



# CanAg PSA Libre EIA

Prod. No. 350-10

Instructions d'utilisation  
2009-11

Kit de Test Immunoenzymatique  
Pour 96 déterminations

## UTILISATION

Le Kit CanAg PSA Libre EIA est destiné à la détermination quantitative du PSA Libre (Antigène Spécifique Prostatique) dans le sérum humain.

## RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

PSA est une 32 kDa protéase glycoprotéine sérine mono caténaire avec une spécificité similaire que la Chymotrypsine et est produite par l'épithélium sécrétoire de la glande prostate (1). PSA est normalement sécrété dans le liquide séminal et joue un rôle fonctionnel dans le clivage des vésicules séminales et la liquéfaction du coagulum séminal (2). Des niveaux bas de PSA sont seulement présents dans le flot sanguin et l'augmentation de la concentration dans le sérum indique une pathologie prostatique incluant l'Hyperplasie Prostatique Bénigne (HPB) et le Cancer de la Prostate (CaP). La détermination de PSA est maintenant largement utilisée pour la détection et la gestion des patients avec un Cancer de la Prostate et est considérée comme le marqueur sérologique majeur dans le Cancer de la Prostate (3). PSA a été trouvé comme formant des complexes stables avec différentes anti-protéases et la portion dominante du PSA, dans le sérum des patients, apparaît dans un complexe avec l' $\alpha_1$ -antichymotrypsine (PSA-ACT) (4). Cependant, il y a une grande variation, entre différents individus, dans la relation entre le complexe PSA Libre et PSA-ACT. Un certain nombre d'études ont trouvée la proportion de PSA Libre plus élevée dans la maladie bénigne de la prostate que dans le cancer prostatique (4, 5). Le CanAg PSA Libre EIA est un test pour la détermination spécifique du PSA Libre sans réactivité croisé avec le complexe PSA-ACT (6).

## PRINCIPE DU TEST

Le CanAg PSA Libre EIA est en phase solide immuno-test non-compétitif basé sur la technique sandwich directe. Les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients sont incubés ensemble avec un anticorps monoclonal biotinylé Anti-PSA Libre et la peroxydase du raifort (HRP) étiquetés anticorps monoclonal Anti-PSA, dans des barrettes micro-titres enduites de Streptavidin. Après lavage, le réactif tamponné Substrat /Chromogène (peroxyde d'hydrogène et 3, 3', 5, 5' tétra méthylbenzidine) est ajouté à chaque puits et la réaction enzymatique peut commencer. Pendant la réaction enzymatique, une couleur

bleue se développe si l'antigène est présent. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de PSA Libre présent dans les échantillons. L'intensité de la couleur est déterminée par un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre à 450 nm. Les courbes de calibrage sont construites pour chaque test en mettant sous forme graphique les valeurs d'absorbance contre la concentration de chaque Calibreur. Les concentrations de PSA Libre des échantillons des patients sont alors lues à partir de la courbe de calibrage.

## RÉACTIFS

- Chaque Kit CanAg PSA Libre EIA contient des réactifs pour 96 tests.
- La date d'expiration du Kit est imprimée sur l'étiquette à l'extérieur de la boîte de Kit.
- Ne pas utiliser le Kit au-delà de la date d'expiration.
- Ne pas mélanger des réactifs de différents lots de Kit.
- Conserver les Kits à +2°/+8°C. Ne pas congeler.
- Les Réactifs ouverts sont stables, suivant le tableau ci-dessous, à condition qu'ils n'aient pas été contaminés, qu'ils aient été conservés dans leur conteneur d'origine fermé, qu'ils aient été manipulés comme prescrit et qu'ils aient été remis à +2°/+8°C immédiatement après usage.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	---

### MICROPLA

<b>Microplaque</b>	1 Plaque	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la plaque
--------------------	----------	--

12 barrettes détachables de 8 puits enduits de Streptavidin. Après ouverture, remettre les barrettes non utilisées dans le sachet d'aluminium contenant un déshydratant et ressouder soigneusement pour les garder au sec.

