



## Instructions for Use

# PSA FREE ELISA



**REF** EIA-4189

 96



**DRG Instruments GmbH**, Germany  
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg  
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50  
Website: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)

Distributed by:



**DRG International, Inc.**, USA  
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081  
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556  
Website: [www.drg-international.com](http://www.drg-international.com)  
E-mail: [corp@drg-international.com](mailto:corp@drg-international.com)

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.  
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.  
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.  
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.  
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

### Table of Contents / Inhaltsverzeichnis

1	INTRODUCTION .....	2
2	PRINCIPLE OF THE TEST .....	2
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS .....	3
4	REAGENTS.....	4
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	5
6	ASSAY PROCEDURE.....	6
7	EXPECTED NORMAL VALUES.....	7
8	QUALITY CONTROL.....	7
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	8
10	LIMITATIONS OF USE.....	9
11	LEGAL ASPECTS .....	10

1	EINLEITUNG .....	11
2	TESTPRINZIP .....	11
3	VORSICHTSMAßNAHMEN.....	11
4	BESTANDTEILE DES KITS .....	12
5	PROBENVORBEREITUNG.....	13
6	TESTDURCHFÜHRUNG .....	14
7	ERWARTETE WERTE .....	15
8	QUALITÄTSKONTROLLE.....	16
9	ASSAY-CHARAKTERISTIKA.....	16
10	GRENZEN DES TESTS .....	17
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN .....	18

12	REFERENCES / LITERATURE.....	19
----	------------------------------	----

	SYMBOLS USED .....	20
--	--------------------	----

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Intended Use

The **DRG PSA FREE ELISA** is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of free prostate specific antigen (F-PSA) in human serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma).

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.

### 1.2 Summary and Explanation

Globally, prostate cancer (PCa) is the second most common type of cancer and the fifth leading cause of cancer-related death in men (1). Factors that increase the risk of prostate cancer include older age, a family history of the disease, race and diet high in processed red meat (1). Detection of PCa increased significantly in the 1980s and 1990s in many areas due to increased testing of prostate-specific antigen (PSA).

Prostate-specific antigen (PSA), also known as kallikrein-3 (KLK3), is a major protein in semen. The 33 kD protein glycoprotein is secreted as inactive proenzyme by the epithelial cells of the prostate gland into prostatic ducts. After proteolytic activation, PSA cleaves high molecular weight semenogelins in the seminal coagulum to liquify the semen. Intact PSA that enters the circulation is rapidly bound by protease inhibitors or is inactivated by proteolysis. Basically, three major forms of PSA can be distinguished in serum, only two of which are immunoreactive. The predominant form of PSA is a complex with  $\alpha 1$  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  $\alpha 2$ -macroglobulin cannot be detected by immunological assays and is therefore frequently called occult PSA (o PSA) (2-5).

PSA is present only in small quantities in the serum of men with healthy prostates, but is often elevated in prostatitis or benign prostatic hyperplasia if the gland size is increased, and in prostate cancer, if the structural integrity of the prostate is disturbed and cleavage of proPSA to PSA is less efficient (6-8). Besides others (13-17), current methods of screening men for prostate cancer utilize digital rectal examination (DRE) and the detection of T-PSA, followed by biopsy. T-PSA levels > 4.0 ng/mL are indicators for follow-up examinations of the patient. Studies have shown that the percentage of free PSA is lower in patients with prostate cancer than those with benign prostatic hyperplasia. Therefore, determination of free/total PSA ratio (% free PSA) can be used to evaluate the need for prostate biopsy (9-12).

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DRG PSA FREE ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **sandwich principle**.

The microtiter wells are coated with a monoclonal (mouse) antibody directed towards a unique antigenic site of the F-PSA molecule.

During the first incubation, the F-PSA molecule in the added sample binds to the immobilized antibody. The conjugate solution, which is added after the incubation time, containing an anti-PSA antibody conjugated to horseradish peroxidase, binds to the F-PSA forming a sandwich complex.

