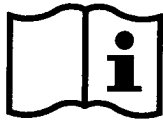


Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

PSA free ELISA

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of free Prostate Specific Antigen (PSA) in human serum or plasma



DE4189



96



DRG Instruments GmbH
Frauenbergstraße 18
35039 Marburg

Distributed by / Vertrieb durch:

Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel-Wellsee
Germany

**Please use only the valid version of the package insert provided with the kit.
 Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung.
 Si prega di usare la versione valida dell'inserto del pacco a disposizione con il kit.
 Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

| | | |
|----|---|----|
| 1 | INTENDED USE | 3 |
| 2 | INTRODUCTION | 3 |
| 3 | PRINCIPLE OF THE TEST | 3 |
| 4 | MATERIALS PROVIDED WITH THE KIT | 4 |
| 5 | MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED | 4 |
| 6 | STORAGE AND STABILITY..... | 4 |
| 7 | PRECAUTIONS | 5 |
| 8 | GUIDELINE FOR SAMPLE COLLECTION; PREPARATION AND STORAGE..... | 5 |
| 9 | ASSAY PROCEDURE..... | 6 |
| 10 | VALIDITY OF THE ASSAY..... | 7 |
| 11 | QUALITY CONTROL..... | 7 |
| 12 | EXPECTED VALUES LIMITATIONS OF THE PROCEDURE | 8 |
| 13 | PERFORMANCE CHARACTERISTICS..... | 8 |
| 14 | LEGAL ASPECTS..... | 10 |
| 15 | SUGGESTED READING | 10 |
| | | |
| 1 | VERWENDUNGSZWECK..... | 11 |
| 2 | EINFÜHRUNG | 11 |
| 3 | TESTPRINZIP..... | 11 |
| 4 | IM TEST KIT ENTHALTENE MATERIALIEN | 12 |
| 5 | BENÖTIGTE NICHT IM TESTUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN | 12 |
| 6 | LAGERUNG UND STABILITÄT..... | 12 |
| 7 | VORSICHTSMASSNAHMEN..... | 13 |
| 8 | ORIENTIERUNGSHILFE FÜR PROBENNAHME; AUFBEREITUNG UND LAGERUNG | 13 |
| 9 | TESTDURCHFÜHRUNG..... | 14 |
| 10 | GÜLTIGKEIT DES ASSAYS..... | 15 |
| 11 | QUALITÄTSKONTROLLE | 16 |
| 12 | ERWARTETE WERTE UND GRENZEN DER METHODE | 16 |
| 13 | LEISTUNGSMERKMALE | 16 |
| 14 | RECHTLICHE GRUNDLAGEN | 18 |
| 15 | EMPFOHLENE LITERATUR..... | 18 |
| | | |
| | SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS | 19 |

1 INTENDED USE

The free PSA ELISA is used for the quantitative determination of free prostate specific antigen (t-PSA) in human serum or plasma samples. The determination of f-PSA levels is generally used in conjunction with a total PSA (t-PSA) measurement to determine the ratio between f-PSA and t-PSA. This ratio helps to estimate the risk for prostate cancer and to discriminate between elevated t-PSA levels caused by cancerous or non-cancerous conditions. F-PSA determinations are especially recommended for men with elevated t-PSA levels and negative results with digital rectal examination (DRE) in order to decide if a second prostate biopsy is indicated.

2 INTRODUCTION

Prostate cancer is the most frequent type of cancer found in man and is the second cause of death due to cancer in males. Until recently, digital rectal examination (DRE) was frequently used as only diagnostic modality for the detection of early stages of prostate cancer. In the recent years the determination of serum PSA levels has become the most accepted method to improve the diagnostic specificity of DRE. Although PSA is a tissue specific protein and is not solely tumor specific, it has become the most important marker for prostate carcinoma, showing a better specificity than other biochemical markers used in this context (PAP, total alkaline phosphatase, carcinoembryonic antigen, etc.)

In 1979, Wang et al. isolated a specific antigen for normal prostate tissue and called this protein PSA. PSA is a 33 kDa serine proteinase. Immunohistological studies have shown that PSA is localized in the cytoplasm of prostate acinar cells, ductal epithelium and in the secretion on the ductal lumina, present in normal, benign hyperplastic and malignant prostate tissues as well metastatic prostate cancer and in seminal plasma. If the structural integrity of the prostate is disturbed and/or the gland size is increased, the amount of PSA in the blood plasma may become elevated. In the blood plasma, most of the PSA forms complexes with various proteinase inhibitors. Only a small fraction of PSA circulates as free inactive PSA. Basically three major forms of PSA can be distinguished, only two of which are immunoreactive. The predominant form of PSA is a complex with α 1-antichymotrypsin (ACT-PSA). Inactive free PSA (f-PSA) represents around 10-40% of the immunologically detectable PSA. The total amount of immunoreactive PSA is known as total PSA (t-PSA). PSA complexed with α -2-macroglobulin cannot be detected by immunological assays and is therefore frequently called occult PSA (o-PSA).

Current methods of screening men for prostate cancer utilize the detection of t-PSA. Levels of 4.0 ng/ml or higher are strong indicators of the possibility of prostatic cancer and are an indication for follow-up examinations of the patient. However, elevated serum PSA levels are frequently also attributed to benign prostatic hyperplasia, leading to a high percentage of false positive screening results. A potential solution to this problem involves the determination of free PSA levels. Studies have suggested that the percentage of free PSA is lower in patients with prostate cancer than those with benign prostatic hyperplasia. Thus, the measurement of free serum PSA in conjunction with total PSA, can improve specificity of prostate cancer screening in selected men with elevated total serum PSA levels, which would subsequently reduce unnecessary prostate biopsies with minimal effects on cancer detection rates.

3 PRINCIPLE OF THE TEST

This f-PSA ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The microtiter wells are coated with an anti-f-PSA monoclonal antibody, directed towards an epitope of an antigen molecule. An aliquot of patient serum is incubated in the coated well with enzyme conjugated second antibody (E-Ab), directed towards a different region of the antigen molecule. After incubation the unbound E-Ab is washed off: The amount of bound E-Ab is proportional to the concentration of antigen in the sample. After adding the substrate solution, the intensity of colour developed is proportional to the antigen concentration in the sample. The measured ODs of the standards are used to construct a calibration curve against which the unknown samples are calculated.

4 MATERIALS PROVIDED WITH THE KIT

Each kit contains reagents sufficient for 96 determinations.

