



Free PSA

For use on IMMULITE® 2000 systems

SIEMENS

IMMULITE® 2000 Free PSA

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE® 2000 Systems Analyzers — for the quantitative measurement of free, uncomplexed prostate-specific antigen (PSA), i.e. PSA not bound to α_1 -antichymotrypsin or other binding proteins, in serum.

Catalog Number: **L2KPF2** (200 tests)

Test Code: **fPS** Color: **Light Gray**

The concentration of free PSA in a given specimen determined with different assays can vary due to the differences in assay methods and reagent specificity. The results reported by the laboratory to the physician must include the identity of the assay used. Values obtained with different PSA assays can not be used interchangeably. Before changing assays, the laboratory must confirm the baseline values for patients being serially monitored.

Summary and Explanation

Since the inception of prostate-specific antigen (PSA) measurements by immunoassay, it has been observed that several distinct immunoreactive species could be isolated from the serum of prostate cancer (PCa) patients after molecular sieve chromatography.¹ PSA has been shown to form stable complexes with two of the major extracellular protease inhibitors in blood, α_1 -antichymotrypsin (ACT) and α_2 -macroglobulin (AMG).⁴ In prostate cancer patients, PSA complexed with ACT (PSA-ACT) is typically the major form in circulation: for about 50% of these patients, PSA-ACT accounts for 85% of the total PSA present. Some 12–15% of prostate cancer patients, on the other hand, present with free (that is, uncomplexed) PSA as the predominant form.²

Biochemical studies of PSA isolated from seminal plasma show that approximately

35% is free, being enzymatically inactive and unreactive with protease inhibitors.³ According to current hypotheses, this form of the molecule represents *either* an inactive zymogen of PSA *or* a nicked or enzymatically inactive form.

Complex formation with ACT results in exposure of a limited number of the antigenic epitopes of PSA, whereas complex formation with AMG encapsulates the antigenic epitopes of PSA. Differences in recognition of these multiple forms of PSA by reagent antibodies have contributed to discrepancies between commercial PSA assays.⁴

Immunometric assays have now been designed to selectively characterize all the molecular forms of PSA in circulation: some detect just PSA-ACT, others just free PSA, and some are considered to be assays for total PSA, detecting PSA epitopes available both on free (uncomplexed) PSA and on PSA complexed to serine protease inhibitors.

Using assays such as these, free PSA was found to comprise a significantly ($p < 0.0001$) smaller fraction of the total PSA concentration in patients with untreated PCa than in patients with benign prostatic hypertrophy (BPH).²

A substantial body of literature indicates the benefit of combining free and total PSA in the form of a ratio, facilitating discrimination between PCa and BPH. These determinations must be made using assays developed by the same manufacturer.^{14,15} The free-to-total ratio (% free PSA) is typically expressed as a percent: $100 \times \text{free PSA} / \text{total PSA}$, with both measured in ng/mL. The % free PSA is, on average, lower in PCa than in BPH and has been commonly used as an aid in PCa diagnosis when the total PSA concentration falls in the “gray zone”, that is, between 4 and 10 ng/mL.^{16–19} While a lower cutoff might result in fewer false-positive results, a higher cutoff is less likely to miss actual instances of PCa. The % free PSA has also been investigated in the wider total PSA concentration range of 2.0 to 20 ng/mL.^{15,17,18,20}

The optimal % free PSA cutoff depends on other factors as well, one of which is the prostate and/or transition zone volume measured by transrectal ultrasound (TRUS).^{21,22} Age is another factor: while both free and total PSA rise with advancing age, the % free PSA decreases.²³ More complex approaches employing artificial neural networks (ANNs) take these parameters and others into account, e.g., the results of a digital rectal exam (DRE). Using an ANN can significantly increase discrimination between BPH and PCa.²⁴

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Free PSA is a solid-phase, sequential chemiluminescent immunometric assay.

The solid phase (bead) is coated with monoclonal murine anti-PSA antibody specific for free (uncomplexed) PSA. The patient sample is incubated with the bead during the first cycle at which time free PSA in the sample binds to the free PSA-specific monoclonal antibody-coated bead. Unbound serum is then removed by a centrifugal wash. Alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a goat anti-PSA polyclonal antibody in the reagent is introduced in the second cycle and binds to free PSA on the bead to form an antibody-sandwich complex. Unbound enzyme conjugate is then removed by a centrifugal wash. Finally, chemiluminescent substrate is added to the bead and signal is generated in proportion to the bound enzyme.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes

Time to first result: 65 minutes

Specimen Collection

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Free PSA has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 25 µL serum

Storage: 24 hours at 2–8°C or for longer at –20°C.^{29,30}

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use only.



CAUTION! POTENTIAL BIOHAZARD

Contains human source material. Each donation of human blood or blood component was tested by FDA-approved methods for the presence of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and type 2 (HIV-2) as well as for hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody to hepatitis C virus (HCV). The test results were negative (not repeatedly reactive). No test offers complete assurance that these or other infectious agents are absent; this material should be handled using good laboratory practices and universal precautions.²⁶⁻²⁸

CAUTION: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.



**H302 + H312,
H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

Warning! Harmful if swallowed or in contact with skin. Harmful to aquatic life with long lasting effects. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. IF ON SKIN: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.
Contains: sodium azide; Free PSA Adjustors

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Free PSA Bead Pack (L2PF12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-PSA antibody specific for free (uncomplexed) PSA. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KPF2: 1 pack

Free PSA Reagent Wedge (L2PFA2)

With barcodes. 11.5 mL of a protein buffer matrix, with preservative; 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-PSA antibody specific for PSA in a buffer containing human serum, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KPF2: 1 wedge

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Free PSA Adjustors (LPFL, LPFH)

Two vials (Low and High) of lyophilized free PSA in a buffer solution, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KPF2: 1 set

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

For the on-board dilution of patient samples. One vial, concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Storage: 30 days (after opening) at 2–8°C or 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

Also Required
Distilled or deionized water; test tubes;
controls

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Systems Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks

Quality Control Samples: Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency.

Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of free PSA.

Siemens Healthcare Diagnostics recommends the use of commercially available quality control materials with at least 2 levels (low and high). A satisfactory level of performance is achieved when the analyte values obtained are within the Acceptable Control Range for the system, or within an established range determined by an appropriate internal laboratory quality control scheme.

Expected Values

Based on its relationship to IMMULITE Free PSA (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

A reference range study for IMMULITE Free PSA was performed using serum samples from adult volunteers, including men ranging from approximately 20 to 70 years of age (central 95%: 22–64 years, median: 40 years). The subjects were in apparent good health, based on a questionnaire.

Blood samples were collected in France, Germany, the Netherlands and Portugal. Results were generated by an independent laboratory in the Netherlands using IMMULITE kits. (The samples were collected in plain glass tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives, and assayed in singlicate.)

Medians and 95th percentiles are tabulated below. Percentiles were determined nonparametrically.

Group	Median	95%ile	Units	n
Males	0.14	0.42	ng/mL	425

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Serum PSA concentrations should not be interpreted as absolute evidence for the presence or absence of malignant disease.⁹

Prediction of malignant prostatic disease recurrence should be based on a complete clinical evaluation of the patient, which may also include serial serum PSA determinations.

Samples should be obtained before biopsy, prostatectomy or prostatic massage.¹⁰

PSA expression may be altered due to hormonal therapy for prostate cancer. Consequently, a low PSA result following a prostatic cancer treatment which includes hormonal therapy may not adequately reflect the presence of residual or recurrent disease.¹³

The accuracy of free PSA assays cannot be evaluated by determining the recovery of free PSA spiked into serum samples, because the formation of complexes between free PSA and the PSA-binding proteins present in normal sera (α_1 -antichymotrypsin and α_2 -macroglobulin) will generally cause erroneously low recoveries.

Some individuals have antibodies to mouse protein which can cause interference in immunoassays that employ antibodies derived from mice. Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy, in particular, may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). These specimens may show erroneous results in such assays.⁶⁻⁸ Therefore, IMMULITE 2000 Free PSA results should be used only in conjunction with results from some other diagnostic procedure and information available from the clinical evaluation of the patient.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Reportable Range: 0.07 to 25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Analytical Sensitivity: Limit of Blank (highest value expected for a sample with no analyte; calculated as the value lying two standard deviations above that of the lowest calibration): 0.02 ng/mL

Limit of Detection (lowest detectable concentration; determined in accordance with CLSI EP17-A²⁵): 0.07 ng/mL

Functional Sensitivity: (concentration with 20% coefficient of variation (CV) determined in accordance with CLSI EP17-A²⁵): 0.07 ng/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 15,118 ng/mL

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Specificity: IMMULITE 2000 Free PSA is highly specific for prostate-specific antigen, with a particularly low crossreactivity to other naturally occurring compounds that might be present in patient samples. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Biotin: Specimens that contain biotin at a concentration of 3500 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 μ L/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 15 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. All samples were assayed by the IMMULITE 2000 Free PSA procedure. By linear regression:

(Heparin) = 1.04 (Serum) – 0.19 ng/mL
 $r = 0.997$

(EDTA) = 1.03 (Serum) – 0.19 ng/mL
 $r = 0.998$

(SST) = 1.08 (Plain Tubes) – 0.28 ng/mL
 $r = 0.99$

Means:

37 ng/mL (Heparin)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Serum)

Method Comparison: The assay was compared to IMMULITE Free PSA on 184 samples. (Concentration range: approximately 0.07 to 25 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (IML) – 0.08 ng/mL
 $r = 0.998$

Means:

2.37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2.35 ng/mL (IMMULITE)

