	2	0	0

			Distribuição do nível de PSA WHO (%)			
Doenças não 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
Hiperplasia benigna da próstata	40	1,13	38	2	0	0

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Precisão

A reprodutibilidade do ensaio de PSA foi medida através do teste em três níveis de amostras (n=120, para cada nível), vinte vezes, utilizando três analisadores e dois lotes de reagentes. O coeficiente de variação (% CV) entre analisadores, entre lotes de reagentes e entre execuções foi calculado com base na análise da variância.

Amostra	médio (ng/mL)	%CV entre execuções	%CV entre analisadores	%CV entre lotes de reagentes
Controlo baixo	0,75	13,1	6,2	1,7
Controlo médio	2,94	11,2	3,7	5,0
Controlo alto	23,41	9,4	1,1	1,4

Amostra	Média WHO (ng/mL)	%CV entre execuções	%CV entre analisadores	%CV entre lotes de reagentes
Controlo baixo	0,60	13,1	6,2	1,7
Controlo médio	2,35	11,2	3,7	5,0
Controlo alto	18,73	9,4	1,1	1,4

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 amostras clínicas para comparar os valores de soro obtidos utilizando o método de PSA total FastPack® IP e FastPack® e o valor de soro obtido utilizando o método de PSA Abbott IMx®. Os valores foram avaliados em relação a concordância utilizando a análise de regressão de Deming. Foi utilizada a correlação de ordem de Spearman para testar a associação entre os valores.

n	Amplitude de observação (ng/mL)	Intercepção (ng/mL)	Inclinação	r
138	0,0 a 42,0	0,03	0,955	0,967

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

*Foi detectada interferência com albumina de soro humano a 3 g/dL acima dos níveis endógenos.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica do imunoensaio de PSA total FastPack® IP e FastPack® é de 0,04 ng de PSA/mL. Este valor foi interpolado a partir da curva de resposta à dosagem que estava dois desvios-padrão acima da média do sinal do calibrador zero (n=21).

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 Boscatto 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



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

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

USO PREVISTO

El 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 [100 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 25000040

Cada caja de FastPack® IP contiene:

- 30 FastPacks

Inmunoensayo de FastPack® Total PSA - Núm. de catálogo 25000001

Cada caja de FastPack® contiene:

- 50 FastPacks

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, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxil-3-fosfato y lucigenina en una solución tampón que contiene agentes conservadores.

Materiales requeridos pero no provistos

- Sistema FastPack® IP
- Kit calibrador de PSA Total FastPack® – Núm. de catálogo 25000002
- Kit de control FastPack® – Cat. N.º 25000056 (US) o kit de control FastPack® – Cat. N.º 25000003 (internacional)

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- No administrar oralmente con pipeta.
- No comer, beber o fumar en las áreas de trabajo designadas.
- Lavarse muy bien las manos tras manipular la muestra.
- Interferencia de HAMA: algunas personas tienen anticuerpos a las proteínas murinas (HAMA), lo cual puede causar interferencias en los 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.
- Los componentes que contienen ácido sódico son clasificados conforme a las directrices correspondientes de la Comunidad Económica Europea (CEE) como: Nocivos (Xn). Las siguientes son indicaciones pertinentes sobre el riesgo (R) y la seguridad (S):
 - R22 Es nocivo en caso de ingestión.
 - R32 En contacto con un ácido, emite un gas muy tóxico.
 - S2 Mantenerlo fuera del alcance de los niños.
 - S13 Mantenerlo apartado de la comida, bebida y alimentos para animales.
 - S36 Vestir ropa protectora apropiada.
 - S46 En caso de ingestión, obtener asistencia médica de inmediato y mostrar este envase o etiqueta.

INSTRUCCIONES DE CONSERVACIÓN

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

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. 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 o EDTA. 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 25000002

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.

