

Enzymun-Test®-PSA-II Generation – erste Erfahrungen

Enzymun-Test®-PSA II generation – first clinical experiences

G. M. Oremek, U. B. Seiffert

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wird der Enzymun-Test®-PSA der zweiten Generation mit zwei monoklonalen Antikörpern am ES 700 Analyser mit drei radioimmunologischen und einem fluorometrischen Verfahren verglichen. Für den Enzymun-Test®-PSA wurden an 150 gesunden Probanden (100 Männer und 50 Frauen) die Referenzbereiche ermittelt. Bei den Männern lag die 95 % Perzentile bei 3,8 ng/ml, bei den Frauen bei 0,46 ng/ml. Außerdem wurden mit derselben Methode 50 Patienten mit benignen Prostataerkrankungen und 50 Patienten mit einem Prostatakarzinom untersucht. Der Korrelationskoeffizient zwischen dem Enzymun-Test®-PSA und der radioimmunologischen Methode Tandem®-R-PSA liegt bei $r = 0,99$, die analytische Sensitivität von Enzymun-Test®-R-PSA liegt bei 0,05 ng/ml. Die Stabilität der Serumproben zwischen +2 °C und +8 °C ist über einen Tag garantiert. Über diesen Zeitraum hinaus sollten Serumproben bei -20 °C gelagert werden.

Schlüsselwörter

Prostata-spezifisches Antigen – PSA – immunologische Methoden

Anschrift der Autoren:

Klinisch-chemisches Zentrallabor, Zentrum der Inneren Medizin, Klinikum der J. W. Goethe-Universität, Frankfurt/Main

Korrespondenz-Adresse:

Dr. Gerhard M. Oremek, Klinikum der Johann Wolfgang Goethe Universität, Klinisch-Chemisches Zentrallaboratorium des Zentrums der Inneren Medizin, Theodor-Stern-Kai 7, D-60590 Frankfurt/Main

Summary

In this study we compared the second generation Enzymun-Test®-PSA with monoclonal antibodies, performed on the ES 700 Analyzer, with three radioimmunologic tests and one fluorimetric test. The reference range for the Enzymun-Test®-PSA was determined in 150 healthy volunteers (100 men and 50 women). The 95 % percentile was measured at 3.8 ng/ml in men, and at 0.46 ng/ml in women. Additionally, 50 patients with benign prostatic disease and 50 with prostatic carcinoma were studied using the same method. The correlation coefficient for the Enzymun-Test®-PSA and radioimmunologic method Tandem®-R-PSA was $r = 0.99$. The sensitivity of the Enzymun-Test®-PSA was 0.05 ng/ml. The specimen remains stable at a storage temperature of +2 °C to +8 °C for 24 hours. In case longer storage is needed, the serum samples should be stored at -20 °C.

Key words

Prostatic specific antigen – PSA – immunologic methods

Einleitung

Die Bestimmung des PSA hat sich in der Diagnostik des Prostatakarzinoms als auch in der Verlaufskontrolle nach radikaler Prostatektomie zum Standardverfahren entwickelt [1,2]. PSA ist ein gewebespezifisches Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 34 000 Dalton, das ausschließlich in der Prostata, im Prostatasekret und Samenflüssigkeit gefunden wird. Als Serinprotease ist PSA für die Verflüssigung der Samenflüssigkeit verantwortlich [3]. Immunhistochemisch konnte PSA im Cytoplasma der azinösen Prostatazellen und duktaalen Epithelien

nachgewiesen werden. Neben physiologisch hohen Konzentrationen im Seminalplasma treten erhöhte Serumwerte ausschließlich bei Erkrankungen der Prostata auf [5–8]. Mit dem PSA steht ein sensitiver sowie hochspezifischer und aufschlußreicher Tumormarker zur Verfügung.

Material and Methoden

Der Referenzbereich wurde an 150 gesunden Probanden (100 Männern und 50 Frauen) im Alter von 18 bis 65 Jahren ermittelt. Unter gesunden Probanden wurden Personen einbezogen, die keine Beschwerden haben und deren 20 Parameter der klinischen Chemie, Blutbild, Urinstatus sowie Gerinnungsstatus keine pathologischen Werte aufwies. Des weiteren wurden 50 Patienten mit benignen urologischen Erkrankungen wie Prostatitis, Prostata-Adenom und Urolithiasis sowie 50 Patienten mit einem Prostata-Karzinom untersucht.

Methode 1

Enzymun-Test®-PSA

Die PSA Bestimmung erfolgte hier enzymimmunologisch in einem Emschritt-Sandwich-Assay mit Streptavidin-Technologie. Die Messung wurde bei 25 °C am mechanisierten Analysesystem ES 700 durchgeführt. Dabei wurden 50 µl Serum mit 700 µl Arbeitslösung (enthält den biotinylierten und POD markierten monoklonalen (Maus) PSA-Antikörper) versetzt und 90 min in Streptavidin-beschichteten Polystyrolröhrchen inkubiert, abgesaugt, gewaschen und mit 700 µl ABTS® Substratlösung zugesetzt. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wird die Extinktion bei 422 nm gemessen und die Auswertung über eine Standardkurve vorgenommen. Nach Angaben des Herstellers liegt die Nachweisgrenze des Tests bei einer Konzentration von 0,05 ng/ml und der Meßbereich zwischen 0 und 50 ng/ml.