References

- 1) Chu TM, et al. Circulating antibody to prostate antigen in patients with prostatic cancer. *Ann NY Acad Sci* 1983;417: 383-9.
- 2) Lilja H, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with α_1 -antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991;37: 1618-24.
- 3) Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. *Eur J Biochem* 1990;199:755-63.
- 4) Zhou AM, et al. Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem* 1993;39:2483-91.
- 5) Jacobs DS, Grady HD, editors. *Laboratory Test Handbook*. 4th ed. Hudson (Cleveland): Lexi-Comp Inc., 1996; 193.
- 6) Primus FJ, et al. "Sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen in patients receiving murine antibody for diagnosis and therapy. *Clin Chem* 1988;34:261-4.
- 7) Hansen HJ, et al. Solving the problem of antibody interference in commercial "sandwich"-type immunoassay of carcinoembryonic antigen. *Clin Chem* 1989;35:146-51.
- 8) Schroff RJ, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-85.
- 9) Kuriyama M, et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. *Cancer Res* 1980;40:4658-62.
- 10) Stamey TA, Yang N, et al. Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987;317:909-16.
- 11) National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard*. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.
- 12) Sensabaugh GF, Crim D. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 1978;23:106-15.
- 13) Morgan WR et al. Prostate specific antigen values after radical retropubic prostatectomy for adenocarcinoma of the prostate: impact of adjuvant treatment (hormonal and radiation). *J Urol* 1991;145:319-23.
- 14) Wolff JM, Stocker G, Borchers H, Haubeck H, Greiling H, Jakse G. Critical aspects related to the interpretation of the free-to-total PSA-ratio. *Anticancer Res* 1999;19:2633-6.
- 15) Patel D, White PA, Milford Ward A. A comparison of six commercial assays for total and free prostate specific antigen (PSA): the predictive value of the ratio of free to total PSA. *BJU Int* 2000;85:686-9.
- 16) Correale M, Pagliarulo A, Donatuti G, Sturda F, Capobianco AM, Stigliani V, et al. Preliminary clinical evaluation of free/total PSA ratio by the IMMULITE system. *Int J Biol Markers* 1996;11:24-8.
- 17) Wymenga LF, Duisterwinkel FJ, Groenier K, Visser-van Brummen P, Marrink J, Mensink HJ. Clinical implications of free-to-total immunoreactive prostate-specific antigen ratios. *Scand J Urol Nephrol* 2000;34:181-7.
- 18) McArdle PA, Pollock MA, Wallace AM, McMillan DC, Crooks JE, Underwood MA. Comparison of total, complexed and free prostate-specific antigens and their ratios in the detection of prostate cancer in a non-screened population. *Ann Clin Biochem* 2004;41:201-6.
- 19) Martinez-Pineiro L, Garcia Mediero JM, Gonzalez Gancedo P, Tabernero A, Lozano D, et al. Probability of prostate cancer as a function of the percentage of free prostate-specific antigen in patients with a non-suspicious rectal examination and total prostate-specific antigen of 4-10 ng/ml. *World J Urol* 2004;22:124-31.
- 20) Wesseling S, Stephan C, Semjonow A, Lein M, Brux B, Sinha P, et al. Determination of non-alpha1-antichymotrypsin-complexed prostate-specific antigen as an indirect measurement of free prostate-specific antigen: analytical performance and diagnostic accuracy. *Clin Chem* 2003;49:887-94.
- 21) Stephan C, Lein M, Jung K, Schnorr D, Loening SA. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. *Cancer* 1997 Jan;79:104-9.
- 22) Stamey TA, Yemoto CE. Examination of the 3 molecular forms of serum prostate specific antigen for distinguishing negative from positive biopsy: relationship to transition zone volume. *J Urol* 2000;163:119-26.
- 23) Wolff JM, Borchers H, Rohde D, Jakse G. Age related changes of free and total prostate specific antigen in serum. *Anticancer Res* 1999;19:2629-32.
- 24) Stephan C, Cammann H, Semjonow A, Diamandis EP, Wymenga LF, Lein M, et al. Multicenter evaluation of an artificial neural network to increase the prostate cancer detection rate and reduce unnecessary biopsies. *Clin Chem* 2002;48:1279-87.
- 25) CLSI. *Protocols for the Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. CLSI document EP17-A Vol 24 (No 34). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004.
- 26) Centers for Disease Control. *Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings*. *MMWR*, 1988;37:377-82, 387-8.
- 27) Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- 28) NCCLS Document M29-A3. 28) Federal Occupational Safety and Health Administration, *Bloodborne Pathogens Standard*, 29 CFR 1910.1030.
- 29) Woodrum D, French C, Shamel LB. Stability of free prostate-specific antigen in serum samples under a variety of sample collection and sample storage conditions. *Urology* 1996;48(6A):33-39.
- 30) Woodrum D, York L. Two-year stability of

free and total PSA in frozen serum samples.
Urology 1998;52(2):247-251.

Technical Assistance

Available outside the United States only.
For technical assistance, contact your
National Distributor.

www.siemens.com/diagnostics

The Quality System of
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
is certified to ISO 13485.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.83	0.046	5.5%	0.051	6.1%
2	2.0	0.096	4.8%	0.11	5.5%
3	5.9	0.22	3.7%	0.24	4.1%
4	9.3	0.30	3.2 %	0.31	3.3%
5	21	0.87	4.1%	0.91	4.3%

Specificity

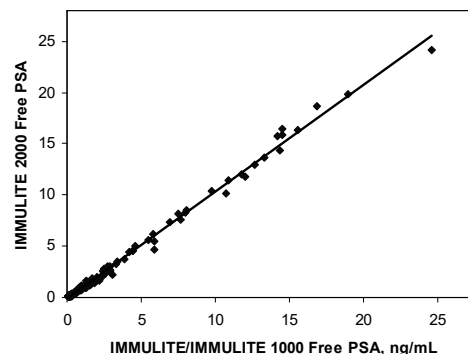
Compound ¹	Amount Added ²	Percent Cross-reactivity ³
AFP	10,000 ng/mL	ND
CEA	100 ng/mL	ND
Ferritin	10,000 ng/mL	ND
HCG	100,000 mIU/mL	ND
Lactalbumin	10,000,000 ng/mL	ND
PAP	1000 ng/mL	ND
Prolactin	200 ng/mL	ND

ND: not detectable⁴

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	4 in 4	0.36	—	—
	2 in 4	0.17	0.18	94%
	1 in 4	0.09	0.09	100%
2	16 in 16 ⁵	2.9	—	—
	8 in 16	1.5	1.5	100%
	4 in 16	0.72	0.73	99%
	2 in 16	0.33	0.36	92%
	1 in 16	0.15	0.18	83%
3	16 in 16	5.1	—	—
	8 in 16	2.6	2.6	100%
	4 in 16	1.3	1.3	100%
	2 in 16	0.61	0.64	95%
	1 in 16	0.29	0.32	91%
4	16 in 16	8.3	—	—
	8 in 16	4.1	4.2	98%
	4 in 16	2.1	2.1	100%
	2 in 16	1.1	1.0	110%
5	16 in 16	13	—	—
	8 in 16	6.4	6.5	99%
	4 in 16	3.2	3.3	97%
	2 in 16	1.6	1.6	100%
	1 in 16	0.81	0.81	100%
6	16 in 16	20	—	—
	8 in 16	9.7	10.0	97%
	4 in 16	5.0	5.0	100%
	2 in 16	2.5	2.5	100%
	1 in 16	1.3	1.3	100%

Method Comparison



$$(IML\ 2000) = 1.04 (IML) - 0.08\ ng/mL$$

$$r = 0.998$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵16 in 16. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** Free PSA.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵16 en 16. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Method Comparison:** Free PSA.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵16 dans 16. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée %, ⁴ND: non détectable. **Method Comparison:** Free PSA.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵16 in 16. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Method Comparison:** Free PSA.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coeficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵16 em 16. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reação cruzada, ⁴ND: não detectável. ³Percentagem de reação cruzada, ⁴ND: não detectável. **Method Comparison:** Free PSA.

Deutsch

Freies PSA - IMMULITE 2000

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE 2000 Systeme — zur quantitativen Messung von freiem, nicht komplexiertem Prostataspezifischem Antigen (PSA) im Serum, (d.h. von nicht an α_1 -Antichymotrypsin oder andere Bindeproteine gebundenem PSA).

Artikelnummern: **L2KPF2** (200 tests)

Testcode: **fPS** Farbe: **hellgrau**

Unterschiede in der jeweiligen Methodik oder der Spezifität der Reagenzien können dazu führen, dass die mit Testsystemen von verschiedenen Herstellern ermittelten Konzentrationen an freies PSA für dieselben Proben nicht einheitlich sind. In den vom Labor an den Arzt gemeldeten Ergebnissen muss das verwendete Testsystem ausgewiesen werden. Die mit verschiedenen freies PSA-Testsystemen erzielten Werte sind nicht austauschbar. Vor dem Umstieg auf ein anderes Testsystem müssen die Basiswerte für die seriell überwachten Patienten vom Labor verifiziert werden.

Klinische Relevanz

Seit dem Beginn der Messungen von Prostataspezifischem Antigen (PSA) durch Immunoassays wurde beobachtet, dass aus dem Serum von Prostatakarzinom (PCa)-patienten mittels Gelfiltration verschiedene PSA-Spezies mit unterschiedlicher Immunreaktivität isoliert werden konnten.¹ Dabei bildet PSA stabile Komplexe mit zwei der wichtigsten extrazellulären Proteaseinhibitoren des Blutes- dem α_1 -Antichymotrypsin (ACT) und α_2 -Makroglobulin (AMG).⁴ Bei Patienten mit Prostatakarzinom ist das ACT-komplexierte PSA die häufigste im Serum auftretende Form; bei 50 % dieser Patienten liegen 85% des gesamten PSA des Serums als ACT-PSA vor. Bei 12–15 % der Prostatakarzinompatienten läßt sich jedoch das freie, d.h. das nichtkomplexierte PSA als dominante Fraktion des Serums nachweisen.²

Biochemische Studien an aus Seminalplasma isoliertem PSA zeigten, daß ca. 35 % des PSA ungebunden vorliegt. Es ist enzymatisch nicht aktiv und reagiert nicht mit Proteaseinhibitoren.³ Heute wird vermutet, daß diese Form entweder ein inaktives Zymogen des PSA oder eine andere enzymatisch inaktive Form repräsentiert.

Die Komplexbildung mit ACT führt zur Präsentation einer begrenzten Zahl von Antigen determinanten auf dem PSA, während diese im Komplex des PSA mit AMG maskiert sind. Die unterschiedliche Detektion dieser multiplen Formen des PSA durch verschiedene Antikörper hat zu

den bekannten Diskrepanzen zwischen den PSA-Assays verschiedener Hersteller geführt.⁴

Für die Messung aller molekularer Formen des PSA stehen immunometrische Nachweismethoden zur Verfügung: einige messen ausschließlich den PSA-ACT-Komplex andere dagegen nur freies PSA. Mit weiteren Tests wird das Gesamt-PSA gemessen; diese Tests erfassen Epitope, die sowohl auf freiem als auch auf komplexiertem PSA präsentiert werden.

Beim Gebrauch von Assays wie diesem, wurde bei unbehandelten PCa-Patienten freies PSA mit einem signifikant kleineren Anteil ($p < 0,0001$) an der Gesamt-PSA Konzentration gemessen als bei Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (BPH).²

Ein substantieller Anteil der Literatur verweist auf den Vorteil freies und Gesamt PSA als prozentuales Verhältnis anzugeben, was die Diskriminierung zwischen PCa und BPH Patienten wesentlich erleichtert. Diese Bestimmungen müssen mit Assays vom selben Hersteller durchgeführt werden.^{14,15} Das Verhältnis freies PSA zu Gesamt-PSA (% freies PSA) wird typischerweise in Prozent angegeben: $100 \times \text{freies PSA} / \text{Gesamt-PSA}$, wobei beide in ng/ml gemessen werden. Der Prozentanteil des freien PSA ist im Durchschnitt niedriger bei PCa als bei BPH und wird gewöhnlicherweise als eine Hilfe in der PCa-Diagnostik genutzt, wenn die Gesamt PSA Konzentration in die sogenannte Grauzone zwischen 4 und 10 ng/ml fällt.¹⁶⁻¹⁹ Während ein niedrigerer cutoff zu weniger falsch-positiven Ergebnissen führen könnte, ist es bei einem höheren Cutoff weniger wahrscheinlich, dass vorliegende Fälle von PCa übersehen werden. Der prozentuale Anteil an freiem PSA wurde auch für den weiteren Konzentrationsbereich 2–20 ng/ml Gesamt-PSA untersucht.^{15,17,18,20}

Der optimale cutoff für den prozentualen Anteil des freien PSA hängt noch von anderen Faktoren ab. Einer davon ist das Prostata- und/oder Randzonen Volumen, das mittels transrektalem Ultraschall gemessen wird.^{21,22} Das Alter ist ein weiterer Faktor: während mit fortschreitendem Alter das freie- und das Gesamt-PSA ansteigen, wird der prozentuale Anteil an freiem PSA

geringer.²³ Komplexe Ansätze, unter Mithilfe artifizieller neuronaler Netzwerke, integrieren die oben genannten und weitere Parameter in die Berechnung, z.B. die Ergebnisse einer digitalen rektalen Untersuchung (DRE). Der Gebrauch eines ANN kann die Diskriminierung zwischen BPH und PCa signifikant verbessern.²⁴

Methodik

Der IMMULITE 2000 Freies PSA ist ein sequentieller Festphasen Chemilumineszenz- Immunometrischer Assay.