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells.
Wells coated with anti-free PSA antibody (monoclonal).
2. **Zero Standard/Sample Diluent**, 1 vial, 10.0 mL, ready to use.
Contains non-mercury preservative.
3. **Standard (Standard 1-5)**, 5 vials, 0.5 mL, ready to use;
Concentrations: 0.75 – 1.5 – 3.0 – 6.0 – 12.0 ng/mL
The standards are calibrated against NIBSC (WHO) Standard 96/668
Contain non-mercury preservative.
4. **Control Low & High**, 2 vial, 0,5 mL each, ready to use;
For control values and ranges please refer to vial label or QC-Datasheet.
Contain non-mercury preservative.
5. **Assay Reagent**, 1 vial, 6 mL, ready to use;
Contains non-mercury preservative.
6. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 6 mL, ready to use,
Anti-PSA antibody conjugated to horseradish peroxidase;
Contains non-mercury preservative.
7. **Substrate Solution**, 1 vial, 12 mL, ready to use,
Tetramethylbenzidine (TMB).
8. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use,
contains 1 N acidic solution,
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
9. **Wash Solution**, 1 vial, 25 mL (40X concentrated),
Dilute with distilled water before use.
see „Reagent Preparation“.

5 MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Precision micropipettes (volume: 25 µL and 100 µL) with disposable tips
- Distilled water
- ELISA photometer with 450 nm- and 630 nm-filters
- Timer with 60 min. range or higher
- Microplate washer (optional)
- Vortex or similar mixing tools
- Container for the proper handling of waste and samples after use

6 STORAGE AND STABILITY

- Store the kit and components at 2 °C to 8 °C
- Bring to room temperature (18 °C - 25 °C) at least 30 minutes before use. After use put back into the refrigerator. Avoid long time storage at room temperature.
- Do not use the kit or components after the expiry date. For expiry date of the original packed kit see kit label.
- Close the bottles immediately after use.
- Store the plate incl. desiccant in the provided zip-lock pouch. Modules that are not used should always be stored under this condition.
- Ensure that kit components do not freeze.
- Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

7 PRECAUTIONS

- ELISA kits are only for in vitro diagnostic use by professionals.
- Serum and plasma samples should be treated as potentially infectious materials. Wear gloves and proper laboratory attire when handling sample materials. Do not eat, drink or smoke in areas where specimen or kit reagents are handled. Do not pipette with the mouth. In case of skin contact, wash with a germicidal soap and copious amounts of water. Seek medical advice if indicated.
- The PSA standards and controls are of human origin. They have been tested and confirmed negative for HIV, HBsAg and HCV. However, all standards should be treated as potential biohazards.
- Due to the potentially infectious character of samples and kit components all materials that have come in contact with these materials should be sterilized and disposed of according to local regulations. This also includes the liquid waste.
- The assay reagents contain preservatives, TMB, H₂O₂ or acidic solution and may be harmful if ingested. A direct skin or mucosa contact should be avoided. In case of skin contact, wash thoroughly with water and seek medical attention if required.
- The stop solution contains acidic solution. Since the acidic solution used to terminate the color reaction is corrosive, the instrumentation employed to dispense it should be thoroughly cleaned after use.
- Do not interchange reagents from different LOT# or different suppliers.
- Avoid reagent or sample carry-over by using fresh tips for solutions and samples.
- Do not use test kit if zip lock pouch or bottles have been damaged.

8 GUIDELINE FOR SAMPLE COLLECTION; PREPARATION AND STORAGE

8.1 Sample collection

Blood samples are collected by veinpuncture. As different factors could influence the PSA level in blood, doctors should ensure that the patient has avoided the following conditions before taking the blood sample

The following conditions may lead to an increase of PSA levels

- biking
- sexual intercourse (ejaculation)
- Manipulation of the prostate during medical examinations like DRE, transrectal prostatic ultrasound etc. Please note that especially DRE might lead to an increase of f-PSA only, so that PSA carcinomas might be overlooked
- Prostatitis
- Liver dysfunction

The following conditions may lead to a decrease of PSA levels

- Intake of 5-alpha-reductaseinhibitors, antiandrogens, or GnRH analoga

8.2 Sample preparation

The preparation of serum or plasma samples is performed according to standard techniques. Serum or plasma should be prepared as soon as possible to avoid hemolysis and to improve the stability of PSA.

8.3 Storage of samples

For the assay either fresh serum or plasma samples can be used. F-PSA is not as stable as t-PSA. Literature (Thomas, 2008) recommends to measure samples within 24 hours. In case of longer storage, freeze at -20 °C. A repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

Note

- Highly lipemic or hemolytic samples can give incorrect analytical results.
- Samples must be free of microbial contaminations.
- Samples containing high titers of rheumatoid factor and human anti-mouse antibodies (HAMA) could give erroneous results.

9 ASSAY PROCEDURE

9.1 Reagent preparation

Before starting the assay the wash buffer must be diluted to the right concentration.

Per well approximately 2 mL of diluted buffer are needed. Calculate the volume of buffer required for the testing.

Take 1/40 of the volume wash buffer concentrate and dilute with 39/40 of the volume distilled water.

9.2 Test procedure

Note: It is highly recommended to perform all measurements as duplicates. An independent standard curve should be made for each series of measurements. For best results it is important that the solutions are always added to the wells in the same order to minimize variations in incubation times.

1. Prior to use bring all reagents, standards, controls, and samples to room temperature (18-25°C).
2. Check that all components are not expired and take care that bottles and plate (inclusive pouch) are not damaged.
3. Format the required microplate wells. Keep in mind that all measurements should per performed as duplicate. Document position of wells and respective samples, standards and controls to ensure later identification. Put any unused microwell modules back into the zip lock bag with the desiccant, seal bag and store at 2-8 °C.
4. Pipette 25 µL of standards, controls or samples into each well. Samples with an expected f-PSA value higher than 12 ng/ml should be diluted with the sample diluent.
5. Add 50 µL of Assay Reagent into each well and mix by moving plate on the table (10 sec.)
6. Incubate 1 h at room temperature (18-25°C)
7. Add 50 µL of conjugate into each well and mix by moving plate on the table (10 sec.)
8. Incubate 1 h at room temperature (18-25°C)
9. Remove solution from the wells by aspirating the liquid or by decanting it. If decanting, tap plate on adsorbent paper to remove residual liquid.
10. For washing fill plate with diluted wash buffer and wait 10sec before removing the buffer; repeat wash 5 times (for a total of 6 times)
We recommend the following procedure: wash wells 6-times with 250-300 µL/well diluted wash buffer. Preferably use an automated washing procedure. If washing manually, take care that the wash buffer remains in each well for the same time. This is necessary to receive lowest possible CV-values.
11. Pipette 100 µL TMB-substrate solution into each well
12. Incubate 15 min at room temperature (18-25°C)
13. Add 100 µL/well stopping solution (same order as substrate solution)
14. Read absorbencies (OD) at 450 nm (blanking 630nm)

