



PSA One Step Teste

Teste em membrana reativa para detecção do Antígeno Prostático Específico (PSA)

Amostra = Soro Apresentação = 1 ou 35 testes

FINALIDADE

O PSA One Step Teste é um imunoenensaio que detecta qualitativamente o Antígeno Prostático Específico (PSA) em soro humano.

INTRODUÇÃO

A sensibilidade do PSA One Step Teste é 4ng/ml calculado por diluição seriada em solução tamponada do padrão de PSA-ACT de Scripps. Sua utilidade em diagnóstico reside no fato de ser um dos poucos cuja detecção de marcadores tumorais acima de um certa concentração apresenta utilidade clínica para o diagnóstico de cancro da próstata.

O Antígeno Prostático Específico (PSA) é uma glicoproteína intracelular (34.000 daltons) sintetizada no plasma seminal pela glândula prostática¹⁻³. Está presente na hiperplasia benigna, no tecido prostático maligno, no carcinoma prostático metastático, no plasma seminal e fluido prostático⁴. A combinação da concentração sérica do PSA com o exame retal e a ultrasonografia realizada em pacientes com laudos anormais, fornece um método de detecção do câncer de próstata mais específico do que somente o exame retal⁵. A Fosfatase Ácida Prostática (PAP) atualmente é empregada somente como um complemento do PSA na investigação de câncer de próstata^{6,9}. Os níveis de PSA pré-operatório tendem a corresponder ao estágio patológico: quanto maior o nível de PSA, mais avançada a doença e maior são a probabilidade da doença extracapsular se espalhar¹⁰⁻¹³, porém não é suficiente para prever o estágio patológico¹⁴. Entretanto, o PSA em combinação com outras variáveis (por exemplo, PAP, fosfatase alcalina total, antígeno carcino embrionário, etc.) representa um importante papel no assessoramento pré-operatório de carcinoma prostático¹⁴. A função mais definitiva para o PSA está na avaliação pós-terapêutica dos pacientes com câncer de próstata¹⁵.

PRINCÍPIO

O teste de PSA One Step Teste utiliza a tecnologia imunocromatográfica de fase sólida para a detecção qualitativa do PSA em soro humano. No procedimento do teste, aproximadamente 125 µl da amostra é dispensada na cavidade da amostra (S), na qual é absorvida. Se o PSA estiver presente na amostra de soro, ele reagirá com o conjugado de cor o qual se ligará ao anticorpo impregnado na membrana, formando uma linha de

cor Rosa avermelhada visível na “janela” Teste (T). Deve sempre aparecer uma linha de cor Azul na “janela” Controle (C) para indicar que o teste é válido. Um estudo revelou que 99% dos homens saudáveis têm concentrações de PSA menores ou iguais a 4 ng/ml¹⁸. Nos casos onde a concentração de PSA sérico for menor do que 4 ng/ml, a avaliação clínica deve ser feita com informações disponíveis de outros procedimentos diagnósticos.

MATERIAIS FORNECIDOS

Dispositivo ou Tira

- Membrana com o anticorpo anti PSA impregnada e conjugado de cor-anticorpo anti-PSA em uma proteína matriz contendo 0,1% de azida de sódio = 1 ou 35 unidades.
- Pipeta plástica descartável (dentro do envelope juntamente com dispositivo)= 1 ou 35 unidades (somente para dispositivos).

PRECAUÇÕES

1. Somente para Uso Diagnóstico In Vitro;
2. Não utilizar os materiais do kit após a data de validade;
3. Utilizar ponteiros limpas e uma para cada amostra de soro;
4. Não pipetar com a boca;
5. Não fumar, comer ou beber nas áreas de manipulação das amostras ou dos reagentes do kit;
6. Usar luvas descartáveis ao manusear as amostras e os reagentes do kit e lavar as mãos posteriormente;
7. Todas as amostras dos pacientes devem ser manuseadas como sendo transmissíveis de doença;
8. Seguir todos os procedimentos e precauções necessárias para o manuseio e descarte dos materiais utilizados;
9. Os reagentes do kit contém azida de sódio como conservante, que pode reagir com chumbo ou cobre formando azidas metálicas potencialmente explosivas. Ao descartá-los, lavar com bastante água para impedir que a azida impregne nos encanamentos;
10. O invólucro do PSA ONE STEP deve ser mantido fechado até o momento do uso;
11. Não usar o teste se alguma faixa colorida aparecer na região de resultados antes de efetuar o ensaio.