Die feste Phase (Kugel) ist mit einem monoklonalen Anti-PSA Antikörper von der Maus beschichtet, der spezifisch für freies (unkomplexiertes) PSA ist. Im ersten Zyklus wird die Patientenprobe mit der Kugel inkubiert. In dieser Zeit bindet das freie PSA in der Patientenprobe an die mit monoklonalen Antikörpern spezifisch für freies PSA beschichtete Kugel. Ungebundenes Serum wird durch einen Zentrifugal-Waschschrift entfernt. Im zweiten Zyklus wird ein polyklonaler Anti-PSA Antikörper von der Ziege zugegeben, der mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiert ist. Dieser bindet an das freie PSA an der Kugel, es bildet sich ein Antikörper-Sandwich-Komplex. Ungebundenes Enzymkonjugat wird anschließend durch einen Zentrifugal-Waschschrift entfernt. Zuletzt wird Chemilumineszenz-Substrat zur Kugel hinzugefügt und das Messsignal wird proportional zum gebundenen Enzym gebildet.

Inkubationszyklen: 2 × 30 Minuten

Zeit zum ersten Ergebnis: 65 Minuten

Probengewinnung

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist

sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Freies PSA sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum

Lagerung: 24 Stunden bei 2–8°C, oder zur längeren Lagerung bei –20°C.^{29,30}

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Ausschließlich *in vitro*-Diagnostik zu verwenden.



VORSICHT! BIOLOGISCHES RISIKOMATERIAL

Enthält Material humanen Ursprungs. Alle Blutspenden oder Blutkomponenten menschlicher Herkunft wurden nach FDA-genehmigten Methoden auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die HI-Viren Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2) sowie von Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) und Antikörpern gegen den Hepatitis C-Virus (HCV) getestet. Die Testergebnisse waren negativ (nicht wiederholt reaktiv). Durch keinen Test kann das Vorhandensein dieser oder anderer infektiöser Stoffe vollständig ausgeschlossen werden. Dieses Material ist mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und gemäß der allgemein anerkannten guten Laborpraxis zu handhaben.²⁶⁻²⁸

VORSICHT: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und ist daher als potenziell infektiös zu behandeln.



**H302 +
H312, H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

Warnung!

Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Hautkontakt. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen. **Enthält:** Natriumazid; Freies PSA - Kalibratoren

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (< 0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Freies PSA Kugel-Container (L2PF12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalen anti-PSA Antikörper (Maus) spezifisch für freies (unkomplexiertes) PSA. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KPF2: 1 Container

Freies PSA - Reagenzbehälter (L2PFA2)

Mit Barcode. 11,5 ml Protein/Puffermatrix mit Konservierungsmittel. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalen anti-PSA Antikörpern (Ziege) in Humanserum Pufferlösung, mit Konservierungsmittel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KPF2: 1 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Freies PSA - Kalibratoren (LPFL, LPFH)

Zwei Fläschchen (Low und High) mit lyophilisiertem freiem PSA, in einer Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KPF2: 1 Set

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)**

Zur on-board Verdünnung von Patientproben. Ein Fläschchen enthält eine (gebrauchsfertig ausgeliefert) nichthumane Protein/ Puffer-Matrix, mit Konservierungsmittel. Nach dem Öffnen 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ebenfalls benötigt

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem Handbuch für IMMULITE 2000 Systeme.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:

2 Wochen

Proben zur Qualitätskontrolle: Jeweils gültige gesetzlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsanforderungen sind bei der Festlegung der Intervalle zur Durchführung der Qualitätskontrollen zu berücksichtigen.

Kontrollen oder Poolseren mit freiem PSA in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Siemens Healthcare Diagnostics empfiehlt die Verwendung von kommerziell verfügbaren Qualitätskontrollen in mindestens 2 Konzentrationen (niedrig und hoch). Der Systembetrieb gilt dann als zufriedenstellend, wenn die Analytwerte innerhalb des für das System zulässigen Kontrollbereichs oder des für die laborinternen Qualitätskontrollverfahren festgelegten zulässigen Bereichs liegen.

Referenzwerte

Entsprechend seinem Verhältnis zum IMMULITE- Free PSA -Testsystem (siehe „Method Comparison“ // „Methodenvergleich“) kann im wesentlichen von denselben Referenzbereichen ausgegangen werden.

Im Rahmen einer europäischen Multicenter-Studie für den IMMULITE freies PSA wurden die Proben gesunder, erwachsener Probanden im Alter von 20 bis 70 Jahren (95 %-tile 22–64 Jahre, Median 40 Jahre) untersucht.

Die aus Frankreich, Deutschland, den Niederlanden und Portugal stammenden Blutproben (Abnahme in Glasröhrchen ohne Zusatz von Antikoagulanzen, Trenngelen oder Gerinnungszusätzen) wurden in einem unabhängigen Labor in den Niederlanden in Einzelbestimmungen untersucht. (Die Proben wurden in einfache Röhrchen ohne Anti-koagulanzen, Geltrennung oder gerinnungsfördernde Zusätze gesammelt und in Einfachbestimmung gemessen.)

Der Medianwert sowie die 95 % Perzentile sind unten aufgeführt. Die Perzentile wurden nonparametrisch bestimmt.

Patienten- kollektiv	Median	95%tile	Einheit	n
Männer	0,14	0,42	ng/ml	425

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Die Serum-Konzentration des PSA sollte nicht als alleiniges diagnostisches Kriterium für das Vorliegen einer malignen Erkrankung interpretiert werden.⁹

Aussagen zur Rezidivierung einer malignen Erkrankung der Prostata sollten sich stets auf alle verfügbaren klinischen Daten des Patienten einschließlich Verlaufsuntersuchungen der Serumkonzentration des PSA stützen.

Die Proben sollten vor einer rektalen Untersuchung, Biopsie, Prostatektomie oder Massage der Prostata entnommen werden.¹⁰

Die Freisetzung von PSA kann unter dem Einfluss einer Hormontherapie des Prostatakarzinoms schwanken.

Möglicherweise reflektiert ein niedriger PSA-Wert nach Behandlung des Prostata-CA und hormoneller Therapie eventuell vorhandenes Restgewebe oder ein Rezidiv nicht völlig korrekt.¹³

Wegen der Komplexbildung von freiem PSA mit den in einer normalen Probe vorhanden PSA-bindenden Proteinen (α_1 -Antichymotrypsin und α_2 -Makroglobulin), kann die Richtigkeit des freien PSA Assays kann nicht durch die Bestimmung der Wiederfindung einer angereicherten Patientenrobe erfolgen, da hierbei generell falsch erniedrigte Wiederfindungsraten zu erwarten sind.

Seren von Patienten mit Antikörpern gegen Maus-Proteine können in Immunoassays, die Antikörper von der Maus enthalten, Interferenzen zeigen. Dies gilt besonders für Patienten, die mit monoklonalen Maus-Antikörpern während Diagnose oder Therapie behandelt wurden und dadurch sog. HAMA's (Humane-Anti-Maus-Antikörper) entwickelt haben. Hierdurch können die Resultate des jeweiligen Assays verfälscht werden.⁶⁻⁸

Deaher sollten die mit dem IMMULITE 2000 gemessenen Konzentrationen an freiem PSA ausschließlich in Verbindung mit den Ergebnissen ander diagnostischer Parameter und allen verfügbaren klinischen Informationen verwendet werden.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (*Clin Chem* 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen

Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit repräsentativen Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 0,07–25 ng/ml
(WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Analytische Sensitivität: Analytische Sensitivität (entspricht der höchsten zu erwartenden Konzentration für analytfreie Proben; wird als die Konzentration berechnet, die zwei Standardabweichungen über der der niedrigsten Kalibration liegt): 0,02 ng/ml

Untere Nachweisgrenze (niedrigste nachweisbare Konzentration; Bestimmung gemäß CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/ml

Funktionelle Sensitivität: (Konzentration mit einem Variationskoeffizient von 20 %, Bestimmung gemäß CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/ml

High High-Dose-Hook-Effect:
Bis 15 118 ng/ml keiner

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen; siehe Tabelle „Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Spezifität: Der IMMULITE 2000 Freies PSA-Assay ist hochspezifisch für PSA mit vernachlässigbar niedriger Kreuzreaktivität zu anderen, im Serum vorkommenden natürlichen Substanzen. (Siehe Tabelle „Specificity“.)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Biotin: Proben, die Biotin in einer Konzentration von 3500 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays

Alternativer Probentyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 15 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Alle Proben wurden im IMMULITE 2000 Assay für Freies PSA gemessen. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 1,04 (Serum) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Serum) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (einfachen Röhrchen) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Mittelwerte:
37 ng/ml (Heparin)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Serum)

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 184 Patientenproben mit dem IMMULITE Freies PSA Assay verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,07–25 ng/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Mittelwert:
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre Niederlassung.

www.siemens.com/diagnostics

Das Qualitätsmanagement-System der Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. ist zertifiziert nach DIN EN ISO 13485.

Español

IMMULITE 2000 PSA Libre

Utilidad del análisis: Para el uso diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa del antígeno prostático específico libre, no complejo (PSA), es decir el PSA no unido a α_1 -antitripsina u otras proteínas transportadoras, en suero.

Referencia: **L2KPF2** (200 tests)

Código del Test: **fPS**

Código de Color: **Gris Claro**

La concentración de PSA Libre para un espécimen determinado con diferentes ensayos puede variar debido a las diferencias en el método de ensayo y a la especificidad de los reactivos. Los resultados emitidos por un laboratorio deben incluir la identidad del ensayo utilizado. Los valores de PSA obtenidos con diferentes ensayos no son intercambiables. Antes de cambiar de método, el laboratorio debe confirmar los valores de los pacientes que se están monitorizando seriamente.

Resumen y Explicación del Test

Desde la introducción de determinaciones por inmunoensayo del antígeno específico de próstata (PSA), se ha observado la existencia de varias formas inmunoreactivas en el suero de pacientes con cáncer de próstata (PCa) mediante cromatografía¹. Se ha demostrado que el PSA forma complejos estables con dos de los principales inhibidores de las proteasas extracelulares en la sangre, α_1 -antitripsina (ACT) y α_2 -macroglobulina (AMG)⁴. En pacientes con cáncer prostático, el PSA unido a ACT (PSA-ACT) es generalmente la principal forma de PSA circulante: aproximadamente en un 50% de estos pacientes, PSA-ACT es el 85% del PSA total. Entre el 12 y el 15% de los pacientes con cáncer prostático, por otro

lado, tiene al PSA Libre como forma predominante².

Estudios bioquímicos del PSA aislado a partir de plasma seminal demuestran que aproximadamente el 35% del PSA está en forma libre, siendo enzimáticamente inactivo y sin reaccionar con los inhibidores de proteasas³. De acuerdo con las hipótesis actuales, esta forma de la molécula representa o bien un cimógeno inactivo del PSA o una forma enzimáticamente inactiva o incompleta.

La formación de complejos con ACT tiene como resultado la exposición de un número limitado de epitopes antígenicos de PSA, mientras que el complejo con AMG encapsula todos los epitopes antígenicos del PSA. Las diferencias en el reconocimiento de estas múltiples formas de PSA por los anticuerpos de los reactivos contribuyen a las discrepancias entre los diferentes ensayos comerciales de PSA⁴.

Los ensayos inmunométricos han sido, en la actualidad, diseñados para caracterizar selectivamente todas las formas moleculares de PSA circulante: algunos detectan sólo PSA-ACT, otros sólo PSA Libre, y algunos se consideran PSA total ya que detectan epitopes de PSA disponibles tanto en el PSA Libre como en el PSA unido a ACT.

Utilizando ensayos como este, se observó que pacientes con carcinoma prostático (PCa) no tratado tenían una concentración significativamente más pequeña ($p < 0,0001$) de la fracción de PSA total que los pacientes con hiperplasia benigna de próstata (BPH)².

