

FPSA

Free Prostate Specific Antigen (CLIA)

Order Information

Catalog No.	Package Size
FPSA111	2×50 tests
FPSA112	2×100 tests

Intended Use

The CL-series FPSA assay is a Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) for the quantitative determination of free prostate specific antigen (Free PSA, FPSA) in human serum.

The CL-series FPSA assay can be used with the t-PSA as an aid in distinguishing prostate cancer from benign prostatic conditions. Prostate biopsy is required for the diagnosis of prostate cancer.

Summary

Prostate cancer is one of the most common cancers in males. Early detection is very important for medical treatment of prostate cancer patients, and it requires a simple, safe, and inexpensive test for the disease.^{1, 2, 3}

Prostate Specific Antigen (PSA) is a single chain glycoprotein produced in the glandular epithelium of the prostate. It is secreted into the seminal fluid in high concentration.² PSA is a serine protease with chymotrypsin-like activity. A major function of PSA is the proteolytic cleavage of gel-forming proteins I and II in the seminal fluid, resulting in the liquefaction of the seminal gel and increased sperm mobility. Normally PSA concentration in spermiatic fluid is high, but its concentration in serum is very low.⁴ Increasing levels of serum PSA are associated with pathologic conditions of prostate (e.g. Prostatitis, Benign Prostatic Hyperplasia or Prostatic Cancer).

PSA exists in three major forms in blood: free PSA, PSA complexed with the serine protease inhibitor, alpha-1-antichymotrypsin (PSA-ACT), and PSA complexed with alpha-2-macroglobulin that is lack of immune reaction.^{5, 6, 7} Only free PSA and PSA-ACT are detectable in current immunoassay, and they are defined together as total PSA.⁸ Generally, the lower the ratio of serum free PSA/total PSA, the higher the possibility of prostate diseases in men.^{7, 8}

Assay Principle

The CL-series FPSA assay is a two-site sandwich assay to determine the level of free PSA.

In the first step, sample, paramagnetic microparticle coated with monoclonal anti-free PSA antibody (mouse) and monoclonal anti-PSA antibody (mouse)-alkaline phosphatase conjugate are added into a reaction vessel. After incubation, free PSA present in the sample binds to both anti-PSA antibody coated microparticle and anti-PSA antibody alkaline phosphatase-labeled conjugate to form a sandwich complex. Microparticle is magnetically captured while other

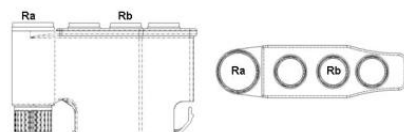
unbound substances are removed by washing.

In the second step, the substrate solution is added to the reaction vessel. It is catalyzed by anti-PSA antibody (mouse)-alkaline phosphatase conjugate in the immunocomplex retained on the microparticle. The resulting chemiluminescent reaction is measured as relative light units (RLUs) by a photomultiplier built into the system. The amount of free PSA present in the sample is proportional to the relative light units (RLUs) generated during the reaction. The Free PSA concentration can be determined via a calibration curve.

Reagent Components

Ra	Paramagnetic microparticles coated with monoclonal anti-free PSA antibody (mouse) in TRIS buffer with preservative.
Rb	Monoclonal anti-PSA antibody (mouse)-alkaline phosphatase conjugate in PBS buffer with preservative.

The position of each reagent component is shown in the figure below (front view on the left and top view on the right):



Storage and Stability

The unopened FPSA (CLIA) reagent kit is stable up to the stated expiration date when stored at 2-8°C. The FPSA (CLIA) reagent kit can be stored onboard and used for a maximum of 28 days after opening at 2-8°C.

Reagent Preparation

Ra: Ready to use; Rb: Ready to use

Materials Required but not Provided

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer.

Cat.No.FPSA211: Mindray Free PSA Calibrators, 1×2.0 mL for each of calibrator C0, C1 and C2.

Cat.No.TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Tumor Marker Multi Control (L), 6×5.0 mL/12×5.0 mL/1×5.0 mL/3×5.0 mL.

Cat.No.TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Mindray Tumor Marker Multi Control (H), 6×5.0 mL/12×5.0 mL/1×5.0 mL/3×5.0 mL.

Cat.No.TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Tumor Marker Multi Control (L), 1×5.0 mL/3×5.0 mL/6×5.0 mL/12×5.0 mL.

Cat.No.TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Mindray Tumor Marker Multi Control (H), 1×5.0 mL/3×5.0 mL/6×5.0 mL/12×5.0 mL.

Cat.No.WB411: Mindray Wash Buffer, 1×10 L.

Cat.No.CS511/CS512: Mindray Substrate Solution, 4×115 mL/4×75 mL.

Mindray Reaction Vessels.

Applicable Instrument

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer.

Specimen Collection and Preparation

Human serum is recommended for this assay.

Centrifuge the specimens after clot formation is complete. Transfer the supernatants into tubes for storage or test within two hours after centrifugation.

Specimens should be tested as soon as possible after sample collection. If testing is not completed within 8 hours, specimens should be tightly capped and refrigerated at 2-8°C. If testing will be delayed for more than 72 hours, specimens should be frozen at -20°C or below.

Avoid repeated freeze and thaw cycles.

Assay Procedure

For optimal performance of this assay, operators should read the related system operation manual carefully, to get sufficient information such as operation instructions, sample preservation and management, safety precaution, and maintenance. Prepare all required materials for the assay as well.

Before loading the FPSA (CLIA) reagent kit on the machine for the first time, unopened reagent bottle should be inverted gently for at least 30 times to resuspend the microparticles that have settled during shipment or storage. Visually inspect the bottle to ensure the microparticles have been resuspended. If the microparticles remain adhered to the bottle, continue inverting until the microparticles have been completely resuspended. If the microparticles cannot be resuspended, it is recommended not to use this bottle of reagent. Contact Mindray Customer Service for help. Do not invert opened reagent bottle.

This assay requires 10 µL of sample for a single test. This volume does not include the dead volume of the sample container. Additional volume is required when performing additional tests from the same sample. Operators should refer to the system operation manual and specific requirement of the assay to determine the minimum sample volume.

Calibration

CL-series FPSA (CLIA) has been standardized against the WHO International Standard Prostate-Specific Antigen Free (NIBSC code: 96/668).

The specific information of master calibration curve of FPSA (CLIA) reagent kit is stored in the two-dimensional barcode attached in the reagent pack. It's used together with calibrators for the calibration of the specific reagent lot. When performing the calibration, scan the information of master calibration curve from the barcode into the system first, and then use the calibrators at three levels. Valid calibration curve is required before any FPSA test. Recalibration is recommended every 4 weeks, or when a new reagent lot is used, or the

quality controls are out of specified range. For detailed instruction of calibration, refer to the system operation manual.

Quality Control

It is recommended that quality controls should be run once every 24 hours if the tests are in use, or after every calibration. The quality control frequency should be adapted to each laboratory's individual requirements. The recommended two levels of quality controls for this assay are Mindray Tumor Marker Multi Control (L) and Tumor Marker Multi Control (H).

Quality control results should be within the acceptable ranges. If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and the samples must be retested. Recalibration may be required. Examine the assay system referring to the system operation manual. If the quality control results are still out of the specified range, please contact Mindray Customer Service for help.

Calculation

The analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample on the master calibration curve read from the barcode, and a 4-Parameter Logistic Curve Fitting (4PLC) with the relative light units (RLUs) generated from three level calibrators of defined concentration values. The results are shown in the unit of ng/mL.

Conversion factors: ng/mL × 1 = µg/L

Expected values

An extensive study on a cohort of 304 healthy males has determined the reference range of CL-series FPSA assay.

Category	N	97.5% Percentile
Male	304	1.0 ng/mL

Due to the variation in geography, race, sex, and age, it is highly recommended that each laboratory should establish its own reference range.

Limitation

The upper limit of this assay is 30 ng/mL. A specimen with free PSA concentration lower than the upper limit can be quantitatively determined, while specimen with a concentration higher than the upper limit will be reported as >30 ng/mL.

The concentration of free PSA in a given specimen, determined with assays from different manufacturers, can vary due to differences in assay methods, calibration, and reagent specificity. The assay results should be used in conjunction with other data, such as symptoms, results of other tests, clinical history, etc.

Specimen from individuals who have been exposed to mouse monoclonal antibodies may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values with assay kits employing mouse monoclonal antibodies. However, no obvious interference of HAMA was observed in this assay.

Performance Characteristics**Analytical Sensitivity/Limit of Detection**

The FP5A (CLIA) reagent kit has an analytical sensitivity of ≤ 0.01 ng/mL. Analytical sensitivity is defined as the lowest concentration of analyte that can be differentiated from a sample that contains no analyte. It is defined as the Free PSA concentration at two standard deviations above the mean RLU from 20 measurements of an analyte-free sample.

Reportable Range

Reportable range is defined by the analytical sensitivity and the upper limit of the master calibration curve. The reportable range of FP5A (CLIA) reagent kit is 0.01-30 ng/mL.

Specificity

Hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 20 mg/dL, triglycerides up to 1500 mg/dL, and total protein up to 10.0 g/dL will not interfere with the CL-series FP5A assay. These substances show less than 10% interferences at indicated concentration.

No obvious interference was observed from rheumatoid factor up to 400 IU/mL or antinuclear antibody up to 2000 U/L.

Interference substance tests were performed on 10 commonly used pharmaceuticals. These compounds showed less than 10% interference in the CL-series FP5A assay at the levels indicated below.

Tested Compound	Interference Substance Concentration
Leuporelin acetate	100 µg/mL
Cyclophosphamide	700 µg/mL
Finasteride	370 ng/mL
Megestrol	2.4 mg/dL
Methoposterin	30 µg/mL
Flutamide	10 µg/mL
Doxorubicin hydrochloride	16 µg/mL
Aspirin	0.5 mg/mL
Biotin	50 ng/mL
Diethyl oestrodione	2 µg/mL

Mindray Free PSA Calibrator C0 were supplemented with other tumor markers, such as alpha-fetoprotein (AFP), cancer antigen 125 (CA125), cancer antigen 15-3 (CA15-3), carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9), carcinoembryonic antigen (CEA) and ferritin (FERR) at specific levels indicated in the table below. No obvious cross reactivity was observed as all the results were ≤ 0.5 ng/mL. The results are stated in the table below.

Tumor Marker	Cross-reactant Concentration	Reported FP5A (ng/mL)	Acceptance Criteria
AFP	1000 ng/mL	0.00	Reported FP5A
CA125	1000 U/mL	0.00	

CA15-3	100 U/mL	0.00	≤ 0.5 ng/mL
CA19-9	1000 U/mL	0.00	
CEA	1000 ng/mL	0.00	
FERR	1000 ng/mL	0.00	

High Dose Hook

For the CL-series FP5A assay, no high dose hook effect was observed when samples containing up to approximately 30,000 ng/mL of free PSA were assayed.

Representative performance data on CL-2000i analyzers are given below. For precision, performance data on CL-2000i and CL-1000i are both given.

Accuracy

A sample of WHO International Standard Prostate-Specific Antigen Free (NIBSC code: 96/668) with traceable and defined value was used to verify the accuracy of this assay. The results showed that the relative deviation was less than $\pm 10\%$. The results are listed in the following table.

Sample	Measured FP5A Value (ng/mL)	Defined FP5A Value (ng/mL)	Relative Deviation
WHO PSA FREE	10.37	10.12	2.50%

Precision

The CL-series FP5A assay is designed to have a precision of $\leq 10\%$ (within-device CV). Precision was determined by following National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Protocol EP5-A2. Two levels of quality controls were tested in duplicate in two separate runs per day for a total of 20 days, using a single lot of reagents and a single calibration curve. The precision data are summarized in the table below.

Performance data on CL-2000i				
Sample	Mean FP5A (ng/mL)	Within-run CV	Between-run CV	Within-Device CV
1	0.93	3.99%	2.89%	8.61%
2	11.46	1.28%	2.45%	5.53%

Performance data on CL-1000i				
Sample	Mean FP5A (ng/mL)	Within-run CV	Between-run CV	Within-Device CV
1	1.03	3.14%	1.88%	3.14%
2	10.54	3.26%	2.27%	3.26%

Linearity

A high concentration FP5A sample (approximately 20 ng/mL) was mixed with a low concentration sample (<0.01 ng/mL) at different ratios, generating a series of dilutions. The free PSA of each dilution was determined using the Mindray CL-Series FP5A Assay. Linearity was demonstrated in the range of 0.01

ng/mL to 20 ng/mL. The correlation coefficient r is ≥ 0.9900 . The linearity data are summarized in the table below.

Concentration (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
Expected FP5A	0.0020	6.03	12.05	18.07	24.10	30.12
Measured FP5A	0.0020	6.28	12.79	18.69	24.18	30.12

Method Comparison

The Mindray CL-Series FP5A Assay was compared to a commercially available diagnostic kit in a correlation study with about 40 specimens. The statistical data obtained by Deming computing mode are shown in the table below.

Concentration Range (ng/mL)	Slope	Intercept	Correlation Coefficient
0.01-30	0.9218	0.1259	0.9973

Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- Follow all the rules in handling laboratory reagents and take necessary safety precautions.

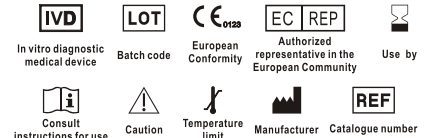


Warning: May cause an allergic skin

reaction.

Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/face protection. IF ON SKIN: Wash with plenty of water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- Due to the differences in methodology and antibody specificity, test results of the same sample may be different when using reagent kits from different manufacturers on Mindray system, or using Mindray reagent kits on other systems.
- Do not use reagent kits beyond the expiration date.
- Do not use reagents mixed from different reagent lots.
- Always keep the reagent pack in the upright position to ensure no microparticle has been lost prior to use.
- Reagent pack opened for more than 28 days is not recommended for use.
- Reliability of assay results cannot be guaranteed if the instructions in this package insert are not followed.
- All the specimen and reaction wastes should be considered potentially biohazard. The handling of specimens and reaction wastes should be in accordance with the local regulations and guidelines.
- The Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request.

Graphical Symbols**References**

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. *Ann Med*, 1994, 26(3):157-164.
- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 221: 32-34.
- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. *Eur J Biochem*, 1990, 194(3): 755-763.
- Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem*, 1993, 39(2):181-195.
- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 1995, 45(5): 729-744.
- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 1993, 39(12):2483-2491.
- Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. *Clin Chem*, 1995, 41(11):1567-1573.
- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. *Clin Chem*, 1991, 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.
All rights Reserved.

Manufacturer: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.
Address: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

E-mail Address: service@mindray.com
Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

EC-Representative: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Address: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

Свободный ПСА

Свободный простатспецифический антиген (ХЛИА)

Информация для заказа

№ по каталогу	Фасовка
FPSA111	2×50 тестов
FPSA112	2×100 тестов

Назначение

Анализ FPSA серии CL является хемилюминесцентным иммунологическим анализом (ХЛИА) для количественного определения свободного простатспецифического антигена (свободный ПСА) в человеческой сыворотке или плазме.