After a washing step, to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The reaction is stopped by addition of acidic solution and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

### 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DRG.

## 4 REAGENTS

### 4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;  
Wells coated with anti-F-PSA antibody (monoclonal).
2. **Zero Standard (Sample Diluent)**, 1 vial, 10.0 mL, ready to use  
0 ng/mL;  
Contain non-mercury preservative.
3. **Standard (Standard 1 - 5)**, 5 vials, 0.5 mL each, ready to use;  
Concentrations: 0.75 – 1.50 – 3.0 – 6.0 – 12.0 ng/mL  
*The standards are calibrated against the following reference material: WHO International Standard Prostate specific antigen (human) (free), NIBSC code: 17/102*  
Contain non-mercury preservative.
4. **Control Low & High**, 2 vials, 0.5 mL each, ready to use;  
For control values and ranges please refer to vial label or Certificate of Analysis.  
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 with horseradish peroxidase;  
Contains non-mercury preservative.
7. **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;  
Tetramethylbenzidine (TMB).
8. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;  
Contains 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
9. **Wash Solution**, 1 vial, 30 mL (40X concentrated);  
See "Reagent Preparation".

**Note:** Additional *Zero Standard* for sample dilution is available upon request.

### 4.2 Materials required but not provided

- A calibrated microtiter plate reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm to 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Graph paper or software for data reduction

### 4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

### 4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature (20 °C to 26 °C) prior to use.

#### **Wash Solution**

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL distilled water to a final volume of 1200 mL.

*The diluted Wash Solution is stable for 1 week at room temperature.*

#### 4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

#### 4.6 Damaged Test Kits

In case of any damage to the test kit or components, DRG must be informed in writing, at the latest one week after receiving the kit. Damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed of according to the official regulations.

### 5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma) can be used in this assay.

*Note:* Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general it should be avoided to use haemolytic, icteric or lipaemic specimens. For further information refer to chapter “*Interfering Substances*”.

#### Important notes before blood drawing for PSA determination:

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

- Manipulation of the prostate during medical examinations like digital rectal examination (DRE), transrectal prostatic ultrasound, etc.
- Prostatitis
- Biking
- Sexual intercourse (ejaculation)
- Liver dysfunction

##### The following conditions may lead to a decrease of PSA levels

- Intake of 5-alpha-reductase-inhibitors, antiandrogens, or GnRH analoga

#### 5.1 Specimen Collection

##### **Serum:**

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

##### **Plasma:**

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

#### 5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 3 days at 2 °C to 8 °C prior to assaying.

Specimens held for a longer time (up to 12 months) should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

Literature (Labor und Diagnose, L. Thomas, 2012) recommends to measure samples within 24 hours or in case of longer storage, to freeze at -20 °C.

#### 5.3 Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more analyte than the highest standard, the specimen can be diluted with *Zero Standard* and re-assayed as described in “Assay Procedure”.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

##### Example:

- a) dilution 1:10: 10 µL sample + 90 µL *Zero Standard* (mix thoroughly)
- b) dilution 1:100: 10 µL dilution a) 1:10 + 90 µL *Zero Standard* (mix thoroughly).

## 6 ASSAY PROCEDURE

### 6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature (20 °C to 26 °C) before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

### 6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

**Note:** *It is highly recommended to perform all measurements as duplicates.*

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2. Dispense **25 µL** of each **Standard, Control** and **sample** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Dispense **50 µL Assay Reagent** into each well.  
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
5. Dispense **50 µL Enzyme Conjugate** into each well.  
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
6. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
7. Rinse the wells **5 times** with **400 µL** diluted *Wash Solution* per well, if a plate washer is used. - OR -  
Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells **5 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well for manual washing.  
Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.  
**Important note:**  
The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
8. Add **100 µL** of **Substrate Solution** to each well.
9. Incubate for **15 minutes** at room temperature.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of **Stop Solution** to each well.
11. Determine the absorbance (OD) of the solution in each well at **450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended)** with a microtiter plate reader.  
It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

### 6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4-Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.)  
Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted or reported as > 12.0 ng/mL. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

### 6.3.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard		Optical Units (450 nm)
<i>Zero Standard</i>	(0.0 ng/mL)	0.025
<i>Standard 1</i>	(0.75 ng/mL)	0.189
<i>Standard 2</i>	(1.5 ng/mL)	0.330
<i>Standard 3</i>	(3.0 ng/mL)	0.609
<i>Standard 4</i>	(6.0 ng/mL)	1.097
<i>Standard 5</i>	(12.0 ng/mL)	2.109

## 7 EXPECTED NORMAL VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

In a study conducted with apparently healthy men, using the DRG PSA FREE ELISA the following data were observed:

Population	n	Mean (ng/mL)	Median (ng/mL)	2.5th - 97.5th Percentile (ng/mL)	Range (min. - max.) (ng/mL)
Males	120	0.2	0.1	0.0 – 1.2	0.0 – 4.6

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

### Individual risk assessment:

When total PSA values are between 4 - 10 ng/mL, the ratio of F-PSA to T-PSA (% free PSA) might be employed to increase the diagnostic specificity of PSA testing. A ratio  $\leq 10$  % indicates 49 % to 65 % risk of prostate cancer depending on age; a free/total PSA ratio  $> 25$  % indicates a 9 % to 16% risk of prostate cancer, depending on age. According to the American Cancer Society and National Cancer Institute men with F-PSA below 7 % should undergo biopsy (10).