9.3 Results

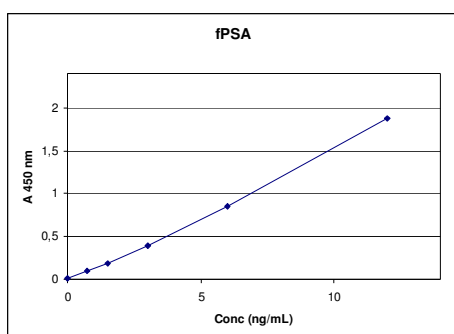
1. Calculate the mean absorbance for each duplicate.
2. Subtract the absorbance value of the zero standard from the mean absorbance values of standards, control and samples.
3. Draw the standard curve on lin-lin or log-log graph paper by plotting absorbance values of standards against appropriate PSA concentrations.
4. Read off the f-PSA concentrations for the control and the samples.

10 VALIDITY OF THE ASSAY

1. The OD 450 nm of the blanking well is lower than 0.150. Higher values indicate a chromogen/substrate contamination. In such a case, repeat the assay carefully checking the reagent.
2. The OD 450 nm of the highest standard (12 ng/mL) must be higher than 0.9. Lower values indicate kit or control decay. In such a case, check the expiry date of the kit before repeating the assay.
3. The control provided should not differ by more than 15% from the concentration stated on the label of the vial if run at least in duplicate.
4. Worksheet and standard curve of typical assay: Not to be used for calculation of actual test results.

Example

| Wells | Identity | A 450 nm | | Conc. ng/mL |
|-------|--------------|----------|-------|-------------|
| 1-2 | St 0.00ng/mL | 0.011 | 0,009 | |
| 3-4 | St 0.75ng/mL | 0.109 | 0.096 | |
| 5-6 | St 1.5ng/mL | 0.185 | 0.179 | |
| 7-8 | St 3.0ng/mL | 0.393 | 0.392 | |
| 9-10 | St 6.0ng/mL | 0.871 | 0.837 | |
| 11-12 | St 12.0ng/mL | 1.901 | 1.844 | |
| 13-14 | control | 0.218 | 0.231 | 2.05 |



Note that the absolute OD values for the standards might vary due to temperature influences or age of the conjugate. As long as the OD values form a standard curve and remain within the specifications and the control shows the expected value, results for unknown PSA samples are valid.

11 QUALITY CONTROL

- It is recommended that internal controls are used in every assay.
- Control results should be within established ranges and should represent preferably low, medium and high concentrations.

12 EXPECTED VALUES LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

When total PSA values are between 4-10 ng/mL the ratio of f-PSA to t-PSA might be employed to increase the diagnostic specificity of PSA testing. Generally the likeliness of a cancerous condition increases the lower the f-PSA portion is. A ratio of f-PSA to t-PSA of 25 % usually indicates a high probability of BPH (benign prostate hyperplasia). Low f-PSA likely signals prostate cancer. Most men with prostate cancer have an f- PSA value below 15 %. If free PSA is below 7% prostate cancer is most likely. According to the American Cancer Society and National Cancer Institute men with f-PSA below 7 % should undergo biopsy. Please note that an isolated f-PSA concentration is of no diagnostic value. For a detailed discussion of probabilities of prostate cancer and percent free PSA also see Gion et al. (1998). The above values are only for user's guidance. If possible, it is recommended for each laboratory to establish its own specific values that take into consideration a population indigenous to the area where the laboratory is located.

Note: PSA values and the f-PSA to t-PSA can only be used to estimate the cancer risk. They should always be interpreted in conjunction with other clinical findings and should not be used as a sole basis for prostate cancer diagnosis.

13 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

13.1 Detection limit

The limit of detection for this kit is 0.1 ng/mL

13.2 Precision

Intra- and inter-assay precisions were established by analysing three patient sera of different PSA concentrations. The results are summarized in Tables 1 and 2.

Table 1) *Intra-assay precision*

| Patients | Number of replicates | Mean ng/mL | SD ng/mL | CV % |
|----------|----------------------|------------|----------|------|
| 1 | 10 | 0.31 | 0.024 | 7.7 |
| 2 | 10 | 1.75 | 0.107 | 6.1 |
| 3 | 10 | 9.63 | 0.623 | 6.5 |

Table 2) *Inter-assay precision*

| Patients | Number of replicates | Mean ng/mL | SD ng/mL | CV % |
|----------|----------------------|------------|----------|------|
| 1 | 10 | 2.86 | 0.17 | 6.1 |
| 2 | 10 | 0.75 | 0.06 | 7.8 |
| 3 | 10 | 2.1 | 0.16 | 7.8 |

13.3 Recovery

Spiked serum samples were prepared by adding aliquots of samples with highly elevated free PSA to normal male serum samples. The recovery of the antigen was in between 91.8 – 116% and in average 102%.

Table 3) *Recovery*

| sample | Expected value (ng/mL) | Observed value (ng/mL) | Recovery % |
|--------|------------------------|------------------------|------------|
| 1 | 5.48 | 5.47 | 99,8 |
| | 2.74 | 3.19 | 116 |
| | 5.48 | 5.03 | 91.8 |
| 2 | 2.78 | 2..81 | 101 |
| | 3 | 5.57 | 5.68 |
| | 2.74 | 2.82 | 103 |

13.4 Hook effect

No hook effect has been noticed with samples up to 5000 ng/mL.

13.5 Correlation

The f-PSA ELISA (DE4189) was compared to a commercially available and CE marked two step Free PSA Elisa:

$$Y = 0.8922x + 0.11; R^2 = 0.8977$$

In a second study the f-PSA ELISA (DE4189) was compared to a second reference f-PSA ELISA:

$$Y = 1.0708 x; R^2 = 0.7969$$

13.6 Calibration

The free PSA ELISA (DE4189) is calibrated against WHO Standard 96/668.

13.7 Specificity

The assay is highly specific for free PSA, with a relatively low cross-reactivity to other proteins and polypeptides, lipids or chemotherapeutic agents that might be present in patient samples.