Анализ на свободный ПСА серии CL может использоваться совместно с анализом на общий ПСА в качестве дополнительного теста, позволяющего отличить рак предстательной железы от доброкачественных новообразований. Для диагностики рака предстательной железы требуется биопсия предстательной железы.

Краткая справка

Рак предстательной железы является одним из самых распространенных видов злокачественных опухолей у мужчин. В ранней диагностике рака предстательной железы у мужчин очень важно наличие простого, безопасного и недорогого теста для выявления заболевания^{1, 2, 3}. Простатспецифический антиген (ПСА) является одноцепочечным гликопротеином, который продуцируется железистым эпителием предстательной железы. В высокой концентрации обнаруживается в семенной жидкости². ПСА является сериновой протеазой с химотрипсину-подобной активностью. Основной функцией ПСА является расщепление гель-формирующих протеинов I и II в семенной жидкости, что приводит к разжижению семенной жидкости и увеличению мобильности спермы. В норме содержание ПСА в сперме высокое, а в сыворотке крови — низкое⁴. Увеличенные уровни сывороточного ПСА связаны с патологическими процессами в предстательной железе (такими как простатит, доброкачественная гиперплазия предстательной железы или рак предстательной железы).

В крови ПСА представлен в трех основных формах: свободный ПСА, ПСА в комплексе с сериновым ингибитором протеазы, альфа-1-антихимотрипсина (ПСА-АХТ) и ПСА в комплексе с альфа-2-макроглобулином. Последний практически не вызывает иммунных реакций^{5,6,7}. Методом, используемым в данном анализе, выявляются только свободный ПСА и ПСА-АХТ, вместе они определяются как общий ПСА⁸. В целом, чем ниже соотношение сывороточного свободного ПСА/общего ПСА, тем выше вероятность заболеваний предстательной железы у лиц мужского пола^{7, 8}.

Принцип анализа

Анализ FPSA серии CL является иммуноферментным двухсайтовым сэндвич-тестом для определения уровня свободного ПСА.

На первой стадии образец, парамагнитные микрочастицы, покрытые моноклональными мышиными антителами к свободному ПСА и моноклональные мышиные антитела к свободному ПСА конъюгированные с щелочной

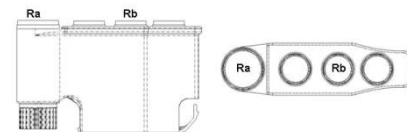
фосфатазой дозируются в реакционную ячейку. При инкубации свПСА, который присутствует в образце, связывается как с микрочастицами покрытыми анти-свПСА-антителами, так и с конъюгатом анти-свПСА антител и щелочной фосфатазы, формируя сэндвич-комплекс. Микрочастицы захватываются магнитом, в то время как несвязанные вещества удаляются с помощью промывки.

На второй стадии, в реакционную ячейку добавляется раствор субстрата. Разложение субстрата катализируется щелочной фосфатазой конъюгата мышиных анти-свПСА антител в иммунокомплексе, оставшемся на микрочастицах. Полученная хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи фотоумножителя. Количество свПСА в образце пропорционально количеству относительных световых единиц (ОСЕ) образованных в ходе реакции. Концентрация свПСА определяется по калибровочной кривой.

Компоненты реагента

Ra	Парамагнитные микрочастицы покрытые моноклональными мышиными анти-свПСА-антителами в ТРИС-буфере с консервантами.
Rb	Моноклональные нти-ПСА антитела (мышьиные) конъюгированные с щелочной фосфатазой в буферном растворе с консервантами.

Расположение каждого компонента реагента показано на рисунке ниже (вид спереди слева и вид сверху справа):



Хранение и стабильность реактивов

Невыскранный набор реактивов свПСА (ХЛИА), хранящийся при температуре 2–8 °C годен до даты окончания срока годности. После вскрытия набора реактивов свПСА (ХЛИА) он может храниться при температуре 2–8 °C и использоваться в течение 28 дней.

Подготовка реактивов

Ra: Готов к использованию

Rb: Готов к использованию

Необходимые материалы не входящие в комплект поставки

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа

Каталожный номер FPSA211: Mindray свПСА калибровочные стандарты, 1×2,0 мл для каждого калибровочного стандарта C0, C1 и C2.

Каталожный номер TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (L), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

Каталожный номер TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (H), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

Каталожный номер TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (L), 1×5,0 мл/3×5,0 мл/6×5,0 мл/

12×5,0 мл.

Каталожный номер TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Мультиконтроль опухолевых маркеров (H), 1×5,0 мл/3×5,0 мл/6×5,0 мл/12×5,0 мл.

№ по каталогу WB411: Mindray Промывочный буфер, 1×10 л.

Каталожный номер CS511/CS512: Mindray субстратный раствор, 4×115 мл/4×75 мл.

Реакционные ячейки Mindray

Используемая аппаратура

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа

Сбор и подготовка образцов.

Для проведения данного теста требуется сыворотка крови человека. Образцы центрифугируют после завершения образования густка в пробирке. Анализ должен быть проведен как можно скорее после подготовки проб. Храните сыворотку, отделив её от густка, или проведите анализ в течение двух часов после центрифугирования.

Если анализ не проведен в течение 8 часов, образцы должны быть плотно закупорены с последующим хранением в холодильнике при температуре 2–8 °C. Если анализ не проведен в течение 72 часов, образцы должны быть заморожены при температуре –20 °C или ниже.

Избегайте повторного замораживания и замораживания образцов.

Методика выполнения анализа

Для качественного выполнения анализа, пользователь должен внимательно ознакомиться с руководством пользователя системы, а также с инструкциями пользователя, инструкциями по подготовке и хранению образцов, инструкциями по технике безопасности и обслуживанию устройства. Также необходимо приготовить все материалы для проведения исследования.

Перед загрузкой в анализатор комплекта реактивов для анализа на свПСА (ХЛИА) закрытые флаконы с реагентом следует осторожно перевернуть не менее 30 раз для размешивания микрочастиц, осевших в течение транспортировки или хранения. Визуально осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что микрочастицы ресуспендированы. Если микрочастицы остаются на стенках флакона, следует продолжить переворачивать флакон до получения однородного реагента. Если микрочастицы не могут быть ресуспендированы, рекомендуется не использовать данный флакон реагента.

За помощью обращайтесь в отдел обслуживания клиентов Mindray. Не переворачивайте открытые флаконы с реагентами.

Для проведения исследования требуется 10 мкл образца для проведения одного теста. Данный объем не включает мертвое пространство контейнера с образцом. Для проведения других тестов потребуется дополнительный объем образца. Для определения минимального объема образца рекомендуется ознакомиться с руководством пользователя системы и особыми требованиями к анализу.

Калибровка

Анализ свПСА (ХЛИА) серии CL стандартизирован по Международному стандарту свободного простатспецифического антигена ВОЗ (NIBSC код: 96/668).

Калибровочная кривая набора реагентов для анализа свПСА (ХЛИА) хранится в двухмерном штрих-коде на упаковке реагента. Она используется совместно с калибраторами для калибровки конкретной партии реактивов. При выполнении калибровки вначале отсканируйте информацию о заводской калибровочной кривой со штрихкода, а затем используйте калибратор трех уровней. Правильная калибровочная кривая необходима перед проведением каждого исследования свПСА. Повторную калибровку рекомендуется проводить каждые 4 недели или при использовании новой партии реактивов или в случае, если результат контроля качества находится вне допустимого диапазона. Подробные инструкции по калибровке приводятся в руководстве пользователя системы.

Контроль качества

Рекомендуется выполнять процедуру контроля качества не реже одного раза в сутки в случае выполнения тестов или после каждой калибровки. Частота выполнения процедур контроля качества должна устанавливаться в соответствии с индивидуальными требованиями каждой лаборатории. Рекомендуемые два уровня контроля качества для данного анализа включают Mindray мультиконтроль опухолевых маркеров (L) и мультиконтроль опухолевых маркеров (H).

Результаты контроля качества должны находиться в пределах допустимых значений. Если показатели контроля качества выходят из диапазона допустимых значений, результаты тестов считаются недостоверными. Необходимо устранить причину ошибки и повторить тестирование всей недостоверной серии измерений. Возможно, придется провести калибровку заново. Проверьте систему в соответствии с указаниями в руководстве пользователя. Если результаты контроля качества по-прежнему выходят за пределы указанного диапазона, обратитесь за помощью в службу поддержки клиентов компании Mindray.

Вычисление результатов

Анализатор автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце на основании заводской калибровки, считанной с штрих-кода, и 4-параметровой логарифмической кривой со значениями относительных световых единиц, полученными для трех уровней калибраторов с установленными значениями концентрации. Единицей измерения является нг/мл. Коэффициент пересчета: нг/мл × 1 = мкг/л

Ожидаемые значения

Референсный диапазон для теста FPSA серии CL был определен по результатам обследования группы из 304 здоровых мужчин.

Категория	Численность	верхний предел 95% центрального диапазона
Мужчины	304	1,0 нг/мл

Учитывая разницу в географии, национальности и возрасте, рекомендуется определять референсный диапазон для каждой лаборатории индивидуально.

Ограничения метода

Верхний предел измерения данного метода составляет 30 нг/мл. Образцы с концентрацией свПСА ниже верхнего предела определяются количественно, образцы с более высокой концентрацией определяются как > 30 нг/мл.

Концентрация свПСА в образце, определенная

методиками различных производителей может отличаться вследствие разницы методик, калибровки и специфичности реактивов. Результаты измерений должны сопоставляться с другими данными, такими как симптомы, результаты других тестов, клиническими данными и др.

Образцы, полученные у пациентов, которые получают препараты на основе мышинных моноклональных антител, могут содержать человеческие антимышьи антитела (НАМА). В этих образцах могут обнаруживаться ложно увеличенные или ложно сниженные уровни, при использовании наборов реактивов содержащих мышинные моноклональные антитела. Однако, не было обнаружено видимого взаимодействия с человеческими анти-мышинными антителами (НАМА) у данного набора реактивов.

Характеристики

Аналитическая чувствительность/предел обнаружения

Аналитическая чувствительность набора реактивов свПСА (ХЛИА) составляет $\leq 0,01$ нг/мл. Аналитическая чувствительность определяется как минимальная концентрация анализируемого вещества, которая может выявляться в сравнении с образцом, не содержащим анализируемого вещества. Определяется как концентрация свПСА в двух стандартных отклонениях над средними ОСЕ в серии из 20 измерений образца, не содержащего анализируемого вещества.

Диапазон измерения

Диапазон измерения определяется аналитической чувствительностью и верхним пределом заводской калибровочной кривой

Диапазон измерения набора реактивов свПСА (ХЛИА) составляет 0,01–30 нг/мл.

Специфичность

Гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 20 мг/дл, триглицериды до 1500 мг/дл и общий белок до 10,0 г/дл не влияют на результаты анализа свПСА (ХЛИА) серии CL. При использовании этих веществ в указанных концентрациях, интерференция составила менее 10%.

Также не было выявлено значимой интерференции при концентрации ревматоидного фактора до 400 МЕ/мл и антинуклеарных антител в концентрации до 2000 Ед/л.

Тесты по взаимодействию *in vitro* проводились с использованием 10 наиболее распространенных препаратов. Эти препараты, в концентрациях, приведенных в таблице ниже, показали уровень интерференции менее 10 % при использовании набора реагентов свПСА серии CL. Q

Тестируемое соединение	Концентрация
Лейпрорелина ацетат	100 мкг/мл
Циклофосфамид	700 мкг/мл
Финастерид	370 нг/мл
Мегестрол	2,4 мг/дл
Метоптерин	30 мкг/мл
Флютаמיד	10 мкг/мл
Доксорубин гидрохлорид	16 мкг/мл
Аспирин	0,5 мг/мл
Биотин	50 нг/мл
Диэтил эстроген	2 мкг/мл

К калибратору С0 Mindray свПСА также добавляли другие опухолевые маркеры, такие как альфа-фетопротеин (АФП), опухолевый

антиген 125 (CA125), опухолевый антиген 15-3 (CA15-3), опухолевых связанных углеводный антиген (CA19-9) и ферритин (FERR) при концентрациях, указанных в таблице ниже. Не было зарегистрировано перекрестной реактивности при результатах $\leq 0,5$ нг/мл. Результаты приведены в таблице ниже.

Опухоль Маркер	Концентрация	Измеренное значение свПСА (нг/мл)	Критерий приемлемости
АФП	1000 нг/мл	0,00	Зарегистрировано значение свПСА $\leq 0,5$ нг/мл
CA125	1000 Ед/мл	0,00	
CA15-3	100 Ед/мл	0,00	
CA19-9	1000 Ед/мл	0,00	
ЭОА	1000 нг/мл	0,00	
Ферритин	1000 нг/мл	0,00	

Эффект прозоны

Эффекта прозоны для теста свПСА серии CL не обнаруживалось при содержании свПСА до 30 000 нг/мл.

Репрезентативные эксплуатационные данные анализаторов CL-2000i представлены ниже. Для оценки прецизионности приведены эксплуатационные данные анализаторов CL-2000i и CL-1000i.

Правильность результатов

Для подтверждения достоверности результатов данного теста применялся образец международного стандарта свободного простатспецифического антигена ВОЗ (NIBSC код: 96/668). Относительное отклонение составило менее ± 10 %. Результаты приведены в следующей таблице.

Проба	Измеренное значение свПСА (нг/мл)	Установленное значение свПСА (нг/мл)	Относительное отклонение
свПСА ВОЗ	10,37	10,12	2,50 %

Воспроизводимость

Погрешность набора реактивов свПСА серии CL составляет ≤ 10 % (коэффициент вариации для одного анализатора). Воспроизводимость определялась в соответствии с Протоколом Национального комитета клинических и лабораторных стандартов (NCCLS) EP5-A2. Два уровня контрольного материала анализировались по две серии в два повтора ежедневно, всего в течение 20 дней, с использованием одной партии реагентов и одной калибровочной кривой. Значения погрешности приведены в таблице ниже.

Эксплуатационные данные CL-2000i				
Проба	Среднее значение свПСА (нг/мл)	Внутрисерийный коэффициент вариации	Межсерийный коэффициент вариации	Коэффициент вариации для анализатора
1	0,93	3,99 %	2,89 %	8,61 %
2	11,46	1,28 %	2,45 %	5,53 %

Эксплуатационные данные CL-1000i				
Проба	Среднее значение свПСА (нг/мл)	Внутрисерийный коэффициент вариации	Межсерийный коэффициент вариации	Коэффициент вариации для анализатора
1	0,93	3,99 %	2,89 %	8,61 %
2	11,46	1,28 %	2,45 %	5,53 %

		вариации	и	тора
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Линейность

Образец с высокой концентрацией свПСА (примерно 20 нг/мл) смешивали с образцом низкой концентрации свПСА ($< 0,01$ нг/мл) в различных пропорциях, в серии разведений. Концентрация свПСА в каждом разведении определялась с использованием Mindray анализа свПСА серии CL. Линейность была продемонстрирована для диапазона от 0,01 нг/мл до 20 нг/мл. Коэффициент корреляции r составил $\geq 0,9900$. Данные по линейности представлены в таблице ниже.