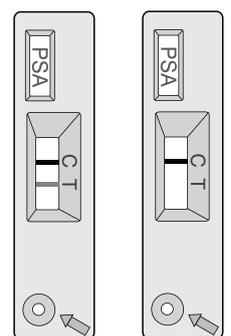
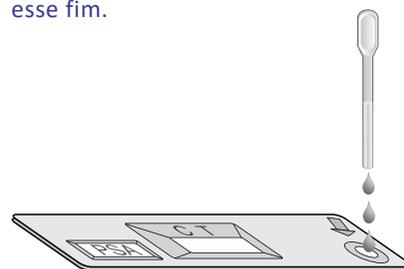
ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O PSA One Step Teste é estável até a data de validade expressa no rótulo, quando armazenado de 2-30°C em sua embalagem intacta.

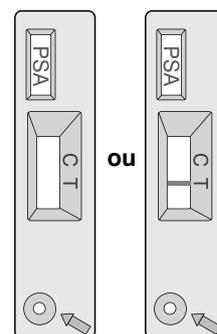
COLETA E PREPARO DA AMOSTRA

Amostras de soro ou plasma fresco e livre de turbidez podem ser utilizados.

- A. Remover o soro o quanto antes do coágulo para evitar a hemólise. De preferência, devem ser usadas amostras não hemolisadas e límpidas. As amostras contendo materiais particulados podem dar resultados de testes incoerentes. Nesse caso, centrifugá-las antes do teste.
- B. As amostras podem ser guardadas no refrigerador durante 1 ou 2 dias. Para uma conservação mais prolongada, as amostras devem ser congeladas e mantidas a -20°C. Não congelar nem descongelar repetidamente.
- C. Se as amostras estiverem congeladas, elas devem ser descongeladas, homogeneizadas completamente e atingir a temperatura ambiente antes do uso.
- D. Se as amostras forem transportadas, elas devem ser embaladas de acordo com os regulamentos estabelecidos para esse fim.



Positivo **Negativo**



Inválido

PROCEDIMENTO

Se os reagentes do kit PSA One Step Teste estiverem sob refrigeração, deixar que atinjam a temperatura ambiente antes do uso. Vários testes podem ser feitos ao mesmo tempo.

A. Dispositivo

1. Abrir um invólucro de PSA One Step Teste, identificando-o com o nome ou número do paciente;
2. Com pipeta fornecida gotejar 4 gotas, aproximadamente 125 µl de soro na cavidade da amostra (S);
3. Fazer a leitura aos 5 minutos.

B. Tira

1. Abrir um envelope de PSA One Step Teste, retirando o teste do seu interior;
2. O saquinho contendo dessecante deve ser desprezado;
3. Mergulhar a extremidade da tira, que possui desenho de flecha, na amostra a ser analisada. Ao mergulhar a tira na amostra, nunca ultrapassar a zona azul marcada com as flechas. Deixar a tira mergulhada até que a amostra seja absorvida (± 1 minuto), demonstrada pelo aparecimento da faixa do controle (faixa de cor azul);
4. Fazer a leitura em 5 minutos, não considerar nenhuma linha que aparecer após esse tempo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Dispositivo

Negativo – Uma Faixa – Aparece uma linha transversal Azul apenas na “janela” Controle (C). Sempre deve aparecer esta faixa.

Positivo: Duas Faixas – Além da linha Azul do Controle, aparece uma outra faixa transversal Rosa avermelhada na janela Teste T. A intensidade da cor será variável de acordo com a concentração do antígeno presente.

Inálido: O teste é inválido se não aparecer nenhuma linha transversal Azul visível na “janela” Controle (C). Isto pode ocorrer se o procedimento não for corretamente obedecido, ou se os reagentes tenham se deteriorado ou por ter adicionado quantidade incorreta de amostra. Repita o teste utilizando um novo dispositivo do teste.

Tira

Positivo: Duas Faixas – O aparecimento das faixas rósea e azul indica a presença PSA na amostra. Um resultado positivo indica que o PSA foi detectado na amostra do paciente a um nível igual ou acima do ponto de cut-off de 4 ng/ml. A intensidade da cor rósea pode variar de acordo com a concentração do antígeno presente.