Controles disponibles: kit de control FastPack® – Cat. N.º 25000056 (EE. UU) o
kit de control FastPack® – Cat. N.º 25000003 (internacional)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 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 (>40ng/mL WHO), o cuando exista la posibilidad clínica de una caída de la respuesta al análisis a altas concentraciones (llamada a veces “efecto gancho”), deben procesarse mediante otro método. 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 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

Enfermedades malignas	n	Nivel medio de PSA, ng/mL	Nivel de distribución de PSA (%)			
			0 - 4 ng/mL	4,1 - 10,0 ng/mL	10,1 - 30,0 ng/mL	>30,0 ng/mL
Riñón	5	0,00	5	0	0	0
Vejiga	5	0,44	5	0	0	0
Páncreas	5	0,18	5	0	0	0
Hígado	5	0,12	5	0	0	0
Pecho	5	0,08	5	0	0	0
Testículos	5	0,61	5	0	0	0
Total de enfermedades malignas	30	0,15	30	0	0	0

Enfermedades malignas	n	Nivel de PSA medio, ng/mL	Distribución de nivel de PSA de la WHO (%)			
			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
Páncreas	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

Enfermedades no malignas	n	Nivel medio de PSA, ng/mL	Nivel de distribución de PSA (%)			
			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 del análisis de PSA se midió analizando muestras a tres niveles (n = 120 para cada nivel) veinte veces, utilizando para ello tres analizadores y dos lotes de reactivos. Se calculó el coeficiente de variación (% CV) entre los analizadores, entre lotes de reactivos y entre series, utilizando como método el análisis de varianza.

Muestra	Media (ng/mL)	Entre series, %CV	Entre analizadores, %CV	Entre lotes de reactivos %CV
Control bajo	0,75	13,1	6,2	1,7
Control medio	2,94	11,2	3,7	5,0
Control alto	23,41	9,4	1,1	1,4

Muestra	Promedio WHO (ng/mL)	Entre ejecución %CV	Entre analizador %CV	Entre lote de reactivo % CV
Control bajo	0,60	13,1	6,2	1,7
Control medio	2,35	11,2	3,7	5,0
Control alto	18,73	9,4	1,1	1,4

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 muestras clínicas para comparar los valores obtenidos de las muestras de suero utilizando el método de PSA Total FastPack® IP y FastPack® y el valor de suero obtenido utilizando el método de PSA Abbott IMx®. Los valores se evaluaron para determinar si concordaban, utilizando para ello el análisis de regresión de Deming. Se utilizó la correlación de rangos de Spearman para probar la asociación entre los valores.

n	Rango de observación (ng/mL)	Intersección (ng/mL)	Pendiente	r
138	0,0 - 42,0	0,03	0,955	0,967

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
Bilirrubina	49 mg/dL	Ciclofosfamida	700 µg/mL
Hemoglobina	600 mg/dL	Dietilestilbestrol	1 µg/mL
IgG humano	1900 mg/dL	Doxorrubicina HCl	16 µg/mL
Fosfatasa ácida prostática (PAP)	1000 ng/dL	Metotrexato	8 µg/mL
Triglicéridos	3000 mg/dL	Megestrol acetato	90 µg/mL
		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.

Sensibilidad 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).

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, Berstrahl 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



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 reagensspecificitet. Rapporterat resultat från laboratoriet till läkaren skall inkludera vilken metod som använts för PSA-bestämningen. Värden som rapporterats med olika bestämningsskyltar 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

OBS: Detta test är endast avsett för bruk av, eller i samråd med läkare eller kliniskt laboratorium. Användning bör endast ske i samråd med läkare.

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-inhibitorn 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 [100 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. 25000040

Varje FastPack® IP kartong innehåller:

- 30 st FastPack® IP

FastPack® Total PSA Immunoassay - Art. nr. 25000001

Varje FastPack® kartong innehåller:

- 50 st FastPack®

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 fosfatas i en proteinmatris med 0,1% natriumazid som konserveringsmedel.
- Tvättbuffert, 2,0 mL
Trisbuffert med ytspänningsnedsättande medel.
- Substrat, 140 µL
ImmuGlow™: Indoxyl-3-phosphate och lucigenin i en buffert innehållande konserveringsmedel.