Please note that an isolated F-PSA concentration is of no diagnostic value.

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/T-PSA ratio 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.**

## 8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.



## 9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.095 ng/mL – 12.0 ng/mL.

### 9.2 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Substance	Concentration tested (ng/mL)	Cross-reactivity (%)
AFP	up to 193.6	0.0
CEA	up to 100.0	0.0
$\beta$ -hCG	up to 21.8	0.0
Kallikrein	up to 1200.0	0.0
Rheumatic Factor	Serum positive for Rheumatic Factor	0.0
HAMA	Serum highly positive for HAMA	0.0

### 9.3 Sensitivity

The analytical sensitivity of the DRG ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean of 20 replicate analyses of the *Zero Standard* and was found to be 0.01 ng/mL.

The Limit of Blank (LoB) is 0.001 ng/mL.

The Limit of Detection (LoD) is 0.014 ng/mL.

The Limit of Quantification (LoQ) is 0.095 ng/mL.

### 9.4 Reproducibility

#### 9.4.1 Intra Assay

The within assay variability was determined by measuring each sample 10 times per run (n = 10):

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	10	0.7	5.3
2	10	4.9	3.6
3	10	6.9	3.1
4	10	9.0	2.6

#### 9.4.2 Inter Assay

The between assay variability was determined by measuring each sample 10 times per run for 3 days (n = 30):

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	30	0.7	10.0
2	30	4.6	8.0
3	30	6.5	6.8
4	30	8.3	6.3

#### 9.4.3 Inter-Lot

The inter-assay (between-lots) variation was determined by measuring each sample 6 times with 3 different kit lots (n = 18):

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	18	0.7	5.4
2	18	1.5	6.1
3	18	4.7	6.4
4	18	8.6	7.6

## 9.5 Recovery

Samples have been spiked by adding F-PSA solutions with known concentrations.

The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of measured and expected values with 100.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
<b>Concentration (ng/mL)</b>	1.4	1.9	3.8	4.9
<b>Average Recovery (%)</b>	88.8	92.5	88.5	92.9
<b>Range of Recovery (%)</b>	<b>from</b>	87.8	89.5	86.9
	<b>to</b>	89.9	95.4	90.1

## 9.6 Linearity

Samples were measured undiluted and in serial dilutions with standard 0. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of expected and measured values with 100.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
<b>Concentration (ng/mL)</b>	1.43	2.65	4.30	10.92
<b>Average Recovery (%)</b>	100.5	94.1	104.1	108.2
<b>Range of Recovery (%)</b>	<b>from</b>	88.6	87.5	98.6
	<b>to</b>	107.9	98.1	107.4

## 10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice.

Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

### 10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 7.5 mg/mL) have no influence on the assay results.

### 10.2 Drug Interferences

The following cytostatic drugs were tested. **No** interference with the assay was found for:

Drug	Concentration tested (µg/mL)
Carboplatin	700.0
Cisplatin	200.0
Calcium Folate	2.3
Cyclophosphamide	550.0
Fluorouracil	520.0
Dexamethasone	11.0
Paclitaxel	5.3
Doxorubicin • HCl	72.0

Furthermore, the following hypertension drugs were tested. **No** interference with the assay was found for:

Drug	Concentration tested (µg/mL)
Simvastatin	0.1
Irbesartan	1.5
Sildenafil Citrate	5.0
Furosemide	0.2

In addition, the following antimicrobial agent was tested. **No** interference with the assay was found for:

Compound	Concentration tested (%)
Benzalkonium Chloride	0.5

### 10.3 High-Dose-Hook Effect

Hook effect was not observed in this test up to a concentration of 240.0 ng/mL of F-PSA.

## 11 LEGAL ASPECTS

### 11.1 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 DRG.

### 11.2 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 11.1. 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.

### 11.3 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 11.2 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.

## 1 EINLEITUNG

Der **DRG PSA FREE ELISA** wird zur quantitativen Bestimmung von freiem Prostata-spezifischem Antigen (F-PSA) in humanem Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) eingesetzt.