Концентрация (нг/мл)	1	2	3	4	5	6
Ожидаемое значение свПСА	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
Измеренный свПСА	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Сравнение методов

Анализ на свПСА серии CL сравнивался с имеющимся на рынке диагностическим набором в исследовании корреляции с использованием около 40 образцов. Статистические данные регрессии Деминга представлены в таблице ниже.

Диапазон концентрации (нг/мл)	Наклон	Смещение	Коэффициент корреляции
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностики *in vitro*.
- Соблюдайте правила обращения с лабораторными реактивами и правила техники безопасности.

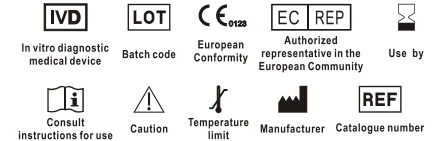


Осторожно! Может вызывать кожную аллергическую реакцию. Избегайте вдыхания пыли/ дыма/ газа/ тумана/паров/аэрозоля. Запрещается выносить загрязненную рабочую одежду за пределы рабочего места. Используйте защитные перчатки/ защитную одежду/ средства защиты глаз/ средства защиты лица. ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Смойте большим количеством воды. При появлении раздражения кожи или сыпи: обратитесь к врачу. Снимайте загрязненную одежду и стирайте ее перед повторным использованием.

- Результаты тестов могут различаться в соответствии с разностью применяемых методик и специфичностью антител, также результаты тестов могут различаться при использовании диагностических реактивов других производителей при использовании диагностических устройств Mindray, или использовании диагностических наборов Mindray в других диагностических устройствах.
- Не используйте наборы реагентов после окончания срока годности.
- Не смешивайте реактивы из разных партий реактивов.
- Упаковка с реактивами должна храниться в вертикальном положении, чтобы предотвратить потерю микрочастиц.
- Не рекомендуется использовать упаковку

- реактивов, вскрытую более 28 суток назад. Не гарантируется точность результатов при несоблюдении инструкции по использованию.
- Все образцы и отходы при реакциях должны считаться материалами, представляющими потенциальную биологическую опасность. Обращаться с образцами и отходами при реакциях следует в соответствии с местными нормами и руководствами.
- Паспорт безопасности эксплуатации материалов (MSDS) предоставляется по запросу.

Графические символы



Список литературы

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. *Ann Med*, 1994, 26(3):157–164.
- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 221: 32–34.
- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. *Eur J Biochem*, 1990, 194(3): 755–763.
- Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem*, 1993, 39(2):181–195.
- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 1995, 45(5): 729–744.
- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 1993, 39(12):2483–2491.
- Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. *Clin Chem*, 1995, 41(11):1567–1573.
- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Pettersson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. *Clin Chem*, 1991, 37(9):1618–1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Изготовитель: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Адрес: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Адрес электронной почты: service@mindray.com

Веб-сайт: www.mindray.com

Тел: +86-755-26582888

Факс: +86-755-26582680

Представитель в ЕС: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Адрес: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany (Гамбург, Германия)

Тел: 0049-40-2513175

Факс: 0049-40-255726

FPSA

Antígeno prostático específico livre (CLIA)

Informações do pedido

Número do catálogo	Tamanho da embalagem
FPSA111	Testes 2x50
FPSA112	Testes 2x100

Uso pretendido

O ensaio FPSA da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para determinação quantitativa do antígeno prostático específico livre (PSA livre, FPSA) em soro humano.

O ensaio FPSA Série CL pode ser usado com o t-PSA como um auxiliar para distinguir câncer de próstata de condições prostáticas benignas. Uma biópsia de próstata é necessária para o diagnóstico de câncer de próstata.

Resumo

O câncer de próstata é um dos cânceres mais comuns nos homens. A detecção precoce é muito importante para o tratamento médico e isso requer um teste simples, seguro e de baixo custo.^{1, 2, 3} O antígeno prostático específico (PSA) é uma glicoproteína de cadeia simples produzida no epitélio glandular da próstata. Ela é secretada para o fluido seminal, em alta concentração.² PSA é uma serina-protease com atividade semelhante à quimotripsina. Uma das principais funções do PSA é a clivagem proteolítica das proteínas de formação de gel I e II no fluido seminal, resultando na liquefação do gel seminal e mobilidade aumentada dos espermatozoides. Normalmente, a concentração de PSA no líquido espermático é elevada, mas a sua concentração no soro é muito baixa.⁴ O aumento dos níveis de PSA no soro está associado com condições patológicas da próstata (por exemplo, prostatite, hiperplasia benigna da próstata ou câncer da próstata).

O PSA existe em três formas principais no sangue: O PSA livre, o PSA complexado com o inibidor de serina-protease, a alfa-1-antiquimotripsina (PSA-ACT), e PSA complexo com alfa-2-macroglobulina, que é a falta de reação imunitária.^{5, 6, 7} Apenas o PSA livre e o PSA-ACT são detectáveis no imunoensaio corrente, e eles são definidos em conjunto como o PSA total.⁸ Geralmente, quanto menor a proporção de PSA livre/PSA total no soro, maior a possibilidade de doenças da próstata nos homens.^{7, 8}

Princípio do ensaio

O ensaio de FPSA da série CL é um ensaio sanduíche de dois locais para determinar o nível de PSA livre.

No primeiro passo, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-PSA livre (rato) e o anticorpo anti-PSA monoclonal (rato)-conjugado de fosfatase alcalina são adicionados em um recipiente de reação. Após a incubação, o PSA livre presente na amostra liga-se tanto às micropartículas revestidas do anticorpo anti-PSA como ao anticorpo anti-PSA conjugado de fosfatase alcalina marcado para formar um complexo de sanduíche. A micropartícula é fixada magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por

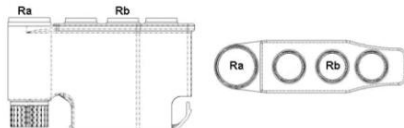
lavagem.

No segundo passo, a solução de substrato é adicionada ao recipiente de reação. Ela é catalisada por anticorpo anti-PSA (rato)-conjugado de fosfatase alcalina no imunocomplexo retido na micropartícula. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades relativas de luz (RLU) por um fotomultiplicador incorporado no sistema. A quantidade de PSA presente na amostra é proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de PSA livre pode ser determinada através de uma curva de calibração.

Componentes do reagente

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-PSA livre (rato) em tampão de TRIS com conservante
Rb	Monoclonal anti-PSA anticorpo (rato)-alcalina conjugado de fosfatase em tampão de PBS com conservante.

A posição de cada componente do reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista de cima à direita):



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagentes de FPSA fechado (CLIA) é estável até a data de validade indicada, quando armazenados a 2-8°C.

O kit de reagentes de FPSA (CLIA) pode ser armazenado em uso e utilizado por no máximo 28 dias após a abertura a 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray

N.º do cat. FPSA211: Calibradores de PSA livre Mindray, 1x2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

N.º do cat. TML311/TML312/TML313/TML314: Multicontrol do Marcador de Tumor (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Multicontrol do Marcador de Tumor (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. TML321/TML322/TML323/TML324: Multicontrol do Marcador de Tumor (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Multicontrol do Marcador de Tumor (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de Lavagem Mindray, 1x10 L.

N.º do cat. CS511/CS512: Solução de Substrato Mindray, 4x115 Ml/4x75 Ml.

Recipientes de Reação Mindray

Instrumento aplicável

Analizador de Imunoensaio de Quimioluminescência Mindray Série CL.

Coleta e Preparação do Espécime

Soro humano é recomendado para este ensaio. Centrifugue as amostras após a formação do coágulo ser finalizada. Transfira os sobrenadantes para dentro de tubos para armazenamento ou teste dentro de duas horas após a centrifugação. As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após sua coleta. Se o teste não for concluído dentro de 8 horas, as amostras devem ser bem fechadas e refrigeradas a 2-8°C. Se o teste atrasar mais de 72 horas, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

Evite ciclos de congelamento e descongelamento repetidos.

Procedimento do ensaio

Para um melhor desempenho deste ensaio, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com cuidado, para obter informações suficientes, tais como instruções de operação, manutenção e gerenciamento de amostras, medidas de segurança e manutenção. Prepare todo o material necessário para esse ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de FPSA (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco de reagente fechado deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspender as micropartículas que se assentaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas foram novamente suspensas. Se as micropartículas permanecerem aderidas ao frasco, continue invertendo até que as micropartículas sejam completamente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser novamente suspensas, recomenda-se não usar este frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço ao Cliente Mindray. Não inverta o frasco de reagente aberto.

Este ensaio necessita de 10 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Volume adicional é necessário para a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e requisitos específicos do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

O FPSA da série CL (CLIA) foi padronizado em conformidade com o Padrão Internacional da OMS para Antígeno Prostático Específico Livre (código NIBSC: 96/668).

A informação específica de curva de calibração principal do kit de reagentes de FPSA (CLIA) é armazenada no código de barras bidimensional anexado à embalagem do reagente. É usado em conjunto com os calibradores para a calibração do lote de reagentes específico. Ao realizar a calibração, primeiro digitalize a informação da curva de calibração principal a partir do código de barras no sistema, e, em seguida, use os calibradores em três níveis. Curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de FPSA. A recalibração é recomendada a cada quatro semanas, ou quando um novo lote de reagentes for usado, ou quando os

controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operações do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controle de qualidade para este ensaio são Multicontrol de Marcador Tumoral Mindray (L) e Multicontrol de Marcador Tumoral (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora de seu intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras deverão ser testadas novamente. A recalibração pode ser necessária. Examine o sistema de ensaio observando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade continuarem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Atendimento ao Cliente Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra na curva de calibração principal lida a partir do código de barras, e um Conjunto de Curva Logística de 4 Parâmetros (4PLC) com as unidades relativas de luz (RLUs) geradas a partir de calibradores de três níveis dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados em ng/mL.

Fatores de conversão: ng/mL x 1 = µg/L

Valores esperados

Um extenso estudo sobre um corte de 304 homens saudáveis determinou o intervalo de referência do ensaio de FPSA da série CL.

Categoria	N	Limite superior de do intervalo central de 95%
Masculino	304	1,0 ng/mL

Devido à variação de geografia, raça, sexo e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Limitações

O limite superior deste ensaio é 30 ng/dL. Uma amostra com uma concentração de PSA livre menor do que o limite superior pode ser determinada quantitativamente, enquanto que uma amostra com uma concentração maior do que o limite superior será avaliada como > 30 ng/mL.

A concentração de PSA livre numa dada amostra, determinada com ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos reagentes. Os resultados do ensaio devem ser utilizados em conjunto com outros dados, tais como sintomas, resultados de outros testes, história clínica, etc

Espécime de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongo podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Estas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de rato. No entanto,

nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit reagente de FPSA (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de $\leq 0,01$ ng/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciado de uma amostra que não contém nenhum analito. É definida como a concentração de PSA livre em dois desvios padrão acima da média de 20 medições de RLU de uma amostra isenta de analito.

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit reagente de FPSA (CLIA) é 0,01-30 ng/mL.

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, triglicérides até 1500 mg/dL e proteína total até 10,0 g/dL não vão interferir no ensaio de FPSA da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada a partir de fator reumatóide até 400 UI/mL ou anticorpo antinuclear até 2000 U/L.

Testes de substância de interferência foram realizados em dez produtos farmacêuticos normalmente utilizados. Estes compostos apresentaram interferência inferior a 10% no ensaio de FPSA da série CL, aos níveis a seguir indicados.

Composto de testado	Substância de interferência Concentração
Acetato de leuprorrelina	100 µg/mL
Ciclofosfamida	100 µg/mL
Finasterida	370 ng/mL
Megestrol	2,4 mg/dL
Metopterina	30 µg/mL
Flutamida	10 µg/mL
Cloridrato de doxorubicina	16 µg/mL
Aspirina	0,5 mg/mL
Biotina	50 ng/mL
Dietil oestrogene	2 µg/mL

O Calibrador de PSA livre Mindray C0 foi suplementado com outros marcadores tumorais, como a alfafetoproteína (AFP), antígeno de câncer 125 (CA125), antígeno de câncer 15-3 (CA15-3), antígeno carboidrato 19-9 (CA19-9), antígeno carcinoembrionário (CEA) e ferritina (FERR) em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada visto que todos os resultados foram $\leq 0,5$ ng/mL. Os resultados encontram-se na tabela abaixo.

Tumor Marcador	Reagentes cruzados Concentração	FPSA relatado (ng/mL)	FPSA relatado (ng/mL)
AFP	1000 ng/mL	0.00	FPSA relatado $\leq 0,5$ ng/mL
CA125	1000 U/mL	0.00	
CA15-3	100 U/mL	0.00	
CA19-9	1000 U/mL	0.00	

CEA	1000 ng/mL	0.00
FERR	1000 ng/mL	0.00

Gancho de alta dosagem

Para o ensaio de FPSA da série CL, nenhum efeito de gancho da dose alta foi observado quando as amostras que contêm até cerca de 30.000 ng/mL de PSA livre foram ensaiadas.

Dados representativos de desempenho do analisador CL-2000i são mostrados abaixo. Para maior precisão, os dados de desempenho do CL-2000i e do CL-1000i são fornecidos abaixo.

Exatidão

Uma amostra de Antígeno Prostático Específico Livre de Padrão Internacional da OMS (código NIBSC: 96/668) com valor rastreável e definido foi utilizado para verificar a precisão deste ensaio. Os resultados mostraram que o desvio relativo foi inferior a $\pm 10\%$. Os resultados são mostrados na tabela abaixo.

Amostra	Valor do FPSA medido (ng/mL)	Valor do FPSA definido (ng/mL)	Relativo Desvio
PSA LIVRE OMS	10,37	10,12	2,50%

Precisão

O ensaio de FPSA da série CL é projetado para ter uma precisão de $\leq 10\%$ (CV dentro do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Protocolo EP5-A2 do Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (NCCLS). Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas experiências separadas por dia, por um total de 20 dias, utilizando-se um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Dados de desempenho do CL-2000i				
Amostra	FPSA médio (ng/mL)	No CV em execuções	Entre-CV em execuções	No CV no dispositivo
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%

Dados de desempenho do CL-1000i				
Amostra	FPSA médio (ng/mL)	No CV em execuções	Entre-CV em execuções	No CV no dispositivo
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Linearidade

Uma alta concentração de amostra de FPSA (aproximadamente 20 ng/mL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa ($< 0,01$ ng/mL) em diferentes proporções, gerando uma série de diluições. O PSA livre de cada diluição foi determinado usando o ensaio de FPSA da Série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada na gama de 0,01 ng/mL a 20 ng/mL, o coeficiente de correlação r é $\geq 0,9900$. A linearidade dos dados estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
FPSA esperado	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
FPSA medido	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Comparação de métodos

O ensaio de FPSA da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 40 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (ng/mL)	Queda	Intercepto	Correlação Coeficiente
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro.
2. Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.

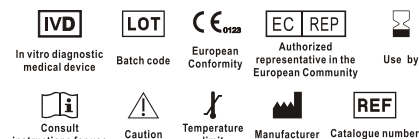


Aviso: Pode causar reação alérgica na pele.