Una cantidad sustancial de la bibliografía indica el beneficio de combinar el PSA libre y total en forma de ratio, puesto que facilita la discriminación entre carcinoma prostático e hiperplasia benigna de próstata. Estas determinaciones deben realizarse con ensayos desarrollados por el mismo fabricante^{14,15}. El ratio libre / total (% PSA libre) típicamente se expresa como porcentaje: $100 \times \text{PSA libre} / \text{PSA total}$, con ambas mediciones en ng/ml. El % de PSA libre es, de promedio, más bajo en carcinoma prostático que en BPH y se ha usado comúnmente como ayuda en la diagnosis de carcinoma prostático cuando la concentración de PSA total se encuentra en la 'zona gris', es decir, entre

4 y 10 ng/ml¹⁶⁻¹⁹. Mientras utilizar un punto de corte más bajo supondría obtener menos resultados falsos positivos, un punto de corte mayor conlleva una menor probabilidad de no detectar casos reales de carcinoma prostático. El % PSA libre también ha sido investigado a lo largo del amplio rango de concentración del PSA total de 2,0 a 20 ng/ml^{15,17,18,20}.

El % óptimo del punto de corte de PSA libre depende también de otros factores, uno de ellos es la volumen de la próstata y/o de la zona de transición medida mediante ecografía de ultrasonido transrectal (TRUS)^{21,22}. La edad es otro factor: mientras PSA libre y total aumentan con la edad, el % de PSA libre disminuye²³. Aproximaciones más complejas utilizando redes neurales artificiales (ANNs) tienen en cuenta estos y otros parámetros, por ejemplo, los resultados de un tacto rectal (DRE). Utilizando una ANN se puede mejorar significativamente la discriminación entre BPH y carcinoma prostático²⁴.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 PSA Libre es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente secuencial en fase sólida.

La fase sólida (bola) está recubierta con un anticuerpo monoclonal de ratón frete a PSA específico para PSA libre (no complejo). La muestra del paciente es incubada con la bola durante el primer ciclo en el cual el PSA libre presente en la muestra se une al anticuerpo monoclonal específico frente a PSA libre que recubre la bola. El suero no unido es eliminado mediante lavado y centrifugación. El anticuerpo policlonal de cabra anti-PSA conjugado con fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) del reactivo es añadido en el segundo ciclo y se une al PSA libre de la bola para formar un complejo de anticuerpos tipo sandwich. El conjugado enzimático no unido es entonces eliminado mediante lavado y centrifugación. Finalmente, es añadido el sustrato quimioluminiscente a la bola y la señal es generada de manera proporcional a la cantidad de enzima unida.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos

Tiempo hasta el primer resultado:
65 minutos

Recogida de la muestra

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El PSA Libre IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Volumen de Muestra: 25 µl de suero

Conservación: 2–8°C durante 24 horas o para almacenar por períodos más prolongados a –20°C^{29,30}.

Advertencias y Precauciones

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.



¡PRECAUCIÓN! RIESGO BIOLÓGICO POTENCIAL

Contiene material de origen humano. Cada donación de sangre humana o componente sanguíneo ha sido probada por métodos aprobados por la FDA con el fin de detectar la presencia de anticuerpos de los virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), así como el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y el anticuerpo frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los resultados de estas pruebas fueron negativos (no repetidamente reactivos). Ninguna prueba ofrece total garantía de que en las muestras no haya estos agentes infecciosos u otros; por tanto, este material se deberá manipular conforme a las prácticas recomendables de laboratorio y las precauciones universales²⁶⁻²⁸.

PRECAUCIÓN: Este dispositivo contiene material de origen animal y debería manipularse como potencial portador y transmisor de enfermedades.



**H302 +
H312, H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

¡Advertencia! Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Evitar su liberación al medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales. **Contiene:** azida de sodio; Ajustadores de PSA Libre

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Seguir las precauciones universales y manipular todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sódica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Substrato quimioluminiscente: Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de PSA Libre (L2PF12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-PSA específico para PSA libre (no acomplexada). Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KPF2: 1 cartucho

Vial de Reactivo de PSA Libre (L2PFA2)

Con códigos de barras. 11,5 ml de una solución tampón de proteína en una matriz, con conservante. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada con un anticuerpo policlonal de cabra anti-PSA específico para PSA, en una solución tampón con suero humano y conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KPF2: 1 vial

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de PSA Libre (LPFL, LPFH)

Dos viales (bajo y alto) liofilizados de PSA Libre en una solución tampón, con conservante. Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

L2KPF2: 1 juego

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)

Para la dilución en el equipo de las muestras de pacientes. Un vial de un concentrado listo para su uso de una matriz proteica no humana con conservantes. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2M2Z: 3 etiquetas

L2M2Z4: 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos del Diluyente de la Muestra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Tapones del Tubo del Diluyente de la muestra

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles

Ensayo

Aviso: para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general

según lo definido en el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del Operador de los sistemas IMMULITE 2000 para la preparación, instalación, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:

2 semanas

Muestras de Control de calidad: Seguir las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación para conocer la frecuencia de control de calidad.

Use controles o pools de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de PSA libre (bajo y alto).

Siemens Healthcare Diagnostics recomienda el uso de materiales de control de calidad comercializados con al menos 2 niveles (bajo y alto). Un nivel de funcionamiento satisfactorio se consigue cuando los valores obtenidos del analito están dentro del rango de control aceptable para el sistema, o dentro del rango establecido determinado por un programa adecuado de control de calidad interno de laboratorio.

Valores esperados

Basados en su relación, IMMULITE PSA Libre (vea Método de Comparación), se espera que el ensayo tenga en términos generales los mismos intervalos de referencia.

Se realizó un estudio del intervalo de referencia para el ensayo IMMULITE PSA Libre usando muestras de suero de voluntarios adultos, incluyendo a hombres de aproximadamente 20 a 70 años de edad (95% central: 22–64 años, mediana: 40 años). Basado en un cuestionario, los sujetos se encontraban en aparente buena salud.

Se recogieron muestras de sangre en Francia, Alemania, Holanda y Portugal. Los resultados fueron generados por un laboratorio independiente en Holanda usando los kits IMMULITE. (Las muestras se recolectaron en tubos de vidrio sin anticoagulantes, barreras de gel o promotores de la coagulación, y se analizaron en singlicato.)

Las medianas y los 95° percentiles se tabulan a continuación. Los percentiles se determinaron en forma no paramétrica.

Grupo	Mediana	Percentil	Unidades	n
		95%		
Hombres	0,14	0,42	ng/ml	425

Estos límites han de considerarse sólo como una *guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

Las concentraciones de PSA en suero no deberán interpretarse como una prueba absoluta de la presencia o ausencia de una enfermedad maligna⁹.

La predicción de la repetición de una enfermedad maligna deberá basarse en una completa evaluación clínica del paciente, que también puede incluir determinaciones seriadas de PSA en suero.

Las muestras deberán obtenerse antes de una biopsia, prostatectomía o masaje prostático¹⁰.

La expresión de PSA puede verse alterada por el tratamiento hormonal para el cáncer de próstata. Consecuentemente, la obtención de un resultado bajo de PSA, después de un tratamiento para cáncer prostático que incluye una terapia hormonal, puede no reflejar correctamente la presencia de una enfermedad residual o recurrente¹³.

La precisión de los ensayos de PSA libre no puede evaluarse determinando la recuperación de PSA libre añadida a muestras de suero, debido a que la formación de complejos entre la PSA libre y las proteínas que se unen a PSA, que están presentes en el suero normal (α_1 -antiquimiotripsina y α_2 -macroglobulina), generalmente causarán recuperaciones erróneamente bajas.

Algunas personas tienen anticuerpos contra proteínas de ratón que puede interferir en los inmunoensayos que emplean anticuerpos derivados de ratones. En particular, las muestras de los pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o tratamiento, pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón

(HAMA). Estas muestras pueden mostrar resultados erróneos en dichos ensayos⁶⁻⁸. Por ello, los resultados obtenidos con IMMULITE 2000 PSA Libre sólo deberán usarse en conjunto con los resultados de otros procedimientos de diagnóstico y con la información disponible de la evaluación clínica del paciente.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis *in vitro*. [Ver Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

Rango informable: 0,07–25 ng/ml (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilidad analítica: Límite de blanco (valor esperado más alto para una muestra sin analito; calculado como el valor que se encuentra dos desviaciones estándar por encima del valor de calibración más bajo): 0,02 ng/ml

Límite de Detección (concentración mínima detectable; determinado de acuerdo con el documento CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/ml

Sensibilidad Funcional: (concentración con un coeficiente de variación (CV) del 20%, determinada de acuerdo con el documento CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/ml

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 15 118 ng/ml

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla "Precision".)

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos.)

Especificidad: IMMULITE 2000 PSA Libre son muy específicos para PSA Libre, con muy baja reactividad cruzada con otras sustancias naturales que puedan estar presentes en las muestras de los pacientes. (Véase la tabla "Specificity".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Biotina: Las muestras que contienen biotina en una concentración de 3500 ng/ml han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 15 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST de Becton Dickinson. Todas las muestras se analizaron mediante el procedimiento PSA Libre IMMULITE 2000. Por regresión lineal:

(Heparina) = 1,04 (Suero) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Suero) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubos simples) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Medias:
37 ng/ml (Heparina)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Suero)

Comparación de los métodos:

El ensayo se ha comparado con el IMMULITE PSA Libre en 184 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,07 a 25 ng/ml. Véase el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Medias:
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

www.siemens.com/diagnostics

El Sistema de Calidad de Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está certificado por la ISO 13485.

Français

PSA libre

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la fraction libre, non complexée de l'antigène spécifique prostatique (PSA), c'est à dire de la fraction du PSA non lié à l' α_1 -antichymotrypsine ou à d'autres protéines du sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les Analyseurs des systèmes IMMULITE 2000.

Référence catalogue : **L2KPF2** (200 tests)

Code produit : **fPS**

Code couleur : **gris clair**

Ce réactif est enregistré auprès de l'AFSSAPS.

Pour un échantillon donné, la concentration d'antigène PSA mesuré avec les dosages provenant de différents fabricants peut varier en fonction des méthodes utilisées et de la spécificité des réactifs. Les résultats transmis par le laboratoire au médecin doivent impérativement mentionner la méthode de dosage utilisée. Les valeurs obtenues avec différentes méthodes de dosage de PSA ne sont pas interchangeables. Avant de changer de technique, le laboratoire doit impérativement confirmer les valeurs obtenues avec la technique précédente pour les patients suivis régulièrement.

Introduction

Depuis l'introduction des dosages de l'antigène spécifique prostatique (PSA) en immunoanalyse, il a été rapporté que différentes formes immunoréactives pouvaient être isolées du sérum de patients atteints d'un cancer de la prostate par des méthodes de chromatographie.¹ Le PSA forme en effet des complexes stables avec deux des principaux inhibiteurs des protéases du sang : l' α_1 -antichymotrypsine (ACT) et l' α_2 -macroglobuline (AMG).⁴ Dans le cancer de la prostate le PSA fixé à l'ACT (PSA-ACT) est en général la principale forme circulatoire : pour environ 50 % de ces patients, la forme PSA-ACT représente 85 % du PSA total présent. Pour environ 12 à 15 % de patients atteints de ce type de cancer, à l'inverse, la forme libre est la forme de PSA prédominante.²

Des études biochimiques menées à partir de plasma séminal montrent qu'environ 35 % du PSA est sous forme libre, enzymatiquement inactif et ne réagissant pas avec les inhibiteurs des protéases.³ En accord avec les hypothèses actuelles, cette forme de la molécule représente soit une proenzyme inactive du PSA ou une forme enzymatiquement inactive.