<b>Calibreurs PSA Libre</b>	6 flacons	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
-----------------------------	-----------	--

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>0</b>	0 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>0.3</b>	0.3 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	------------	----------	-------------

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>1</b>	1 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>2</b>	2 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>5</b>	5 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

<b>CAL</b>	<b>PSA</b>	<b>10</b>	10 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	-----------	---------	-------------

Le PSA Libre humain est une solution tamponnée de sel Tris-HCL contenant de la sérum albumine bovine, un colorant inerte jaune et 0.01% de méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	---

<b>Contrôles PSA Libre</b>	2 flacons	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
----------------------------	-----------	--

<b>CONTROL</b>   <b>FPSA</b>   <b>1</b>	1 x 0.75 ml	
---	-------------	--

<b>CONTROL</b>   <b>FPSA</b>   <b>2</b>	1 x 0.75 ml	
---	-------------	--

Le PSA Libre humain est une solution tamponnée de sel Tris-HCL contenant de la sérum albumine bovine et 0.01% de méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

<b>BIOTIN</b>   <b>Anti-FPSA</b>
----------------------------------

<b>Biotine Anti-PSA Libre</b>	1 x 15 ml	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.
-------------------------------	-----------	---

La solution de Biotine Anti-PSA Libre, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 1.5 µg/ml, contient un tampon de sel Phosphate (pH 7.2), de la sérum albumine bovine, de l'immunoglobuline bovine, des agents bloquants, du Tween 20, un colorant inerte bleue et 0.01% méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

<b>CONJ</b>   <b>Anti-FPSA</b>
--------------------------------

<b>Traceur, HRP Anti-PSA Libre</b>	1 x 0.75 ml	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.
------------------------------------	-------------	---

La solution concentrée de HRP Anti-PSA, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 20 µg/ml, contient des conservateurs. La solution doit être mélangée avec la solution de Biotine Anti-PSA Libre avant utilisation.

<b>SUBS</b>   <b>TMB</b>
--------------------------

<b>Substrat- HRP TMB</b>	1 x 12 ml	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.
--------------------------	-----------	---

La solution contient un tampon de peroxyde d'hydrogène et du 3, 3', 5, 5' tétraméthylbenzidine (TMB). La solution est prête à l'emploi.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	---

**STOP**

<b>Solution d'arrêt</b>	1 x 15 ml	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.
-------------------------	-----------	---

Solution prête à l'emploi. Elle contient 0.12 M d'acide chlorhydrique.

**WASHBUF 25X**

<b>Solution de Lavage Concentrée</b>	1 x 50 ml	+2°/+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.
--------------------------------------	-----------	---

Il s'agit d'une solution tampon de sel Tris-HCL avec du Tween 20. Elle contient du Germall II comme conservateur. Elle doit être diluée 25 fois avec de l'eau distillée ou désionisée avant utilisation.

### Signes d'instabilité

Le Substrat-HRP TMB doit être incolore ou légèrement bleuté. Une couleur bleue indique que le réactif a été contaminé et qu'il doit être détruit.

### MISE EN GARDE ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

#### Pour un usage diagnostique in vitro.

- Pour usage professionnel seulement.
  - Prière de se référer à la publication N°. (CDC) 88-8395 de l'US Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., US) sur les procédures de sécurité dans les laboratoires ou tout autres réglementations locales ou nationales.
- Manipuler les échantillons de patients comme potentiellement infectieux.
- Suivre les réglementations locales pour l'élimination et le traitement de tous les déchets.