Evite respirar poeira/ fumaça/ gás/ névoa/vapores/spray. Vestuário de trabalho contaminado não deve ser retirado do local de trabalho. Use luvas/roupas/óculos para proteção dos olhos/rosto. SE HOUVER CONTATO COM A PELE: Lave com água em abundância. Se ocorrer irritação da pele ou erupção cutânea: Procure aconselhamento/cuidados médicos. Retire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizar.

3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados do teste de uma mesma amostra podem ser diferentes ao usar kits de reagentes a partir de diferentes fabricantes, no sistema Mindray, ou usando kits de reagentes Mindray em outros sistemas.
4. Não utilize kits de reagentes vencidos.
5. Não utilize reagentes misturados de diferentes lotes
6. Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
7. Pacote de reagente aberto por mais de 28 dias não é recomendado para uso.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
9. Todos os resíduos de amostras e de reação deverão ser considerados potencialmente de risco biológico. A manipulação das amostras e resíduos de reação deve estar de acordo com os regulamentos e orientações locais.
10. A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos gráficos



Referências

1. Henttu P, Viikho P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. *Ann Med*, 1994, 26(3):157-164.
2. Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 221: 32-34.
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, 194(3): 755-763.
4. Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem*, 1993, 39(2):181-195.
5. McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 1995, 45(5): 729-744.
6. Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 1993, 39(12):2483-2491.
7. Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. *Clin Chem*, 1995, 41(11):1567-1573.
8. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. *Clin Chem*, 1991, 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, P.R. China.

E-mail: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representantes da UE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Endereço: Eiffeustraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

FPSA

Antígeno prostático específico libre (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Tamaño de envase
FPSA111	2 × 50 pruebas
FPSA112	2 × 100 pruebas

Uso previsto

El ensayo de FPSA de la serie CL es un inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de antígeno prostático específico libre (PSA libre, FPSA) en suero humano.

El ensayo FPSA de la serie CL puede utilizarse con el PSA total como una ayuda a la hora de distinguir el cáncer de próstata de enfermedades prostáticas benignas. Se requiere una biopsia de próstata para realizar el diagnóstico de cáncer de próstata.

Resumen

El cáncer de próstata es uno de los más comunes entre los hombres. La detección precoz es muy importante para el tratamiento médico de pacientes con cáncer de próstata y requiere una prueba simple, segura y económica para la enfermedad^{1, 2, 3}. El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína de cadena única producida en el epitelio glandular de la próstata. Se secreta en el líquido seminal en alta concentración². El PSA es una serín proteasa con actividad similar a la quimotripsina. Una función principal del PSA es la segmentación proteolítica de las proteínas I y II que gelifican el líquido seminal, cuyo resultado es la licuefacción del gel seminal y una mayor motilidad del espermatozoide. Normalmente, la concentración de PSA en el líquido espermático es elevada, pero su concentración en suero es muy baja⁴. El aumento de los niveles de PSA en suero está asociado a estados patológicos de la próstata (p. ej., prostatitis, hiperplasia benigna de próstata o cáncer de próstata).

El PSA existe en tres formas principales en la sangre: PSA libre, PSA complejo con inhibidor de serín proteasa, alfa-1-antiquimotripsina (PSA-ACT), y PSA complejo con alfa-2-macroglobulina al que le falta reacción inmune^{5, 6, 7}. Solo el PSA libre y el PSA-ACT se pueden detectar en el inmunoensayo actual y se definen conjuntamente como PSA total⁸. Normalmente, cuanto menor sea la proporción de PSA libre a total en suero, mayor será la posibilidad de enfermedades de próstata entre los hombres^{7, 8}.

Principio del ensayo

El ensayo de FPSA de la serie CL es un ensayo de tipo sándwich con dos anticuerpos para determinar el nivel de PSA libre.

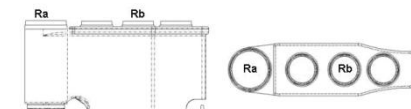
En el primer paso, la muestra, la micropartícula paramagnética recubierta de anticuerpo anti-PSA libre monoclonal (ratón) y el conjugado de anticuerpos anti-PSA (ratón) y fosfatasa alcalina se añaden a un recipiente de reacción. Tras la incubación, el PSA libre presente en la muestra se fija a la micropartícula recubierta de anticuerpo anti-PSA y al conjugado marcado de anticuerpos anti-PSA y fosfatasa alcalina para formar un complejo de sándwich. La micropartícula se captura magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

En el segundo paso, se añade la solución de sustrato al recipiente de reacción. Se cataliza mediante el conjugado de anticuerpos anti-PSA (ratón) y fosfatasa alcalina en el inmunoconjunto retenido en la micropartícula. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativa (RLU) mediante un fotomultiplicador integrado en el sistema. La cantidad de PSA libre presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativa (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de PSA libre se puede determinar mediante una curva de calibración.

Componentes del reactivo

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-PSA libre monoclonal (ratón) en tampón de TRIS con conservador.
Rb	Conjugado de anti-PSA anti-LH (ratón) y fosfatasa monoclonal en tampón de PBS con conservador.

La posición de los componentes del reactivo se muestra en la siguiente figura (vista frontal a la izquierda y vista superior a la derecha):



Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos de FPSA (CLIA) sin abrir se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

El kit de reactivos de FPSA (CLIA) se puede almacenar en el dispositivo y utilizar durante un máximo de 28 días después de la apertura a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización

Rb: Listo para su utilización

Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray.

N.º cat. FPSA211: calibradores de PSA libre de Mindray, 1×2,0 ml para cada calibrador C0, C1 y C2.

N.º cat. TML311/TML312/TML313/TML314: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 6×5,0 ml/12×5,0 ml/1×5,0 ml/3×5,0 ml.

N.º cat. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray, 6×5,0 ml/12×5,0 ml/1×5,0 ml/3×5,0 ml.

N.º cat. TML321/TML322/TML323/TML324: multicontrol de marcadores tumorales (L) de Mindray, 1×5,0 ml/3×5,0 ml/6×5,0 ml/12×5,0 ml.

N.º cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray, 1×5,0 ml/3×5,0 ml/6×5,0 ml/12×5,0 ml.

N.º cat. WB411: tampón de lavado de Mindray, 1 × 10 l.

N.º cat. CS511/CS512: solución de sustrato de

Mindray, 4×115 ml/4×75 ml.

Recipientes de reacción de Mindray.

Instrumento aplicable

Analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray.

Toma y preparación de muestras

Se recomienda el suero humano para este ensayo. Centrifugue las muestras después de que se complete la formación del coágulo. Transfiera los sobrenadantes a tubos para el almacenamiento o pruebas en un plazo de dos horas posteriores a la centrifugación.

Las muestras se deben probar tan pronto como sea posible tras la recogida de muestras. Si las pruebas no se completan en un plazo de 8 horas, las muestras se deben cerrar de forma hermética y refrigerar a entre 2 y 8 °C. Si las pruebas se van a posponer más de 72 horas, las muestras se deben congelar a un mínimo de -20 °C.

Evite los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento del ensayo

Para un rendimiento óptimo del ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para obtener suficiente información como instrucciones de funcionamiento, manejo y conservación de muestras, precauciones de seguridad y mantenimiento. Prepare también todos los materiales necesarios para el ensayo.

Antes de cargar el kit de reactivos de FPSA (CLIA) en la máquina por primera vez, se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir al menos 30 veces para volver a suspender las micropartículas asentadas durante el envío o el almacenamiento. Realice una inspección visual del frasco para garantizar que las micropartículas se han vuelto a suspender. Si las micropartículas siguen adheridas al frasco, siga invirtiéndolo hasta que se vuelvan a suspender por completo. Si las micropartículas no se pueden volver a suspender, no se recomienda el uso del frasco de reactivo. Póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda. No invierta un frasco de reactivos abierto.

El ensayo requiere 10 µl de muestra para una sola prueba. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras. A la hora de realizar pruebas adicionales de la misma muestra, es necesario un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y los requisitos específicos del ensayo para determinar el volumen mínimo de la muestra.

Calibración

El FPSA de la serie CL (CLIA) se ha estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de antígeno prostático específico libre (código NIBSC: 96/668).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de FPSA (CLIA) está almacenada en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se utiliza con calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, escanee primero la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema. A continuación, utilice los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de FPSA. Se recomienda una recalibración

cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del sistema.

Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración. La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los dos niveles recomendados de controles de calidad para este ensayo son multicontrol de marcadores tumorales (L) y multicontrol de marcadores tumorales (H) de Mindray.

Los resultados del control de calidad deben estar dentro de los intervalos aceptables. Si un control no se encuentra dentro del intervalo especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y las muestras se deben probar de nuevo. Es posible que sea necesaria una recalibración. Examine el sistema de ensayo. Para ello, consulte el manual de funcionamiento del sistema. Si los resultados del control de calidad aún no se encuentran dentro del intervalo especificado, póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de analitos de cada muestra en la curva de calibración principal leída del código de barras y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativa (RLU) generadas por calibradores de tres niveles de valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en ng/ml.

Factores de conversión: ng/ml × 1 = µg/L

Valores esperados

Un estudio exhaustivo de una población de 304 hombres sanos ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de FPSA de la serie CL.

Categoría	N	límite superior del 95% intervalo central
Varón	304	1,0 ng/ml

Debido a la variación de geografía, etnia, sexo y edad, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitación

El límite superior del ensayo es de 30 ng. Las muestras con una concentración de PSA libre inferior al límite superior se pueden determinar de forma cuantitativa, mientras que las muestras con una concentración superior al límite superior se indicarán como >30 ng/ml.

La concentración de PSA libre en una muestra concreta, determinada con ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Las muestras de personas expuestas a anticuerpos monoclonales de ratones pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits de ensayo que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo,

no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Características de desempeño

Sensibilidad analítica y límite de detección

El kit de reactivos de FPSA (CLIA) tiene una sensibilidad analítica de $\leq 0,01$ ng/ml. La sensibilidad analítica se define como la menor concentración de analitos que se puede diferenciar de una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de PSA libre en dos desviaciones estándar por encima de la RLU media de 20 mediciones de una muestra sin analitos.

Intervalo posible

El intervalo posible se define mediante la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo posible del kit de reactivos de FPSA (CLIA) es de 0,01 a 30 ng/ml.

Especificidad

Los niveles de hemoglobina de hasta 500 mg/dl, bilirrubina de hasta 20 mg/dl, triglicéridos de hasta 1500 mg/dl y proteínas totales de hasta 10,0 g/dl no interferirán en el ensayo de FPSA de la serie CL. Estas sustancias muestran menos del 10% de interferencias con la concentración indicada.

No se observaron interferencias evidentes del factor reumatoide de hasta 400 UI/ml ni del anticuerpo antinuclear de hasta 2000 UI/l.

Se llevaron a cabo pruebas de sustancias de interferencia en 10 fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10 % en el ensayo de FPSA de la serie CL con los niveles indicados a continuación.

Compuesto probado	de sustancia de interferencia Concentración
Acetato de leuporelina	100 µg/ml
Ciclofosfamida	700 µg/ml
Finasterida	370 ng/ml
Megestrol	2,4 mg/dl
Metopaterina	30 µg/ml
Flutamida	10 µg/ml
Clorhidrato de doxorubicina	16 µg/ml
Aspirina	0,5 mg/ml
Biotina	50 ng/ml
Diethyl oestrodione	2 µg/ml

El calibrador de PSA libre C0 de Mindray se complementó con otros marcadores tumorales, como alfafetoproteína (PSA), antígeno de cáncer 125 (CA 125), antígeno de cáncer 15-3 (CA 15-3), antígeno de carbohidrato 19-9 (CA 19-9), antígeno carcinoembrionario (CEA) y ferritina (FERR) con los niveles específicos indicados en la tabla siguiente. No se observó ninguna reactividad cruzada evidente ya que todos los resultados fueron $\leq 0,5$ ng. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Marcador tumoral	Concentración de Concentración	FPSA notificada o (ng/ml)	Criterios de aceptación
AFP	1000 ng/ml	0,00	FPSA

CA 125	1000 U/ml	0,00	notificado $\leq 0,5$ ng/ml
CA 15-3	100 U/ml	0,00	
CA 19-9	1000 U/ml	0,00	
CEA	1000 ng/ml	0,00	
FERR	1000 ng/ml	0,00	

Gancho a altas dosis

Para el ensayo de FPSA de la serie CL, no se observó ningún efecto gancho de alta dosis al examinar muestras con hasta aproximadamente 30 000 ng/ml de FPSA libre.

A continuación, se detallan los datos de rendimiento representativos sobre los analizadores CL-2000i. En relación con la precisión, se brindan los datos de rendimiento de CL-2000i y CL-1000i.

Precisión

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de antígeno prostático específico libre (código NIBSC: 96/668) con un valor definido y rastreable para comprobar la precisión del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	Valor de FPSA medido (ng/ml)	Valor de FPSA definido (ng/ml)	Desviación relativa
PSA LIBRE DE LA OMS	10,37	10,12	2,50%

Precisión

El ensayo de FPSA de la serie CL está diseñado para tener una precisión de $\leq 10\%$ (CV dentro del dispositivo). La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días. Se utilizó un lote de reactivos y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Datos de rendimiento de CL-2000i				
Muestra	FPSA medio (ng/ml)	CV de la serie	CV entre las series	CV de la dispositivo
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%

Datos de rendimiento de CL-1000i				
Muestra	FPSA medio (ng/ml)	CV de la serie	CV entre las series	CV de la dispositivo
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Linealidad

Se mezcló una muestra con alta concentración de FPSA (aproximadamente 20 ng/ml) con una muestra con baja concentración ($<0,01$ ng/ml) con distintas proporciones, generando una serie de diluciones. El PSA libre de cada dilución se determinó mediante el ensayo de FPSA de la serie CL de Mindray. La linealidad se demostró en el intervalo de 0,01 ng/ml a 20 ng/ml,

el coeficiente de correlación r es $\geq 0,9900$. Los datos de linealidad se resumen en la tabla siguiente.

Concentración (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
FPSA esperado	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
FPSA medido	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Comparación de métodos

El ensayo de FPSA de la serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible en el mercado en un estudio de correlación con aproximadamente 40 muestras. Los datos estadísticos obtenidos mediante el modo informático de Deming se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/ml)	Pendiente	Intercepto	Coefficiente de correlación
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Advertencias y precauciones

1. Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
2. Respete las normas de utilización de reactivos de laboratorio y tome las medidas de seguridad necesarias.



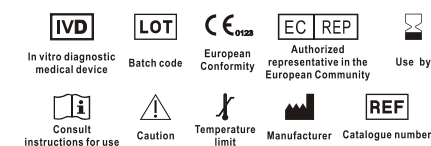
Advertencia: Podría causar una reacción

alérgica en la piel. Evite respirar el polvo, los humos, los gases, el rocío, los vapores y las pulverizaciones. Las ropas de trabajo contaminadas no deben salir del lugar de trabajo. Debe usar guantes protectores, ropa de protección, protección ocular, protección para el rostro. SI ENTRA EN CONTACTO CON LA PIEL: Lave con abundante agua. Si se presenta irritación o erupción en la piel: Busque atención médica. Quite la ropa contaminada y lávela antes de volver a usarla.

