

A COMPARATIVE STUDY OF ASSAYS FOR PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN (PSA) DETERMINATION

LÉA M. Z. MACIEL, ANTÔNIO C. P. MARTINS, RODRIGO A. FALCONI, ADAUTO J. COLOGNA, HAYLTON J. SUAID

Department of Internal Medicine and Division of Urology, School of Medicine of Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

ABSTRACT

Objectives: To compare the results of PSA determinations using 2 methods currently employed in Brazil, IMx (Abbott) and Immulite (DPC).

Material and Methods: Sixty-nine blood samples with PSA levels ranging from 1 to 286 ng/ml were processed in a single assay by the IMx method and the Immulite method. The blood samples were obtained from consecutive patients presenting lower urinary tract symptoms.

Results: The results showed a strong positive correlation between the 2 methods ($r = 0.9767$, $p < 0.0001$). In the PSA range of 0 - 10 ng/ml, the values obtained by the Immulite method were higher in 32 samples (84%) and the absolute difference was less than 1.0 ng/ml in 65.7% of them. Of the 38 samples with values within this range, in 6 cases the absolute values were above 4.0 ng/ml by the method Immulite. The opposite occurs in 3 other samples, with higher values obtained by the IMx method. In the range above 10 ng/ml, 20/27 results, the absolute values were also higher by the Immulite method, although the 2 methods yielded statistically comparable values.

Conclusions: The measurements of total PSA by the Immulite-DPC and IMx-Abbott methods were statistically comparable within the 3 ranges compared (0 - 10 ng/ml, 10.1 - 20 ng/ml, and 20.1 - 100 ng/ml), but important individual variations were observed in the range of values lower than 10 ng/ml. Analysis of PSA results will be improved, especially in the range below 10 ng/ml, when methodological variations which occurs between methods are considered.

Key words: prostate-specific antigen; prostatic neoplasms; diagnosis; screening

Braz J Urol, 27: 542-548, 2001

INTRODUÇÃO

Ainda que os benefícios do rastreamento para o carcinoma de próstata (CaP) em reduzir mortalidade não tenham sido definitivamente demonstrados e se mostrarem de elevado custo-benefício, a dosagem do antígeno prostático específico (PSA) como rastreamento para a doença é amplamente utilizada (1-3). Entretanto, o PSA não é específico para o CaP, níveis moderadamente elevados podem ser indicativos de lesões benignas, como a hiperplasia prostática benigna ou a prostatite (1). O teste é de fundamental

importância para se definir a necessidade do ultrassom transretal e da biópsia dirigida pelo ultrassom quando, na avaliação de homens acima de 50 anos, o toque retal não leva a suspeita de câncer (4). Existem diferentes ensaios para a dosagem de PSA, sendo que 95% das dosagens realizadas nos Estados Unidos se concentram em 3 deles: Tandem-R (Hybritech, San Diego, CA, 7.5% do total), Tandem-E (Hybritech, San Diego, CA, 11.5% do total) e IMx (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, 75.5% do total) (5). O objetivo deste estudo é comparar os resultados de dosagens de PSA realizados por dois métodos

frequentemente utilizados no Brasil, métodos IMx-Abbott e Immulite-DPC (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA).

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio para a Dosagem do PSA Total

O ensaio PSA-IMx (Abbott Laboratories) utiliza a metodologia MEIA (microparticle enzyme immunoassay) (6). Resumidamente, micropartículas recobertas com anticorpo monoclonal anti-PSA são incubadas com a amostra a ser analisada. Durante a incubação ocorre a ligação do PSA da amostra com as micropartículas formando o complexo antígeno-anticorpo. Uma alíquota desta mistura é transferida para uma matriz de fibra de vidro e as micropartículas se ligam irreversivelmente a esta matriz. Um conjugado com fosfatase alcalina, anti-PSA é colocado sobre a matriz e se liga ao complexo antígeno-anticorpo. Um substrato (fosfato 4-metilumbeliferil) é adicionado à matriz e o produto fluorescente é medido por sistema óptico.

