

PSA ONE STEP TESTE

Teste em Membrana Reativa para Detecção do Antígeno Prostático Específico (PSA)

Amostras = Soro/Plasma - Apresentação = 1 e 35 testes

FINALIDADE

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

INTRODUÇÃO

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 metastásico, no plasma seminal e fluido prostático⁴. A combinação da concentração sérica do PSA com o exame retal e a ultra-sonografia 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 é 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 ou plasma humano. O PSA presente no soro reage com as partículas de látex coloidal conjugadas com anticorpos monoclonais específicos contra PSA. Este complexo de partículas coloidais - anticorpo - PSA migra por um processo cromatográfico até a zona de reação. Os anticorpos contra PSA fixados nesta zona reagem com o complexo partículas de látex coloidal - anticorpo - PSA. Esta reação origina uma linha rósea. Deve também sempre aparecer uma linha azul (Controle) 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

1. Envelope contendo Tira com uma membrana com o anticorpo anti PSA e uma almofada impregnada com o conjugado de cor-anticorpo anti-PSA em uma proteína matriz contendo 0,1% de azida de sódio e um dessecante = 1 e 35 unidades.

PRECAUÇÕES

1. Somente para Uso Diagnóstico In Vitro
2. Não utilizar os materiais do kit após a data de validade.
3. Antes de utilizar deixar o componente do kit e amostras alcançarem a temperatura ambiente, pois reagentes e amostras frios podem reduzir a funcionalidade do teste. Recomenda-se de 20 a 30 minutos para alcançar a temperatura ambiente.
4. Não fumar, comer ou beber nas áreas de manipulação das amostras ou dos reagentes do kit.
5. Usar luvas descartáveis ao manusear as amostras e os reagentes do kit e lavar as

mãos posteriormente.

6. Todas as amostras dos pacientes devem ser manuseadas como sendo transmissíveis de doença.
7. Seguir todos os procedimentos e precauções necessários para o manuseio e descarte dos materiais utilizados.
8. 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.
9. O invólucro do **PSA One Step Teste** deve ser mantido fechado até o momento do uso.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O **PSA One Step Teste** é estável até a data de validade expressa no rótulo, quando armazenado de 4-30°C em sua embalagem intacta.

COLETA E PREPARO DA AMOSTRA

O teste de PSA pode ser realizado com soro ou plasma humano frescos e livre de turbidez.

1. 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.

2. As amostras podem ser guardadas a 2-8°C durante 1 ou 2 dias. Para armazenagem prolongada, as amostras devem ser congeladas e mantidas a -20°C. Neste caso a amostra deve ser descongelada totalmente, deixar atingir temperatura ambiente e homogeneizar antes de ser analisada. Não congelar nem descongelar repetidamente.
3. Se as amostras forem transportadas, elas devem ser embaladas de acordo com os regulamentos estabelecidos para esse fim.

PROCEDIMENTO

Se os reagentes do kit **PSA One Step Teste** estiverem sob refrigeração, deixar que atinjam a temperatura ambiente antes do uso.

1. Abrir um invólucro de **PSA One Step Teste**, retirando a tira do teste do seu interior. O saquinho contendo dessecante deve ser desprezado.
2. 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 (\pm 1 minuto), demonstrada pelo aparecimento da faixa de controle (faixa de cor azul).
3. Fazer a leitura em 5 minutos, não considerar nenhuma linha que aparecer após esse tempo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Positivo:

Duas Faixas - O aparecimento das faixas rósea e azul indica a presença de 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

Inválido:

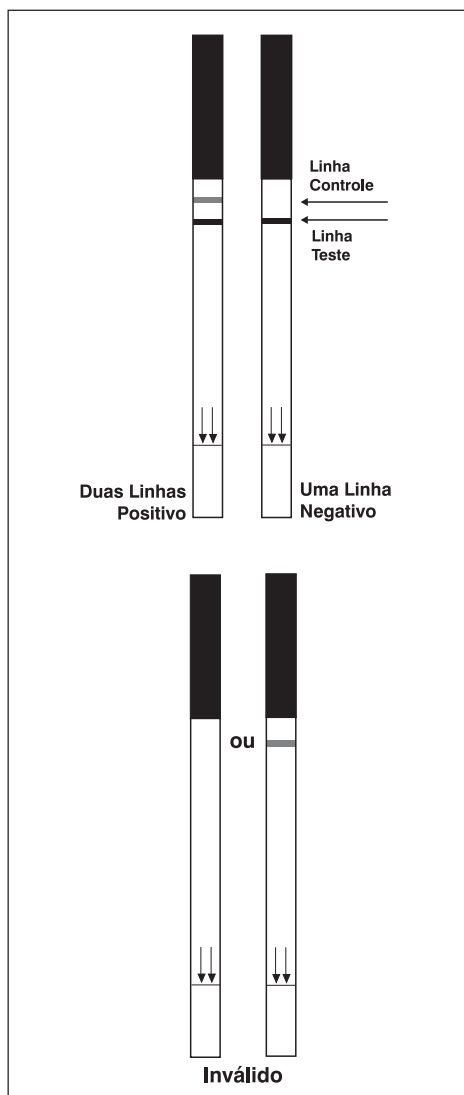
O teste é inválido se não aparecer a faixa transversal azul, indicando que o procedimento não foi corretamente executado, ou o reativo ter se deteriorado, ou uma quantidade incorreta da amostra. Neste caso repetir o teste com uma nova tira.