3. Debido a las diferencias de metodología y especificidad de anticuerpos, los resultados de las pruebas de la misma muestra pueden diferir al utilizar kits de reactivos de distintos fabricantes en el sistema de Mindray o al utilizar kits de reactivos de Mindray en otros sistemas.
4. No utilice kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
5. No utilice reactivos mezclados de distintos lotes de reactivos.
6. Mantenga el kit de reactivos en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
7. No se recomienda el uso de un kit de reactivos que haya estado abierto durante más de 28 días.
8. La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones del prospecto.
9. Todas las muestras y residuos de reacción se deben considerar como potencialmente infecciosos. La manipulación de muestras y residuos de reactivos deben realizarse de acuerdo con las normativas y directrices
10. La hoja de datos de seguridad de los materiales

(MSDS) está disponible bajo petición.

Símbolos gráficos



Referencias

1. Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. Ann Med, 1994, 26(3):157-164.
2. Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. Clin Lab Invest Suppl, 1995, 221: 32-34.
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, 194(3): 755-763.
4. Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. Clin Chem, 1993, 39(2):181-195.
5. McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. Urology, 1995, 45(5): 729-744.
6. Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. Clin Chem, 1993, 39(12):2483-2491.
7. Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. Clin Chem, 1995, 41(11):1567-1573.
8. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. Clin Chem, 1991, 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Reservados todos los derechos.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 R.P. China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Sitio web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representante de la CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Alemania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

FPSA

Antigene prostatico specifico libero (CLIA)

Informazioni per gli ordini

Numero di catalogo	Confezione
FPSA111	Testes 2x50
FPSA112	Testes 2x100

Uso previsto

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) è un immunodosaggio chemiluminescente (CLIA) per la determinazione quantitativa dell'antigene prostatico specifico libero (PSA libero, FPSA) nel siero umano.

Il dosaggio di FPSA eseguito con gli analizzatori serie CL può essere utilizzato unitamente al dosaggio del t-PSA come ausilio per la distinzione tra cancro alla prostata e condizioni prostatiche benigne. Per la diagnosi del cancro alla prostata è necessario eseguire una biopsia prostatica.

Riassunto e Spiegazione del Test

Il cancro alla prostata è una delle forme tumorali più comuni negli uomini. L'individuazione precoce è molto importante per il trattamento medico dei pazienti affetti da tumore prostatico e richiede un test semplice, sicuro ed economico per la patologia^{1,2,3}. L'antigene prostatico specifico (PSA) è una glicoproteina a catena singola prodotta dall'epitelio ghiandolare della prostata. Viene secreto nel liquido seminale ad alte concentrazioni². PSA è una proteasi a serina con attività simile a quella della chimotripsina. Una delle funzioni principali del PSA è la segmentazione proteolitica delle proteine I e II che formano gel nel liquido seminale, provocando la liquefazione del gel seminale e aumentando la motilità dello sperma. Solitamente la concentrazione di PSA nello sperma è alta, mentre la concentrazione nel siero è molto bassa⁴. Un aumento dei livelli di PSA nel siero è associato a condizioni patologiche della prostata (es. prostatite, iperplasia prostatica benigna o cancro della prostata).

Il PSA esiste in tre forme principali nel sangue: PSA libero, PSA complessato con l'inibitore della proteasi a serina, alfa-1-antichimotripsina (PSA-ACT) e PSA complessato con alfa-2-macroglobulina che non innesca alcuna risposta immunitaria^{5,6,7}. Solo il PSA libero e il PSA-ACT sono rilevabili con l'immunodosaggio corrente e sono definiti nel complesso come PSA totale⁸. In genere, il rapporto tra PSA libero/PSA totale nel siero è inversamente proporzionale alla probabilità di patologie a carico della prostata negli uomini^{7, 8}.

Principio del dosaggio

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) è un dosaggio sandwich a due siti che consente di determinare il livello di PSA libero.

Nella prima fase vengono aggiunti nella cuvetta di reazione il campione, una microparticella paramagnetica rivestita con anticorpo monoclonale anti-PSA libero (topo) e l'anticorpo monoclonale anti-PSA (topo) coniugato con fosfatasi alcalina. Dopo l'incubazione, il PSA libero presente nel campione si lega sia alle microparticelle rivestite con anticorpo anti-PSA sia all'anticorpo anti-PSA coniugato con fosfatasi alcalina per formare un complesso sandwich. La microparticella viene

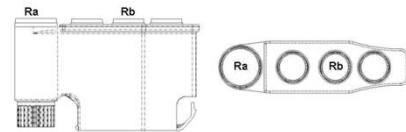
catturata magneticamente, mentre le altre sostanze non legate sono rimosse mediante lavaggio.

Nella seconda fase, nella cuvetta di reazione viene aggiunta la soluzione substrato. Questa viene catalizzata dall'anticorpo anti-PSA (topo) coniugato con fosfatasi alcalina nell'immunocomplesso trattenuto sulla microparticella. La reazione chemiluminescente risultante viene misurata come unità relative di luce (RLU) da un fotomoltiplicatore integrato nel sistema. La quantità di PSA libero presente nel campione è proporzionale alle unità relative di luce (RLU) generate durante la reazione. La concentrazione di PSA libero può essere determinata tramite una curva di calibrazione.

Componenti del kit

Ra	Microparticelle paramagnetiche rivestite con anticorpo monoclonale anti-PSA libero (topo) in tampone TRIS con conservante.
Rb	Anticorpo anti-PSA monoclonale (topo) coniugato con fosfatasi alcalina in tampone PBS con conservante.

La posizione di ciascun componente del reagente è illustrata nella figura di seguito (vista frontale a sinistra e vista dall'alto a destra):



Conservazione e stabilità

Il kit di reagenti FPSA (CLIA) sigillato è stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato a 2-8 °C.

Il kit di reagenti FPSA (CLIA) può essere conservato a bordo e utilizzato per un massimo di 28 giorni dopo l'apertura se conservato a 2-8 °C.

Preparazione del reagente

Ra: Pronto all'uso

Rb: Pronto all'uso

Materiali necessari ma non forniti

Analizzatore per immunodosaggio chemiluminescenti serie CL Mindray

Mindray FPSACalibrators N. cat. FPSA211: 1x2,0 ml per ciascun calibratore C0, C1 e C2.

Mindray Tumor Marker Multi Control (L) N. cat. TML311/TML312/TML313/TML314: 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.

Mindray Tumor Marker Multi Control (H) N. cat. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: 6x5,0 ml/12x5,0 ml/1x5,0 ml/3x5,0 ml.

Mindray Tumor Marker Multi Control (L) N. cat. TML321/TML322/TML323/TML324: 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/ 12x5,0 ml.

Mindray Tumor Marker Multi Control (H) N. cat. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: 1x5,0 ml/3x5,0 ml/6x5,0 ml/12x5,0 ml.

Tampone di lavaggio Mindray, 1x10 L, N. cat. WB411.

Soluzione substrato Mindray, N. cat. CS511/CS512. 4x115 mL/4x75 mL

Mindray Reaction Vessels.

Strumento applicabile

Analizzatore per immunodosaggio chemiluminescenti Mindray serie CL.

Prelievo e preparazione del campione

Per questo dosaggio è consigliato siero umano. Centrifugare i campioni una volta formatosi il coagulo. Trasferire i surnatanti in provette per la conservazione o il test entro due ore dalla centrifuga.

I campioni devono essere testati il prima possibile una volta effettuata il prelievo. Se l'analisi non viene eseguita entro 8 ore, i campioni devono essere chiusi ermeticamente e refrigerati a 2-8 °C. Se l'analisi viene ritardata per più di 72 ore, congelare i campioni a -20 °C o a temperatura inferiore.

Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.

Procedura del dosaggio

Per prestazioni ottimali di questo dosaggio, gli operatori dovranno leggere attentamente il relativo manuale operativo del sistema per ottenere sufficienti informazioni quali istruzioni d'uso, gestione e conservazione del campione, precauzioni di sicurezza e manutenzione. Preparare inoltre tutti i materiali necessari per il dosaggio.

Prima di caricare per la prima volta il kit MINDRAY FPSA (CLIA) sull'analizzatore, è necessario capovolgere delicatamente la confezione di reagente sigillato per almeno 30 volte, in modo da risospendere le microparticelle depositatesi durante la spedizione o la conservazione. Ispezionare visivamente il flacone per assicurarsi che le particelle siano nuovamente in sospensione. Se le microparticelle rimangono attaccate al flacone, continuare a capovolgerlo finché le microparticelle non sono di nuovo completamente in sospensione. Se non è possibile risospendere le microparticelle, si consiglia di non utilizzare questo flacone di reagente. Contattare il servizio clienti Medical Systems per ricevere assistenza. Non capovolgere il flacone di reagente aperto.

Questo dosaggio richiede 10 µl di campione per un singolo test. Tale volume non comprende il volume morto della provetta. Quando si eseguono ulteriori test sullo stesso campione, è necessario un volume supplementare. Gli operatori sono tenuti a fare riferimento al manuale operativo del sistema e ai requisiti specifici del dosaggio per stabilire il volume minimo di campione necessario.

Calibrazione

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) è stato standardizzato rispetto allo standard internazionale OMS per l'antigene prostatico specifico libero (codice NIBSC: 96/668).

Le informazioni specifiche relative alla curva master di calibrazione del kit FPSA (CLIA) sono memorizzate nel codice a barre bidimensionale sulla confezione. Viene utilizzata insieme ai calibratori per la calibrazione del lotto di reagenti specifico. Prima di eseguire la calibrazione, effettuare una scansione delle informazioni relative alla curva master contenute nel codice a barre e successivamente utilizzare i tre livelli di calibratori. Prima di eseguire i test FPSA sui campioni è richiesta una curva di calibrazione valida. Si consiglia la ricalibrazione ogni 4 settimane, oppure quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti o quando i controlli di qualità non rientrano nell'intervallo atteso. Per istruzioni dettagliate sulla calibrazione, consultare il manuale operativo del sistema.

Controllo di qualità

È consigliabile che i controlli qualità vengano effettuati almeno una volta ogni 24 ore se i test sono in uso o a seguito di ogni calibrazione. La frequenza dei controlli qualità deve essere adattata alle esigenze specifiche di ciascun laboratorio. I due livelli di controllo consigliati per questo dosaggio sono Mindray TumorMarker Multi Control (L) e Mindray TumorMarker Multi Control (H).

I risultati del controllo di qualità devono rientrare negli intervalli accettabili. Se un controllo non rientra nel suo intervallo atteso, i risultati dei test associati non sono validi e il campione deve essere nuovamente testato. Può essere richiesta la ricalibrazione. Esaminare i risultati facendo riferimento al manuale operativo del sistema. Se i risultati del controllo qualità non rientrano ancora nell'intervallo specificato, contattare il Customer Service Medical Systems per ricevere assistenza.

Calcolo dei Risultati

L'analizzatore calcola automaticamente la concentrazione di analita di ciascun campione sulla curva master di calibrazione letta dal codice a barre; la master curve è adattata utilizzando un modello logistico a 4 parametri (4PLC) con le Relative Light Unit (RLU) generate dai calibratori a tre livelli dai valori di concentrazione definiti. I risultati sono riportati in ng/ml.

Fattori di conversione: ng/ml x 1 = µg/l

Valori attesi

L'intervallo di riferimento del test Mindray FPSA è stato determinato mediante uno studio su una popolazione 304 soggetti maschi sani.

Categoria	N	Limite superiore dell'intervallo centrale al 95% percentile
Maschi	304	1,0 ng/ml

A causa della variazione in termini di area geografica, razza, sesso ed età, si consiglia vivamente a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di riferimento.

Limitazioni

Il limite superiore di questo dosaggio è 30 ng/ml. Un campione con una concentrazione di PSA libero inferiore al limite superiore può essere determinato in maniera quantitativa, mentre un campione con una concentrazione superiore al limite superiore sarà segnalato come >30 ng/ml.

La concentrazione di PSA libero in un dato campione, determinata mediante dosaggi di diversi produttori, può variare a causa delle differenze a livello di metodi di dosaggio, calibrazione e specificità del reagente. I risultati del dosaggio vanno utilizzati insieme ad altri dati, quali sintomi, risultati di altri test, anamnesi clinica, ecc.

I campioni estratti da individui esposti ad anticorpi monoclonali di topo possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali campioni possono fornire valori falsamente elevati o bassi con kit di dosaggio che utilizzano anticorpi monoclonali di topo. Tuttavia, non è stata osservata alcuna interferenza evidente di HAMA nel presente dosaggio.

Prestazioni del dosaggio

Sensibilità analitica/Limite di rilevanza

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) presenta una sensibilità analitica ≤ 0,01 ng/ml. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione minima di analita che può essere distinta da un campione che non

contiene analita. È definita come la concentrazione di PSA libero a due deviazioni standard superiori al valore RLU medio da 20 misurazioni di un campione privo di analita.

Range di calibrazione

Il range di calibrazione è definito dalla sensibilità analitica e dal limite superiore della curva di calibrazione master. Il range di calibrazione del kit MINDRAY FPSA (CLIA) è 0,01-30 ng/ml.

Specificità

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) non subirà interferenze per valori di emoglobina fino a 500 mg/dl, bilirubina fino a 20 mg/dl, trigliceridi fino a 1500 mg/dl e proteina totale fino a 10,0 g/dl. Tali sostanze mostrano interferenze inferiori al 10% alla concentrazione indicata.

Non è stata osservata alcuna interferenza per concentrazioni di fattore reumatoide fino a 400 IU/ml o di anticorpo antinucleare fino a 2000 U/l.

Sono stati effettuati test delle sostanze interferenti su 10 farmaci di uso comune. Questi composti hanno dimostrato un'interferenza inferiore al 10% nei dosaggi di FPSA serie CL ai livelli riportati di seguito.

Sostanza di interferenza	Concentrazione
Leuprorelina acetato	100 µg/ml
Ciclofosfamide	700 µg/ml
Finasteride	370 ng/ml
Megestrololo	2,4 mg/dl
Metopterina	30 µg/ml
Flutamida	10 µg/ml
Doxorubicina cloridrato	16 µg/ml
Aspirina	0,5 mg/ml
Biotina	50 ng/ml
Dietil oestrodieni	2 µg/ml

Il calibratore C0 del kit MINDRAY FPSA è stato integrato con altri marcatori tumorali, ad esempio alfa-fetoproteina (AFP), antigene tumorale CA125 (CA125), antigene tumorale CA15-3 (CA15-3), antigene carboidratico CA19-9 (CA19-9), antigene carcino-embriionario (CEA) e ferritina (FERR), ai livelli specifici indicati nella tabella che segue. Non è stata osservata alcuna reattività crociata evidente, visto che tutti i risultati sono stati $\leq 0,5$ ng/ml. I risultati sono riportati nella tabella che segue.