Negativo – Uma Faixa – Aparece apenas a

faixa transversal AZUL

Inálido: O teste é inválido se não aparecer a faixa transversal azul, indicando que o procedimento não foi corretamente executado, ou o reativo ter se deteriorado, ou uma quantidade incorreta da amostra. Neste caso repetir o teste com uma nova tira.

Toda linha que aparecer após os 5 minutos não terá valor diagnóstico.

Por outro lado, e apesar da especificidade do método ser muito boa (maior que 98%), pode aparecer ocasionalmente algum caso de reação falso positiva. Em consequência, e como norma geral estabelecida, todas as amostras que dão resultados positivos devem ser comprovados com outro método diferente, de igual ou melhor sensibilidade. Tal e como ocorre para qualquer ensaio que utiliza anticorpos de camundongos, existe possibilidade de interferências com anticorpos anti-camundongos (HAMA) ou níveis altos de fator reumatóide.

O diagnóstico final não se deve basear somente no resultado de um teste. Deverá se fundamentar na correlação dos resultados dos testes com outros dados adequados e com a sintomatologia clínica.

LIMITAÇÕES

1. Os resultados do teste não devem ser interpretados como a prova absoluta para a presença ou ausência de doença maligna. Menos de 1% de indivíduos saudáveis tem o PSA elevado mas um número significativo de pacientes com hipertrofia prostática benigna (mais de 15%) apresenta o PSA elevado. Se o resultado do teste for positivo, é recomendada uma avaliação clínica cuidadosa em conjunto com informações de outros exames médicos, para um diagnóstico preciso;
2. A expressão de PSA requer testosterona e dihidrotestosterona de forma que os níveis de PSA podem ser incertos em pacientes que recebem terapia hormonal¹⁹. A manipulação da glândula prostática pode levar a um PSA elevado por 24-48 horas;
3. Adicionalmente, as concentrações de PSA elevado podem ser observadas no soro de pacientes com outros tecidos genitourinários adjacentes;
4. Amostras paralelas periódicas apropriadas podem ser usadas para monitorar o estágio clínico pós-operatório em pacientes com estágio B2 a D1¹¹⁻¹⁷. Mudanças significativas na intensidade da cor da faixa do teste podem ocorrer durante o período marcado, porém, os prognósticos da eliminação ou reincidência da doença não devem estar baseados unicamente nos resultados dos testes obtidos das amostras paralelas periódicas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de qualidade deve ser feito diariamente com o uso de soro controle. Os testes de controle de qualidade, usando padrões de controles positivo e negativo, devem ser efetuados como uma boa prática laboratorial para se confirmar os resultados esperados.

Como controle de procedimento, deve sempre aparecer uma linha Azul distinta, se o teste foi efetuado corretamente.

VALORES ESPERADOS

A. A distribuição relativa das concentrações de PSA em indivíduos saudáveis, em pacientes com carcinoma prostático e em pacientes com doenças benignas é mostrada abaixo:

% de Distribuição de PSA		
	0-4 ng/ml	+ 4 ng/ml
Indivíduos Saudáveis		
Homens < 40 anos	100	0
Homens > 40 anos	97	3
Mulheres	100	0
Doenças Cancerosas		
Câncer de Próstata		
Estágio A	37	63
Estágio B	29	71
Estágio C	19	81
Estágio D	12	88
Gastrointestinal	95	5
Genitourinário	98	2
Mamária	99	1
Pulmonar	95	5
Renal	96	4
Outras	95	5
Doenças Não Cancerosas		
Próstata – Benigna	80	20
Hipertrofia - Miscelânea	93	7
Genitourinária – Outras	98	2

B. B. O uso clínico primário de PSA é para monitorar a resposta terapêutica e o estágio clínico do câncer de próstata pacientes. As mudanças significativas na intensidade da linha do teste ou no tempo do aparecimento da linha do teste ocorrerão usando o teste PSA One Step Teste. Por exemplo, após prostactomia total, os níveis de PSA em pacientes isentos de câncer, devem reduzir a níveis não detectáveis¹¹. Mesmo em pacientes sem outras indicações da doença, um nível elevado de PSA é uma clara indicação da persistência ou da reincidência do câncer⁶. Os níveis de PSA são também utilizados na identificação daqueles pacientes que podem se beneficiar com terapia auxiliar precocemente. Em pacientes sob radioterapia para câncer de próstata, o PSA prediz a deficiência do tratamento¹³⁻¹⁷; um aumento na concentração de PSA após a radioterapia, se correlaciona com o câncer residual e o progresso à doença metastática²⁰. Os níveis baixos de PSA são mais difíceis para se interpretar porque eles podem diminuir após radioterapia, mesma na presença da doença residual²¹.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Precisão do Teste