#### Attention

Le matériel utilisé, pour la préparation du réactif d'origine humaine, a été testé et trouvé non réactif aux Anticorps HIV-1/2, aux Anticorps HCV et à l'Antigène de Surface de l'Hépatite B (HBsAg). Puisqu'il n'existe pas de méthode de test, rejetant complètement la présence de maladies dans le sang, la manipulation et l'élimination des réactifs d'origine humaine doivent être effectués comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

## **PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS**

Le Test CanAg PSA Libre EIA est destiné à être utilisé avec du sérum. Prélever le sang par veinopuncture et séparer le sérum selon les procédures habituelles. Les échantillons peuvent être conservés à +2°/+8°C pendant 48 heures. Pour des périodes plus longues, conserver les échantillons à - 20°C ou en dessous. Les échantillons ne doivent pas être conservés dans un congélateur à décongélation automatique. Il est permis de décongeler lentement, préférablement à +2°/+8°C pendant la nuit et d'amener ainsi les échantillons à température ambiante avant analyse. Des taux élevés de PSA sont la conséquence de manipulation de la prostate. Il est donc recommandé de prélever le sang avant l'examen par toucher rectal. Suivant les manipulations chirurgicales de la prostate, comme la biopsie à l'aiguille ou la résection transurétral, il est recommandé d'attendre plus de 6 semaines, avant de prélever du sang pour l'analyse du PSA Libre (7). Il doit être pris en compte, que le traitement à la Finestéride de l'Hyperplasie Prostatique Bénigne, (HPB), entraîne une baisse des taux de PSA Libre (7).

## **MODE OPÉRATOIRE**

### **Matériels nécessaires mais non fournis avec le Kit**

#### **1. Agitateur-de microplaque**

L'agitation vibration doit être de moyenne à forte. L'agitation longitudinale doit être approximativement de 200 strokes/min, et les oscillations de 700 à 900/min.

#### **2. Dispositif de lavage de microplaques**

Laveuse de microplaques automatique en mesure de réaliser 1 et 6 cycles de lavage et doté d'un volume de remplissage minimum de 350 µL/puits/cycle de lavage.

Le laveur manuel de barrettes Nunc Immuno-8 est recommandé si un laveur de microplaques automatique n'est pas utilisé.

#### **3. Spectrophotomètre pour microplaques**

Lecteur avec une longueur d'onde de 450 nm et une échelle d'absorbance 0 to 3.0.

#### **4. Pipettes de précision**

Avec embouts plastiques jetables pour la distribution de volumes en microlitres. Une pipette à 8 canaux ou un distributeur avec embouts plastiques jetables pour la distribution de 100 µL sont recommandés mais non obligatoires. Pipettes pour la distribution de volumes en millilitres.

#### **5. Eau distillée ou désionisée**

Pour la préparation de la Solution de Lavage.

## Notes de Procédure

1. Une compréhension complète de la notice est nécessaire pour assurer un usage correct du Kit CanAg PSA Libre EIA. Les réactifs, livrés dans le Kit, en font partie intégrante. Ne pas mélanger des réactifs identiques venant de Kits avec un numéro de lot différent. Ne pas utiliser les réactifs du Kit après la date d'expiration imprimée à l'extérieur de la boîte de Kit.
2. Les réactifs doivent atteindre la température ambiante (+20°/+25°C) avant leur utilisation. Le test doit seulement être réalisé à une température comprise entre +20°/+25°C pour obtenir des résultats précis. Les échantillons congelés doivent être amenés à température ambiante lentement et doivent être agités, doucement mais complètement, après décongélation.
3. Avant de commencer à pipetter, les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients, il est recommandé de marquer les barrettes pour faire en sorte d'identifier clairement les échantillons pendant et après le test.
4. La condition d'un lavage efficace et poussé requise pour séparer l'antigène et les réactifs liés et non liés des complexes anticorps-antigène liés en phase solide représente l'une des étapes les plus importantes d'un dosage immunoenzymatique. Afin d'assurer un lavage efficace, assurez-vous que: tous les puits sont complètement remplis de solution de lavage pendant chaque cycle de lavage, jusqu'à ras bord; que la solution de lavage est distribuée à un débit approprié; que l'aspiration des puits entre et après les cycles de lavage est bien complète; et que les puits sont bien vides. Si du liquide reste, renversez la plaque et tapotez légèrement dessus contre du papier absorbant.
  - Dispositif automatique de lavage de barrette: suivez les instructions du fabricant pour un nettoyage et un entretien diligents des barrettes et pour connaître le nombre de cycles de lavage requis avant et après chaque étape d'incubation. Il est vivement recommandé de suivre le mode processuel de barrette ou le mode de lavage en trop-plein avec un volume de 800 µL. Le dispositif d'aspiration/lavage ne doit pas rester avec de la solution de lavage sur des intervalles de temps prolongés parce que les aiguilles pourraient se boucher, ce qui aurait pour résultat une baisse de la distribution et de l'aspiration de liquide.
5. Le Substrat-HRP TMB est très sensible à la contamination. Pour sa stabilité optimale, transférer la quantité requise du flacon, dans un récipient délicatement lavé ou préférablement dans un bac jetable en plastique pour éviter la contamination du réactif. S'assurer de l'utilisation de pipettes à pointes en plastique, propres et jetables (ou d'une pipette distributrice à pointes).
6. S'assurer de l'utilisation d'une pipette à pointes en plastique, propres et jetables et d'une technique de pipetage correct, lors de la manipulation des échantillons et des réactifs. Éviter de passer au-dessus de la plaque, en maintenant l'embout de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette plastique ou la surface du liquide.