La formation du complexe PSA-ACT laisse un nombre limité de sites antigéniques du PSA accessibles aux anticorps, ce n'est pas le cas dans le complexe PSA-AMG où l'ensemble des sites antigéniques est inaccessible. Les différentes formes de PSA n'étant pas non

plus reconnues de manière identique par toutes les méthodes de dosage actuelles, ceci explique la variabilité des résultats.⁴

Les dosages immunométriques sont aujourd'hui conçus pour caractériser sélectivement toutes les formes circulatoires du PSA ; les uns détectent seulement le PSA lié à l' α_1 -antichymotrypsine, les autres juste le PSA libre et enfin certains le PSA total, (c'est-à-dire les épitopes disponibles à la fois sur les molécules de PSA libre et sur celles de PSA complexées aux inhibiteurs des protéases).

L'utilisation de dosages tels que ceux-ci a démontré que le PSA libre représente une fraction significativement ($p < 0,0001$) plus faible de la concentration de PSA total chez les patients atteints d'un cancer de la prostate et non traité que chez les patients avec une hypertrophie bénigne prostatique (HBP).²

Des données substantielles de la littérature indiquent le bénéfice de combiner le PSA libre et le PSA total sous forme de ratio, facilitant ainsi la différenciation entre un cancer de la prostate et une HBP. Ces déterminations doivent être réalisées en utilisant les dosages développés par le même fabricant.^{14,15} Ce ratio PSA libre sur total (% PSA libre) est exprimé en pourcentage: $100 \times \text{PSA libre} / \text{PSA total}$, chaque composant étant mesuré en ng/ml. Le pourcentage de PSA libre est, en moyenne, plus bas dans les cas de cancer de la prostate que lors d'une HBP et a été communément utilisé comme une aide au diagnostic du cancer de la prostate lorsque la concentration en PSA total est dans la "zone grise", c'est à dire entre 4 et 10 ng/ml.¹⁶⁻¹⁹ Alors qu'un seuil plus bas pourrait conduire à moins de résultats faussement positifs, avec un seuil plus élevé il est moins probable de ne pas détecter un réel cas de cancer de la prostate. Le pourcentage de PSA libre a également été étudié sur un plus large domaine de concentration du PSA de 2 à 20 ng/ml.^{15,17,18,20}

Le seuil optimal pour le pourcentage de PSA libre dépend également d'autres facteurs, l'un d'entre eux est la mesure du volume total de la prostate et/ou du volume de la zone de transition par échographie transrectale (TRUS).^{21,22}

L'âge est un autre de ces facteurs: alors que le PSA libre et le PSA total augmentent avec l'âge, le pourcentage de PSA libre diminue.²³ Des approches plus complexes utilisant les Réseaux Neuronaux Artificiels (ANNs) prennent ces paramètres ainsi que d'autres en compte, comme par exemple, les résultats du toucher rectal (TR). L'utilisation du Réseau Neuronal Artificiel (ANNs) peut améliorer de manière significative la différenciation entre une HBP et un cancer de la prostate.²⁴

Principe Du Test

Le test IMMULITE 2000 PSA libre est un dosage immunométrique séquentiel chimiluminescent en phase solide.

La phase solide (bille) est revêtue d'anticorps monoclonaux murins anti-PSA, spécifiques du PSA libre (non complexé). L'échantillon du patient est incubé avec la bille lors du premier cycle au cours duquel le PSA libre contenu dans l'échantillon se lie à la bille revêtue d'anticorps monoclonaux de chèvre spécifiques du PSA libre. Le sérum non lié est alors éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Le réactif contenant des anticorps polyclonaux de chèvre anti-PSA conjugués à la phosphatase alcaline (intestins de veau) est introduit lors du second cycle et se lie au PSA libre de la bille pour former un complexe anticorps-sandwich. Le conjugué enzymatique non lié est ensuite éliminé par lavage avec centrifugation axiale. Enfin, le substrat chimiluminescent est ajouté à la bille et le signal généré est proportionnel à l'enzyme liée.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes

Temps de rendu du premier résultat :
65 minutes

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret PSA libre IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire: 25 µl de sérum

Conservation : Stable à 2–8°C pendant 24 heures ou pour une conservation prolongée à –20°C.^{29,30}

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.



AVERTISSEMENT ! RISQUE BIOLOGIQUE POTENTIEL

Contient du matériel d'origine humaine. Chaque don de sang ou de composant sanguin humain a été testé selon des méthodes homologuées par la FDA afin de détecter la présence d'anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2), ainsi que la présence d'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) et d'anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC). Les résultats de ces tests se sont révélés négatifs (ou positifs mais de façon non répétable). Aucun test ne peut garantir totalement l'absence d'agents infectieux tels que ceux-ci ou d'autres. Par conséquent, ce matériel doit être manipulé conformément aux bonnes pratiques de laboratoire et aux précautions universelles.²⁶⁻²⁸

ATTENTION : Ce dispositif contient un matériau d'origine animale et doit être manipulé comme un transporteur et transmetteur potentiels de maladies.



**H302 + H312,
H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

Avertissement ! Nocif en cas d'ingestion ou de contact cutané. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

Contient : azide de sodium ; Ajusteurs PSA libre

Réactifs : conserver les réactifs à 2–8°C. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Materiel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes PSA libre (L2PF12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-PSA spécifique du PSA libre (non lié). Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KPF2 : 1 cartouche

Cartouche à réactif PSA libre (L2PFA2)

Avec code-barres. 11,5 ml d'une matrice tampon/sérum avec un conservateur; 11,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veaux) conjuguée à un anticorps polyclonal de chèvre anti-PSA spécifique du PSA, dans un tampon contenant du sérum humain, avec un conservateur. Stable à 2–8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KPF2 : 1 cartouche

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs PSA libre (LPFL, LPFH)

2 flacons (« haut » et « bas ») de PSA libre lyophilisé dans un tampon avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en imprimant un léger mouvement circulaire ou en retournant délicatement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à 2–8°C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquoté) à –20 °C.

L2KPF2 : 1 jeu

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Pour la dilution à bord des échantillons de patients. Un flacon contenant une matrice concentrée (prête à l'emploi) de tampon / protéines non-humaines avec conservateur. Stockage: 30 jours (après ouverture) à 2–8°C ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

L2M2Z : 25 ml **L2M2Z4** : 55 ml

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 × 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2M2Z : 3 étiquettes

L2M2Z4 : 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000.

Voir le Manuel de l'opérateur des systèmes IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, la dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé :
2 semaines

Echantillons pour le contrôle de qualité : Suivre les réglementations gouvernementales et les exigences relatives aux accréditations en matière de fréquence de contrôle qualité.

Utiliser des Contrôles ou des pools de Echantillons avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de PSA libre.

Siemens Healthcare Diagnostics recommande d'utiliser des échantillons de contrôle de qualité en vente dans le commerce et comprenant au moins 2 niveaux (bas et haut). Un niveau de performance satisfaisant est atteint lorsque les valeurs d'analyte obtenues se situent dans l'intervalle de contrôle acceptable du système ou dans un intervalle déterminé par un schéma de contrôle de qualité approprié interne au laboratoire.

Valeurs de référence

Compte tenu de sa corrélation avec le test IMMULITE PSA Libre (voir « Comparaison de méthodes »), on peut attendre de ce test qu'il ait les mêmes valeurs de référence.

Un étude sur les valeurs de référence a été faite pour l'IMMULITE PSA libre en utilisant des échantillons sériques provenant d'hommes adultes volontaires, âgés de 20 à 70 ans (domaine à 95 % : 22–64 ans, médiane 40 ans). Les sujets étaient considérés comme en bonne santé sur la base d'un questionnaire.

Les échantillons sanguins ont été recueillis en France, Allemagne, Pays-Bas et Portugal. Les dosages ont été faits dans un laboratoire indépendant aux Pays-Bas en utilisant les tests IMMULITE. (Les échantillons ont été recueillis sur des tubes secs en verre, sans anticoagulant, ni gel, ni substance activant la coagulation, et ont été testés en simple.)

Le tableau ci-dessous mentionne les médiane et 95ème percentile. Les percentiles ont été déterminés de manière non-paramétrique.

Groupe	Médiane	95ème percentile	Unités	n
Hommes	0,14	0,42	ng/ml	425

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Les concentrations de PSA sériques ne doivent pas être utilisées pour affirmer la présence ou l'absence de cancer.⁹

Le diagnostic d'une récurrence d'un cancer de la prostate doit être effectué à partir d'une analyse clinique complète du patient, plusieurs dosages du PSA en faisant partie.

Les échantillons de patients doivent être obtenus avant toute biopsie, prostatectomie ou examen rectal.¹⁰

L'expression du PSA peut être modifiée par un traitement hormonal du cancer de la prostate. Par conséquent, une faible concentration de PSA obtenue après un traitement hormonal ne signifie pas obligatoirement la présence de cellules cancéreuses résiduelles ou d'une récurrence.¹³

La précision du test PSA libre ne peut être déterminée en chargeant en PSA libre des échantillons sériques car la formation de complexes entre le PSA libre et les protéines porteuses du PSA présentes dans un sérum normal

(α_1 -antichymotrypsine et α_2 -macroglobuline) amèneront en général à un faible taux de récupération.

Certains individus possèdent des anticorps dirigés contre des protéines murines qui sont susceptibles d'interférer avec les immunodosages qui utilisent des anticorps d'origine murine. Les échantillons provenant de patients à qui l'on a administré des préparations d'anticorps monoclonaux de souris dans un but diagnostique ou thérapeutique, en particulier, sont susceptibles de renfermer des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent donner des résultats erronés avec les dosages précédemment décrits.⁶⁻⁸ Dans ce cas, les résultats du test Immulite 2000 PSA libre doivent être utilisés conjointement avec les résultats d'autres méthodes diagnostiques et interprétés avec les informations cliniques concernant le patient.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a

problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : 0,07–25 ng/ml (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilité analytique : Limite du blanc (valeur attendue la plus élevée pour un échantillon sans analyte ; calculée pour être la valeur située deux écarts types au-dessus de celui de la calibration la plus basse) : 0,02 ng/ml

Limite de détection (correspond à la plus basse concentration détectable, établie conformément au protocole CLSI EP17-A²⁵) : 0,07 ng/ml

Sensibilité fonctionnelle : (concentration ayant un coefficient de variation (CV) de 20 %, établie conformément au protocole CLSI EP17-A²⁵) : 0,07 ng/ml

Effet-Crochet aux doses élevées : aucune jusqu'à 15 118 ng/ml

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicata sur une période de 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 valeurs au total. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : les échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Spécificité : Les anticorps utilisés dans la trousse IMMULITE 2000 PSA libre sont hautement spécifiques de l'antigène spécifique à la prostate et présentent une très faible réactivité croisée avec d'autres composants qui pourraient être naturellement présents dans l'échantillon du patient. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Biotine : Les échantillons contenant de la biotine à une concentration de 3500 ng/ml présentent un changement de résultats inférieur ou égal à 10 %.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons : pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 15 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainer SST Becton Dickinson. Tous les échantillons ont été dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 PSA Libre. Par régression linéaire:

(Hépariné) = 1,04 (Sérum) – 0,19 ng/ml
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Sérum) – 0,19 ng/ml
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubes ordinaires) – 0,28 ng/ml
r = 0,99

Moyennes :
37 ng/ml (Hépariné)
37 ng/ml (EDTA)
38 ng/ml (SST)
36 ng/ml (Sérum)

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE PSA Libre sur 184 échantillons. (Intervalle de concentrations : 0,07 à 25 ng/ml environ. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/ml
r = 0,998

Moyennes :
2,37 ng/ml (IMMULITE 2000)
2,35 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national.

www.siemens.com/diagnostics

Le Système Qualité de
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
est certifié ISO 13485.