O ensaio PSA-Immulate, DPC (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) é um ensaio imunométrico, quimioluminescente, em fase sólida (7). Uma pérola de poliestireno é recoberta com um anticorpo policlonal anti-PSA. A amostra a ser analisada é incubada com um anticorpo monoclonal conjugado com fosfatase alcalina e com a pérola revestida com o anticorpo policlonal. O PSA da amostra forma um complexo em sanduíche com os dois anticorpos. Um substrato quimioluminescente (éster fosfatado do adamantil dioxetano) é adicionado e sofre hidrólise na presença de fosfatase alcalina gerando um intermediário instável. A geração deste intermediário emite luz que é lida em um luminômetro.

O método de dosagem do PSA em uso no nosso serviço é o Immulite-DPC e o coeficiente de variação intra e interensaios na faixa de dosagem de 4 ng/ml é de 3.0% e 7.8%, respectivamente. A dose mínima detectável pelo método é de 0.05 ng/ml.

Utilizamos um único ensaio para as dosagens com o método IMx. O erro intra-ensaio foi de 2% (faixa de 4 ng/ml), 3% (faixa de 15.3 ng/ml) e de 5.3% (faixa de 45.7 ng/ml).

Amostras dos Pacientes

Sessenta e nove amostras de pacientes foram dosadas pelos 2 métodos em um único ensaio. As amostras variaram entre 1.0 ng/ml a 286 ng/ml, quando selecionadas pelo método Immulite; 38 delas eram menores que 10 ng/ml e 31 maiores que 10 ng/ml, sendo que destas, 19 situavam-se entre 10 e 20 ng/ml, 8 entre 30 e 56 ng/ml, 3 entre 100 e 150 ng/ml e 1 acima de 200 ng/ml.

Como a faixa de trabalho do método IMx é até 100 ng/ml, as amostras com valores acima de 100 foram diluídas para poderem ser quantificadas pelo equipamento.

Análise Estatística

Para a análise individual das amostras, os valores de PSA foram colocados em 3 faixas: 0 - 10 ng/ml, > 10 a 20 ng/ml, > 20 a 100 ng/ml. Valores de PSA muito elevado (acima de 100 ng/ml) foram excluídos pois tiveram que ser diluídos manualmente para poderem ser analisadas pelo aparelho IMx. As diferenças individuais foram calculadas (valor de PSA pelo teste 1 - teste 2) / teste 1 × 100.

A comparação entre os dois métodos foi feita com a análise da correlação entre eles. Os coeficientes de correlação, "slope" e "intercept" foram calculados por análise de regressão linear.

RESULTADOS

Na Table-1 constam os resultados dos valores de PSA situados na faixa de 0 - 10 ng/ml obtidos nos 2 ensaios utilizados. A média e a mediana dos valores de PSA com o ensaio PSA Immulite-DPC e PSA IMx-Abbott foram, respectivamente, média: 3.99 ng/ml, mediana: 4.0 ng/ml, e média: 3.62 ng/ml, mediana: 3.72 ng/ml. Os valores dosados pelo método Immulite foram maiores em 32 amostras (84%) e a diferença absoluta foi menor que 1.0 ng/ml em 65.7% das vezes. Valores de PSA acima de 4.0 ng/ml foram encontrados em 22 pacientes testados pelo método Immulite-DPC e em 20 pelo IMx-Abbott.

Na Table-2 estão os valores de PSA acima de 10 ng/ml obtidos pelo método Immulite-DPC e IMx-Abbott. A média e mediana dos valores de PSA

PSA ASSAYS

Table 1 - Comparison of the IMx and Immulite assays for PSA determination in the presence of PSA levels of 0 - 10 ng/ml.