**Nur für *In-vitro* Diagnostik.**

In der Regel wird eine F-PSA-Bestimmung zusammen mit einer Gesamt-PSA-Bestimmung (total PSA, T-PSA) durchgeführt, um das Verhältnis zwischen F-PSA und T-PSA zu ermitteln. Dieses Verhältnis hilft, das individuelle Risiko einer Prostatakreberkrankung 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 TESTPRINZIP

Der DRG **PSA FREE ELISA** ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der **Sandwichtechnik** basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des F-PSA-Moleküls gerichtet ist.

Während der ersten Inkubation bindet das F-PSA-Molekül in der zugegebenen Probe an den immobilisierten Antikörper. Die Konjugatlösung, die nach der Inkubationszeit zugegeben wird und einen an Meerrettichperoxidase konjugierten Anti-PSA-Antikörper enthält, bindet an das F-PSA unter Bildung eines Sandwich-Komplexes.

Nach einem Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Reaktion wird durch Zugabe von saurer Lösung gestoppt und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe.

Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

## 3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum *in vitro* diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich.

## 4 BESTANDTEILE DES KITS

### 4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);  
Mit anti-F-PSA-Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. **Zero Standard (Sample Diluent)**, 1 Fläschchen, 10,0 mL, gebrauchsfertig;  
0 ng/mL;  
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Standard (Standard 1 - 5)**, 5 Fläschchen, je 0,5 mL, gebrauchsfertig;  
Konzentrationen: 0,75 - 1,50 - 3,0 - 6,0 - 12,0 ng/mL  
*Die Standards sind gegen das folgende Referenzmaterial kalibriert: WHO International Standard Prostate specific antigen (human) (free), NIBSC code: 17/102*  
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Control Low & High** (Kontrolle), 2 Fläschchen, je 0,5 mL, gebrauchsfertig;  
Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC-Datenblatt.  
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. **Assay Reagent** (Assaypuffer), 1 Fläschchen, 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, 14 mL, gebrauchsfertig;  
Substratlösung TMB.
8. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;  
enthält 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
9. **Wash Solution** (Waschlösung), 1 Fläschchen, 30 mL, **40X** konzentriert;  
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

**Anmerkung:** Zusätzlicher *Zero Standard* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

### 4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm bis 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

### 4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

### 4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht werden.

#### **Wash Solution**

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 mL) mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 mL verdünnen.

*Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 1 Woche stabil.*

#### 4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits und aller verwendeten Materialien / Reagenzien muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

#### 4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen aufbewahrt werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

### 5 PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

*Achtung:* Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „*Interferenzen*“.

#### Wichtige Hinweise zur Beachtung vor der Blutentnahme für die PSA-Bestimmung

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:

- Manipulative Untersuchung der Prostata, z.B. Digitale Rektale Untersuchungen (DRU), transrektale Ultraschalluntersuchungen, etc.
- Prostatitis
- Radfahren
- Geschlechtsverkehr (Ejakulation)
- Fehlfunktionen der Leber

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

- Einnahme von 5-alpha-Reductase-Inhibitoren, Antiandrogenen oder GnRH-Analoga

#### 5.1 Probenentnahme

##### Serum:

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

##### Plasma:

Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

#### 5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 3 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 12 Monaten) sollten die Proben eingefroren bei -20 °C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

In der Literatur (Labor und Diagnose, L. Thomas, 2012) wird empfohlen, die Proben innerhalb von 24 Stunden zu messen oder bei längerer Lagerung bei -20 °C einzufrieren.

#### 5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Zero Standard* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

##### Beispiel:

- a) Verdünnung 1:10: 10 µL Probe + 90 µL *Zero Standard* gründlich mischen)
- b) Verdünnung 1:100: 10 µL Verdünnung a) 1:10 + 90 µL *Zero Standard* (gründlich mischen).

## 6 TESTDURCHFÜHRUNG

### 6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.

### 6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

**Hinweis:** Es wird dringend empfohlen, alle Messungen in Doppelbestimmung durchzuführen.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 25 µL Standard, Control und Proben mit neuen Plastikspitzen** in die entsprechenden Wells geben.
3. **50 µL Assay Reagent** in jedes Well geben.  
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
5. **50 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.  
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
6. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Wells **5-mal** mit **400 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen, falls ein Waschautomat verwendet wird – oder - Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells **5-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen bei manueller Durchführung.  
Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.  
**Achtung:** Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
8. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well geben.
9. **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **100 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
11. Die Optische Dichte (OD) bei **450 nm (Messung) und 620 nm bis 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen)** mit einem Mikrotiterplattenleser innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der *Stop Solution* bestimmen.

