

fPSA Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4034

ANVISA 1000910482

REF 4034-50, 50 testes/kit

REF 4034-100, 100 testes/kit

Uso pretendido. Detecção quantitativa automática do antígeno prostático livre (fPSA) em soro humano, utilizado principalmente para rastreamento do câncer de próstata, auxílio diagnóstico e prognóstico.

Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro]

Analísador. Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo. O antígeno específico da próstata (PSA) é uma serina protease de 33kDa (calicreína-3), produzida principalmente pelo ducto da próstata e pelo epitélio acinar e, secretada no lúmen¹. Existem duas formas de PSA no soro, a complexada com inibidores de protease e, a forma livre (fPSA), que não está ligada às proteínas e encontra-se em menor concentração que a forma complexada. O PSA está presente em pequenas quantidades no soro de homens com próstata saudável, mas geralmente está elevado na presença de câncer de próstata devido à ruptura da camada de células basais². Portanto, a detecção de PSA pode ser usada como ferramenta de rastreamento e diagnóstico do câncer de próstata³⁻⁴.

No entanto, uma vez que níveis elevados de PSA podem refletir não só a presença de câncer da próstata, mas também a presença de hiperplasia prostática benigna, infecção ou inflamação crônica⁵, podem ocorrer resultados falsos positivos nos testes de PSA. A proporção de fPSA pode ajudar no diagnóstico. A porcentagem de fPSA em amostras de soro de pacientes com câncer da próstata foi menor do que em amostras de soro de pacientes com próstata normal ou doença prostática benigna. Evidências preliminares também sugerem que uma proporção menor de fPSA pode estar associada a uma forma mais agressiva de câncer de próstata⁶. Em geral, quanto menor a concentração relativa de fPSA, maior o risco de câncer de próstata em homens⁷. Clinicamente, o PSA e o fPSA são geralmente detectados ao mesmo tempo e a proporção de fPSA/PSA é calculada. Esta proporção é usada principalmente para auxiliar no diagnóstico diferencial de câncer de próstata e lesões benignas da próstata, ou para monitorar e avaliar o efeito terapêutico em pacientes com tumores malignos.

Princípio do teste. O ensaio fPSA é um imunoenensaio tipo sanduíche para determinar a presença de fPSA no soro humano usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, a amostra e as micropartículas magnéticas revestidas com anti-fPSA são combinados e incubadas. O fPSA presente na amostra liga-se às micropartículas paramagnéticas revestidas com

anti-fPSA. Após a lavagem, o conjugado anti-fPSA marcado com acridina é adicionado e, o anticorpo marcado com acridina que não reagiu, é removido por outra lavagem.

As soluções de Pre-Trigger e Trigger são então adicionadas à mistura. A reação quimioluminescente resultante é medida como Unidades Relativas de Luz (RLUs). Existe uma relação proporcional entre a quantidade de fPSA presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest. Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via *QR Code* e adaptada ao analisador por meio de dois calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes - soluções de trabalho

REF	4034-50	4034-100
Testes por kit	50	100
R 1 1	6,0 mL	11,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
CAL 1 1	0,5 mL	0,5 mL
CAL 2 2	0,5 mL	0,5 mL
CONTROL 1 1	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 2 2	1,0 mL	1,0 mL
Tampas de silicone	2	2

R 1 1 - Anticorpo anti-fPSA $\leq 0,16 \mu\text{g/mL}$ marcado com acridina $\leq 2,18 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína, bloqueador e conservante.

M - Micropartículas magnéticas $\leq 0,30 \text{ mg/mL}$ revestidas com anticorpo anti-fPSA $\leq 1,50 \mu\text{g/mL}$ em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$, surfactante, estabilizadores de proteína e conservante.

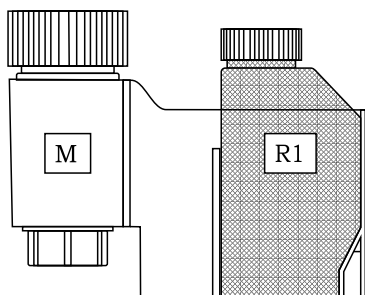
CAL 1 1 - Antígeno fPSA em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CAL 2 2 - Antígeno fPSA em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.

CONTROL 1 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): Antígeno fPSA em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

CONTROL 2 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): Antígeno fPSA em tampão $\leq 7,27 \text{ mg/mL}$ com estabilizadores de proteína e conservante.*

* Para média e intervalo ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico in vitro.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manipular todos reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.
- Ficha de segurança disponível no site www.labtest.com.br.
- Evite formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostra, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados precisos.
- Não misture lotes de reagentes.
- Realizar a calibração do produto conforme o tópico "Calibração".
- Não utilizar o produto caso sejam observados sinais de contaminação.
- As cubetas são descartáveis e não devem ser reutilizadas.
- Não manusear o Reagent M próximo a campos eletromagnéticos intensos.
- Não separar o volume de nenhum dos componentes do kit em alíquotas.

