



CanAg PSA EIA

Prod. No. 340-10

Instructions d'utilisation
2009-11

Kit de Test immunoenzymatique
Pour 96 déterminations

UTILISATION

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

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

PSA est une 32kDa 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 indiquent 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, 8).

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' α -antichymotrypsin (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 trouvé la proportion de PSA Libre plus élevée dans la maladie bénigne de la prostate que dans le cancer prostatique (5). Les Anticorps du CanAg PSA EIA ont été délicatement évalués et sélectionnés pour donner la même réponse molaire pour le PSA Libre que pour le complexe PSA-ACT (7). Le CanAg PSA EIA, de cette façon, donne une valeur PSA "total", indépendante des variations individuelles entre PSA Libre et le complexe PSA-ACT.

PRINCIPE DU TEST

Le CanAg PSA 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 et la peroxydase du raifort (HRP) étiquetés anticorps monoclonal Anti-PSA, dans des barrettes micro-titres enduites de Steptavidin. Après lavage, le réactif tamponné

Substrat/Chromogène (peroxyde d'hydrogène et 3, 3', 5, 5' tétra méthyl benzidine) 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 présent dans les échantillons. L'intensité de la couleur est déterminée par un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre à 620 nm (ou optionnellement à 405 nm après addition de Solution d'Arrêt). 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 en PSA des échantillons des patients sont alors lues à partir de la courbe de calibrage.

RÉACTIFS

- Chaque Kit CanAg PSA 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

Microplaque	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.

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

CAL	PSA	0	0 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

CAL	PSA	1	1 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

CAL	PSA	2	2 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	----------	--------	-------------

CAL	PSA	10	10 µg/l	1 x 0.75 ml
------------	------------	-----------	---------	-------------

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

CAL	PSA	30	30 µg/l	1 x 0.75 ml
-----	-----	----	---------	-------------

CAL	PSA	60	60 µg/l	1 x 0.75 ml
-----	-----	----	---------	-------------

Le PSA 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.

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

CONTROL	PSA	1	1 x 0.75 ml
---------	-----	---	-------------

CONTROL	PSA	2	1 x 0.75 ml
---------	-----	---	-------------

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

BIOTIN	Anti-PSA
--------	----------

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

La solution de Biotine Anti-PSA, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 1 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 bleu et 0.01% méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

CONJ	Anti-PSA
------	----------

Traceur, HRP Anti-PSA 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 avant utilisation.

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

SUBS	TMB
------	-----

Substrat-HRP TMB	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' tétraméthyl-benzidine (TMB).
La solution est prête à l'emploi.

STOP

Solution d'arrêt	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
---------	-----

Solution de Lavage Concentrée	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 un 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 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 transurétrale, il est recommandé d'attendre plus de 6 semaines, avant de prélever du sang pour l'analyse du PSA (8). 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 (8).

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/mn et les oscillations de 700 à 900/mn.

2. Dispositif de lavage de microplaques

Laveuse de microplaques automatique en mesure de réaliser 1 et 6 cycles de lavage et dotée 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

Avec une longueur d'onde de 620 nm ou 405 nm et une plage d'absorbance de 0 à 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 et 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 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 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 Controles 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

CAL	PSA	1
-----	-----	---

 doit être utilisé lorsque des mesures très précises sont désirées. Prière de se référer à l'Option 2 de la page 8 pour des instructions complètes.
6. 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, préférablement dans un bac jetable en plastique, pour éviter la contamination du réactif. S'assurer de l'utilisation de pipettes à pointes en plastiques, propres et jetables (ou d'une pipette distributrice à pointes)
7. 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
Solution de Lavage	2 semaines à +2°/+25°C en conteneur fermé

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.

Solution Anticorps 3 semaines à +2°/+8°C

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

N°. de barrettes	Traceur, HRP Anti-PSA (µl)	Biotine Anti-PSA (ml)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	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 dans le flacon de Biotine Anti-PSA et mélanger doucement. S'assurer que tout le Traceur est transféré dans le flacon de Biotine Anti-PSA.

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 deshydratant et ressouder soigneusement). Ne pas laver plus de barrettes qu'il ne peut en être manipulé pendant 30 mn.
3. Pipeter 25 µl, de Calibreurs PSA (CAL 0, 2, 10, 30, 60), 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 60	Inc2				
B	Cal 0	Cal 60	etc.				
C	Cal 2	C1					
D	Cal 2	C1					
E	Cal 10	C2					
F	Cal 10	C2					
G	Cal 30	Inc1					
H	Cal 30	Inc1					

4. Ajouter 100 µL de Solution d'Anticorps, à chaque puits, en utilisant une pipette de précision 100µl (ou une pipette de précision 100µl, 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 (\pm 10 mn) à température ambiante (+20°/+25°C) avec une agitation constante de la plaque à l'aide d'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 5 mn.
8. Incuber pendant 30 mn (\pm 5 mn) à température ambiante avec une agitation constante. Éviter l'exposition directe à la lumière du jour.
9. Lire l'absorbance à 620 nm, immédiatement, dans un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre.