Marcatore Tumorale	Cross-reagente Concentrazione	FPSA osservato (ng/ml)	Criteri di Accettazione
AFP	1000 ng/ml	0,00	FPSA osservato $\leq 0,5$ ng/ml
CA125	1000 U/ml	0,00	
CA15-3	100 U/ml	0,00	
CA19-9	1000 U/ml	0,00	
CEA	1000 ng/ml	0,00	
FERR	1000 ng/ml	0,00	

Effetto gancio a dose elevata

Per il kit MINDRAY FPSA (CLIA), non sono stati osservati effetti gancio a dose elevata durante il dosaggio di campioni contenenti fino a circa 30.000 ng/ml di PSA libero.

Di seguito sono riportate le informazioni di rendimento rappresentative relative agli

analizzatori CL-2000i. Per una maggiore precisione, vengono riportate le informazioni di rendimento relative a entrambi i modelli CL-2000i e CL-1000i.

Accuratezza

Un campione di antigene prostatico specifico libero conforme allo standard internazionale OMS (codice NIBSC: 96/668) con valore tracciabile e definito per verificare l'accuratezza di questo dosaggio. I risultati hanno dimostrato che la deviazione relativa era inferiore a $\pm 10\%$. I risultati sono elencati nella tabella di seguito.

Campione	Valore di FPSA osservato (ng/ml)	Valore di FPSA atteso (ng/ml)	Deviazione relativa
PSA LIBERO OMS	10,37	10,12	2,50%

Precisione

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) è studiato per garantire una precisione $\leq 10\%$ (CV intra-dispositivo). La precisione è stata determinata seguendo il protocollo EP5-A2 del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). I due livelli di controlli qualitativi sono stati testati in duplicato in due cicli separati al giorno, per un totale di 20 giorni, utilizzando un singolo lotto di reagenti e una singola curva di calibrazione. I dati sulla precisione sono riepilogati nella tabella di seguito.

Informazioni di rendimento per il modello CL-2000i				
Campione	FPSA medio (ng/ml)	CV intra-serie	CV inter-serie	CV inter-dispositivo
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%

Informazioni di rendimento per il modello CL-1000i				
Campione	FPSA medio (ng/ml)	CV intra-serie	CV inter-serie	CV inter-dispositivo
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Linearità

Un campione di FPSA ad alta concentrazione (circa 20 ng/ml) è stato miscelato con un campione a bassa concentrazione ($< 0,01$ ng/ml) con rapporti diversi per generare una serie di diluizioni. Il PSA libero di ogni diluizione è stato determinato utilizzando il kit MINDRAY FPSA (CLIA). La linearità è stata dimostrata nell'intervallo da 0,01 ng/ml a 20 ng/ml. Il coefficiente di correlazione $r \geq 0,9900$. I dati sulla linearità

sono riepilogati nella tabella riportata di seguito.

Concentrazione (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
FPSA atteso	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
FPSA osservato	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Confronto tra metodi diversi

Il kit MINDRAY FPSA (CLIA) è stato confrontato con un kit diagnostico disponibile in commercio durante uno studio di correlazione con circa 40 campioni. I dati statistici ottenuti tramite il metodo di elaborazione Deming sono riportati nella tabella di seguito.

Intervallo di concentrazione (ng/ml)	Pendenza	Intercezione	Coefficiente di correlazione
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Precauzioni e avvertenze

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- Seguire tutte le regole riguardanti la manipolazione dei reagenti di laboratorio e adottare le necessarie precauzioni di sicurezza.



Avvertenza: Può provocare una reazione allergica cutanea.

- Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/aerosol. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare con abbondante acqua. In caso di irritazione o rash cutaneo: Rivolgersi a un medico. Togliere gli indumenti contaminati e lavare prima di riutilizzarli.
- A causa delle differenze nella metodologia e nella specificità dell'anticorpo, i risultati del test dello stesso campione possono essere differenti quando si utilizzano kit di reagenti di produttori diversi sul sistema Mindray, oppure quando si usano i kit di reagenti Mindray su altri sistemi.
- Non utilizzare i kit di reagenti dopo la data di scadenza.
- Non miscelare reagenti di lotti diversi.
- Mantenere sempre la confezione del reagente in posizione eretta per evitare la perdita di microparticelle prima dell'uso.
- Si consiglia di non utilizzare la confezione di reagente aperta oltre i 28 giorni.
- L'affidabilità dei risultati del dosaggio non può essere garantita se non si seguono le istruzioni del presente foglietto illustrativo.
- Tutti i campioni e i rifiuti della reazione sono da considerarsi come potenzialmente a rischio biologico. La manipolazione dei campioni e dei rifiuti della reazione deve avvenire in conformità alle normative e linee guida locali.
- La scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) è disponibile su richiesta.

Simboli



IVD - Dispositivo diagnostico in vitro Direttiva 98/79/CE

LOT - N. di Lotto

CE - Marcatura CE

EC-REP - Rappresentante Autorizzato

Use By - Scadenza

Consult Instructions for Use - Leggere le istruzioni per l'uso

Caution - Attenzione

Temperature Limit - Temperatura di conservazione

Manufacturer - Fabbricante

Catalogue Number - Codice Prodotto

Riferimenti Bibliografici

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. *Ann Med*, 1994, 26(3):157-164.
- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 221: 32-34.
- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. *Eur J Biochem*, 1990, 194(3): 755-763.
- Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem*, 1993, 39(2):181-195.
- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 1995, 45(5): 729-744.
- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 1993, 39(12):2483-2491.
- Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. *Clin Chem*, 1995, 41(11):1567-1573.
- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. *Clin Chem*, 1991, 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tutti i diritti riservati

Produttore: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Indirizzo: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, Cina.

Indirizzo e-mail: service@mindray.com

Sito Web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Rappresentante CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Indirizzo: Eiffstraße 80, Amburgo 20537, Germania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

FPSA

Serbest Prostat Spesifik Antijen (CLIA)

Sipariş Bilgileri

Katalog No.	Ambalaj Boyutu
FPSA111	2x50 test
FPSA112	2x100 test

Kullanım Amacı

CL Serisi FPSA tayini, insan serumunda kantitatif serbest prostat spesifik antijen (Serbest PSA, FPSA) tayinine yönelik bir Kemilüminesans İmmünokimya Tayinidir (CLIA).

CL serisi FPSA tayini, prostat kanserini iyi huylu prostatik durumlardan ayırt etmede yardımcı olması için t-PSA ile kullanılabilir. Prostat kanserinin tanısı için prostat biyopsisi gereklidir.

Özet

Prostat kanseri erkeklerde en yaygın kanser türlerinden biridir. Prostat kanseri hastalarının tıbbi tedavisi için erken teşhis çok önemlidir ve bunun için basit, güvenli ve ucuz bir hastalık testi gerekir.^{1, 2, 3} Prostat Spesifik Antijen (PSA), prostat bezinin glanduler epitelinde üretilen tek zincirli bir glikoproteindir. Semene yüksek bir konsantrasyonda salgılanır.² PSA bir serin proteaz olup, kimotripsin benzeri aktiviteye sahiptir. PSA'nın başlıca bir fonksiyonu semen içindeki jel oluşturucu I ve II proteinlerinin proteolitik klevaji sonucunda seminal jeli sıvılaştırması ve sperm hareketliliğini artırmasıdır. Normalde menideki PSA konsantrasyonu yüksektir, ancak serumdaki konsantrasyonu çok düşüktür.⁴ Artan serum PSA seviyeleri patolojik prostat koşulları ile ilişkilidir (örn., Prostatit, İyi Huylu Prostatik Hipertrofi veya Prostat Kanseri).

PSA kanda başlıca üç formda mevcuttur: Serbest PSA, Serin proteaz inhibitörü alfa-1-antikimotripsin ile kompleks oluşturmuş PSA (PSA-ACT) ve immün reaksiyonu olmayan alfa-2-makroglobulin ile kompleks oluşturmuş PSA.^{5, 6, 7} Mevcut immünojenik tayinde yalnızca serbest PSA ve PSA-ACT saptanabilir ve birlikte total PSA olarak tanımlanırlar.⁸ Genel olarak, serum PSA/total PSA oranı düştükçe, erkeklerde prostat hastalıklarının olasılığı artar.^{7, 8}

Tayin Prensipleri

CL Serisi FPSA tayini, serbest PSA seviyesini belirlemeye yönelik iki bölgeyi bir sandviç tayindir.

İlk adımda numune, monoklonal anti-serbest PSA antikoruna (fare) ile kaplı paramanyetik mikro partikül ve monoklonal anti-PSA antikoruna (fare) - alkalik fosfatase konjugatı bir reaksiyon kabına eklenir. İnkübasyondan sonra numunedeki serbest PSA hem anti-PSA antikoruna kaplı mikro partiküle hem de anti-PSA antikoruna alkalik fosfatase etiketli konjugata bağlanarak bir sandviç kompleks oluşturur. Mikro partikül manyetik olarak yakalanırken, diğer bağlı olmayan maddeler yıkamayla uzaklaştırılır.

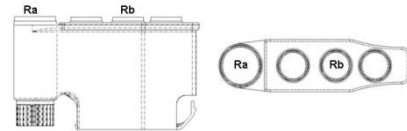
İkinci adımda, substrat çözeltisi reaksiyon kabına ilave edilir. Mikro partikülde tutulan

immünokomplekste anti-PSA antikoruna (fare) - alkalik fosfatase konjugatı ile katalize edilir. Ortaya çıkan kemilüminesans reaksiyonu, sisteme entegre edilmiş bir fotomultiplikatör ile bağlı ışık birimleri (RLU) olarak ölçülür. Numune içinde bulunan serbest PSA miktarı, reaksiyon sırasında üretilen bağlı ışık birimleri (RLU) ile orantılıdır. Serbest PSA konsantrasyonu bir kalibrasyon eğrisi aracılığıyla belirlenebilir.

Reaktif Bileşenleri

Ra	Monoklonal anti-serbest PSA antikoruna (fare) ile kaplı paramanyetik mikro partiküller; TRIS tamponu içinde (koruyucu içeren).
Rb	Monoklonal anti-PSA antikoruna (fare) - alkalik fosfatase konjugatı; koruyucu içeren PBS tamponu içinde.

Her bir reaktif bileşenin pozisyonu aşağıdaki şekilde gösterilmektedir (solda önden görünüm ve sağda üstten görünüm):



Saklama ve Stabilite

Açılmamış FPSA (CLIA) reaktif kiti, 2-8°C'de saklandığında belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. FPSA (CLIA) reaktif kiti cihaz üzerinde saklanabilir ve açıldıktan sonra 2-8°C'de en fazla 28 gün süreyle kullanılabilir.

Reaktiflerin Hazırlanması

Ra: Kullanıma hazır;

Rb: Kullanıma hazır

Gereken Fakat Temin Edilmeyen Malzemeler

CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin Analizörü.

Kat. No. FPSA211: Mindray Serbest PSA Kalibratörleri, her bir kalibratör C0, C1 ve C2 için 1x2,0 mL.

Kat. No. TML311/TML312/TML313/TML314: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

Kat. No. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL/1x5,0 mL/3x5,0 mL.

Kat. No. TML321/TML322/TML323/TML324: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

Kat. No. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324: Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL/6x5,0 mL/12x5,0 mL.

Kat. No. WB411: Mindray Yıkama Tamponu, 1x10 L.

Kat. No. CS511/CS512: Mindray Substrat Solusyonu, 4x115 mL/4x75 mL.

Mindray Reaksiyon Kapları.

Uygulanabilir Cihaz

Mindray CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin

Analizörü.

Numune Alma ve Hazırlama

Bu tayin için insan serumu önerilir. Pıhtı oluşumu tamamlandıktan sonra numuneleri santrifüje tabi tutun. Üst fazları saklamak üzere tüplere aktarın veya santrifüjden sonra iki saat içinde test edin.

Örnekler, numune alındıktan sonra en kısa sürede test edilmelidir. Test işlemi 8 saat içinde tamamlanmazsa, numunelerin kapağı sıkıca kapatılmalı ve 2-8°C'de soğutulmalıdır. Test 72 saatten uzun süreyle ertelenenirse, numuneler -20°C veya daha düşük bir sıcaklıkta dondurulmalıdır.

Tekrarlı dondurma ve çözme döngülerinden kaçınılmalıdır.

Tayin Prosedürü

Bu tayinin optimal performansı için, operatörler ilgili sistem kullanım kılavuzunu dikkatle okuyarak kullanım talimatları, numunenin muhafazası ve yönetim, güvenlik tedbir ve bakım gibi konularda yeterli bilgi edinmelidir. Tayin için gerekli tüm malzemeleri de hazırlayın.

FPSA (CLIA) reaktif kitini makineye ilk kez yüklemeye önce, açılmamış reaktif şişesi en az 30 kez nazıke baş aşağı çevirilerek, nakliye veya saklama sırasında çöken mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilmelidir. Şişeyi görsel olarak incelemek suretiyle mikro partiküllerin yeniden süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Mikro partiküller şişeye yapışmış halde kalıyorsa, mikro partiküller tümüyle yeniden süspansiyon haline gelinceye kadar baş aşağı çevirmeye devam edin. Mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilemiyorsa, bu reaktif şişesinin kullanılmaması önerilir.

Yardım için Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin. Açık bir reaktif şişesini baş aşağı çevirmeyin.

Bu tayinde, tek bir test için 10 µL numune gerekir.

Bu hacim, numune kabının ölü hacmini içermez. Aynı numunedeki ek testler yaparken ilave hacim gerekir. Operatörler, minimum numune hacmini belirlemek için sistem kullanım kılavuzuna ve tayine özgü gereksinimlere başvurmalıdır.

Kalibrasyon

CL Serisi FPSA (CLIA), WHO Uluslararası Standardı Prostat Spesifik Antijen Serbest'e karşı standardize edilmiştir (NIBSC kodu: 96/668).

FPSA (CLIA) reaktif kitinin ana kalibrasyon eğrisine ilişkin spesifik bilgiler reaktif paketinde takılı iki boyutlu barkodda saklanır. Spesifik reaktif lotunun kalibrasyonu için kalibratörler ile birlikte kullanılır. Kalibrasyonu yaparken, önce barkoddaki ana kalibrasyon eğrisi bilgilerini tarayarak sisteme aktarın ve sonra kalibratörleri üç seviyede kullanın. Herhangi bir FPSA testinden önce geçerli kalibrasyon eğrisi gerekir. Her 4 haftada bir veya yeni bir reaktif lotu kullanılırken ya da kalite kontrolleri belirtilen aralık dışında olduğunda yeniden kalibrasyon önerilir. Kalibrasyonla ilgili ayrıntılı talimatlar için sistem kullanım kılavuzuna

başvurun.

Kalite Kontrolü

Testler kullanımda 24 saatte bir ya da her kalibrasyon işlemi sonrasında kalite kontrolleri yapılması önerilir. Kalite kontrol sıklığı, her laboratuvarın kendi gereksinimlerine göre uyarlanmalıdır. Bu tayin için önerilen iki kalite kontrolü seviyesi Mindray Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (L) ve Tümör Belirteci Çoklu Analit Kontrolü (H)'dir.