Une technique de pipetage correct est d'une importance particulière lorsque l'on manipule la solution de Substrat-HRP TMB .

Préparation des réactifs	Stabilité des réactifs préparés
<p><b>Solution de Lavage</b></p> <p>2 semaines à +2°/+25°C en conteneur fermé</p> <p>Transférer 50 ml de Solution concentrée de Lavage dans un conteneur propre et diluer 25 fois en additionnant 1200 ml d'eau distillée ou désionisée pour obtenir une Solution de Lavage tamponnée</p>	

**Solution d'Anticorps** 3 semaines à +2°/+8 °C  
en conteneur fermé

Préparer la quantité de Solution d'Anticorps en mélangeant 50 µl de Traceur HRP Anti-PSA Libre avec 1ml de Biotine Anti-PSA Libre par barrette (voir le tableau ci-dessous et la Feuille de Protocole).

N° de barrette	Traceur, HRP Anti-PSA Libre (µl)	Biotine Anti-PSA Libre (ml)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

S'assurer de l'utilisation d'un flacon propre, en plastique ou en verre, pour la préparation de la Solution d'Anticorps.

**Alternative:** verser le contenu du Traceur, HRP Anti-PSA Libre dans le flacon de Biotine Anti-PSA Libre et mélanger doucement. S'assurer que tout le Traceur est transféré dans le flacon de Biotine Anti-PSA Libre.

**Note:** La Solution d'Anticorps est stable 3 semaines à +2°/+8°C. Ne pas préparer plus de Solution d'Anticorps, qu'il ne pourra en être utilisé pendant cette période et s'assurer qu'elle sera conservée correctement.

## PROCÉDURE DE TEST

Réaliser chaque détermination en double, pour à la fois les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de patients. Une courbe de calibrage doit être réalisée pour chaque test. Tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante (+20°/+25°C) avant utilisation.

1. Commencer par la préparation de la Solution de Lavage et de la Solution d'Anticorps.

Il est important d'utiliser des conteneurs propres et de suivre les instructions soigneusement.

2. Transférer le nombre requis de barrettes de plaque micro-titre sur un portoir à barrettes. (Remettre immédiatement le reste des barrettes dans le sachet aluminium contenant le déshydratant et ressouder soigneusement). Laver une fois chaque barrette avec la Solution de Lavage. Ne pas laver plus de barrettes qu'il peut en être manipulé pendant 30 mn.