Foram utilizadas replicatas de pelo

menos 20 testes, para se determinar a reprodutibilidade do teste, em 3 corridas diferentes de 3 lotes.

Amostras de soros	< 4 ng/ml	> 5 ng/ml
N° de replicatas	60	60
Resultados do teste	+ 0	60
	- 60	0

Precisão Inter-laboratório

Foi avaliada em três laboratórios diferentes usando-se três amostras de soro diferentes. Os testes foram utilizados em três corridas dos três lotes.

Amostras de soros	< 4 ng/ml	> 5 ng/ml
Resultados do teste		
Laboratório A	+ 0	20
	- 20	0
Laboratório B	+ 0	20
	- 20	0
Laboratório C	+ 0	20
	- 20	0
TOTAL	+ 0	60
	- 60	0

Sensibilidade Analítica

PSA One Step Teste dá um resultado positivo com amostras que contém mais de 4 ng/ml de PSA, como mostra a tabela abaixo; este limite de detecção está avaliado frente aos padrões de PSA One Step e PSA-Act da SCRIPPS Laboratories EEUU.

ng/ml	PSA One Step	PSA-ACT
64	+	+
32	+	+
16	+	+
8	+	+
4	±	±
2	-	-
1	-	-
0	-	-

Não se recomenda a utilização de SHN (soro humano normal) como diluente de antígeno de PSA como controle porque a sensibilidade obtida varia dependendo da fonte da amostra.

Quatro pessoas, sem treinamento prévio, realizaram uma prova com diluições seriadas de PSA para verificar o limite de detecção e se comprovou que não houve variações significativas na comprovação do limite de detecção.

Uma diluição seriada de PSA foi analisada com 2 lotes diferentes de PSA One Step Teste. As variações entre lotes foram insignificativas não afetando o limite de sensibilidade.

Sensibilidade e Especificidade Diagnóstica

Os anticorpos monoclonais utilizados no teste apresentam uma especificidade única

para PSA, sem reações cruzadas com outras proteínas do soro humano. Detectam tanto PSA livre como PSA acoplado com ACT (alfa-1- antiqumotripsina).

Foram testadas 109 amostras de soros frescos. O teste de referência foi o Architect da Abbot e mostrou 28 valores iguais ou superiores a 4 ng/ml (que se consideram positivos) e 81 menores que 4 ng/ml (que se consideram negativos).

Os resultados obtidos ao comparar os testes Architect PSA total da Abbot e PSA One Step Teste. Em função dos níveis de corte foram:

Abbot	PSA One Step Teste			
	Sensibilidade	Especificidade	PPV	NPV
6ng/ml	13/13=100%	75/96=78%	13/34=38%	75/75=100%
4ng/ml	25/28=89%	72/81=89%	25/34=73%	72/75=96%
2ng/ml	34/37=45%	34/34=100%	34/34=100%	34/75=45%

RELAÇÃO COM O PADRÃO DA WHO

Foi realizado um teste de ELISA, para se obter relação entre os valores de um padrão interno utilizado (PSA-ACT de Scripps) e os da WHO (PSA livre ou 90:10) é próxima a uma unidade (com as diferenças menores a 20%); 4ng/ml de PSA de PSA-ACT de Scripps tem resultados equivalentes a 3.7ng/ml de PSA WHO 90:10

GARANTIA DA QUALIDADE

A Alamar Tecno Científica Ltda obedecendo o que estabelece o código de Defesa do Consumidor e portanto para que o produto apresente o seu melhor desempenho estabelece que:

1. O usuário leia e siga rigorosamente o procedimento técnico;
2. Os materiais estejam armazenados em condições indicadas;
3. Os acessórios necessários estejam de acordo com o solicitado.