Kalite kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıklar dahilinde olmalıdır. Bir kontrol belirtilen aralığının dışındaysa, ilişkili test sonuçları geçersiz olur ve numunelerin yeniden test edilmesi gerekir. Yeniden kalibrasyon yapılması gerekebilir. Sistem kullanım kılavuzuna başvurarak tayin sistemini muayene edin. Kalite kontrol sonuçları halen belirtilen aralık dışındaysa, yardım için lütfen Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin.

Hesaplama

Analizör, barkoddan okunan ana kalibrasyon eğrisi üzerinde her bir numunenin analit konsantrasyonu ve 4 Parametrelili Lojistik Eğri Uydurmayı (4PLC) (tanımlı konsantrasyon değerlerinin üç seviye kalibratörden oluşturulan bağlı ışık birimleri (RLU) ile) otomatik olarak hesaplar. Sonuçlar ng/mL birimi cinsinden gösterilir.

Dönüştürme faktörleri: ng/mL x 1 = µg/L

Beklenen değerler

304 sağlıklı erkekten oluşan topluluk üzerinde yapılan kapsamlı bir çalışma CL Serisi FPSA tayininin referans aralığını belirlemiştir.

Kategori	N	%95 merkezi aralığının üst sınırı
Erkek	304	1,0 ng/mL

Coğrafya, ırk, cinsiyet ve yaş varyasyonu nedeniyle, her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi önerilir.

Kısıtlama

Bu tayinin üst limiti 30 ng/mL'dir. Üst limitten daha düşük bir serbest PSA konsantrasyonuna sahip numune kantitatif olarak belirlenebilirken, üst limitin üzerinde bir konsantrasyona sahip numune >30 ng/mL olarak rapor edilir.

Belirli bir numunenin farklı üreticilere ait tayinlerle belirlenen serbest PSA konsantrasyonu, tayin yöntemleri, kalibrasyon ve reaktif özgünlüğündeki farklılıklara bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Tayin sonuçları diğer verilerle (septomalar, diğer testlerin sonuçları, klinik hikaye vs.) birlikte değerlendirilmelidir.

Fare monoklonal antikorlarına maruz kalan bireylerden alınan numuneler insan anti-fare antikorları (HAMA) içerebilir. Bu tür numuneler, fare monoklonal antikorlarının kullanıldığı tayin kiti üzerinde yanlış olarak yüksek veya baskılanmış değerler gösterebilir. Bununla birlikte, bu tayinde belirgin bir HAMA interferansı gözlenmemiştir.

Performans Özellikleri

Analitik Duyarlılık/Saptama Limiti

FPSA (CLIA) reaktif kitinin analitik duyarlılığı $\leq 0,01$ ng/mL'dir. Analitik duyarlılık, hiç analit içermeyen bir numuneden ayırt edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanır. Analit içermeyen bir numunenin 20 ölçümünden elde edilen ortalama RLU değerinin üzerine çıkan iki standart sapmadaki Serbest PSA konsantrasyonu olarak tanımlanır.

Rapor Edilebilir Aralık

Rapor edilebilir aralık, ana kalibrasyon eğrisinin üst limiti ve analitik duyarlılık ile tanımlanır. FPSA (CLIA) reaktif kitinin rapor edilebilir aralığı 0,01-30 ng/mL'dir.

Özgünlük

500 mg/dL'ye kadar hemoglobin, 20 mg/dL'ye kadar bilirubin, 1500 mg/dL'ye kadar trigliseridler ve total protein de 10,0 g/dL'ye kadar CL Serisi FPSA tayinine etki etmez. Bu maddeler, belirtilen konsantrasyonda %10'dan az interferans göstermektedir.

400 IU/mL'ye kadar romatoid faktörden veya 2000 U/L'ye kadar antinükleer antikordan kaynaklanan belgin bir interferans gözlenmemiştir.

Yaygın olarak kullanılan 10 farmasötik üzerinde interferans madde testleri yapılmıştır. CL Serisi FPSA tayininde bu bileşimler, aşağıda belirtilen seviyelerde %10'dan az interferans göstermiştir.

Test Edilen Bileşik	İnterferans Madde Konsantrasyon
Löprorelin asetat	100 µg/mL
Siklofosfamid	700 µg/mL
Finasterid	370 ng/mL
Megestrol	2,4 mg/dL
Metoprolin	30 µg/mL
Flutamid	10 µg/mL
Doksorubisin hidroklorür	16 µg/mL
Aspirin	0,5 mg/mL
Biotin	50 ng/mL
Dietil östrodien	2 µg/mL

Mindray Serbest PSA Kalibratör C0, aşağıdaki tabloda belirtilen spesifik seviyelerde alfa-fetoprotein (AFP), kanser antijeni 125 (CA125), kanser antijeni 15-3 (CA15-3), karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9), karsinembriyonik antijen (CEA) ve ferritin (FERR) gibi diğer tümör belirteçleri ile takviye edilmiştir. Tüm sonuçlar şu değerlerde olduğundan belirgin bir çapraz reaktivite gözlenmemiştir: $\leq 0,5$ ng/mL. Sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmektedir.

Tümör Belirteci	Çapraz Reaktan Konsantrasyon	Rapor Edilen FPSA (ng/mL)	Kabul Kriterleri
AFP	1000 ng/mL	0,00	Rapor Edilen FPSA $\leq 0,5$ ng/mL
CA125	1000 U/mL	0,00	
CA15-3	100 U/mL	0,00	
CA19-9	1000 U/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,00	

FERR	1000 ng/mL	0,00	

Yüksek Doz Hook

CL Serisi FPSA tayininde, yaklaşık 30,000 ng/mL'ye kadar serbest PSA içeren numunelere tayin uygulandığında yüksek doz kanca etkisi (hook etkisi) gözlenmemiştir.

CL-2000i analizörlerinde görülen temsili performans verileri aşağıda verilmiştir. Kesinliği sağlamak için hem CL-2000i hem de CL-1000i'de görülen performans verileri verilmiştir.

Doğruluk

Bir WHO Uluslararası Standardı numunesi Prostat Spesifik Antijen Serbest (NIBSC kodu: 96/668) izlenebilir ve tanımlı değeriyle, bu tayinin doğruluğunu teyit etmek için kullanılmıştır. Sonuçlar, bağıl sapmanın $\pm 10\%$ 'dan küçük olduğunu göstermiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda listelenmektedir.

Numune	Ölçülen FPSA Değeri (ng/mL)	Tanımlı FPSA Değeri (ng/mL)	Bağıl Sapma
WHO PSA. SERBEST	10,37	10,12	2,50%

Tekrarlanabilirlik

CL Serisi FPSA tayini, tekrarlanabilirliği $\leq 10\%$ (cihaz içi CV) olacak şekilde tasarlanmıştır. Tekrarlanabilirlik belirlenirken Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS) Protokol EP5-A2'ye uyulmuştur. İki kalite kontrolü seviyesi, tek bir reaktif lotu ve tek bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak, toplam 20 gün boyunca gün başına iki ayrı çalışmada iki kopya halinde test edilmiştir. Tekrarlanabilirlik verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

CL-2000i'de görülen performans verileri				
Numune	Ortalama FPSA (ng/mL)	Gün İçinde Çalışma CV	Günler Arası Çalışma CV	Cihazlar İçinde CV
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%

CL-1000i'de görülen performans verileri				
Numune	Ortalama FPSA (ng/mL)	Gün İçinde Çalışma CV	Günler Arası Çalışma CV	Cihazlar İçinde CV
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Doğrusallık

Yüksek konsantrasyonda bir FPSA numunesi (yaklaşık 20 ng/mL), düşük konsantrasyonda bir numune ($< 0,01$ ng/mL) ile farklı oranlarda karıştırılarak bir dizi dilüsyon üretilmiştir. Her bir dilüsyonun serbest PSA'sını belirlemek için Mindray CL Serisi FPSA Tayini kullanılmıştır. Doğrusallık 0,01 ng/mL ile 20 ng/mL aralığında gösterilmiş olup, korelasyon katsayısı $r \geq 0,9900$ 'dir. Doğrusallık verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

Konsantrasyon (ng/mL)	1	2	3	4	5	6
Beklenen FPSA	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
Ölçülen FPSA	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Yöntem Karşılaştırma

Mindray CL Serisi FPSA Tayini, yaklaşık 40 örneği içeren bir korelasyon çalışmasında piyasadan elde edilebilen bir tanı kitiyle karşılaştırılmıştır. Deming hesaplaması kullanılarak elde edilen istatistiksel veriler aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Konsantrasyon Aralığı (ng/mL)	Eğim	Kesen	Korelasyon Katsayısı
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Uyarı ve Önlemler

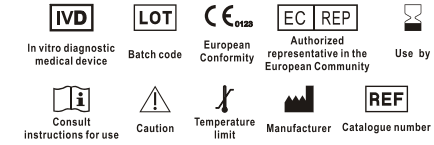
- Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.
- Laboratuvar reaktiflerinin muamelesinde tüm kurallara uyun ve gerekli güvenlik önlemlerini alın.



Uyarı: Alerjik deri reaksiyonuna neden

- olabilir.
Toz/duman/gaz/buğu/buhar/sprey solumaktan kaçının. Kirli iş kıyafetleri iş yerinin dışına çıkarılmamalıdır. Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruması/yüz koruması takın. DERİYLE TEMAS HALİNDE: Bol suyla yıkayın. Deride tahriş veya döküntü meydana gelirse: Doktora başvurun. Kirli kıyafetleri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın.
- Metodoloji ve antikor özgünlüğündeki farklılıklar nedeniyle, farklı üreticilerin reaktif kitleri Mindray sisteminde kullanıldığında veya Mindray reaktifleri başka sistemlerde kullanıldığında, aynı numunenin test sonuçları farklı olabilir.
 - Reaktif kitlerini, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
 - Farklı reaktif lotlarından karıştırılmış reaktifleri kullanmayın.
 - Kullanım öncesi hiçbir mikro partikül kaybedilmemesini sağlamak için reaktif paketini her zaman dik pozisyonda tutun.
 - 28 günden fazla açık kalmış reaktif paketinin kullanılmaması önerilir.
 - Bu prospektüsteki talimatlara uyulmadığı takdirde tayin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez.
 - Tüm numune ve reaksiyon atıkları potansiyel olarak biyolojik tehlikeli madde kabul edilmelidir. Numunelerin ve reaksiyon atıklarının muamelesi yerel düzenlemelere ve yönetmeliklere uygun olmalıdır.
 - Madde Güvenliği Veri Sayfası (MSDS) istek üzerine temin edilir.

Grafiksel Semboller



Referanslar

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. Ann Med, 1994, 26(3):157-164.
- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. Clin Lab Invest Suppl, 1995, 221: 32-34.
- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. Eur J Biochem, 1990, 194(3): 755-763.
- Armbuster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. Clin Chem, 1993, 39(2):181-195.
- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. Urology, 1995, 45(5): 729-744.
- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. Clin Chem, 1993, 39(12):2483-2491.
- Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. Clin Chem, 1995, 41(11):1567-1573.
- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. Clin Chem, 1991, 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tüm hakları saklıdır

Üretici: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adres: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 Çin

E-posta Adresi: service@mindray.com

Web sitesi: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Faks: +86-755-26582680

AT Temsilcisi: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Avrupa)

Adres: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Almanya

Tel: 0049-40-2513175

Faks: 0049-40-255726

FPSA

Antigène libre spécifique de la prostate (CLIA)

Conditionnement

N° de référence	Nombre de tests
FPSA111	2x50 tests
FPSA112	2x100 tests

Utilisation

Le dosage FPSA série CL est un dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative de l'antigène libre spécifique de la prostate (PSA libre, FPSA) dans le sérum humain.

Le dosage FPSA série CL peut être utilisé avec le dosage t-PSA pour aider à distinguer un cancer de la prostate de problèmes prostatiques bénins. Une biopsie de la prostate est nécessaire pour diagnostiquer un cancer de la prostate.

Résumé

Le cancer de la prostate est l'un des cancers les plus fréquents chez les hommes. Une détection précoce est très importante pour le traitement médical des patients atteints d'un cancer de la prostate ; cela nécessite en outre un test simple, sûr, et peu coûteux pour la maladie.^{1, 2, 3} L'antigène spécifique de la prostate (PSA) est une glycoprotéine à chaîne unique produite dans l'épithélium glandulaire de la prostate. Il est sécrété dans le liquide séminal à haute concentration.² Le PSA est une sérine protéase ayant une activité analogue à la chymotrypsine. Une fonction importante du PSA est le clivage protéolytique de protéines formant un gel I et II dans le liquide séminal, ce qui entraîne la liquéfaction du gel séminal et une augmentation de la mobilité des spermatozoïdes. Normalement, la concentration de PSA dans le sperme est élevée, mais sa concentration dans le sérum est très faible.⁴ L'augmentation des taux de PSA sérique est associée à un état pathologique de la prostate (par ex. prostatite, hyperplasie bénigne de la prostate ou cancer de la prostate).

Le PSA existe sous trois formes principales dans le sang : le PSA libre, le PSA complexé à l'inhibiteur de sérine protéase, l'alpha-1-antichymotrypsine (PSA-ACT), et le PSA complexé à l'alpha-2-macroglobuline qui est l'absence de réaction immunitaire.^{5, 6, 7} Seuls le PSA libre et le PSA-ACT sont détectables dans le dosage immunologique actuel et ils sont définis tous deux par le PSA total.⁸ En règle générale, plus le rapport de PSA libre/PSA total dans le sérum est faible, plus la possibilité de maladies de la prostate chez les hommes est élevée.^{7, 8}

Principe du dosage

Le dosage de FPSA série CL est un dosage immunoenzymatique selon la méthode sandwich permettant de déterminer la concentration de PSA libre.

Dans la première étape, l'échantillon, une microparticule paramagnétique recouverte d'anticorps monoclonal anti-PSA libre (souris) et un conjugué d'anticorps monoclonal anti-PSA (souris)-phosphatase alcaline sont ajoutés dans une cuvette réactionnelle. Après incubation, le PSA libre présent dans l'échantillon se lie à la fois à la

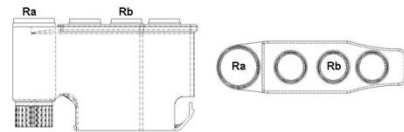
microparticule recouverte d'anticorps anti-PSA et au conjugué d'anticorps anti-PSA-phosphatase alcaline pour former un complexe en sandwich. La microparticule est magnétiquement capturée alors que les autres substances non liées sont éliminées par lavage.

Dans la deuxième étape, la solution de substrat est ajoutée dans la cuvette réactionnelle. Elle est catalysée par le conjugué d'anticorps anti-PSA (souris)-phosphatase alcaline dans le complexe immunitaire retenu sur la microparticule. La réaction de chimiluminescence résultante est mesurée en unités relatives de lumière (RLU) par un photomultiplicateur intégré au système. La quantité de PSA libre présente dans l'échantillon est proportionnelle aux unités relatives de lumière (RLU) produites au cours de la réaction. La concentration de PSA libre est déterminée au moyen d'une courbe de calibration.

Composition des réactifs

Ra	Microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps monoclonal anti-PSA libre (souris) dans du tampon TRIS avec des conservateurs.
Rb	Conjugué d'anticorps monoclonal anti-PSA (souris)-phosphatase alcaline dans du tampon PBS avec des conservateurs.