### 6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter-Gleichung bestimmt. (4 Parameter Rodbard oder 4 Parameter Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

### 6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem DRG ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
<i>Zero Standard</i> (0,0 ng/mL)	0,025
<i>Standard 1</i> (0,75 ng/mL)	0,189
<i>Standard 2</i> (1,5 ng/mL)	0,330
<i>Standard 3</i> (3,0 ng/mL)	0,609
<i>Standard 4</i> (6,0 ng/mL)	1,097
<i>Standard 5</i> (12,0 ng/mL)	2,109

## 7 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

In einer Studie mit dem DRG PSA FREE ELISA wurden die Proben von scheinbar gesunden Männern untersucht. Dabei ergaben sich folgende Werte:

Population	n	Mittelwert (ng/mL)	Median (ng/mL)	2,5. - 97,5. Perzentile (ng/mL)	Bereich (min. - max.) (ng/mL)
Männer	120	0,2	0,1	0,0 – 1,2	0,0 – 4,6

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

### Individuelle Risikobewertung:

Wenn die Gesamt-PSA-Werte zwischen 4 - 10 ng/mL liegen, kann der Quotient von F-PSA zu T-PSA (% freies PSA) zur Erhöhung der diagnostischen Spezifität der PSA-Bestimmungen eingesetzt werden. Ein Verhältnis  $\leq 10$  % zeigt ein Prostatakrebsrisiko von 49 % bis 65 % in Abhängigkeit vom Alter an; ein Verhältnis von freiem/Gesamt-PSA  $> 25$  % zeigt ein Prostatakrebsrisiko von 9 % bis 16 % in Abhängigkeit vom Alter an.

Nach Angaben der American Cancer Society und des National Cancer Institute sollten sich Männer mit einem F-PSA-Wert unter 7 % einer Biopsie unterziehen (10).

Bitte beachten Sie, dass eine isolierte F-PSA-Konzentration keinen diagnostischen Wert hat.

Die oben genannten Werte dienen nur zur Orientierung des Anwenders. Wenn möglich, wird empfohlen, dass jedes Laboratorium seine eigenen spezifischen Werte festlegt, die eine in dem Gebiet, in dem sich das Laboratorium befindet, einheimische Bevölkerung berücksichtigen.

**Hinweis: PSA-Werte und der Quotient aus F-PSA/T-PSA 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**



## 8 QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

## 9 ASSAY-CHARAKTERISTIKA

### 9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,095 ng/mL - 12,0 ng/mL.

### 9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die folgenden Substanzen wurden auf ihre Kreuzreaktivität im Assay getestet:

Substanz	Getestete Konzentration ng/mL	Kreuzreaktivität (%)
AFP	bis zu 193,6	0,0
CEA	bis zu 100,0	0,0
β-hCG	bis zu 21,8	0,0
Kallikrein	bis zu 1200,0	0,0
Rheumafaktor	Serum positiv auf Rheumafaktor	0,0
HAMA	Serum hoch positiv für HAMA	0,0

### 9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert, zuzüglich der zweifachen Standardabweichung, des *Zero Standard* (n = 20), beträgt 0,01 ng/mL.

Der „Limit of Blank“ (LoB) ist 0,001 ng/mL.

Die Nachweisgrenze (LoD) ist 0,014 ng/mL.

Die Quantifizierungsgrenze (LoQ) ist 0,095 ng/mL.

Die Daten zu:

### 9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)

### 9.5 Wiederfindung

### 9.6 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

## 10 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikation dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

### 10.1 Interferenzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

### 10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Die folgenden Zytostatika wurden getestet. Es wurden **keine** Interferenzen mit dem Test gefunden für:

Medikament	Getestete Konzentration (µg/mL)
Carboplatin	700,0
Cisplatin	200,0
Kalziumfolinat	2,3
Cyclophosphamid	550,0
Fluorouracil	520,0
Dexamethason	11,0
Paclitaxel	5,3
Doxorubicin • HCl	72,0

Außerdem wurden die folgenden Medikamente gegen Bluthochdruck getestet. Es wurden **keine** Interferenzen mit dem Test gefunden für:

Medikament	Getestete Konzentration (µg/mL)
Simvastatin	0,1
Irbesartan	1,5
Sildenafil-Citrat	5,0
Furosemid	0,2

Zusätzlich wurde das folgende Antimikrobiotikum getestet. Es wurde **keine** Interferenz mit dem Test gefunden für:

Medikament	Getestete Konzentration (µg/mL)
Benzalkoniumchlorid	0,5

### 10.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test bis zu einer Konzentration von 240,0 ng/mL F-PSA nicht auf

## **11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN**

### **11.1 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 DRG in Verbindung.

### **11.2 Therapeutische Konsequenzen**

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 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.