Precauções de segurança

Cuidado . Este produto exige a manipulação de amostras humanas. Recomenda-se que todos os materiais de origem humana sejam considerados potencialmente infecciosos. O nível de Biossegurança 2 ou outras práticas de biossegurança apropriadas devem ser usadas para materiais que contenham ou, que sejam suspeitos de conter, agentes infecciosos.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Substitua a tampa original dos reagentes R1 e M pelas tampas de silicone quando o reagente for carregado no equipamento automático.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.

5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.

6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armazene o fPSA Reagent Kit Ref. 4034 na posição vertical para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade dos reagentes :

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade
Aberto a 2 - 8 °C	45 dias
On board	28 dias

Indicações de deterioração dos reagentes . A deterioração dos reagentes pode ser indicada quando ocorre um erro de calibração ou um valor de controle está fora da faixa especificada. Os resultados dos testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente após uma nova calibração.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soros coletados em tubos com ou sem gel separador. A amostra é estável por 4 horas a 20-25°C, 1 dia a 2-8 °C, 1 mês a -20°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) e 4 meses a -80°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)^{8,9}. Amostras contendo precipitados devem ser centrifugadas antes da execução do ensaio. Para resultados exatos, amostras de soro devem estar sem fibrina, hemácias e outros materiais particulados. Amostras de soro de pacientes que receberam terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina, devido à formação incompleta de coágulo.

Verifique se as amostras, calibradores e controles estão a 20 - 25 °C antes da medição. Devido a possíveis efeitos de evaporação, amostras, calibradores e controles nos analisadores devem ser analisados/medidos em até 2 horas. Deve ser criado um procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Procedimento

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref.4100
2. Trigger Solution Ref. 4002
3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004
5. Sample Diluent A Ref. 4060
6. Cubetas de reação para o equipamento automático, dedicado aos

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador. Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes. O volume de amostra necessário para um teste é de 20 µL sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração . Rastreabilidade: Este método é rastreável a padrões de referência internos que passaram por atribuição de valor utilizando outro ensaio disponível comercialmente. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional. Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de um novo lote for utilizado;
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos;
- Depois de 28 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente;
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou, após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorizar a imprecisão da medição e desvios da calibração. Recomenda-se utilizar os controles da qualidade CONTROL 1 e CONTROL 2 contidos no kit para controle interno da qualidade.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura do *QR code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.

Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculo . O ensaio fPSA utiliza um método de redução de dados com

adaptação da curva logística de 4 parâmetros (4PLC, ponderado Y) para gerar a calibração e os resultados.

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com concentrações de fPSA acima da faixa de medição devem ser diluídas com diluente de amostra (Sample Diluent A. Ref. 4060). A diluição recomendada é 1:20 (automática pelos analisadores ou manualmente). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do Procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados; por exemplo, sinais e sintomas, resultados de outros testes e dados clínicos. Se os resultados de fPSA forem inconsistentes com as evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- Amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongos para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongos (HAMA). Essas amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou baixos quando testadas com kits de ensaio, como fPSA, que emprega anticorpos monoclonais de camundongo. Informações clínicas ou diagnósticas adicionais podem ser necessárias para determinar o estado do paciente^{10,11}.
- Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas, interferindo nos imunoenaios *in vitro*. Pacientes rotineiramente expostos a animais ou a produtos de soro animal podem ser propensos a essa interferência, e valores anômalos podem ser observados. Informações adicionais podem ser necessárias para o diagnóstico¹².
- O valor de fPSA deve ser usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico. O ensaio fPSA não deve ser usado como teste de triagem de câncer.

Características de desempenho . Dados de desempenho representativos são fornecidos nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limites inferiores de medição . O Limite do Branco $\leq 0,02$ ng/mL foi obtido através de 60 replicatas de uma amostra sem analito. Esse limite foi determinado de acordo com o CLSIEP17-A2¹³.

O Limite de Detecção de 0,04 ng/mL foi determinado com base no Limite do Branco e no desvio padrão de uma amostra de baixa concentração ($n=20$).

O Limite de Quantificação de 0,04 ng/mL foi obtido utilizando a menor concentração de analito que pode ser medida de forma reprodutível com $CV \leq 20\%$.