La position de chaque réactif est représentée sur la figure ci-dessous (vue de face sur la gauche et vue de dessus à droite) :



Stockage et stabilité

Le kit de réactif de FPSA (CLIA) non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption indiquée lorsqu'il est conservé à 2-8 °C.

Le kit de réactif de FPSA (CLIA) peut être conservé à bord et utilisé pendant 28 jours maximum après ouverture avec une conservation à 2-8 °C.

Préparation du réactif

Ra : Prêt à l'emploi

Rb : Prêt à l'emploi

Matériel nécessaire mais non fourni

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL. N° de réf. FPSA211 : calibrateurs Mindray de PSA libre, 1x2 ml pour chaque calibrateur de C0, C1 et C2.

N° de réf. TML311/TML312/TML313/TML314 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (B), 6x5 ml/12x5 ml/1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. TMH311/TMH312/TMH313/TMH314 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (H), 6x5 ml/12x5 ml/1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. TML321/TML322/TML323/TML324 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (B), 1x5 ml/3x5 ml/6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. TMH321/TMH322/TMH323/TMH324 : contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (H), 1x5 ml/3x5 ml/6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. WB411 : tampon de lavage Mindray, 1x10 l.

N° de réf. CS511/CS512 : solution de substrat Mindray, 4x115 ml/4x75 ml.

Cuvettes réactionnelles Mindray.

Instrument dédié

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL.

Prélèvement et préparation des échantillons

Le sérum humain est recommandé pour ce dosage. Centrifugez les échantillons après la formation du caillot. Transférez les surnageants dans des tubes pour le stockage ou effectuez le test dans les deux heures après la centrifugation.

Les échantillons doivent être dosés dès que possible après le prélèvement. Si le test n'est pas effectué dans les 8 heures, les échantillons doivent être hermétiquement fermés et conservés à 2-8 °C. Si le dosage doit être retardé pendant plus de 72 heures, les échantillons doivent être congelés à -20 °C ou moins.

Évitez les cycles de congélation et de décongélation.

Procédure du dosage

Pour des performances optimales de ce dosage, les opérateurs doivent lire attentivement le manuel d'utilisation du système concerné, afin d'obtenir suffisamment d'informations telles que les instructions de fonctionnement, la préservation et la gestion des échantillons, les précautions de sécurité et la maintenance. Préparez également tout le matériel requis pour le test.

Avant de charger le kit de réactif de FPSA (CLIA) sur la machine pour la première fois, le flacon de réactif non ouvert doit être retourné délicatement au moins 30 fois pour remettre en suspension les microparticules qui se sont déposées pendant le transport ou le stockage. Inspectez visuellement le flacon pour vous assurer que les microparticules ont été remises en suspension. Si les microparticules restent collées au flacon, continuez à le retourner jusqu'à ce que les microparticules soient complètement remises en suspension. Si les microparticules ne peuvent pas être remises en suspension, il est recommandé de ne pas utiliser ce flacon de réactif. Contactez le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide. Ne pas retourner un flacon de réactif ouvert.

Ce dosage nécessite un volume échantillon de 10 µl par test. Ce volume ne comprend pas le volume mort du contenant de l'échantillon. Un volume complémentaire est nécessaire lors de l'exécution de tests supplémentaires du même échantillon. Les opérateurs doivent se référer au manuel d'utilisation du système et aux exigences spécifiques du dosage afin de déterminer le volume d'échantillon minimal.

Calibration

Le FPSA série CL (CLIA) a été standardisé selon la norme internationale de l'OMS sur l'antigène prostatique spécifique libre (code NIBSC : 96/668).

Les informations spécifiques de la courbe de calibration principale du kit de réactif de FPSA (CLIA) sont enregistrées dans le code à barres à deux dimensions apposé sur la cartouche de réactif. Elles sont utilisées avec les calibrateurs pour la calibration du lot de réactif spécifique. Lors de la calibration, commencez par numériser les

informations de la courbe de calibration principale sur le code à barres dans le système, puis utilisez les calibrateurs à trois niveaux. Une courbe de calibration valide est nécessaire avant tout dosage de FPSA. Une nouvelle calibration est recommandée toutes les 4 semaines, ou quand un nouveau lot de réactif est utilisé ou quand les contrôles de qualité sont hors de la plage d'acceptabilité. Pour des instructions détaillées sur la calibration, reportez-vous au manuel d'utilisation du système.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'effectuer des contrôles qualité une fois toutes les 24 h si les tests sont en cours ou après chaque calibration. La fréquence des contrôles qualité doit être adaptée en fonction des exigences de chaque laboratoire. Les contrôles de qualité à deux niveaux recommandés pour ce dosage sont le contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (B) et le contrôle Mindray multiparamétrique de marqueur tumoral (H). Les résultats du contrôle de qualité doivent être situés dans les plages d'acceptabilité. Si un contrôle est hors de cette plage, les résultats de tests associés ne sont pas valides et les échantillons doivent être testés à nouveau. Une recalibration peut être nécessaire. Examinez le système de dosage en vous référant au manuel d'utilisation du système. Si les résultats du contrôle de qualité sont toujours en dehors de cette plage, veuillez contacter le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide.

Calcul

L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon sur la courbe de calibration principale lue à partir du code à barres, et un modèle mathématique à quatre paramètres (4PLC) avec les unités relatives de lumière (RLU) est généré à partir des calibrateurs à trois niveaux des valeurs de concentration déterminées. Les résultats sont présentés dans l'unité ng/ml.

Facteurs de conversion : ng/ml x 1 = µg/l

Valeurs attendues

Une étude sur une cohorte de 304 hommes en bonne santé a déterminé valeurs de référence du dosage de FPSA série CL.

Catégorie	N	la limite supérieure d'intervalle central de 95%
Homme	304	1,0 ng/ml

En raison de la variation de l'emplacement géographique, de l'origine ethnique, du sexe et de l'âge, il est fortement recommandé à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de référence.

Limitation

La limite de linéarité de ce dosage est de 30 ng/ml. Un échantillon avec une concentration de PSA libre inférieure à cette limite est déterminé quantitativement, tandis qu'un échantillon avec une concentration plus élevée que cette limite sera signalé comme >30 ng/ml.

La concentration de PSA libre dans un échantillon donné, déterminée par des dosages provenant de différents fabricants, peut varier en raison de différences dans les méthodes de dosage. La calibration et la spécificité du réactif. Les résultats du dosage doivent être utilisés avec d'autres données, comme les symptômes, les résultats d'autres tests, les antécédents cliniques, etc.

Un échantillon de personnes ayant été exposées à

des anticorps monoclonaux de souris peut contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent indiquer des valeurs faussement élevées ou faibles avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux de souris. Cependant, aucune interférence significative avec ce type d'échantillon contenant des HAMA n'a été observée avec ce dosage.

Caractéristiques des performances

Sensibilité analytique/limite de détection

Le kit de réactif de FPSA (CLIA) a une sensibilité analytique de $\leq 0,01$ ng/ml. La sensibilité analytique est définie comme la plus faible concentration d'analyte qui peut être distinguée à partir d'un échantillon qui ne contient pas d'analyte. Elle est définie comme la concentration de PSA libre à deux écarts types en dessous du nombre moyen de RLU issu de 20 mesures d'un échantillon sans analyte.

Gamme de mesure

La gamme de mesure est définie par la sensibilité analytique et la limite supérieure de la courbe de calibration principale. La gamme de mesure du kit de réactif de FPSA (CLIA) est de 0,01 à 30 ng/ml.

Spécificité

L'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dl, la bilirubine jusqu'à 20 mg/dl, les triglycérides jusqu'à 1 500 mg/dl et la protéine totale jusqu'à

10 g/dl n'interfèrent pas avec le dosage de FPSA série CL. Ces substances présentent moins de 10 % d'interférences à la concentration indiquée.

Aucune interférence significative a été observée avec du facteur rhumatoïde jusqu'à 400 IU/ml ou des anticorps antinucléaires jusqu'à 2000 U/l.

Des tests supplémentaires d'interférence ont été effectués sur 10 médicaments fréquemment utilisés. Ces composés ont montré moins de 10 % d'interférence dans le dosage FPSA série CL aux niveaux indiqués ci-dessous.

Composé testé	Concentration
Acétate de leuproréline	100 µg/ml
Cyclophosphamide	700 µg/ml
Finastéride	370 ng/mL
Mégésterol	2,4 mg/dl
Améthoptérine	30 µg/ml
Flutamide	10 µg/ml
Chlorhydrate de doxorubicine	16 µg/ml
Aspirine	0,5 mg/ml
Biotine	50 ng/mL
Diéthyle oestrodienne	2 µg/ml

Dans le calibrateur CO PSA libre Mindray a été ajouté d'autres marqueurs tumoraux, tels que l'alpha-fœtoprotéine (AFP), l'antigène tumoral 125 (CA125), l'antigène tumoral (CA15-3), l'antigène carbohydre 19-9 (CA-19-9), l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) et la ferritine (FERR), à des niveaux spécifiques indiqués dans le tableau ci-dessous. Aucune réactivité croisée significative n'a été observée et tous les résultats étaient $\leq 0,5$ ng/ml. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Marqueur tumoral	Concentration du	FPSA rapporté	Critères d'acceptation
------------------	------------------	---------------	------------------------

	Concentration (ng/ml)	
AFP	1000 ng/ml	0,00
CA125	1000 U/ml	0,00
CA15-3	100 U/ml	0,00
CA19-9	1000 U/ml	0,00
CEA	1000 ng/ml	0,00
FERR	1000 ng/ml	0,00

FPSA rapporté $\leq 0,5$ ng/ml

Effet crochet

Pour le dosage de FPSA série CL, aucun effet crochet n'a été observé lors du dosage des échantillons contenant jusqu'à environ 30 000 ng/ml de PSA libre.

Ci-dessous, vous trouverez des données de performances représentatives sur les analyseurs CL-2000i. Par souci de précision, les données de performances sont indiquées sur CL-2000i et CL-1000i.

Exactitude

Un échantillon d'antigène prostatique spécifique libre conforme à la norme internationale de l'OMS (Code NIBSC : 96/668) avec une valeur traçable et définie a été utilisé pour vérifier l'exactitude de ce dosage. Les résultats ont montré que l'écart relatif est inférieur à ± 10 %. Les résultats sont répertoriés dans le tableau suivant.

Échantillon	Valeur de FPSA mesurée	Valeur de FPSA définie (ng/ml)	Écart relatif
PSA libre OMS	10,37	10,12	2,50%

Précision

Le dosage de FPSA série CL est conçu pour avoir une précision de ≤ 10 % (CV dans l'appareil). La précision a été déterminée par le protocole EP5-A2 du Comité national pour les normes de laboratoire cliniques (NCCLS). Deux niveaux de contrôle qualité ont été testés en double dans deux séries distinctes par jour, pendant un total de 20 jours, en utilisant un seul lot de réactif et une courbe de calibration unique. Les données de précision sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Données de performances sur CL-2000i				
Échantillon	FPSA moyen (ng/ml)	CV intra-série	CV inter-séries	CV dans l'appareil
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%
Données de performances sur CL-1000i				
Échantillon	FPSA moyen (ng/ml)	CV intra-série	CV inter-séries	CV dans l'appareil
1	1,03	3,14%	1,88%	3,14%
2	10,54	3,26%	2,27%	3,26%

Linéarité

Un échantillon de FPSA de forte concentration (environ 20 ng/ml) a été mélangé avec un à différents rapports, générant ainsi une série de dilutions. Le PSA libre de chaque dilution a été mesuré en utilisant le dosage de FPSA Mindray série CL. La linéarité a été évaluée dans la plage de 0,01 ng/ml à 20 ng/ml, le coefficient de corrélation r est $\geq 0,9900$. Les données de linéarité sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Concentration (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
FPSA prévu	0,0020	6,03	12,05	18,07	24,10	30,12
FPSA mesuré	0,0020	6,28	12,79	18,69	24,18	30,12

Méthode de comparaison

Le dosage de FPSA série CL Mindray a été comparé à un kit de diagnostic disponible dans le commerce dans une étude de corrélation avec 40 échantillons. Les données statistiques obtenues selon le mode de calcul Deming sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Plage de concentration (pg/ml)	Pente	Intersection	Coefficient de corrélation
0,01-30	0,9218	0,1259	0,9973

Avertissements et précautions

- Pour le diagnostic in-vitro uniquement.
- Suivez toutes les règles de manipulation de réactifs de laboratoire et prenez les précautions de sécurité nécessaires.



Avvertimento : Peut provoquer une

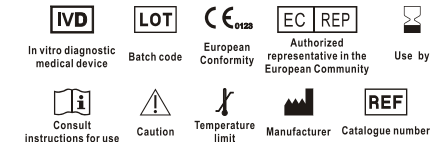
réaction allergique cutanée.

Eviter de respirer les poussières/ émanations/gaz/ brumisations/ vapeurs/vaporisations. Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir de l'espace de travail. Porter des gants et vêtements de protection ainsi que des dispositifs de protection des yeux et du visage. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment avec de l'eau. En cas d'irritation de la peau ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. Retirer les vêtements contaminés et les laver avant de les réutiliser.

- En raison des différences dans les méthodes et la spécificité des anticorps, les résultats de test d'un même échantillon peuvent être différents en utilisant des kits de réactif de fabricants différents sur le système Mindray ou en utilisant des kits de réactif Mindray sur d'autres systèmes.
- Ne pas utiliser les kits de réactif au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de différents lots de réactif.
- Maintenez toujours la cartouche de réactif en position verticale afin de vous assurer qu'aucune microparticule n'a été perdue avant utilisation.
- Il n'est pas recommandé d'utiliser une cartouche de réactif ouverte depuis plus de 28 jours.
- La fiabilité des résultats du dosage ne peut être garantie si les instructions de cette notice ne sont pas respectées.
- Tous les échantillons et déchets de réactions doivent être considérés comme présentant potentiellement un risque biologique. La manipulation des échantillons et des déchets de réactions doit être effectuée en conformité avec l'aréglementation et les directives locales.
- La fiche d'information sur la sécurité du matériel

(FDSM) est disponible sur demande.

Symboles graphiques



Références

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. Ann Med. 1994. 26(3):157-164.
- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. Clin Lab Invest Suppl. 1995. 221: 32-34.
- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. Eur J Biochem. 1990. 194(3): 755-763.
- Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. Clin Chem. 1993. 39(2):181-195.
- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. Urology. 1995. 45(5): 729-744.
- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. Clin Chem. 1993. 39(12):2483-2491.
- Zhang WH, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. Clin Chem. 1995. 41(11):1567-1573.
- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. Clin Chem. 1991. 37(9):1618-1625.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tous droits réservés

Fabricant : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adresse : Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen. 518057 China

Adresse électronique : service@mindray.com

Site Web : www.mindray.com

Tél. : +86-755-26582888

Fax : +86-755-26582680

Représentant EC : Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Adresse : Eiffestraße 80, Hambourg 20537, Allemagne

Tél. : 0049-40-2513175

Fax : 0049-40-255726