Table 4) Specificity

| Antigens | Amount added | Cross reaction |
|--------------------------------|--------------|----------------|
| Proteins | | |
| AFP | 10 µg/mL | No |
| CEA | 10 µg/mL | No |
| HCG | 10 µg/mL | No |
| Lactalbumin | 10 µg/mL | No |
| PAP | 1 µg/mL | No |
| Interfering substances | | |
| Bilirubin | 0.2 mg/mL | No |
| Triglyceride | 15 mg/mL | No |
| Hemoglobin* | 0.1 mg/ml | No |
| Chemotherapeutic Agents | | |
| Cyclophosphamid | 800 µg/mL | No |
| Doxorubicin * HCl | 20 µg/mL | No |
| Diethylstilbestrol | 2 µg/mL | No |
| Flutamide | 10 µg/mL | No |
| Methotrexate | 50 µg/mL | No |

* at higher concentration hemoglobin results in too high OD values, hemolytic samples should thus be avoided.

14 LEGAL ASPECTS

14.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DEMEDITEC.

14.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 14.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

14.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 14.2. are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

15 SUGGESTED READING

1. Fritsche HA und RJ. Babalan Clin Chem (1993) Vol: 39: 1529-1529 Analytical performance goals for measuring prostate-specific antigen:
2. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaft (AWMF): Leitlinien der Deutschen Urologen: PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik (2003) <http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/uro1-36v.htm> (Stand Juli 2003)
3. Hammerer P. and Huland H., Der Onkologe (1996), Vol 2: 218-223 Früherkennung des Prostatakarzinoms. Onkologe
4. Milford Ward A. et al., Ann Clin Biochem (2001), Vol 38: 633-651 Prostate specific antigen: biology, biochemistry and available commercial assays.
5. Price C. P. et al., Ann Clin Biochem (2001), Vol 38: 188-216 Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostrate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer.
6. Lange P et al., J Urol (1989) Vol 141:873 The value of serum prostate-specific antigen determinations before and after radical prostatectomy,
7. Akdas et al. British J Uro (1997) Vol 79: 920-923 The role of free prostate specific antigen in the diagnosis of prostate cancer
8. Thomas L (2008) Labor und Diagnose, TH-Books Verlagsgesellschaft 1342-1351
9. Gion M et al. (1998) Clin Chem 44: 2462-2470 Percent free prostate specific antigen in assessing the probability of prostate cancer under optimal analytical conditions

1 VERWENDUNGSZWECK

Der Free PSA ELISA dient der quantitativen Bestimmung von freiem Prostata-spezifischem Antigen (f-PSA) in humanem Serum- oder Plasmaproben. In der Regel wird eine f-PSA Bestimmung zusammen mit einer Gesamt-PSA (total PSA, t-PSA) Bestimmung durchgeführt, um das Verhältnis zwischen f-PSA und t-PSA zu ermitteln. Dieses Verhältnis hilft, das individuelle Risiko einer Prostatakrebskrankung einzuschätzen und hilft bei der Unterscheidung zwischen gutartigen Erkrankungen oder Tumorerkrankungen. F-PSA Untersuchungen werden speziell für Männer empfohlen, die erhöhte t-PSA Werte bei unauffälligen Befunden in der Digitalen Rektalen Untersuchungen (DRU) aufweisen, um zu entscheiden ob eine zweite Biopsie durchgeführt werden soll.

2 EINFÜHRUNG

Prostatakrebs ist die bei Männern am häufigsten auftretende Krebsart und die zweithäufigste Todesursache bei Krebserkrankungen von Männern. Bis vor kurzem wurden überwiegend Digitale Rektale Untersuchungen (DRU) als diagnostische Methode zur Früherkennung von Prostatakrebs eingesetzt. In den letzten Jahren hat sich zunehmend die Bestimmung der PSA-Konzentration im Serum durchgesetzt, um die diagnostische Spezifität der DRU zu erhöhen. Obwohl PSA ein gewebespezifischer und kein tumorspezifischer Marker ist, hat es sich zu dem wichtigsten Marker für Prostatakarzinome entwickelt, da es eine bessere Spezifität als andere biochemische Markerproteine aufweist, die in diesem Zusammenhang getestet wurden (z.B. PAP, total alkaline phosphatase, carcinoembryonic antigen u.a.).

1979 isolierten Wang et al. ein spezifisches Antigen aus gesundem Prostatagewebe und nannten dieses Protein Prostata-spezifisches Antigen (PSA). PSA ist eine 33 kDA große Serinprotease. Immunhistologische Untersuchungen ergaben, dass PSA im Zytoplasma der azinösen Zellen der Prostata, im Gangepithel und im Drüsengangsekret zu finden ist, sowie gesundem nicht-malignem, hyperplastischem und malignem Prostatagewebe, im metastasierenden Prostatakarzinom und in der Seminalflüssigkeit. Bei Störung der strukturellen Integrität der Prostata und/oder Vergrößerung der Prostata kann die PSA-Konzentration im Blutplasma ansteigen

Im Blutplasma liegt PSA meist an unterschiedliche Proteinaseinhibitoren gebunden vor. Nur ein kleiner Anteil des PSAs zirkuliert als freies inaktives PSA. Im Wesentlichen lassen sich drei Hauptfraktionen unterscheiden, von denen nur zwei immunologisch nachweisbar sind. Davon stellt α 1-Antichymotrypsin komplexiertes PSA (ACT-PSA) den Hauptanteil dar, wohingegen inaktiviertes freies PSA (f-PSA) ca. 10-40 % des nachweisbaren PSAs ausmacht. Die Gesamtmenge an immunologisch nachweisbaren PSA wird als total PSA (t-PSA) bezeichnet. Immunologisch nicht nachweisbar sind PSA-Komplexe mit α 2-Makroglobulin. Sie werden deshalb als okkultes PSA (o-PSA) bezeichnet.

Die derzeitigen Screening-Methoden zur Erkennung von Prostatakrebs beinhalten häufig den Nachweis von t-PSA. Konzentrationen von 4,0 ng/ml oder höher können ein Hinweis auf ein Prostatakarzinom sein und gelten als Indikation für die Einleitung weiterführender Untersuchungen des Patienten. Allerdings treten erhöhte PSA-Spiegel auch häufig im Zusammenhang mit BPH (benigne Prostatahyperplasie) auf, so dass es zu hohem Anteil falsch positiver Screeningergebnisse kommt. Eine Möglichkeit, diese Problematik einzugrenzen besteht in der zusätzlichen Bestimmung der f-PSA Werte. Studienergebnisse weisen darauf hin, dass der Anteil von f-PSA bei Prostatakarzinom geringer ist als bei Patienten mit BPH. Durch die gleichzeitige Bestimmung von f-PSA und t-PSA im Serum kann die Spezifität des Prostatakrebscreening für bestimmte Patientengruppen erhöht werden. Dadurch wird die Rate unnötiger Prostatabiopsien verringert, wobei die Detektionsrate der Krebserkrankung nur unwesentlich beeinflusst wird.