Toda faixa que aparecer após 5 minutos da adição na amostra não terá valor diagnóstico. Por outro lado, e apesar da especificidade do método ser muito boa (98%), pode aparecer ocasionalmente algum caso de falso positivo. Em consequência, e como uma norma geral estabelecida, todas as amostras que der resultado positivo deverão ser comprovadas com outro método diferente de igual ou melhor sensibilidade. Tal como ocorre em alguns ensaios, existe a possibilidade de interferência com anticorpos humanos (HAMA) ou níveis altos de fator reumatóide.

O diagnóstico final não deve basear-se somente em um resultado de um teste. Deve ser fundamentado na correlação de resultados dos testes com outros dados adequados e com a sintomatologia clínica.

LIMITAÇÕES

1. O teste é qualitativo e quando reportar um resultado não deve fazer nenhuma interpretação quantitativa em relação direta a intensidade da linha positiva.
2. 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.

- 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.
- Adicionalmente, as concentrações de PSA elevado podem ser observadas no soro de pacientes com outros tecidos genitourinários adjacentes.
- 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 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.
- É importante controlar o tempo da reação. Se o tempo da reação é menor do que o indicado, as amostras que tem uma quantidade de analito superior ao limite da sensibilidade pode ser observado claramente mas, para os que estão no limite não aparecerão. Se o tempo de reação for maior do que o indicado a sensibilidade do teste se verá alterado podendo dar lugar a interpretações errôneas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Um controle de qualidade deve ser feito diariamente com o uso de soros controles. 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 faixa colorida distinta se o teste foi efetuado corretamente.

VALORES ESPERADOS

- 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		
	0-4,0 ng/ml	+ 4,0 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

2. O uso clínico primário de PSA é para monitorar a resposta terapêutica e o estágio clínico do câncer de próstata dos 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 prostatectomia 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

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
Nº de replicatas	60	60
Resultados do teste +	0	60
Resultados do Teste -	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

Especificidade

As amostras clínicas de 198 pacientes foram testadas usando o **PSA One Step Teste** e um teste EIA. As amostras negativas são aquelas que não apresentam nenhuma faixa de resultado ou valores inferiores a 4 ng/ml (ELISA). Todas as amostras que apresentaram resultados negativos com **PSA One Step Teste** mostraram valores em ELISA abaixo de 4 ng/ml. Três amostras com faixas positivas nas tiras (todas elas com faixas de baixa intensidade) mostraram valores em ELISA mais baixo que 4 ng/ml e foram considerados falsos positivos. Deste modo, a especificidade do **PSA One Step Teste** foi maior que 98%.

		ELISA	
		Positivo	Negativo
PSA One Step	Positivo	2	3
	Negativo	0	193

Sensibilidade

A sensibilidade analítica do **PSA One Step Teste** é de 4 ng/ml.

Relação entre os Padrões utilizados

A relação entre os valores de padrões interno (PSA - ACT Scripps) utilizado e o da WHO foi determinado através do teste pelo método de ELISA sendo obtido os seguintes resultados: Relação entre Padrão Interno (PSA - ACT Scripps) e da WHO (PSA livre ou 90:10) foi próximo a uma unidade (com diferença menor que 20%); 4 ng/ml de PSA ACT Scripps é equivalente a 3.7 ng/ml de PSA WHO 90:10 e a 3.4 ng/ml de PSA WHO livre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Wang, M.C., et al. Purification of a Human Prostate Specific Antigen. Invest. Urol. 17: 159, 1979.
- Watt, K.W.K., et al. Human Prostate Specific Antigen: Structure and Functional Similarity with Serum Proteases. Proc. Natl. Acad. Sci. 83: 3166, 1986.
- Lilja, H. A. Kallikrein-like Serine Protease in Prostatic Fluid Cleaves the Predominant Seminal Vesicle Protein. J. Clin. Invest. 76: 1899, 1985.
- Wang, M.C., et al. Prostate Antigen: An Immunohistologic Marker for Prostatic Cancer. Prostate 2:89, 1981.
- 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.
- Hortin, G.L., et al. Differences in Values Obtained with 2 Assays of Prostate Specific Antigen. J. Urol. 139: 762, 1988.
- Human, F.J. Screening for Prostate Carcinoma. J. Urol. 145: 126, 1991.
- Papsidero, L.D., et al. A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. Cancer Res. 40: 2428, 1980.
- Guillet, J., et al. Prostate Specific Antigen (PSA) in the Management of 500 Prostatic Patients. Am. Clin. Oncol. 11 (Suppl.2): s61, 1988.
- Lange, P.H., et al. The Value of Serum Prostatic Specific Antigen Determinations Before and After Radical Prostatectomy. J. Urol. 141: 873, 1989.
- 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.
- 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.
- 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.
- Partin, A.W., et al. Prostate Specific Antigen and Local Recurrence After Radical Prostatectomy. J. Urol. 144: 921, 1990.
- Lightner, D.J. et al. Prostate Specific Antigen and Local Recurrence After Radical Prostatectomy. J. Urol. 144: 921, 1990.
- 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.
- Dundas, G.S., Portr, A. T. and Venner, R.M. Prostate Specific Antigen: Monitoring the Response of Carcinoma of the Prostate to Radiotherapy with a New Tumor Marker Cancer. 66: 45, 1990.
- Hybritech Tandem-E PSA Kit Package Insert.
- Goldrath, D.E. and Messing, E.M. Prostate Specific Antigen: Not Detectable Despite Tumor Progression After Radical Prostatectomy. J. Urol. 142: 1082, 1989.
- 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.
- 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 Jurinic - Winkler et al. Clinical Evaluation of a New Prostate-Specific Antigen Sandwich ELISA Which Employs Four Monoclonal Antibodies Directed at Different Epitopes os Prostate-Specific antigen, Eur. Urol. 1993; 24: 487 - 491