3. Pipeter 50 µl, de Calibreurs PSA Libre (CAL 0, 0.3, 1, 2, 5, 10), de Contrôles (C) et d'échantillons de patients ( inconnus - Inc.), dans les puits des barrettes, suivant le plan détaillé ci-dessous:

	1	2	3	4	5	6	7 etc
A	Cal 0	Cal 5	Inc1				
B	Cal 0	Cal 5	Inc1				
C	Cal 0.3	Cal 10	Inc2				
D	Cal 0.3	Cal 10	Etc.				
E	Cal 1	C1					
F	Cal 1	C1					
G	Cal 2	C2					
H	Cal 2	C2					

4. Ajouter 100 µl de Solution d'Anticorps, à chaque puits, en utilisant une pipette de précision 100 µl (ou une pipette de précision 100 µl à 8 canaux). Éviter de passer au-dessus de la plaque, en maintenant l'embout de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette plastique ou la surface du liquide.

5. Incuber le portoir à barrettes pendant 1 heure ( ± 10mn ) à température ambiante (+20°/+25°C) avec une agitation constante de la plaque avec un agitateur à plaque micro-titre.

6. Laver 6 fois chaque barrette, en utilisant la procédure de lavage, § 4, des Notes de Procédure.

7. Ajouter 100 µl de Substrat-HRP TMB , à chaque puits, en utilisant la même technique de pipetage qu'au § 4, ci-dessus. Le Substrat-HRP TMB doit être ajouté aux puits, le plus vite possible et le temps entre les additions, du premier au dernier puits, ne doit pas dépasser 5mn.

8. Incuber pendant 30mn ( ± 5mn ) à température ambiante avec une agitation constante. Eviter l'exposition directe à la lumière du jour.

9. Ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt. Mélanger et lire l'absorbance à 450 nm dans un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre pendant les 15mn suivant l'addition de la Solution d'Arrêt.

### **Intervalle de mesure**

Le CanAg PSA Libre EIA mesure des concentrations entre 0.03 et 10 µg/l. Si des concentrations de PSA Libre, en dehors de l'intervalle spécifié, sont attendues, il est recommandé de diluer les échantillons avec du sérum normal humain male avant l'analyse. **Note:** le sérum utilisé pour la dilution doit aussi être analysé pour déterminer la concentration endogène en PSA Libre (voir le paragraphe «Calcul des Résultats»).

### **Contrôle Qualité**

Les Contrôles 1 et 2, PSA Libre, doivent être utilisés pour la validation de séries de test. L'intervalle des résultats attendus est indiqué sur les étiquettes des flacons. Si les valeurs obtenues sont en dehors de l'intervalle spécifié, un contrôle complet des réactifs et de la performance du lecteur, doit être fait et les analyses répétées. Chaque laboratoire doit aussi préparer ses propres groupes de sérum à différents niveaux. Ils doivent être utilisés comme contrôle interne pour assurer la précision du test.

### **Matériels de référence**

Le Premier Standard International 96/668, doit être utilisé comme standard de référence.

Les valeurs des Calibreurs et des Contrôles, PSA Libre seront opposés à une série de standards de référence maison dont les valeurs sont traçables dans le Premier Standard International.

### **CALCUL DES RÉSULTATS**

Si un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre, avec calcul des données intégré, est utilisé, se référer au Manuel du lecteur de plaque et créer un programme utilisant la concentration signalée sur l'étiquette de chaque Calibreurs PSA Libre.

Pour un calcul automatique des résultats de PSA Libre, il est recommandé d'utiliser l'une ou l'autre des méthodes suivantes :

- La courbe de cannelure cubique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.
- La courbe lissée de la cannelure correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être utilisé comme témoin blanc.
- Interpolation avec une évaluation point par point. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.
- La courbe quadratique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.

**Note:** Les méthodes, 4-Paramétrique ou de Régression Linéaire, ne doivent pas être utilisées.

Pour une évaluation manuelle, une courbe de calibrage est construite en mettant sous forme graphique les valeurs d'absorbance (A), obtenues pour chaque Calibreur PSA Libre, contre les concentrations (µg/l) en PSA Libre correspondantes, voir le graphique ci-dessous. Les concentrations en PSA Libre inconnues peuvent alors être lues, sur la courbe standard, en utilisant la valeur moyenne de l'absorbance de chaque échantillon de patient.