3 TESTPRINZIP

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um einen Festphasen-Enzym-Immunoassay (ELISA) nach dem Sandwichprinzip. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit einem Antikörper beschichtet der auf ein Epitop eines Antigenmoleküls ausgerichtet ist. Ein Aliquot des Patientenserums wird zusammen mit einem enzymmarkierten Sekundär-Antikörper (E-Ab), der gegen einen anderen Bereich des Antigenmoleküls gerichtet ist, in die Vertiefung gegeben. Nach der Inkubation wird der ungebundene E-Ab ausgewaschen. Die Menge des gebundenen E-Ab ist proportional zur Konzentration der in der Probe befindlichen Antigenmenge. Nach dem Hinzufügen der Substratlösung ist die gemessene Farbintensität proportional zur Konzentration der in der Probe befindlichen Antigenmenge. Aus den gemessenen Extinktionswerten (OD) der Standards wird eine Eichkurve erstellt, auf Grundlage derer die unbekanntes Proben berechnet werden.

4 IM TEST KIT ENTHALTENE MATERIALIEN

Jeder Kit enthält ausreichend Reagenzien zur Durchführung von 96 Bestimmungen.

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
Mit anti-freies-PSA-Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. **Zero Standard/Sample Diluent**, 1 Fläschchen, 10,0 mL, gebrauchsfertig.
(Nullstandard / Probenverdünnungsmittel)
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Standard (Standard 1-5)**, 5 Fläschchen, 0,5 mL, gebrauchsfertig;
Konzentrationen: 0,75 – 1,5 – 3,0 – 6,0 – 12,0 ng/mL
Die Standards sind kalibriert gegen den NIBSC (WHO) Standard 96/668;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Control Low & High**(Kontrolle), 2 Fläschchen, 0,5 mL; gebrauchsfertig
Kontrollwerte und –bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC-Datenblatt.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. **Assay Reagent** (Testreagenz), 6 mL, gebrauchsfertig;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
6. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 6 mL, gebrauchsfertig;
Anti-PSA-Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
7. **Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 12 mL, gebrauchsfertig;
Substratlösung TMB.
8. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
enthält 1 N saure Lösung,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
9. **Wash Solution** (Waschlösung), 1 Fläschchen, 25 mL, **40X** konzentriert;
Vor der Anwendung mit destilliertem Wasser verdünnen.
Siehe „Vorbereitung von Reagenzien“

5 BENÖTIGTE NICHT IM TESTUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

- Präzisionsmikropipetten (Volumen: 25 µL und 100 µL) mit Einwegspitzen
- Destilliertes Wasser
- ELISA-Photometer für Mikrotiterplatten mit 450 nm und 630 nm Filtern
- Zeitmesser bis 60 min. oder mehr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten (optionell)
- Vortex-Mixer oder vergleichbare Mixgeräte
- Container für die ordnungsgemäße Entsorgung von Abfall und Proben nach Gebrauch

6 LAGERUNG UND STABILITÄT

- Lagern Sie den Kit und die Einzelkomponenten bei 2 °C bis 8 °C.
- Bringen Sie den Kit mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur. Nach der Benutzung müssen die verbliebenen Bestandteile wieder im Kühlschrank gelagert werden. Eine längerfristige Lagerung bei Raumtemperatur sollte vermieden werden.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums dürfen der Kit bzw., die einzelnen Bestandteile nicht länger verwendet werden. Das Verfallsdatum kann den entsprechenden kennzeichnenden Aufklebern entnommen werden,
- Nach der Benutzung müssen die Fläschchen sofort wieder gut verschlossen werden,
- Die ELISA Platte muss zusammen mit dem Trockenmittel in dem beigefügten Zip-Lock-Beutel aufbewahrt werden. Nicht benötigte Module sollten stets unter diesen Bedingungen aufbewahrt werden.
- Bitte stellen Sie sicher, dass die Testkomponenten nicht einfrieren.
- Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

7 VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die ELISA Kits sind nur für in vitro diagnostische Anwendung durch professionelles Personal ausgelegt.
- Serum- und Plasmaproben sollten als potentiell infektiös angesehen werden. Tragen Sie Handschuhe und Laborschutzbekleidung beim Umgang mit Probenmaterial. Essen, Trinken und Rauchen sind in Bereichen, in denen Probenmaterial verarbeitet wird, untersagt. Pipettieren Sie Lösungen niemals mit dem Mund. Im Falle eines Hautkontakts waschen Sie den betroffenen Bereich mit bakterizider Seife und reichlich Wasser. Suchen Sie, falls erforderlich einen Arzt auf.
- Die f-PSA Standards und die Kontrolle sind humanen Ursprungs. In einer Bestätigungsanalyse konnte gezeigt werden, dass die Tests frei von nachweisbaren Konzentrationen an HIV, HBsAG und HCV sind. Bitte betrachten Sie die Standards dennoch als potentiell biogefährdend.
- Wegen des potentiell infektiösen Charakters der Proben und der Kit Bestandteile sollten alle damit in Kontakt gekommenen Materialien vor der Entsorgung sterilisiert werden. Die Entsorgung sollte im Einklang mit nationalen Vorschriften erfolgen Dies umfasst auch den anfallenden Flüssigabfall.
- Die Reagenzien des ELISA Kits enthalten Konservierungsmittel, TMB oder saure Lösung. Deswegen ist die Einnahme der Lösungen gefährlich. Im Falle eines Haut- oder Schleimhautkontakts bitte mit reichlich Wasser abwaschen. Suchen Sie im Falle eines Unwohlseins einen Arzt auf.
- Die Stopplösung enthält saure Lösung. Da die zum Abbruch der Farbreaktion notwendige saure Lösung korrosiv ist, sollten alle für ihre Beigabe verwendeten Instrumente gründlich gereinigt werden.
- Reagenzien unterschiedlicher LOT# oder unterschiedlicher Lieferanten dürfen nicht ausgetauscht werden
- Verschleppung von Reagenzien oder Probenmaterial sollte durch den Gebrauch frischer Spitzen für jede Lösung oder Probe vermieden werden,
- Falls der ZipLock-Beutel, in dem die Platte gelagert wird, beschädigt ist, darf der Test nicht weiter verwendet werden.