Italiano

PSA Libero

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con i Sistemi IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa nel siero dell'antigene prostatico specifico libero non-complessato (PSA), p.e. il PSA non legato all' α_1 -antichimotripsina o ad altre proteine leganti.

Codice: **L2KPF2** (200 test)

Codice del Test: **fPS**

Colore: **grigio chiaro**

La concentrazione di PSA libero in un dato campione determinata con dosaggi di produttori diversi può variare a causa delle differenze nei dosaggi e nella specificità del reagente. I risultati comunicati dal laboratorio al medico devono includere le caratteristiche del dosaggio utilizzato. I valori ottenuti con dosaggi diversi di PSA libero non possono essere interscambiati. Prima di cambiare da un dosaggio all'altro, il laboratorio deve confermare i valori di base per i pazienti monitorati serialmente.

Riassunto e Spiegazione del Test

Dall'avvio delle misurazioni dell'antigene prostatico specifico (PSA) attraverso immunodosaggi, è stato rilevato che possono essere isolate dal siero di pazienti con cancro della prostata (PCa) diverse specie immunoreattive a seguito di cromatografia a setaccio.¹ E' stato dimostrato che il PSA forma complessi stabili nel sangue con due dei maggiori inibitori della proteasi extracellulare, l' α_1 -antichimotripsina (ACT) e l' α_2 -macroglobulina (AMG).⁴ In pazienti affetti da cancro della prostata, il PSA

complessato con l'ACT (PSA-ACT) è tipicamente la forma prevalente in circolo: per circa il 50% di questi pazienti, il PSA-ACT costituisce circa l'85% del PSA totale presente. Circa il 12–15% dei pazienti affetti da cancro della prostata, d'altra parte, presenta il PSA libero (non complessato) quale forma predominante.²

Studi biochimici del PSA isolato da plasma seminale mostrano che circa il 35% del PSA è libero, enzimaticamente inattivo e non reattivo con gli inibitori della proteasi.³ Secondo le ipotesi correnti, questa forma della molecola rappresenta sia uno zimogeno inattivo del PSA che una forma nascosta o enzimaticamente inattiva.

La formazione del complesso con l'ACT comporta l'esposizione di un numero limitato degli epitopi dell'antigene del PSA, mentre la formazione del complesso con AMG incapsula gli epitopi antigenici del PSA. Le differenze nell'identificazione di queste forme multiple di PSA attraverso reagenti anticorpi ha contribuito alle discrepanze tra i dosaggi di PSA presenti in commercio.⁴

I dosaggi immunometrici sono stati concepiti per caratterizzare tutte le forme molecolari di PSA in circolo: alcune individuano solo il PSA-ACT, altre solo il PSA libero, e altre ancora sono considerate dosaggi per il PSA totale, riuscendo ad individuare e legare gli epitopi del PSA sia nella forma libera (non complessata) che nella forma complessata.

Usando tali dosaggi del genere, si è rilevato che il PSA libero comprende una porzione significativamente più piccola ($p < 0,0001$) della concentrazione di PSA totale nei pazienti con un PCa non trattato rispetto a pazienti con un'ipertrofia prostatica benigna (BPH).²

Gran parte della letteratura indica i benefici derivanti dalla combinazione di PSA libero e totale sotto forma di un rapporto, che facilita la discriminazione tra il PCa e il BPH. Queste determinazioni si possono realizzare attraverso dosaggi elaborati dallo stesso produttore.^{14,15} Il rapporto libero- totale (%PSA libero) è tipicamente espresso in percentuale: $100 \times \text{PSA libero} / \text{PSA totale}$, entrambi misurati in ng/mL. Il PSA libero % è, nella media, più basso nel PCa che nel BPH e solitamente viene usato quale ausilio nella

diagnosi del PCa quando la concentrazione di PSA totale rientra nella "zona grigia," cioè, tra 4 e 10 ng/mL.^{16–19} Se un cutoff inferiore può dar vita a risultati falsamente positivi, è più difficile che un cutoff superiore perda campioni veri di PCa. Il PSA libero % è stato analizzato anche nel più ampio range di concentrazione di PSA totale di 2,0 a 20 ng/mL.^{15,17,18,20}

Il cutoff ottimale di PSA libero % dipende anche da altri fattori, uno dei quali è la prostata e/o il volume della zona di transizione misurato attraverso l'ultrasuono transrettale (TRUS).^{21,22} Un altro fattore è l'età: se con l'avanzare degli anni aumentano sia il PSA libero che quello totale, il PSA libero % diminuisce.²³ Approcci più complessi che impiegano sistemi neurali artificiali (ANNs) prendono in considerazione questi e altri fattori, ad esempio, i risultati di un esame rettale digitale (DRE). L'uso di un ANN può aumentare significativamente la discriminazione tra BPH e PCa.²⁴

Principio della Procedura

Il dosaggio IMMULITE 2000 PSA Libero è un dosaggio immunometrico sequenziale in chemiluminescenza, in fase solida.

La fase solida (sferetta) è coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-PSA antibody specifico per il PSA libero (senza complesso). Il campione viene incubato con la sferetta durante il primo ciclo, quando il PSA libero nel campione si lega alla sferetta coattata con anticorpo monoclonale PSA libero specifico. Il siero non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. La fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata a un anticorpo policlonale di capra anti-PSA nel reagente viene introdotta nel secondo ciclo e si lega al PSA libero sulla sferetta per formare un complesso. Il coniugato enzimatico non legato è quindi rimosso attraverso un lavaggio a centrifuga. Infine, il substrato chemiluminescente viene aggiunto alla sferetta e viene prodotto un segnale in proporzione all'enzima legato.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti

Tempo al Primo Risultato: 65 minuti

Prelievo del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati posson indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 PSA Libero non é stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 25 µL di siero

Conservazione: Stabile a 2–8°C per 24 ore o per una conservazione prolungata a –20°C.^{29,30}

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro* soltanto.



ATTENZIONE! POTENZIALE PERICOLO BIOLOGICO

Contiene materiale di origine umana. Ciascuna donazione di sangue o componenti ematici umani è stata testata con metodi approvati dalla FDA per rilevare la presenza di anticorpi al virus dell'immunodeficienza umana tipo 1 (HIV-1) e tipo 2 (HIV-2), nonché per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) e gli anticorpi al virus dell'epatite C (HCV). I risultati del test sono stati negativi (non ripetutamente reattivi). Nessun test offre assicurazione completa che questi o altri agenti infettivi siano assenti; questo materiale va trattato utilizzando le corrette prassi di laboratorio e le precauzioni universali.²⁶⁻²⁸

ATTENZIONE: Questo dispositivo contiene sostanze di origine animale e deve essere considerato come potenziale

portatore e trasmettitore di agenti patogeni.



**H302 + H312,
H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

Avvertenza! Nocivo se ingerito o a contatto con la pelle. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali. **Contiene:** sodio azide; Calibratori PSA Libero

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Biglie PSA Libero (L2KPF12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-PSA specifico per il PSA libero (non complessato). Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KPF2: 1 confezione

Porta Reagente PSA Libero (L2PFA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di una matrice/tampone proteica, con conservanti; 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-PSA specifico per il PSA in un tampone contenente siero umano, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KPF2: 1 Porta Reagente

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori PSA Libero (LPFL, LPFH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con PSA libero liofilo in una soluzione/tampone, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KPF2: 1 set

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti Separatamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluizione interna di campioni prelevati da pazienti. Un flacone di tampone proteico non umano concentrato (pronto all'uso) con conservante. Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2–8°C oppure 6 mesi (in aliquote) a –20°C

L2M2Z: 25 mL **L2M2Z4:** 55 mL

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicché i codici a barre possano essere letti dal lettore interno

L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 5 etichette

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per ottenere prestazioni ottimali, è importante effettuare tutte le procedure di manutenzione di routine come definite nel Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale dell'Operatore dei Sistemi IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
2 settimane

Campioni per il Controllo di Qualità:

Per la frequenza del controllo di qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento.

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di PSA Libero.

Siemens Healthcare Diagnostics consiglia l'utilizzo di materiali di controllo della qualità disponibili in commercio con almeno 2 livelli (bassi e alti). Un livello soddisfacente di prestazioni si raggiunge quando i valori dell'analita ottenuti rientrano nei range di accettabilità del Controllo per il sistema o nei range stabiliti all'interno del laboratorio attraverso un programma appropriato di valutazione del controllo di qualità.

I valori attesi

In base al suo rapporto con il dosaggio IMMULITE PSA Libero (vedi Comparazione di Metodi), si può prevedere che il dosaggio abbia essenzialmente gli stessi range di riferimento.

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento IMMULITE PSA Libero utilizzando campioni di siero provenienti da volontari adulti, inclusi uomini dai 20 ai 70 anni di età (valore centrale 95%: 22–64 anni, valore mediano: 40 anni). I pazienti erano in apparente buono stato di salute, sulla base di un questionario.

I campioni di sangue sono stati prelevati in Francia, Germania, Olanda e Portogallo. I risultati sono stati generati da un laboratorio indipendente in Olanda utilizzando i kit IMMULITE. (I campioni sono stati raccolti in provette semplici di vetro senza anticoagulanti, barriere di gel, o additivi che favoriscano la formazione di coaguli e dosati in singolo).

Le mediane ed il 95mo percentile sono stati di seguito tabulati. I percentili sono stati determinati in maniera non parametrica.

Gruppo	Mediana	95%ile	Unità	n
Uomini	0,14	0,42	ng/mL	425

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limitazioni

Le concentrazioni di PSA nel siero non devono essere interpretate come evidenza assoluta della presenza o assenza di una patologia maligna.⁹

La previsione di una recidiva legata ad una patologia prostatica maligna dovrebbe essere basata su una valutazione clinica completa del paziente, che può anche includere determinazioni seriali del PSA nel siero.

I campioni devono essere ottenuti prima della biopsia, della prostatectomia o del massaggio prostatico.¹⁰

L'espressione del PSA può essere alterata a causa della terapia ormonale per il cancro alla prostata. Di conseguenza, è possibile che un risultato basso in seguito al trattamento del cancro prostatico

comprensivo di terapia ormonale non rispecchi idoneamente la presenza della malattia recidiva o residua.¹³

L'accuratezza dei dosaggi del PSA libero non può essere valutata dalla determinazione del recupero del PSA aggiunto ai campioni di siero, poiché generalmente la formazione di complessi tra il PSA libero e le proteine leganti il PSA presenti nel siero normale (α_1 -antichimotripsina ed α_2 -macroglobulina) causa recuperi erroneamente bassi.

Alcuni individui presentano anticorpi anti proteine di topo che potrebbero causare interferenze negli immunodosaggi che impiegano gli anticorpi derivati da topi. I campioni dei pazienti cui sono state somministrate preparazioni di anticorpi monoclonali di topo, per diagnosi o terapia, possono presentare anticorpi umani anti-topo (HAMA). Questi campioni possono produrre risultati errati con questi dosaggi.⁶⁻⁸ Quindi, i risultati del dosaggio IMMULITE 2000 PSA libero devono essere utilizzati solo unitamente ai risultati di altri dosaggi diagnostici ed alle informazioni disponibili dopo la valutazione clinica del paziente.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Riferimento: 0,07–25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilità analitica: Limite Bianco (il valore più alto atteso per un campione non contenente l'analita; calcolato come il valore che si trova due deviazioni standard al di sopra di quello della calibrazione più bassa): 0,02 ng/mL

Limite di rilevazione (concentrazione rilevabile più bassa; determinata secondo CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/mL

Sensibilità funzionale: (concentrazione con coefficiente di variazione (CV) del 20% determinato in conformità a CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate:
Nessuno fino a 15 118 ng/mL

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedere la tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni. (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio IMMULITE 2000 PSA libero è altamente specifico per l'antigene prostatico specifico, con una crossreattività particolarmente bassa vs. altri composti che si trovano naturalmente e che possono essere presenti nei campioni dei pazienti. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Biotina: I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 3500 ng/mL dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%.