### **11.3 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 11.2 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.

**12 REFERENCES / LITERATURE**

1. World Cancer Report. World Health Organization. 2014. Chapter 5.11 ISBN 978-9283204299
2. Henttu P and Vihko P. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein: two kallikreins of the human prostate. *Amm Med* 1994, 26(3):157-64.
3. Balk SP, Ko YL and Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol*. 2003, 15;21(2):383-91.
4. Zhou AM et al. Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*. 1993, 39(12):2483-91.
5. Fritsche HA and Babalan RJ. Analytical performance goals for measuring prostate-specific antigen. *Clin Chem*, 1993, 39: 1529-1529.
6. Velonas VM, Woo HH, dos Remedios CG, Assinder SJ. Current status of biomarkers for prostate cancer. *Int J Mol Sci*. 2013, 24;14(6):11034-60.
7. Gion M et al. Percent free prostate-specific antigen in assessing the probability of prostate cancer under optimal analytical conditions. 1998, *Clin Chem* 44(12):2462-70.
8. Akdas et al. The role of free prostate specific antigen in the diagnosis of prostate cancer. *British J Urol*, 1997, 79: 920-923.
9. Chen YT et al. Using proportions of free to total prostate-specific antigen, age, and total prostate-specific antigen to predict the probability of prostate cancer. *Urology*, 1996, 47(4):518-24.
10. Catalona et al. 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*, 1998, 20;279(19):1542-7.
11. Liu J et al. Establishment of two new predictive models for prostate cancer to determine whether to require prostate biopsy when the PSA level is in the diagnostic gray zone (4-10 ng ml<sup>-1</sup>). *Asian J Androl*. 2019 21:1-4.
12. Huang Y, Li ZZ, Huang YL, Song HJ, Wang YJ. Value of free/total prostate-specific antigen (f/t PSA) ratios for prostate cancer detection in patients with total serum prostate-specific antigen between 4 and 10 ng/mL: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(13).
13. Duffy MJ. Biomarkers for prostate cancer: prostate-specific antigen and beyond. *Clin Chem Lab Med*. 2019, 12. aop.
14. Carlsson SV and Roobol MJ. Improving the evaluation and diagnosis of clinically significant prostate cancer in 2017. *Curr Op in Urol*. 2017 27(3): 198–204.
15. Milford Ward A et al. Prostate specific antigen: biology, biochemistry and available commercial assays. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38: 633-651.
16. Price CP et al., Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening program for prostate cancer. *Ann Clin Biochem*, 2001, 38: 188-216.
17. Ferguson J et al. Continued provision of WHO International Standards for total and free PSA: Content and commutability of replacement preparations. *Clin Biochem*. 2019 71:58-66.

## SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Diagnostica in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostic in vitro
	Catalogue number *	Artikelnummer *	No. di Cat.	No de catálogo	Référence
	Batch code *	Chargencode *	Lotto no	Número de lote	No. de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Caution *	Achtung *			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen / Anzahl	Volume / Quantità	Volumen / Número	Volume / Quantité
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Micropozzetti	Placas multipocillo	Plaques de micro-titration
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisiero	Antisero	Antisérum
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Tracciante enzimatico	Conjugado enzimático	Conjugué enzymatique
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complesso enzimatico	Complejo enzimático	Complexe enzymatique
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Soluzione di substrato	Solución de sustrato	Solution substrat
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada	Solution d'arrêt
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard zero	Estándar cero	Zero Standard
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Contrôle
<i>Assay Reagent</i>	Assay Reagent	Assaypuffer	Tampone del test	Tampón de ensayo	Tampon d'essai
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Soluzione di lavaggio	Solución de lavado	Solution de lavage
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)	1N NaOH	1N NaOH
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl		1 N HCl	1N HCl
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungs-medium	Diluyente dei campioni	Solución para dilución de la muestra	Solution pour dilution de l'échantillon
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungs-medium	Diluyente del tracciante	Solución para dilución del conjugado	Solution pour dilution du conjugué