8 ORIENTIERUNGSHILFE FÜR PROBENNAHME; AUFBEREITUNG UND LAGERUNG

8.1 Probengewinnung

Die Blutprobe wird aus der Vene entnommen. Verschieden Faktoren können den PSA-Spiegel im Blut beeinflussen. Vor der Entnahme sollte der Arzt sich vergewissern, dass der Patient die folgenden Bedingungen vermieden hat.

Bedingungen, die zu einer Erhöhung der PSA-Konzentration führen können:

- Radfahren
- Geschlechtsverkehr (Ejakulation)
- Manipulative Untersuchung der Prostata z.B. Digitale Rektale Untersuchungen (DRU), transrektale Ultraschalluntersuchungen etc.. Bitte beachten Sie, dass insbesondere die DRU zu einem gesonderten Anstieg von f-PSA führt, so dass Prostatakarzinome übersehen werden können.
- Prostatitis
- Fehlfunktionen der Leber

Bedingungen, die zu einer Absenkung der PSA-Konzentration führen können:

- Einnahme von 5-alpha-Reductaseinhibitoren, Antiandrogenen oder GnRH Analoga

8.2 Probenaufbereitung

Serum oder Plasmaproben werden gemäß Standardtechniken gewonnen. Die Abtrennung von Serum oder Plasma sollte so rasch wie möglich erfolgen um eine Hämolyse zu vermeiden und um die Stabilität von PSA im Probenmaterial zu erhöhen.

8.3 Probenlagerung

Für den Test sind frische Serum- oder Plasmaproben geeignet. F-PSA ist nicht so stabil wie t-PSA. In der Literatur wird empfohlen, die Proben innerhalb von 24 Stunden zu untersuchen (Thomas, 2008). Sollen die Proben länger aufbewahrt werden, müssen sie bei -20 °C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Probenmaterial sollte vermieden werden.

Hinweise

- Stark hämolytische oder lipämische Proben können fehlerhafte Analyseergebnisse verursachen.
- Die Proben müssen frei von mikrobiellen Kontaminationen sein.
- Proben mit hohem Rheumafaktor und humanen Antimaus-Antikörpern (HAMA) können zu falschen Ergebnissen führen.

9 TESTDURCHFÜHRUNG

9.1 Vorbereitung von Reagenzien

Bevor der Test gestartet wird muss die Waschlösung auf die richtige Konzentration verdünnt werden. Pro Napf werden ca. 2 mL der verdünnten Lösung benötigt. Berechnen Sie das erforderliche Puffervolumen. Nehmen Sie anschließend 1/40 des Volumens an Waschlösungskonzentrat und verdünnen es mit 39/40 des Volumens an destilliertem Wasser.

9.2 Testdurchführung

Hinweis: Es wird dringlich empfohlen alle Messungen als Doppelbestimmung durchzuführen. Für jede Messreihe muss eine unabhängige Standardkurve erhoben werden. Beste Ergebnisse werden erhalten, wenn alle Lösungen jeweils in der gleichen Reihenfolge in die Näpfcchen gegeben werden, so dass Variationen in den Inkubationszeiten minimiert werden.

1. Vor der Durchführung müssen alle Reagenzien, Standards, Kontrollen und Proben auf Raumtemperatur gebracht werden (18-25°C).
2. Überprüfen Sie, dass das Haltbarkeitsdatum der einzelnen Komponenten nicht abgelaufen ist. Stellen Sie sicher, dass die Fläschchen und die ELISA-Platte (inklusive des Schutzbeutels) keine Schäden aufweisen.
3. Formatieren Sie die erforderlichen Mikrotiterplatten Näpfcchen. Beachten Sie dabei, dass alle Messungen als Doppelbestimmung durchgeführt werden sollten. Dokumentieren Sie die Positionen der Näpfcchen für die jeweiligen Proben, die Standards und die Kontrolle, um eine spätere Zuordnung der Messwerte zu gewährleisten. Geben Sie nicht benötigte Module zusammen mit dem Trockenmittel zurück in den Schutzbeutel, versiegeln Sie den Beutel und lagern Sie ihn bei 2-8 °C.
4. Pipettieren Sie je 25 µL der Standards, Kontrollen oder Proben in jedes Näpfcchen. Erwarten Sie f-PSA-Konzentrationen oberhalb von 12 ng/ml, sollten die Proben mit dem Probenverdünner verdünnt werden.
5. Geben Sie 50 µL Testreagenz in jedes Näpfcchen und mischen Sie, indem Sie die Platte auf dem Tisch hin- und her bewegen (10 sec).
6. Inkubieren Sie den Test für 1 h bei Raumtemperatur (18-25°C).
7. Geben Sie 50 µL Konjugat in jedes Näpfcchen und mischen Sie, indem Sie die Platte für 10 sec auf dem Tisch hin- und herbewegen.
8. Inkubieren Sie den Test für 1 h bei Raumtemperatur (18-25°C)
9. Entfernen Sie die Lösung aus den Näpfcchen, indem Sie sie absaugen oder abgießen. Im Falle eines Abgießens, sollte die Platte über saugfähigem Papier ausgeklopft werden, um Flüssigkeitsrückstände vollständig zu entfernen.
10. Um die ELISA-Platte zu waschen, füllen Sie jedes Näpfcchen mit dem verdünnten Waschpuffer. Warten Sie 10 Sekunden und entfernen Sie dann den Puffer. Wiederholen Sie den Waschschrift weitere 5mal, so dass jedes Näpfcchen insgesamt 6mal gewaschen wurde.
Wir empfehlen die folgende Methode: Jedes Näpfcchen wird 6x mit 250-300 µL Waschlösung/Napf gespült. Wenn möglich sollte der Waschvorgang automatisiert erfolgen. Wird der Waschvorgang manuell durchgeführt, sollte sicher gestellt werden, dass die Verweildauer der Waschlösung für jedes Näpfcchen vergleichbar ist. Auf diese Weise erhält man möglichst geringe CV-Werte.
11. Pipettieren Sie 100 µL TMB-Substrat Lösung in jedes Näpfcchen
12. Inkubieren Sie die Platte 15 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C)
13. Geben Sie 100µl Stopplösung pro Napf zu (in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung)
14. Messen Sie die Extinktionswerte (OD) bei 450 nm (Blanking 630 nm)