PSA Levels (ng/ml)	Immulite DPC	IMx Abbott	% Difference	Difference in absolute values (ng/ml)
Range: 0 - 10 ng/ml	1.3	1.00	23.0	0.30
N = 38	1.7	1.63	4.1	0.07
	1.8	1.43	20.0	0.37
	1.9	1.62	14.7	0.28
	2.2	2.00	9.0	0.20
	2.3	1.88	22.3	0.42
	2.3	2.10	9.5	0.20
	2.5	2.41	3.6	0.09
	3.0	2.33	22.3	0.67
	3.2	3.18	0.62	0.02
	3.3	3.14	4.8	0.16
	3.4	4.30	-26.4	-0.90
	3.7	4.66	-25.9	-0.96
	3.7	4.34	-17.3	-0.64
	3.9	3.18	18.4	0.72
	4.0	2.66	33.5	1.34
	4.1	5.79	-41.21	-1.69
	4.2	3.40	19.0	0.80
	4.3	5.13	-19.3	-0.83
	4.4	3.86	12.3	0.54
	4.4	4.35	1.12	0.05
	4.7	6.02	-28.0	-1.32
	5.2	3.72	28.4	1.48
	5.2	4.19	19.4	1.01
	5.5	4.83	12.2	0.67
	5.7	5.68	0.35	0.02
	6.0	4.50	25.0	1.50
	6.3	5.16	18.0	1.14
	6.4	5.21	18.5	1.19
	6.5	6.22	4.3	0.28
	6.8	2.54	62.6	4.26
	6.9	3.17	54.0	3.73
	7.1	5.27	25.7	1.83
	7.5	6.65	11.97	0.85
	8.3	5.56	33.0	2.74
	8.5	7.28	14.3	1.22
	8.8	8.13	5.6	0.67
	9.1	7.37	19.0	1.73
Mean	3.99	3.62	10.85	0.63
Median	4.00	3.72	13.3	0.48

PSA ASSAYS

Table 2 - Comparison of the IMx and Immulite assays for PSA determination in the presence of PSA levels above 10 ng/ml.

PSA levels (ng/ml)	Immulite DPC	IMx Abbott	% Difference	Difference in absolute values (ng/ml)
Range: > 10 - 20 ng/ml	9.7	11.68	-20.41	-1.98
N = 19	10.1	9.32	7.70	0.78
	10.2	6.63	34.30	3.57
	10.3	6.08	40.90	4.22
	10.5	9.59	8.60	0.91
	10.7	9.13	14.60	1.57
	10.7	9.40	9.12	1.30
	12.8	10.16	20.60	2.64
	13.5	10.61	21.48	2.89
	13.8	11.32	34.22	2.48
	13.9	9.99	28.10	3.91
	14.5	10.99	24.20	3.51
	14.6	14.08	3.56	0.52
	14.8	13.88	6.20	0.92
	15.1	13.84	19.02	1.26
	16.2	11.72	27.60	4.48
	17.8	13.85	22.10	3.95
	19.1	22.48	-17.69	-3.38
	19.2	15.32	20.20	3.88
Mean	13.76	11.57	10.02	1.97
Median	13.57	10.80	20.02	2.48
Range: > 20 - 100ng/ml				
N = 8	20.1	21.75	8.20	-1.65
	22.7	22.91	-0.90	-0.21
	29.3	30.58	-4.30	-1.28
	38.6	39.40	-2.07	-0.80
	41.0	34.09	16.80	6.91
	42.1	36.79	12.30	5.31
	45.3	46.55	-2.75	-1.25
	45.4	55.68	-22.60	-10.28
Mean	35.56	35.96	0.58	-0.40
Median	39.80	35.44	-1.48	-1.02

situados na faixa > 10 - 20 ng/ml e > 20 - 100 ng/ml foram, respectivamente, média: 13.7, mediana: 13.85; média: 35.56, mediana: 39.8 para o método Immulite e média: 11.57, mediana: 10.8; média: 35.96, mediana: 35.5 para o método IMx. As maiores diferenças em valores absolutos situaram-se nessas faixas mais elevadas, porém a porcentagem média

destas diferenças foi iguais nas faixas 0 - 10 e > 10 - 20 ng/ml e situou-se em 10%.

Houve uma grande diferença nos resultados das amostras diluídas para a dosagem pelo IMx. Como se introduziu um possível erro na diluição da amostra e como se tratavam de amostras com valores muito elevados foram excluídas da análise.

As Figuras-1, 2 e 3 demonstram as correlações entre os valores obtidos nos 2 ensaios, analisando-se todas as amostras ($N = 69$), com valor de $r = 0.9767$ ($p < 0.0001$), as amostras com valores inferiores a 100 ng/ml, ($N = 65$) cujo valor de r foi 0.9555 ($p < 0.0001$) e as amostras abaixo de 10 ng/ml ($N = 38$), sendo o valor de $r = 0.8393$ ($p < 0.0001$). Esses dados apontam para uma forte correlação positiva entre os 2 métodos. Para os valores abaixo de 10 ng/ml a relação linear entre eles é dada pela equação: $y = 0.3960 + 0.8018x$, sendo x os valores de PSA obtidos pelo método Immulite.