Antes de ser liberado para venda cada lote é testado e aprovado, sendo uma amostra retido para referencia futura e controle de qualidade. Portanto havendo necessidade de alguma informação sobre o lote em questão, o Controle de qualidade está à disposição. E quaisquer problemas que venham ocorrer por falha da empresa, serão resolvidos sem ônus para o cliente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wang, M.C., et al. Purification of a Human Prostate Specific Antigen. Invest. Urol. 17: 159, 1979. Bauman, S. K. Unpublished Data. 2002;
2. Watt, K.W.K., et al. Human Prostate Specific Antigen: Structure and Functional Similarity with Serum Proteases. Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 3166, 1986;
3. Lilja, H. A. Kallikrein-like Serine Protease in Prostatic Fluid Cleaves the Predominant Seminal Vesicle Protein. J. Clin. Invest. 76: 1899, 1985;
4. Wang, M.C., et al. Prostate Antigen: An Immunohistologic Marker for

- Prostatic Cancer. Prostate 2:89, 1981;
5. Catalona, W. J., et al. Measurement of Prostate-Specific Antigen in Serum as a Screening Test for Prostate Cancer. N. Engl. J. Med. 324: 1156, 1991;
6. Hortin, G.L., et al. Differences in Values Obtained with 2 Assays of Prostate Specific Antigen. J. Urol. 139: 762, 1988;
7. Human, F.Jr. Screening for Prostate Carcinoma. J. Urol. 145: 126, 1991;
8. Papsidero, L.D., et al. A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. Cancer Res. 40: 2428, 1980;
9. Guillet, J., et al. Prostate Specific Antigen (PSA) in the Management of 500 Prostatic Patients. Am. Clin. Oncol. 11 (Suppl.2): s61, 1988;
10. Lange, P.H. et al. The Value of Serum Prostatic Specific Antigen Determinations Before and After Radical Prostatectomy. J. Urol. 141: 873, 1989;
11. Oesterling, J.E., et al. Prostate Specific Antigen in the Preoperative and Postoperative Evaluation of Localized Prostate Cancer Treated with Radical Prostatectomy. J. Urol. 139: 766, 1988;
12. Stamey, T.A., and Kabalin J.N. Prostate Specific Antigen in the Diagnosis and Treatment of Adenocarcinoma of the Prostate: I. Untreated Patients. J. Urol. 141: 1070, 1989;
13. Stamey, T.A., et al. Prostate Specific Antigen in the Diagnosis and Treatment of the Prostate: II. Radical Prostatectomy. Treated Patients. J. Urol. 141: 1076, 1989;
14. Partin, A.W., et al. Prostate Specific Antigen and Local Recurrence After Radical Prostatectomy. J. Urol. 144: 921, 1990;
15. Lightner, D.J. et al. Prostate Specific Antigen and Local Recurrence After Radical Prostatectomy. J. Urol. 144: 921, 1990;
16. Hudson, M.A., Bahson, R.R. and Catalano, W.J. Clinical Use of Prostate Specific Antigen in Patients with Prostate Cancer. J. Urol. 142: 1011, 1989;
17. Dundas, G.S., Portr, A.T. and Venner, P.M. Prostate Specific Antigen: Monitoring the Response of Carcinoma of the Prostate to Radiotherapy with a New Tumor Marker Cancer. 66: 45, 1990;
18. Hybritech Tandem-E PSA Kit Package Insert;
19. Goldrath, D.E. and Messing, E.M. Prostate Specific Antigen: Not Detectable Despite Tumor Progression After Radical Prostatectomy. J. Urol. 142: 1082, 1989;
20. Stamey, T.A., and Kabalin, J.N. Prostate Specific Antigen in the Diagnosis and Treatment of Adenocarcinoma of the Prostate: III. Radical Treated Patients. J. Urol. 141: 10784, 1989;
21. Kabalin, J.N. et al. Identification of Residual Cancer in the Prostate Following Radiation Therapy: Role of Transrectal Ultrasound Guided Biopsy and Prostate Specific Antigen. J. Urol. 142: 326, 1989;c Antigen. J. Urol. 139: 762, 1988;



Alamar Tecno Científica Ltda
 Rua Emir Macedo Nogueira, 179 – J. Potinari
 Diadema - São Paulo - Brasil - CNPJ 48.044.358/0001-42
 Sac: (11) 5564-9500
 MS 10252080075 - Edição Fevereiro/2016