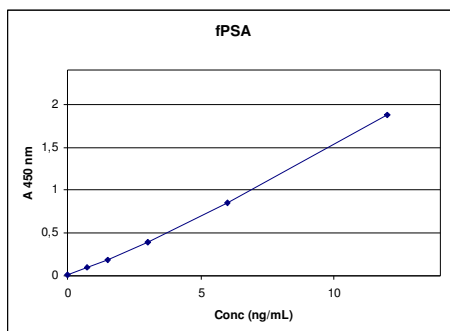
9.3 Ergebnis

1. Berechnen Sie für jede Doppelbestimmung den Mittelwert der Extinktionen.
2. Subtrahieren Sie den Extinktionswert des Nullstandards von den Mittelwerten der Extinktionen für die f-PSA Standards, der Kontrolle und der Proben.
3. Zeichnen Sie die Standardkurve auf lineares oder logarithmisches Millimeterpapier und tragen Sie dabei die Extinktionswerte der Standards über den entsprechenden PSA-Konzentrationen auf.
4. Lesen Sie die PSA-Konzentrationen für die Kontrolle und die Proben ab.

10 GÜLTIGKEIT DES ASSAYS

1. Die OD 450 nm des Nullstandards (Blank) ist niedriger als 0,150. Höhere Werte deuten auf eine Farbstoff/Substrat Kontamination hin. In diesem Fall sollte der Test wiederholt werden, wobei alle Reagenzien gründlich kontrolliert werden sollten.
2. Die OD 450 nm für den höchsten Standard (12 ng/mL) muss höher als 0,9 sein. Niedrigere Werte deuten darauf hin, dass das Kit oder die Kontrollen verfallen sind. In diesem Fall kontrollieren Sie vor der Wiederholung des Assay das auf dem Kit angegebene Verfallsdatum.
3. Die bereitgestellte Kontrolle sollte nicht stärker als 15 % abweichen sofern sie mindestens als Doppelbestimmung durchgeführt wurde.
4. Arbeitsblatt und Standardkurve eines typischen Assays: Nicht für die Berechnung von tatsächlichen Testergebnissen verwenden.

| Näpfe | Identität | E 450 nm | | Konz. ng/ml |
|-------|---------------|----------|-------|-------------|
| 1-2 | St 0,00 ng/ml | 0,011 | 0,009 | |
| 3-4 | St 0,75 ng/ml | 0,109 | 0,096 | |
| 5-6 | St 1,5 ng/ml | 0,185 | 0,179 | |
| 7-8 | St 3,0 ng/ml | 0,393 | 0,392 | |
| 9-10 | St 6,0 ng/ml | 0,871 | 0,837 | |
| 11-12 | St 12,0 ng/ml | 1,901 | 1,844 | |
| 13-14 | Kontrolle | 0,218 | 0,231 | 2,05 |



Bitte beachten Sie, dass die absoluten OD-Werte für die Standards aufgrund von Temperaturunterschieden oder Alterung des Konjugats variieren können. So lange die OD-Werte eine Standardkurve ergeben, die Werte innerhalb der oben genannten Spezifikationen liegen und die Kontrolle den erwarteten Wert ergibt, sind die ermittelten Ergebnisse für die unbekannt PSA-Proben gültig.

11 QUALITÄTSKONTROLLE

- Bei jedem Assay wird empfohlen, interne Kontrollen mitzuführen.
- Die Kontrollergebnisse sollten sich innerhalb der festgelegten Bereiche befinden und sollten bevorzugt niedrige, mittlere und hohen Konzentrationen repräsentieren.

12 ERWARTETE WERTE UND GRENZEN DER METHODE

Wenn der Gesamt-PSA-Gehalt (total PSA) einer Probe zwischen 4-10 ng/ml liegt, kann das Verhältnis von f-PSA zu t-PSA benutzt werden, um die diagnostische Spezifität der PSA-Bestimmung zu erhöhen. Generell gilt, dass die Wahrscheinlichkeit für ein Prostatakarzinom ansteigt je kleiner der f-PSA Anteil am Gesamt-PSA ist.

Ein Verhältnis von f-PSA zu t-PSA von 25 % deutet mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine gutartige Erkrankung (benigne Prostatohyperplasie, BPH) hin. Die meisten Männer mit einem Prostatakarzinom haben einen f-PSA Wert von < 15 %. Liegt der f-PSA Anteil unterhalb von 7 % ist ein Prostatakarzinom sehr wahrscheinlich. American Cancer Society und das National Cancer Institute empfehlen, dass bei Männer mit einem f-PSA Anteil < 7% eine Biopsie durchgeführt werden sollte.

Bitte beachten Sie, dass eine isolierte f-PSA-Konzentration von keinerlei diagnostischem Wert ist.

Die Wahrscheinlichkeit einer Prostatakreberkrankung und dem prozentualen Anteil an f-PSA wird detailliert bei Gion et al. (1998) diskutiert (siehe Literatur)

Die angegebenen Werte dienen lediglich als Richtwerte für den Nutzer. Wenn möglich sollte jedes Labor eigene spezifische Werte etablieren, die der jeweiligen Population in der Nähe des Labors Rechnung tragen.

Hinweis: PSA-Werte und das f-PSA/ t-PSA Verhältnis unterstützen lediglich die Abschätzung eines Prostatakrebsrisikos. Sie müssen stets in Verbindung mit anderen klinischen Untersuchungsergebnissen betrachtet werden und sollten nicht als alleinige Grundlage für eine Prostatakrebsdiagnose herangezogen werden.

13 LEISTUNGSMERKMALE

13.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des f-PSA ELISAs ist 0,1 ng/mL

13.2 Präzision

Die Intra-Assay- und Inter-Assay-Präzision wurde anhand der Analyse von drei Patientenseren mit unterschiedlicher PSA-Konzentration untersucht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 dargestellt.

Tabelle 1) *Intra-Assay-Präzision*

| Patienten | Anzahl der Wiederholungen | Mittelwert ng/mL | Standardabweichung ng/mL | VK % |
|-----------|---------------------------|------------------|--------------------------|------|
| 1 | 10 | 0,31 | 0,024 | 7,7 |
| 2 | 10 | 1,75 | 0,107 | 6,1 |
| 3 | 10 | 9,63 | 0,623 | 6,5 |

Tabelle 2) *Inter-Assay-Präzision*

| Patienten | Anzahl der Wiederholungen | Mittelwert ng/mL | Standardabweichung ng/mL | VK % |
|-----------|---------------------------|------------------|--------------------------|------|
| 1 | 10 | 2,86 | 0,17 | 6,1 |
| 2 | 10 | 0,75 | 0,06 | 7,8 |
| 3 | 10 | 2,1 | 0,16 | 7,8 |

13.3 Wiederfindung

Angereicherte Serumproben wurden hergestellt, indem normalen Seren von Männern unterschiedliche Mengen an hochpositiven f-PSA zugesetzt wurden. Die Wiederfindungsrate lag zwischen 91,8 – 116% und durchschnittlich bei 102%.