Nödvändigt material som ej medföljer

- FastPack® IP System
- FastPack® Total PSA Calibrator Kit - Art. nr. 25000002
- FastPack® Control Kit – Art. nr. 25000056 (USA) eller FastPack® PSA Control Kit - Art. nr. 25000003 (Internationellt)

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Endast för *in vitro*-diagnostik.
- Munpipettera inte.
- Ät, drick eller rök inte inom arbetsområdet.
- 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 immunanalys 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.
- Komponenterna som innehåller natriumazid klassificeras enligt gällande Europeiska direktiv som; Hälsoskadlig (Xn). Följande är tillämpliga Risk- (R) och Skydds- (S) fraser;

R22 Farlig vid förtäring.

R32 Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.

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 eller EDTA-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. 25000002

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".

Tillgängligt kontrollmaterial: FastPack® Control Kit – Art. nr. 25000056 (USA) eller
FastPack® PSA Control Kit – Art. nr. 25000003 (Internationellt)

METODBEGRÄNSNINGAR

- Prov kan bestämmas med noggrannhet inom den linjära delen av mätområdet mellan detektionsgränsen och den högsta kalibratoren, 50 µg/L (40 µg/L WHO).
- Prov >50 µg/L (>40 µg/L WHO), eller där det finns en klinisk möjlighet till s.k. "high-dose hook effect", skall analyseras med annan metodik. Spädning rekommenderas ej vid resultat utanför mätområdet.
- 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 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

			Fördelning över PSA-nivå (%)			
Maligna Sjukdomar	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
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 av PSA-analysen uppmättes genom att bestämma prov I tre olika nivåer (n=120, för varje nivå) tjugo gånger med tre analysatorer och två loter med reagens. Variationskoefficienten (CV %) mellan analysatorerna, mellan reagensloter and mellan analysomgångarna kalkylerades med variansanalys.

Prov	Medelvärde (µg/L)	Inom serie %CV	Mellan instrument %CV	Mellan reagenslot %CV
Låg kontroll	0,75	13,1	6,2	1,7
Medium kontroll	2,94	11,2	3,7	5,0
Hög kontroll	23,41	9,4	1,1	1,4

Prov	Medelvärde WHO (µg/L)	Inom serie %CV	Mellan instrument %CV	Mellan reagenslot %CV
Låg kontroll	0,60	13,1	6,2	1,7
Medium kontroll	2,35	11,2	3,7	5,0
Hög kontroll	18,73	9,4	1,1	1,4

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 späddes till 50%, 25%, och 12.5% med motsvarande normal pool (dvs. EDTA patientpool späddes 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

Kliniska prover användes för att jämföra serumvärden som erhöles med FastPack® IP och FastPack® Total PSA-metoden och serumvärden som erhöles med Abbott IMx® PSA-metoden. Värden utvärderades avseende överensstämmelse med Demings regressionsanalys. Spearman rank korrelation användes för att bestämma relationen mellan grupperna.

n	Observationsområde (µg/L)	Intercept (µg/L)	Lutning	r
138	0,0 - 42,0	0,03	0,955	0,967

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

Interferande 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
Bilirubin	49 mg/dL	Cyclophosphamid	700 µg/mL
Hemoglobin	600 mg/dL	Diethylstilbestrol	1 µg/mL
Humant IgG	1 900 mg/dL	Doxorubicin HCl	16 µg/mL
Prostatic Acid Phosphatase (PAP)	1 000 mg/dL	Methotrexat	8 µg/mL
Triglycerider	3 000 mg/dL	Megestrolacetat	90 µg/mL
		Flutamid	10 µg/mL
		Lupron	100 µg/mL

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

Analytisk känslighet

Den analytiska känsligheten (detektionsgränsen) för FastPack® IP och FastPack® Total PSA Immunoassay är 0.04 ng PSA/mL. Detta värde interpolerades från dos-responskurvan vid två standarddeviationer ovanför signalen för nollkalibratören (n=21).

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 Boscatto 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