### Calcul des résultats avec des échantillons dilués

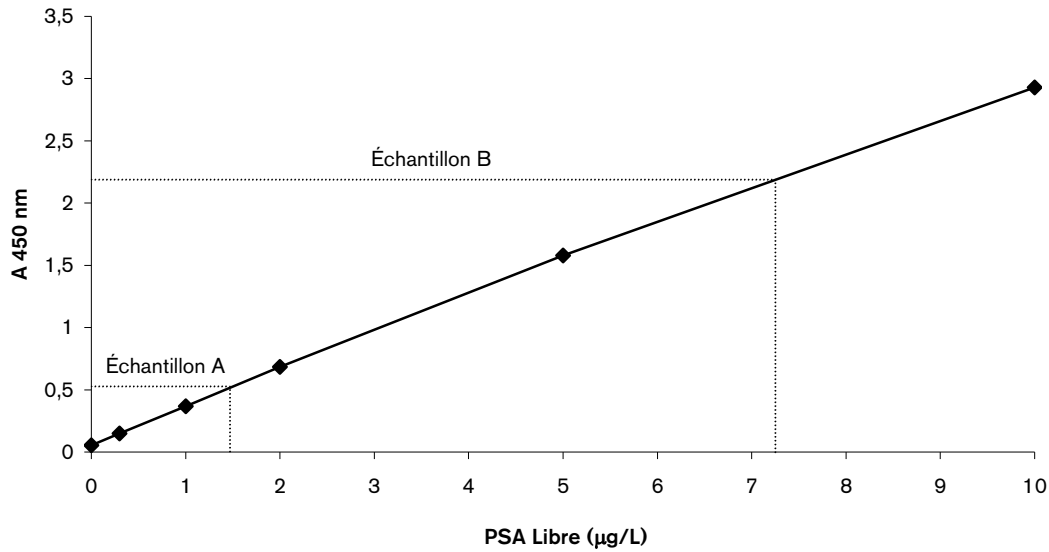
Si les échantillons d'une analyse initiale donnent des niveaux de PSA Libre au-dessus de 10 µg/l, les échantillons doivent être dilués au 1/10 avec du sérum normal humain male et réanalysés pour obtenir des concentrations précises en PSA Libre. **Note:** Les échantillons utilisés pour la dilution doivent être aussi analysés pour déterminer la concentration endogène en PSA Libre.

La concentration en PSA Libre des échantillons non dilués est calculée comme suit :

$$\text{Dilution 1/10: } 10 \times ([\text{PSA Libre}]_{\text{échantillon dilué}} - (0.9 \times [\text{PSA Libre}]_{\text{sérum normal male}}))$$

### Exemple de résultats

Calibres et Échantillons	Valeurs pour les Calibres	Valeur moyenne d'absorbance (A)	PSA Libre µg/l
CAL   PSA   0	0 µg/l	0.054	
CAL   PSA   0.3	0.3 µg/l	0.148	
CAL   PSA   1	1 µg/l	0.369	
CAL   PSA   2	2 µg/l	0.683	
CAL   PSA   5	5 µg/l	1.580	
CAL   PSA   10	10 µg/l	2.930	
Échantillon A		0.522	1.480
Échantillon B		2.181	7.147



*Ceci est un exemple. Ne pas utiliser cette courbe pour déterminer des résultats de test.*

**La concentration exacte en PSA Libre est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon Calibreur.**

## LIMITES DE LA PROCÉDURE

Le niveau de PSA Libre, seul, ne doit pas être utilisé comme évidence absolue de la présence ou de l'absence d'une maladie maligne. Les résultats du test doivent être interprétés seulement en conjonction avec d'autres investigations et procédures, dans le diagnostic de maladie et la gestion de patient. Le test PSA Libre ne doit pas remplacer un examen clinique établi.