Table 3) Wiederfindung (Recovery)

| Probe | Erwarteter Wert (ng/mL) | Ermittelter Wert (ng/mL) | Wiederfindung % |
|-------|-------------------------|--------------------------|-----------------|
| 1 | 5,48 | 5,47 | 99,8 |
| | 2,74 | 3,19 | 116 |
| | 5,48 | 5,03 | 91,8 |
| 2 | 2,78 | 2,81 | 101 |
| 3 | 5,57 | 5,68 | 102 |
| | 2,74 | 2,82 | 103 |

13.4 Hook effect

Bei Proben bis zu einer Konzentration von 5000 ng/mL wurde kein Hook Effekt festgestellt.

13.5 Korrelation

Der f-PSA ELISA (DE4189) wurde mit einem kommerziell erhältlichen und CE gekennzeichneten 2-Schritt Free PSA Elisa verglichen: $Y = 0.8922x + 0.11$; $R^2 = 0.8977$

In einer zweiten Studie wurde der f-PSA ELISA (DE4189) mit einem zweiten Referenz-f-PSA ELISA verglichen: $Y = 1.0708 x$; $R^2 = 0.7969$

13.6 Kalibrierung

Der f- PSA ELISA (DE4189) wird gegen den WHO Standard 96/668 kalibriert.

13.7 Spezifität

Der Assay ist hochspezifisch für freies PSA und weist eine relativ geringe Kreuzreaktivität zu anderen Proteinen und Polypeptiden, Lipiden oder chemotherapeutischen Wirkstoffen auf, die in Patientenproben vorliegen können.

Table 4) Specificity

| Antigene | Zugefügte Menge | Kreuzreaktivität |
|---------------------------------------|-----------------|------------------|
| Proteine | | |
| AFP | 10 µg/ml | Nein |
| CEA | 10 µg/ml | Nein |
| HCG | 10 µg/ml | Nein |
| Lactalbumin | 10 µg/ml | Nein |
| PAP | 1 µg/ml | Nein |
| Interferierende Substanzen | | |
| Bilirubin | 0,2 mg/ml | Nein |
| Hämoglobin* | 0,1 mg/ml | Nein |
| Triglycerid | 15 mg/ml | Nein |
| Chemotherapeutische Wirkstoffe | | |
| Cyclophosphamid | 800 µg/ml | Nein |
| Doxorubicin * HCl | 20 µg/ml | Nein |
| Diethylstilbestrol | 2 µg/ml | Nein |
| Flutamid | 10 µg/ml | Nein |
| Methotrexat | 50 µg/ml | Nein |

* höhere Konzentrationen von Hämoglobin können zu erhöhten OD Werten führen, hämolytische Proben sollten deswegen vermieden werden.

14 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

14.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DEMEDITEC in Verbindung.

14.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 14.1. genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

14.3 Haftung








Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 14.2. erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

15 EMPFOHLENE LITERATUR

1. Fritsche HA und RJ. Babalan Clin Chem (1993) Vol: 39: 1529-1529 Analytical performance goals for measuring prostate-specific antigen:
2. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaft (AWMF): Leitlinien der Deutschen Urologen: PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik (2003) <http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/uro1-36v.htm> (Stand Juli 2003)
3. Hammerer P. and Huland H., Der Onkologe (1996), Vol 2: 218-223 Früherkennung des Prostatakarzinoms. Onkologe
4. Milford Ward A. et al., Ann Clin Biochem (2001), Vol 38: 633-651 Prostate specific antigen: biology, biochemistry and available commercial assays.
5. Price C. P. et al., Ann Clin Biochem (2001), Vol 38: 188-216 Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostrate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer.
6. Lange P et al., J Urol (1989) Vol 141:873 The value of serum prostate-specific antigen determinations before and after radical prostatectomy,
7. Akdas et al. British J Uro (1997) Vol 79: 920-923 The role of free prostate specific antigen in the diagnosis of prostate cancer
8. Thomas L (2008) Labor und Diagnose, TH-Books Verlagsgesellschaft 1342-1351
9. Gion M et al. (1998) Clin Chem 44: 2462-2470 Percent free prostate specific antigen in assessing the probability of prostate cancer under optimal analytical conditions

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

| Symbol | English | Deutsch | Français | Español | Italiano |
|---|------------------------------------|------------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------------------|
|  | Consult instructions for use | Gebrauchsanweisung beachten | Consulter les instructions d'utilisation | Consulte las instrucciones de uso | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | European Conformity | CE-Konformitätskennzeichnung | Conformité aux normes européennes | Conformidad europea | Conformità europea |
|  | In vitro diagnostic device | In-vitro-Diagnostikum | Usage Diagnostic in vitro | Para uso Diagnóstico in vitro | Per uso Diagnostica in vitro |
|  | For research use only | Nur für Forschungszwecke | Seulement dans le cadre de recherches | Sólo para uso en investigación | Solo a scopo di ricerca |
|  | Catalogue number | Katalog-Nr. | Numéro de catalogue | Número de catálogo | Numero di Catalogo |
|  | Lot. No. / Batch code | Chargen-Nr. | Numéro de lot | Número de lote | Numero di lotto |
|  | Contains sufficient for <n> tests/ | Ausreichend für "n" Ansätze | Contenu suffisant pour "n" tests | Contenido suficiente para <n> ensayos | Contenuto sufficiente per "n" saggi |
|  | Storage Temperature | Lagerungstemperatur | Température de conservation | Temperatura de conservación | Temperatura di conservazione |
|  | Expiration Date | Mindesthaltbarkeitsdatum | Date limite d'utilisation | Fecha de caducidad | Data di scadenza |
|  | Legal Manufacturer | Hersteller | Fabricant | Fabricante | Fabbricante |
| Distributed by | Distributor | Vertreiber | Distributeur | Distribuidor | Distributore |
| Content | Content | Inhalt | Conditionnement | Contenido | Contenuto |
| Volume/No. | Volume / No. | Volumen/Anzahl | Volume/Quantité | Volumen/Número | Volume/Quantità |