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 μ L/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 15 volontari in provette semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST. Tutti i campioni sono stati dosati con il dosaggio IMMULITE 2000 PSA Libero. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 1,04 (Siero) – 0,19 ng/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Siero) – 0,19 ng/mL
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubi semplici) – 0,28 ng/mL
r = 0,99

Valore medio:
37 ng/mL (Eparina)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Siero)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio IMMULITE PSA Libero in 184 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 0,07 a 25 ng/mL circa. Vedere il grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/mL
r = 0,998

Valore Medio:
2,37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,35 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore Nazionale.

www.siemens.com/diagnostics

Il Sistema Qualità della
Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
è certificato ISO 13485.

Português

PSA Livre

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* com os Analisadores dos Sistemas IMMULITE 2000 — para a medida quantitativa do antígeno específico da próstata livre, não complexado (fPSA), ou

seja, não ligado a α_1 -antiquimiotripsina, ou outras proteínas ligadas no soro.

Números de catálogo: **L2KPF2**
(200 testes)

Código do teste: **fPS**

Cor: **Cinzentos claros**

A concentração de PSA livre numa amostra com doseamento de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças em métodos de doseamento e especificidade do reagente. Os resultados apresentados pelo laboratório ao médico devem incluir a identificação do doseamento utilizado. Valores obtidos com diferentes doseamentos de PSA livre não podem ser usados em permutação. Antes de mudar o doseamento, o laboratório deve confirmar os valores de linha base para doentes que estão a ser vigiados ao longo do tempo.

Sumário e explicação do teste

Desde o início do doseamento, por imunoensaio, do antígeno específico prostático (PSA), tem-se observado que distintas formas imunoreactivas puderam ser isoladas do soro de pacientes com carcinoma da próstata (PCa), após cromatografia de diferenciação molecular.¹ O PSA tem apresentado formação de complexos estáveis com dois dos maiores inibidores extra-celulares da protease no sangue, a α_1 -antiquimiotripsina (ACT) e α_2 -macroglobulina (AMG)⁴. Nos pacientes com carcinoma da próstata, o PSA forma complexos com a ACT (PSA-ACT) e é tipicamente a maior forma em circulação: para aproximadamente 50% destes pacientes, a quantidade de PSA-ACT encontra-se perto de 85% do PSA total presente. Por outro lado, em 12–15% dos pacientes com carcinoma da próstata a forma livre do PSA é a forma predominante².

Estudos bioquímicos do PSA isolado do plasma seminal mostram que aproximadamente 35% está livre, tornando-se enzimaticamente inactivo e não reactivo com os inibidores³ da protease. De acordo com as hipóteses correntes, esta forma molecular

representa quer um zimogene inactivo de PSA quer a forma “nicked” ou enzimaticamente inactiva.

A formação de complexo com o ACT resulta na exposição de um número limitado de epítopes antigénicos do PSA, enquanto que a formação de complexo com o AMG encapsula os epítopes antigénicos do PSA. A diferença no reconhecimento destas múltiplas fórmulas de PSA pelos anticorpos reagentes, tem contribuído para as discrepâncias entre os ensaios comerciais de PSA⁴.

Os ensaios imunométricos têm sido desenhados para caracterizar selectivamente todas as formas de PSA em circulação: alguns detectam apenas o PSA-ACT, outros apenas o PSA livre e alguns são formulados para ensaiar o PSA total, detectando os epítopes do PSA disponíveis em ambas as formas PSA Livre (não complexado) e PSA complexado à protease inibidora da serina.

Usando ensaios como estes, foi encontrado PSA livre numa fracção significativamente pequena ($p < 0,0001$) da concentração de PSA total em doentes não tratados com CPa do que em doentes com HBP².

Literatura variada indica a vantagem de combinar as determinações de PSA total e livre na forma de rácio, facilitando a discriminação entre o CP e HBP. Estas determinações devem ser feitas usando ensaios desenvolvidos pelo mesmo fabricante^{14,15}. O rácio livre-total (% PSA livre) é tipicamente expresso como percentagem: $100 \times \text{PSA livre} / \text{PSA total}$, com ambas as unidades em ng/mL. A % de PSA livre é, em média, inferior no CP do que na HBP, e tem sido usado como auxiliar no diagnóstico do CP quando a concentração de PSA total está na zona cinzenta, isto é, entre 4–10 ng/mL^{16–19}. Enquanto que um cut-off baixo pode resultar nalguns resultados falsos positivos, um cut-off alto não é provável falhar no diagnóstico do CPa. A % de PSA livre também tem sido investigada numa zona de concentração de PSA total alargada de 2,0–20 ng/mL^{15,17,18,20}.

A concentração óptima de cut-off de % de PSA livre depende doutros factores também, um dos quais é a próstata e/ou o volume da zona de transição medida por

ecografia transrectal (TRUS)^{21,22}. A idade é outro factor: enquanto ambos os PSA's, total e livre, aumentam com o avanço da idade, a % de PSA livre diminui²³. Estudos mais complexos, empregando redes neurais artificiais (RNAs), têm estes parâmetros e outros em conta, por exp. os resultados de um exame rectal digital (ERD). Usando as RNA pode significativamente aumentar a discriminação entre a HBP e o CPa²⁴.

Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 PSA Livre é um ensaio imunométrico de fase sólida, sequencial, quimioluminescente.

A fase sólida (esfera) é revestida com anticorpo monoclonal murino anti-PSA específico para o PSA livre (não complexado). A amostra do paciente é incubada com a esfera no primeiro ciclo no qual o PSA livre na amostra se liga ao anticorpo monoclonal específico anti PSA livre na esfera revestida. O soro não ligado é removido por lavagem centrífuga. É então introduzida no segundo ciclo, reagente com fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada a anticorpo policlonal de cabra anti-PSA que vai ligar ao PSA livre na esfera de modo a formar um complexo sandwich/anticorpo. A enzima conjugada não ligada é então removida por lavagem centrífuga. Finalmente é adicionado substrato quimioluminescente à esfera obtendo-se um sinal proporcional à enzima ligada.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos

Tempo para o Primeiro Resultado:
65 minutos

Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes

da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 PSA Livre não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de amostra: 25 µL de soro

Estabilidade: Estável 24 horas a 2–8°C ou para armazenamentos mais prolongados a –20°C^{29,30}.

Precauções

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*.



PRECAUÇÃO! POTENCIAL RISCO BIOLÓGICO

Contém material de origem humana. Cada dádiva de sangue ou componente de sangue humano foi testada pelos métodos aprovados pela FDA quanto à presença de anticorpos dos vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e tipo 2 (VIH-2), bem como do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e dos anticorpos do vírus da hepatite C (VHC). Os resultados dos testes foram negativos (não repetidamente reativos). Nenhum teste oferece total garantia de que estes ou outros agentes infecciosos estejam ausentes; este material deve ser manuseado de acordo com as boas práticas laboratoriais e precauções universais²⁶⁻²⁸.

PRECAUÇÃO: Este dispositivo contém material de origem animal e deve ser manuseado como potencial portador e transmissor de doenças.



**H302 + H312,
H412**

**P280, P273,
P301 + P312,
P302 + P312,
P501**

Aviso! Nocivo por ingestão ou contacto com a pele. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Eliminar o conteúdo e o recipiente em conformidade com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.

Contém: azida de sódio;
Ajustes PSA Livre

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

Embalagem de pérolas de PSA Livre (L2PF12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal murino anti-PSA, específico para a forma livre (não complexada) de PSA. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KPF2: 1 embalagem

Embalagem de Reagente de PSA Livre (L2PFA2)

Com código de barras. 11,5 mL de uma matriz proteica tamponizada, com conservante; 11,5 mL de Fosfatase alcalina (de intestino de bezerro bovino) conjugado a anticorpo anti-PSA de cabra policlonal específico para PSA num soro humano tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KPF2: 1 embalagem.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes PSA Livre (LPFL, LPFH)

Dois frascos (nível alto e baixo) de PSA-livre liofilizado numa solução tamponizada com conservante.

Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture por inversão ou movimentos lentos até o material liofilizado dissolver completamente. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KPF2: 1 conjunto

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para diluição no instrumento de amostras de pacientes. Um frasco, de concentrado (pronto a usar) constituído por uma matriz baseada em proteína não humana, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml **L2M2Z4:** 55 ml

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluyente.

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de diluyente da amostra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluyente da amostra

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos

Procedimento de doseamento

Ter em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador dos sistemas IMMULITE 2000 relativamente aos procedimentos de preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas

Amostras de controlo de qualidade:

Observe os regulamentos governamentais ou os requisitos de acreditação quanto à frequência do controlo de qualidade.

Utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de PSA Livre.

A Siemens Healthcare Diagnostics recomenda a utilização de materiais de controlo de qualidade comercialmente disponíveis com pelo menos 2 níveis (baixo e alto). É alcançado um nível de desempenho satisfatório quando os valores dos analitos obtidos estiverem dentro dos Limites de Controlo Aceitáveis para o sistema ou dentro dos limites estabelecidos e determinados pelo regime de controlo de qualidade laboratorial interno adequado.

Valores de Referência

Baseado no seu relacionamento com o Kit IMMULITE PSA Livre (veja Comparação de Métodos), pode-se esperar que os doseamentos tenham essencialmente as mesmas faixas de referência.

UM estudo de referência para o IMMULITE Free PSA foi realizado usando amostras de soro de adultos voluntários, incluindo homens com idades variando aproximadamente dos 20 aos 70 anos (central 95%: 22–64 anos, mediana: 40 anos). Os sujeitos, de aparente boa saúde com base num questionário prévio.

Amostras de sangue foram colhidas em França, Alemanha, Holanda e Portugal. Os resultados foram obtidos num laboratório independente na Holanda usando Kits IMMULITE. (As amostras foram colhidas em tubos lisos de vidro sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação e ensaiados individualmente.

Medianas e percentil de 95 encontram-se tabelados abaixo. Os percentis foram determinados não parametricamente.

Grupo	Mediano	95%ile	Unidades	n
Homens	0,14	0,42	ng/mL	425

Estes valores devem ser considerados apenas como *directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

As concentrações plasmáticas de PSA não devem ser interpretadas como evidência absoluta para a presença ou ausência de doença maligna⁹.

A previsão de recorrência da doença prostática maligna deverá estar baseada numa avaliação clínica completa do doente, que pode também incluir determinações de PSA plasmático seriadas.

As amostras devem ser obtidas antes do exame rectal, biópsia, prostatectomia ou massagem prostática¹⁰.

Os valores de PSA podem ser alterados devido à terapia hormonal para o cancro da próstata. Consequentemente, um resultado de PSA baixo após um tratamento de cancro da próstata que inclui terapia hormonal pode não reflectir adequadamente a presença de doença residual ou recorrente¹³.

A exactidão dos doseamentos de PSA livre não pode ser avaliada com a determinação da recuperação de PSA livre enriquecido nas amostras de soro, devido à formação de complexos entre o PSA livre e as proteínas ligadas por PSA presente nos soros normais (α_1 -antiquimotriplicina e α_2 -macroglobulina) em geral causarão, erroneamente, baixas recuperações.