Option 1

Si le laboratoire n'a pas accès à un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre capable de lire à 620 nm, l'absorbance peut être déterminée comme suit : ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt, mélanger et lire l'absorbance à 405 nm, dans un Spectrophotomètre pour plaque micro-titre dans les 15 mn suivant l'addition de la Solution d'Arrêt.

Option 2

Pour des déterminations ultra sensibles de PSA, dans un intervalle bas de (0-10 µg/l),

CAL	PSA	1
-----	-----	---

 (1 µg/l), doit être inclus dans la courbe de calibrage. Il est alors nécessaire d'exclure les deux plus hauts Calibreurs (30 et 60 µg/l). Les mesures d'absorbance doivent être faites suivant l'Option 1 mais avec une lecture à 450 nm.

Intervalle de Mesure

Le CanAg PSA EIA mesure des concentrations entre 0.1 et 60 µg/l. Si des concentrations PSA, en dehors de l'intervalle de mesure, sont attendues, il est recommandé de diluer les échantillons avec du sérum normal humain male avant analyse. **Note:** le sérum utilisé pour la dilution doit aussi être analysé pour déterminer la concentration endogène en PSA (voir le § « Calcul des Résultats »).

Contrôle Qualité

Les Contrôles, 1 et 2, PSA, doivent être utilisés pour la validation de séries de tests. L'intervalle de mesure attendu est indiqué sur les étiquettes des flacons. Si des valeurs, en dehors de l'intervalle spécifié, sont obtenues, un contrôle complet des réactifs et de la performance du lecteur doit être mené et les analyses répétées. Chaque laboratoire doit, en plus, préparer ses propres groupes de sérum, à différents niveaux, pour être utilisés lors de contrôles internes, pour assurer la précision du test.

Matériel de référence

Le Premier Standard International 96/670, doit être utilisé comme standard de référence.

Les valeurs des Calibreurs et des Contrôles, PSA, seront opposées 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. Pour un calcul automatique des résultats de PSA, 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.

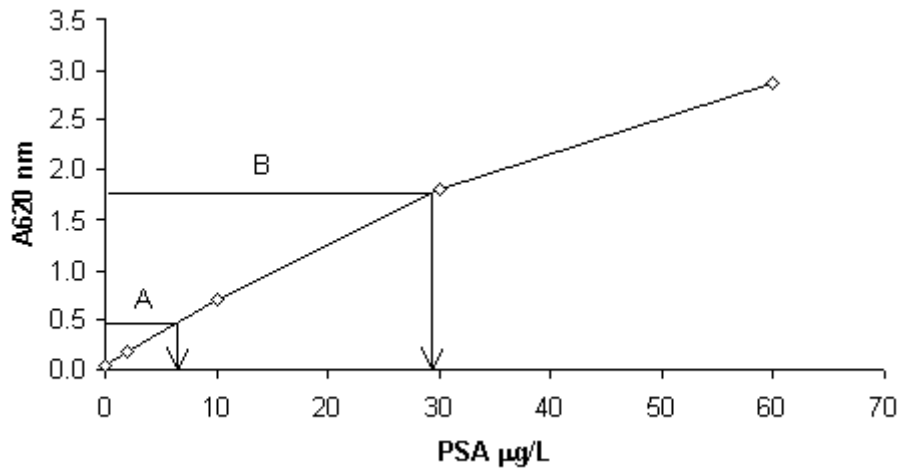
- Interpolation avec une évaluation point par point. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.
- La courbe quadratique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 µg/l.

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, contre les concentrations (µg/l) en PSA correspondantes, voir le graphique ci-dessous. Les concentrations inconnues en PSA peuvent alors être lues, sur la courbe standard, en utilisant la valeur moyenne de chaque échantillon de patient.

Exemple de resultants:

Calibreurs Échantillons	Valeurs pour Calibreurs	Valeur moyenne d'absorbance (A)	PSA (µg/L)
CAL PSA 0	0 µg/L	0.036	
CAL PSA 2	2 µg/L	0.174	
CAL PSA 10	10 µg/L	0.705	
CAL PSA 30	30 µg/L	1.807	
CAL PSA 60	60 µg/L	2.864	
Echantillon A		0.453	6.1
Echantillon B		1.739	28.6



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

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

Calcul des résultats avec des échantillons dilués

Si les échantillons, d'une analyse initiale, donnent des niveaux de PSA au-dessus de 60 µg/L, ils doivent être dilués au 1/10 avec du sérum normal humain male et réanalysés pour obtenir des concentrations précises en PSA.