Les Calibreurs du Kit CanAg PSA Libre EIA ne doivent pas être utilisés pour des études de récupération PSA Libre. Pour des études de récupération, il est recommandé d'utiliser des échantillons de patients de concentration très élevée.

Les anticorps anti-réactifs (anticorps humain anti-souris (HAMA) ou des anticorps hétérophiliques) dans les échantillons de patients, peuvent interférer occasionnellement avec le test, même si des agents bloquants spécifiques sont inclus dans le tampon.

## VALEURS ATTENDUES

Les mesures de PSA Libre doivent être utilisées en conjonction avec un test équimolaire, comme le CanAg PSA EIA (Prod. N° 340-10) pour le PSA Total, de manière à établir un ratio

PSA Libre/PSA Total. Les échantillons de sérum de 52 hommes, objectivement diagnostiqués avec une Hyperplasie de la Prostate Bénigne (HPB) et ceux de 77 hommes, diagnostiqués avec le Cancer de la Prostate (CaP) sont analysés en utilisant CanAg PSA EIA et CanAg PSA Libre EIA:

Diagnostique	n	Milieu PSA L / PSA T ratio	Min.	Max.	Moyenne PSA L / PSA T ratio	95% intervalle de confiance
HBP	52	0.18	0.04	0.42	0.19	0.17 – 0.21
CaP	77	0.09	0.02	0.53	0.12	0.10 – 0.14

Le choix d'utiliser un isolement, en pratique clinique, dépend de l'application clinique, c-a-d. si l'optimisation de la sensibilité ou de la spécificité est désirée.

Sensibilités (%CaP correctement détecté) et Spécificités (%HBP correctement détecté), pour différents isolements du ratio PSA L / PSA T, sont montrés ci-dessous:

PSAL/PSAT ratio isolé	Spécificité Clinique ( HBP > isolé)			Sensitivité Clinique (CaP ≤ isolé)		
	n	%	95% intervalle de confiance	n	%	95% intervalle de confiance
0.23	14(52)	27	16 – 41	69(77)	90	81 – 95
0.16	36(52)	69	55 – 81	64(77)	83	73 – 91
0.08	48(52)	92	81 – 98	30(77)	39	28 – 51

Il est recommandé, à chaque laboratoire, d'étudier la transférabilité des valeurs attendues ci-dessus, à celui de la population de ses propres patients et de mener à bien un test de performance (7).

## CHARACTERISTIQUES DE LA PERFORMANCE

### Précision

La précision totale est calculée, suivant la Directive NCCLS EP5-A (9), en utilisant quatre niveaux de sérum congelés de groupes humains contenant du PSA Libre additionné et six combinaisons de réactifs différents CanAg PSA Libre EIA. Chaque échantillon est pipeté au hasard (n = 2/analyses) et analysés deux fois chaque jour sur 20 jours.

Échantillon	Répliques	Moyenne (µg/l)	Série SD (µg/l)	Série CV %	Entre-jour SD (µg/l)	Entre-jour CV %
PSA Libre 1	80	0.38	0.01	1.9	0.01	3.0
PSA Libre 2	80	1.44	0.02	1.6	0.04	2.6
PSA Libre 3	80	3.46	0.05	1.6	0.08	2.3
PSA Libre 4	80	6.91	0.09	1.3	0.12	1.8

### Limite de détection

La limite de détection du Test CanAg PSA Libre EIA est  $< 0.03 \mu\text{g/l}$  définis comme la concentration correspondant à la moyenne des valeurs d'absorbance du Calibreur 0, PSA, plus 2 Déviations Standards suivant la formule :

$$\frac{2 \times \text{SD CAL 0}}{\text{OD CAL 0.3} - \text{OD CAL 0}} \times 0.3 \mu\text{g/l}$$

### Récupération

Des échantillons pointus sont préparés en ajoutant des parties aliquotes d'échantillons très élevées en PSA Libre, à des échantillons de sérum normal male. La récupération de l'antigène est dans l'intervalle  $\pm 15\%$  des valeurs attendues. **Note:** Les études de récupération **ne** doivent **pas** être faites en utilisant les Standards des Kits.