Alguns indivíduos possuem anticorpos para a proteína do rato que pode causar interferência em imuno-ensaios que empregam anticorpos derivados de ratos. As amostras de doentes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de rato para diagnóstico ou terapia, em particular, podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Essas amostras podem mostrar resultados erróneos em tais doseamentos⁶⁻⁸. Assim os resultados de IMMULITE 2000 Free PSA devem ser usados unicamente em conjunção com os resultados de outro método de diagnóstico e com a informação disponível do exame clínico do doente.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco

de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros aspectos que se possam correlacionar.

Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.

Zona de Trabalho: 0,07–25 ng/mL (WHO NIBSC 1st IS 96/668)

Sensibilidade analítica: Limite de Branco (valor mais alto esperado para uma amostra sem analito; calculado como valor que se encontra dois desvios padrão acima da calibração mais baixa): 0,02 ng/mL

Limite de Detecção (concentração detectável mais baixa; determinado em conformidade com o CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/mL

Sensibilidade funcional: (concentração com coeficiente de variação de 20% (CV) determinado segundo a CLSI EP17-A²⁵): 0,07 ng/mL

Efeito Hook de Alta Dose:

Nenhum até 15 118 ng/mL

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Especificidade: O PSA Livre IMMULITE 2000 é altamente específico para o antígeno específico da próstata (fracção livre), com uma reactividade cruzada particularmente baixa para outros compostos de ocorrência natural que possam estar presentes nas amostras de doentes. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Biotina: As amostras que contenham biotina a uma concentração de 3500 ng/mL demonstram uma alteração igual ou inferior a 10% nos resultados.

Hemolise: A Presença de eritrócitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de triglicerídeos em concentrações até 3000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 15 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vácuo SST da Becton Dickinson. Todas as amostras foram testadas através do procedimento IMMULITE 2000 PSA Livre. Regressão linear:

(Heparina) = 1,04 (Soro) – 0,19 ng/mL
r = 0,997

(EDTA) = 1,03 (Soro) – 0,19 ng/mL
r = 0,998

(SST) = 1,08 (tubos simples) – 0,28 ng/mL
r = 0,99

Médias:
37 ng/mL (Heparina)
37 ng/mL (EDTA)
38 ng/mL (SST)
36 ng/mL (Soro)

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado ao Kit de PSA Livre IMMULITE em 184 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,07 a 25 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,08 ng/mL
r = 0,998

Médias:
2,37 ng/mL (IMMULITE 2000)
2,35 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

www.siemens.com/diagnostics

O Sistema da Qualidade da Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. está registado sob a norma ISO 13485.

IMMULITE is a trademark of Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2020 Siemens Healthcare Diagnostics. All rights reserved.

Made in: UK



Siemens Healthcare
Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis,
Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom



2020-05-22

PIL2KPF – 31

cc#EU23657, cc#EU23657A, cc#EU23664

Understanding the Symbols

Understanding the Symbols	En English
Erklärung der Symbole	De Deutsch
Descripción de los símbolos	Es Español
Explication des symboles	Fr Français
Definizione dei simboli	It Italiano
Descrição dos símbolos	Pt Português

The following symbols may appear on the product labeling: / Die folgenden Symbole können auf dem Produktetikett erscheinen: / Los siguientes símbolos pueden aparecer en la etiqueta del producto: / Les symboles suivants peuvent apparaître sur les étiquettes des produits: / Sull'etichetta del prodotto possono essere presenti i seguenti simboli: / Os seguintes símbolos podem aparecer no rótulo dos produtos:



Symbol Definition

En: *In vitro* diagnostic medical device

De: Medizinisches Gerät zur *In-vitro* Diagnose

Es: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Fr: Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

It: Dispositivo medico per diagnostica *in vitro*

Pt: Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Symbol Definition

En: Catalog Number
De: Katalognummer
Es: Número de referencia
Fr: Numéro de référence catalogue
It: Codice catalogo
Pt: Número de catálogo



En: Manufacturer
De: Hersteller
Es: Fabricante
Fr: Fabricant
It: Produttore
Pt: Fabricante



En: Authorized Representative in the European Community
De: Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union
Es: Representante autorizado en la Unión Europea
Fr: Représentant agréé pour l'Union européenne
It: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
Pt: Representante Autorizado na Comunidade Europeia



En: CE Mark
De: CE-Kennzeichen
Es: Marca CE
Fr: Marque CE
It: Marchio CE
Pt: Marca CE



En: CE Mark with identification number of notified body
De: CE-Kennzeichen mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
Es: Marca CE con número de identificación del organismo notificado
Fr: Marque CE avec numéro d'identification du corps notifié
It: Marchio CE con numero identificativo dell'ente notificato
Pt: Marca CE, com número de identificação do organismo notificado



En: Consult instructions for use
De: Bedienungshinweise beachten
Es: Consulte las instrucciones de uso
Fr: Consulter le mode d'emploi
It: Consultare le istruzioni per l'uso
Pt: Consulte as instruções de utilização

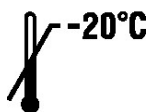


Symbol Definition

En: Caution! Potential Biohazard
De: Vorsicht! Biologisches Risikomaterial
Es: ¡Precaución! Riesgo biológico Potencial
Fr: Avertissement ! Risque biologique potentiel
It: Attenzione! Potenziale Pericolo Biologico
Pt: Atenção! Potenciais Riscos Biológicos



En: Temperature limitation (2–8°C)
De: Temperaturgrenze (2–8°C)
Es: Limitación de temperatura (2–8°C)
Fr: Limites de température (2–8°C)
It: Limiti di temperatura (2–8°C)
Pt: Limites de temperatura (2–8°C)



En: Upper limit of temperature ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
De: Obere Temperaturgrenze ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Es: Límite superior de temperatura ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Fr: Limite supérieure de température ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
It: Limite superiore di temperatura ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)
Pt: Limite máximo de temperatura ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)



En: Lower limit of temperature ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
De: Mindesttemperatur ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Es: Límite inferior de temperatura ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Fr: Limite inférieure de température ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
It: Limite inferiore di temperatura ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)
Pt: Limite mínimo de temperatura ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)



En: Do not freeze ($> 0^{\circ}\text{C}$)
De: Nicht einfrieren ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Es: No congelar ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Fr: Ne pas congeler ($> 0^{\circ}\text{C}$)
It: Non congelare ($> 0^{\circ}\text{C}$)
Pt: Não congelar ($> 0^{\circ}\text{C}$)



En: Do not reuse
De: Nicht zur Wiederverwendung
Es: No reutilizar
Fr: Ne pas réutiliser
It: Non riutilizzare
Pt: Não reutilizar

**Symbol Definition**

En: Keep away from sunlight
De: Vor Sonneneinstrahlung schützen
Es: Proteger de la luz solar
Fr: Maintenir hors de portée de la lumière du soleil
It: Non esporre alla luce del sole
Pt: Manter afastado da luz solar



En: Batch code
De: Chargenbezeichnung
Es: Número de lote
Fr: Numéro de code du lot
It: Codice lotto
Pt: Código de lote



En: Contains sufficient for (n) tests
De: Es reicht für (n) Tests
Es: Contiene suficiente para (n) pruebas
Fr: Contient du matériel suffisant pour (n) tests
It: Contiene materiale sufficiente per (n) test
Pt: Contém o suficiente para (n) testes

2008-01

En: Date format (year-month)
De: Datumsformat (Jahr-Monat)
Es: Formato de fecha (año-mes)
Fr: Format de la date (année-mois)
It: Formato data (anno-mese)
Pt: Formato de data (ano-mês)



En: Use by
De: Verwendbar bis
Es: Fecha de caducidad
Fr: A utiliser avant
It: Usare entro
Pt: Usar até



En: Health Hazard
De: Gesundheitsgefährdung
Es: Peligro para la salud
Fr: Dangereux pour la santé
It: Pericolo per la salute
Pt: Perigo para a saúde



En: Exclamation Mark
De: Ausrufezeichen
Es: Signo de exclamación
Fr: Point d'exclamation
It: Punto esclamativo
Pt: Ponto de exclamação



En: Corrosion
De: Korrosion
Es: Corrosión
Fr: Corrosion
It: Corrosione
Pt: Corrosão

**Symbol Definition**

En: Skull and Crossbones
De: Totenkopf mit gekreuzten Knochen
Es: Calavera y tibias cruzadas
Fr: Tête de mort sur tibias croisés
It: Teschio e tibie incrociate
Pt: Caveira sobre tibias cruzadas



En: Environment
De: Umwelt
Es: Medio ambiente
Fr: Environnement
It: Ambiente
Pt: Ambiente



En: Bead Pack
De: Kugel-Container
Es: Cartucho de bolas
Fr: Cartouche de billes
It: Contenitore di biglie
Pt: Embalagem de esferas



En: Test Unit
De: Testeinheit
Es: Unidades de análisis
Fr: Unité de test
It: Test Unit
Pt: Unidades de Teste



En: Reagent Wedge
De: Reagenzbehälter



Es: Vial de reactivo
Fr: Cartouche à réactif



It: Porta Reagente



Pt: Embalagem de Reagente



En: Adjustor
De: Kalibrator
Es: Ajustador
Fr: Ajusteur
It: Calibrator
Pt: Ajuste



En: Adjustor, low
De: Kalibrator, niedrig
Es: Ajustador, bajo
Fr: Ajusteur, bas
It: Calibrator, basso
Pt: Ajuste, baixo



En: Adjustor, high
De: Kalibrator, hoch
Es: Ajustador, alto
Fr: Ajusteur, haut
It: Calibrator, alto
Pt: Ajuste, alto

Symbol Definition

ADJUSTOR AB
En: Adjustor Antibody
De: Kalibrator Antikörper
Es: Anticuerpo Ajustador
Fr: Anticorps de l'Ajusteur
It: Anticorpo del Calibratore
Pt: Anticorpo do Ajuste

DIL
En: Sample Diluent
De: Proben-verdünnungsreagenz
Es: Diluyente para muestras
Fr: Diluant échantillon
It: Diluente per Campioni
Pt: Diluente de Amostra

CONTROL
CONTROL 1
CONTROL 2
CONTROL 3
En: Control
De: Kontrolle
Es: Control
Fr: Contrôle
It: Controllo
Pt: Controlo

CONTROL +
En: Positive Control
De: Positivkontrolle
Es: Control Positivo
Fr: Contrôle positif
It: Controllo positivo
Pt: Controlo Positivo

CONTROL + L
En: Low Positive Control
De: Schwachpositivkontrolle
Es: Control Positivo bajo
Fr: Contrôle positif faible
It: Controllo Positivo Basso
Pt: Controlo Positivo Baixo

CONTROL -
En: Negative Control
De: Negativkontrolle
Es: Control Negativo
Fr: Contrôle négatif
It: Controllo negativo
Pt: Controlo Negativo

Symbol Definition

CONTROL AB
En: Control Antibody
De: Kontroll-Antikörper
Es: Anticuerpo Control
Fr: Anticorps du contrôle
It: Anticorpo di Controllo
Pt: Anticorpo do Controlo

PRE A
PRE B
En: Pretreatment Solution
De: Vorbehandlungs-lösung
Es: Solución de Pretratamiento
Fr: Solution de prétraitement
It: Soluzione di pretrattamento
Pt: Solução de Pré-tratamento

DITHIOTHREITOL
En: Dithiothreitol Solution
De: Dithiothreitol-Lösung
Es: Solución de Ditiotreitolo
Fr: Solution de Dithiothreitol
It: Soluzione di Ditiotreitolo
Pt: Solução de Ditiotreitolo

BORATE-KCN BUF
En: Borate-KCN Buffer Solution
De: Borat-KCN-Puffer
Es: Solución Tampón Borato-KCN
Fr: Solution tampon Borate-Cyanure de Potassium
It: Soluzione Tampone Borato-KCN
Pt: Solução Tamponizada de Borato-KCN