Note: Les échantillons utilisés pour la dilution doivent être aussi analysés pour déterminer la concentration endogène en PSA.

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

$$\text{Dilution 1/10 : } 10 \times ([\text{PSA}]_{\text{Échantillon Dilué}} - (0.9 \times [\text{PSA}]_{\text{Sérum Normal Male}}))$$

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Le niveau de PSA 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 patients. Le test PSA ne doit pas remplacer un examen clinique établi.

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

Les anticorps anti-réactifs (anticorps humain anti-souris (HAMA) ou 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

Des males en bonne santé ont des valeurs attendues au-dessous de 4 µg/l. Toutefois, comme les valeurs de PSA augmentent avec l'âge, il a été suggéré d'utiliser des échelles de référence spécifiques à l'âge, de manière à augmenter la sensibilité, dans le cas d'hommes jeunes et la spécificité, dans le cas d'hommes âgés (6, 8). Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir sa propre échelle normale pour prendre en compte les facteurs environnementaux locaux, comme le régime alimentaire, le climat, les conditions de vie, la sélection des patients, etc.

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision

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

Échantillon	Répliques	Moyenne (µg/L)	Série SD (µg/L)	Série CV %	Entre-jour SD (µg/L)	Entre-jour CV %
PSA 1	80	1.42	0.04	2.7	0.03	2.2
PSA 2	80	5.92	0.13	2.2	0.06	1.0
PSA 3	80	14.2	0.35	2.5	0.12	0.8
PSA 4	80	39.2	0.60	1.5	0.60	1.5

Limite de détection

La limite de détection du Test CanAg PSA EIA est < 0.1 µg/l définis comme la concentration correspondant à la moyenne des valeurs pour le Calibreur 0, PSA, plus 2 Déviations Standards suivant la formule:

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

Récupération

Des échantillons pointus sont préparés en ajoutant des parties aliquotes d'échantillons très élevés en PSA, à des échantillons de sérum normal male. La récupération de l'antigène est dans l'intervalle de ± 10% des valeurs attendues.

Note: Les études de récupération **ne** doivent **pas** être faites en utilisant les Calibreurs des Kits.

Effet Crochet

On n'a pas observé d'Effet Crochet avec des échantillons à des concentrations jusqu'à 23000 µg/l.

Note: Dans le cas d'échantillons de concentration très élevée, la couleur du Substrat peut changer du bleu au légèrement vert (et éventuellement jaune pour les échantillons de concentration extrêmement élevée). Ceci peut entraîner des absorbances à 620 nm faussement basses et dans des cas extrêmes, l'absorbance peut tomber dans l'intervalle de la courbe de calibrage et être considérée comme un Crochet.

Linéarité

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

Spécificité

Le CanAg PSA EIA est basé sur deux anticorps monoclonaux de la souris, PSA 10 et PSA 66, dirigés contre deux épitopes distincts, tous les deux présents, dans le complexe PSA-ACT et dans PSA Libre. Cette combinaison d'anticorps, donne une réponse équimolaire pour le PSA Libre et le complexe PSA-ACT (7). La Directive NCCLS, EP7 - P (10), 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	0.6 mg/mL
Hémoglobine	5 mg/mL

Comparaison de Méthodes

Le CanAg PSA EIA (Prod. N°. 340-10) est comparé au test en deux étapes CanAg PSA EIA (Prod. N°. 300-10). Trois cent huit échantillons de sérum normal humain male, dont les concentrations s'étalent de 0 à 53 $\mu\text{g/l}$, sont mesurés et soumis à l'analyse de Régression Linéaire :

$$[\text{PSA}]_{\text{Prod. N}^\circ. 340-10} = 0.92 \times [\text{PSA}]_{\text{Prod. N}^\circ. 300-10} - 0.036 \quad r = 1.00$$

GARANTIE

Les données de performance, présentées ici, sont obtenues en utilisant la procédure du 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. Oesterling JE (1991). Prostate specific antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urology* 145: 907–923.
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 α_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 α_1 -antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urology* 150: 100–105.
6. Oesterling JE., Cooner WH., Jacobsen SJ., Guess HA., Lieber MM. (1993). The influence of patient age on the serum prostate specific antigen concentration: An important clinical observation. *Urol Clin North Am* 20: 671–80, 1993a.
7. Nilsson O., Peter A. Andersson I., Nilsson K., Grundström B., and Karlsson B. (1997) Antigenic determinants of prostatespecific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *Br J Cancer* 75(6): 789–797.
8. P Price C., Allard J., Davies G., Dawnay A., J Duffy M., France M., Mandarino G., Milford Ward A., Patel B., Sibley P. and Sturgeon C. 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* 2001; 38: 188–216.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986)



CanAg[®] 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