Die radioimmunometrischen Bestimmungen erfolgten mit folgenden Methoden und wurden entsprechend den Angaben der Hersteller durchgeführt:

Methode 2

Tandem®-R-PSA – Firma Hybritech, Köln

Abkürzungen:

PSA = Prostata spezifisches Antigen

Methode 3

Ria-gnost PSA® – Behringwerke AG, Marburg

Methode 4

PSA-MAIA clone® – Firma Serono, Freiburg

Methode 5

Delfia®-PSA – Firma Pharmacia, Freiburg

Ergebnisse

Die mit 5 verschiedenen Methoden gemessenen PSA-Werte gesunder Probanden sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. Mittelwert und Standardabweichung der mit fünf verschiedenen Methoden bei 100 Probanden gemessenen PSA-Konzentrationen

Methode	Konzentration	Mittelwert $\bar{x} \pm 2SD$
1	ng/ml	2,2 \pm 0,9
2	ng/ml	2,6 \pm 0,6
3	ng/ml	2,4 \pm 1,2
4	ng/ml	1,7 \pm 1,0
5	ng/ml	2,77 \pm 0,8

Die mit dem Enzymun-Test® ermittelten PSA-Normwerte für die 100 männlichen gesunden Probanden liegen zwischen 0,67 ng/ml und 5,25 ng/ml (Tabelle 2). Die 5 % Perzentile ist bei 0,96 ng/ml, die 95 % Perzentile bei 3,8 ng/ml. Für die 50 gesunden Frauen betragen die PSA Konzentrationen zwischen 0,05 ng/ml und 0,8 ng/ml. Die 95 % Perzentile ist bei 0,46 ng/ml.

Tabelle 2. Mittelwert und Standardabweichung der mit dem Enzymun-Test®-PSA gemessenen Konzentrationen im Serum bei Gesunden, Patienten mit benignen urologischen Erkrankungen und Prostatakarzinom

	n	Bereich (ng/ml)	$\bar{x} \pm 2SD$
Gesunde	100	0,67– 5,25	2,2 \pm 0,9
benigne urologische Erkrankungen	50	2,3 – 18,7	9,2 \pm 4,3
Prostatakarzinom	50	7,8 – 185,3	45,8 \pm 21

Stabilität und Präzision

Die Seren der Probanden wurden zwischen +2 °C und +8 °C über 24 Stunden gelagert. Die Messung zeigte eine Erniedrigung der PSA-Konzentration um 3,25 % gegenüber der Frischmessung. Die Stabilität ist also über diesen Zeitraum bei der angegebenen Temperatur gegeben. Bei Proben, die bei -20 °C gelagert waren, betrug die Konzentrationsabnahme im Durchschnitt 2,8 %. Bei 10facher Messung einer Serumprobe mit einer Aktivität von durchschnittlich 1,1 ng/ml mit der Methode 1 ergab die Berechnung der Präzision einen Variationskoeffizienten von 2,4 %. Eine 10fache Messung eines Serums mit einer Aktivität von durchschnittlich 20 ng/ml ergab bei der Berechnung der Präzision einen Variationskoeffizienten von 2,2 %. Die Präzision von Tag zu Tag ergab bei 10 Doppelbestimmungen einer Lyphocheck® Tumormarkerkontrolle einen Variationskoeffizienten von 3,45 %.

Methodenvergleich

Die mit der Enzymun-Test®-PSA-Methode erhaltenen Werte der PSA Konzentrationen im Serum zeigen eine sehr gute Korrelation zu den radiochemischen Methoden und der Fluoreszenz-Methode (Tabelle 3).

Praktikabilität

Der Enzymun-Test®-PSA erwies sich als praktikabel besonders wegen der Automatisierung am ES 700, so ist er geeignet große Serien in kurzer Zeit abzuarbeiten. Der Testansatz ist einfach, die Präzision in der Serie sehr gut. Hervorzuheben ist die Stabilität

Tabelle 3. Korrelationskoeffizienten und Gleichungen der linearen Regression der fünf untersuchten Methoden

Methode	r	Gleichung der Regression
1 + 2	0,99	$y = 1,014x + 0,035$
1 + 3	0,97	$y = 1,115x + 0,052$
1 + 4	0,98	$y = 0,939x + 0,11$
1 + 5	0,92	$y = 1,10x - 0,21$

der Reagenzien und gute Übereinstimmung mit radiochemischen Verfahren.

Literatur

- Weingärtner K, Gerharz EW, Riedmüller H: (1994) Prostatakarzinom. *Dtsch med Wschr* 119, 235–243
- Garnick MB (1994) Das Behandlungsdilemma bei Prostatakrebs. *Spektrum der Wissenschaft* 6, 38–47
- Armbruster DA (1993) Prostate-specific-Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem* 39/2, 181–195
- Bentvelsen FM, Schröder FH (1993) Eignet sich Prostate-spezifisches Antigen (PSA) für ein Screening auf Prostata-Karzinom. *GIT Lab Med* 16, 2–7
- Brawer MK, et al. (1993) Screening for Prostatic Carcinoma with Prostatic specific Antigen: Results of the Second Year. *Journal of Urology* 150, 106–109
- Fritsche HA, Babaian RJ (1993) Analytical Performance Goals for Measuring Prostate-Specific-Antigen. *Clin Chem* 39/7, 1525–1529
- Oesterling JE, et al. (1993) The Use of Prostate-Specific-Antigen in Staging Patients with newly diagnosed Prostate Cancer. *JAMA* 269, 57–60
- Oremek CM, et al. (1993) Das neue immunoluminometrische Berilux®-PSA – ein Test für das Routinelabor. Ein Methodenvergleich. *Lab med* 17, 570–573