### Effet Crochet

On a pas observé d'Effet Crochet avec des échantillons à des concentrations jusqu'à  $> 5000 \mu\text{g/l}$ .

### Linéarité

Les échantillons de patients sont dilués avec du sérum normal humain male et analysés. Les valeurs obtenues sont entre  $\pm 10\%$  des valeurs attendues.

### Spécificité

Le CanAg PSA Libre EIA est basé sur 2 anticorps monoclonaux de la souris, PSA 30 et PSA 66, dirigés contre 2 épitopes distincts exposés dans PSA Libre. Ces combinaisons d'anticorps donnent un test spécifique pour le PSA Libre, montrant – de 1% de réaction croisée avec le complexe PSA-ACT (7).

La Directive NCCLS, EP7-P (9) est utilisée pour déterminer les sources possibles d'interférence. Les substances suivantes, avec leurs concentrations respectives, sont testées et trouvées comme n'interférant pas avec le test.

---

	Concentration n'ayant pas d'interférence significative (+/-10%)
Lipémie (Intralipid®)	10 mg/ml
Bilirubine, non conjuguée	0.4 mg/ml
Hémoglobine	5 mg/ml

---

### **Comparaison de méthodes**

Le CanAg PSA Libre EIA (Prod. N° 350-10) est comparé au Test en 2 étapes, CanAg PSA Libre EIA (Prod. N° 330-10). Cent vingt sept échantillons de sérum humain male, s'étalant sur des valeurs de 0 à 9 µg/l, sont mesurés et les résultats sont soumis à l'analyse de Régression Linéaire:

$$[\text{PSA Libre}]_{\text{Prod. No. 350-10}} = 1.02 \times [\text{PSA Libre}]_{\text{Prod. No. 330-10}} - 0.06 \quad r = 0.99$$

### **GARANTIE**

Les données de performance, présentées ici, sont obtenues en utilisant la procédure de test décrite. Tout changement ou modification de la procédure, non recommandé par Fujirebio Diagnostics, peut affecter les résultats, dans ce cas, Fujirebio Diagnostics rejette toutes les garanties explicites, implicites ou incluant statutairement la garantie implicite de commercialisation et d'adaptation à l'utilisation.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17: 159–163.
2. Lilja H. (1985). A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest* 76: 1899–1903.
3. Haese A., Becker C., Diamandis E., and Lilja H., (2002) Adenocarcinoma of the Prostate In: “Tumor Markers. Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical applications”. Eds. Diamandis et al., AACR Press, Washington, pp. 193-238.
4. Lilja H., Christensson A., Dahlén U., Matikainen M-T., Nilsson O., Pettersson K., Lövgren T. (1991). Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with  $\alpha_1$ -antichymotrypsin. *Clin Chem* 37: 1618–1625.
5. Christensson A., Björk T., Nilsson O., Dahlén U., Matikainen M-T., Cockett ATK, Abrahamsson PA, Lilja H. (1993). Serum prostate specific antigen complexed to  $\alpha_1$ -antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urology* 150: 100–105.
6. Nilsson O., Peter A. Andersson I., Nilsson K., Grundström B., and Karlsson B. Antigenic determinants of prostatespecific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *Br J Cancer* 75(6):789–797, 1997.
7. Price C. P., Allard J., Davies G., Dawnay A., J Duffy M., France M., Mandarino G., Milford Ward A., Patel B., Sibley P. and Sturgeon C. (2001) Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer. *Ann Clin Biochem*; 38: 188–216.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



---

CanAg<sup>®</sup> est une marque déposée de Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB  
Elof Lindälvs gata 13  
SE-414 55 Göteborg  
Sweden  
Phone + 46 31-85 70 30  
Fax + 46 31-85 70 40  
info@fdab.com  
www.fdab.com