Faixa de medição . 0,04 a 50,00 ng/mL. Valores abaixo do limite de detecção são reportados como $< 0,04$ ng/mL. Valores acima da faixa de medição são reportados como $> 50,00$ ng/mL.

Estudo de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	43	
Equação da regressão	Método Labtest = 0,9213 x Método comparativo - 0,0374	
Coefficiente de correlação	0,9956	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático (bias) foi igual a 11,61% e 8,04% em concentrações de 1,00 ng/mL e 22,00 ng/mL, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação do Erro sistemático ($\leq 15\%$). A concentração de fPSA em soro de pacientes saudáveis é $\leq 1,20$ ng/mL¹⁴. Cada laboratório deve investigar a adequação dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Imprecisão . Os estudos de imprecisão foram realizados utilizando amostras com concentrações de 3 e 21 ng/mL de fPSA.

Repetibilidade (imprecisão intra-ensaio)

	N	Média (ng/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	20	2,94	0,08	2,68
Amostra 2		20,97	0,82	3,93

Reprodutibilidade (imprecisão total)

	N	Média (ng/mL)	DP	CV (%)
Amostra 1	40	2,93	0,16	5,53
Amostra 2		21,64	1,28	5,90

Os resultados indicam que o método atende a especificação desejável para Coeficiente de Variação ($\leq 10\%$ para reprodutibilidade e $\leq 8\%$ para repetibilidade).

Interferência

O fPSA Reagent Kit Ref. 4034 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir.

Substâncias	Concentrações
Hemoglobina	≤ 500 mg/dL
Bilirrubina	≤ 20 mg/dL
Triglicérides	≤ 1500 mg/dL
Biotina	$\leq 0,12$ mg/dL

Referências

- Steven, P.B., Yoo-Joung, K. Glenn, J. B. Biology of Prostate-Specific Antigen. JCO 21(2),383-391 (2003).
- William, J. C., Jerome, P. R., Frederick, R. A. Comparison of digital rectal exactal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 man. J Urol 197 (2S), S200-S207 (2017).
- Scott, E. E., Andrew J. A., Todd, M. M., et al. Molecular Biomarkers in localized Prostate Cancer: ASCO Guideline. J Clin Oncol 38(13), 1474-1494 (2020).

- James, L. M., Emmanuel, S. A. NCCN Guidelines updates: Management of Prostate cancer. J Natl Compr Canc Netw 17(5.5), 583-586 (2019).
- Vicki, M. V., Henry, H. W. Cristobal, G. dos R., Stephen, J. A. Current status of biomarkers for prostate cancer. Int J Mol Sci 14(6), 11034-11060 (2013).
- Catalona, W. J., Partin, A. W., Slawin, K. M. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. JAMA 279 (19), 1542-1547 (1998).
- Zhang, W. M., Leinonen, J., Kalkkinen, N., Dowell, B., Stenman, U. H. Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in human seminal fluid. Clin Chem 41(11), 1567-1573 (1995).
- World Health Organization. Diagnostic Imaging and Laboratory Technology. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/65957>. (2002).
- Klaus Jung, Philipp von Klinggräff, Brigitte Brux, Pranav Sinha, Dietmar Schnorr, Stefan A Loening, Preanalytical Determinants of Total and Free Prostate-Specific Antigen and Their Ratio: Blood Collection and Storage Conditions, Clinical Chemistry, Volume 44, Issue 3, Pages 685 – 688 , <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.3.685>. (1998).
- Nussbaum S, Roth HJ. Human anti-mouse antibodies: pitfalls in tumor marker measurement and strategies for enhanced assay robustness; including results with Elecsys CEA. Anticancer Res. 20(6D):5249-5252. (2000).
- Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev. 25(2):105-120. (2004).
- Ward G, McKinnon L, Badrick T, Hickman PE. Heterophilic antibodies remain a problem for the immunoassay laboratory. Am J Clin Pathol. 108:417–21.(1997).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation. Approved guideline - Second edition. CLSI document EP17-A. Wayne, PA. (2004).
- Hasan Y, Seyfettin C, Ufuk Y, Murat U, Ali S, Ozdal D. Percentage of free prostate-specific antigen (PSA) is a useful method in deciding to perform prostate biopsy with higher core numbers in patients with low PSA cut-off values, The Kaohsiung Journal of Medical Sciences , 31 (6) : 315 - 319 . <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2015.02.006>. (2015).

15. Labtest: Dados de arquivo.

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38
Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP: 33240-152
Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - **www.labtest.com.br**

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

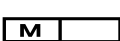
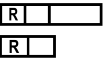
Edição: Outubro, 2024
Revisão: -
Ref.: 180625(03)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Instalar até Instalar hasta Install before		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment

Ref.: 160125 |