DISCUSSÃO

A comparação entre métodos de dosagem de PSA empreendida neste estudo foi motivada pelo interesse em avaliar criticamente o método utilizado em nosso laboratório e em muitos laboratórios brasileiros, com outro amplamente empregado nos Estados Unidos e ainda, pelo fato de não existir na literatura médica a comparação entre estes 2 métodos diagnósticos. A análise dos resultados com estes métodos demonstrou uma boa correlação entre eles em quaisquer das faixas estudadas, podendo se assegu-

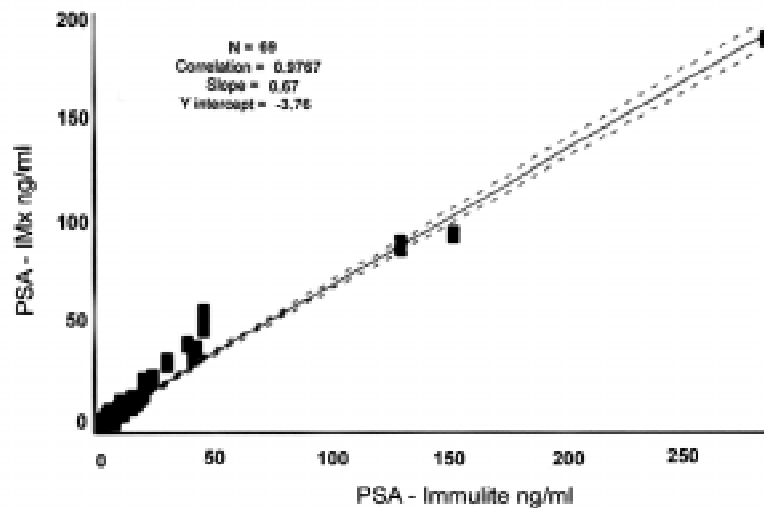


Figure 1 - Correlation of the IMx assay with the Immulite assay for PSA values from 0 to 286 ng/ml.

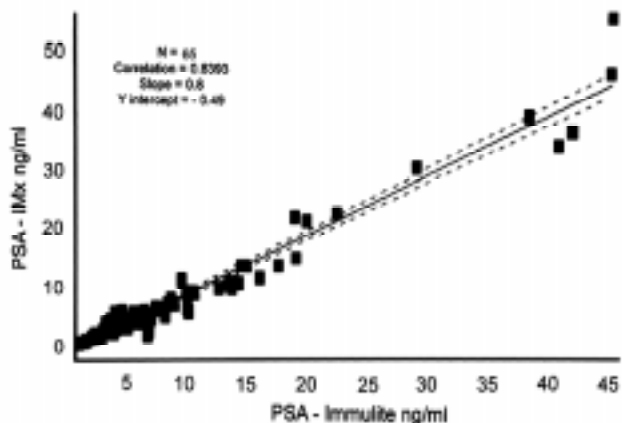


Figure 2 - Correlation of the IMx assay with the Immulite assay for PSA values from 0 to 56 ng/ml.

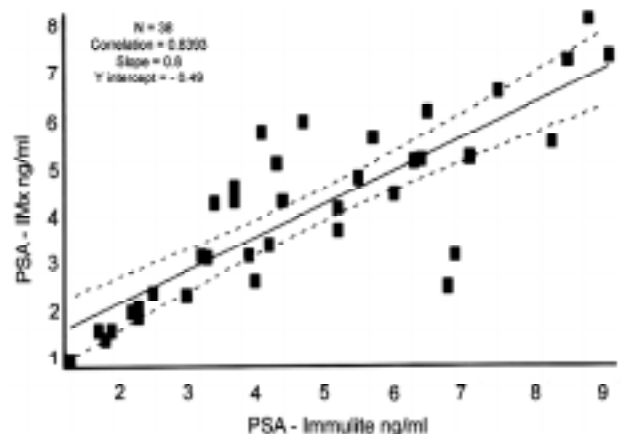


Figure 3 - Correlation of the IMx assay with the Immulite assay for PSA values from 0 to 10 ng/ml.

rar que no conjunto, os resultados são muito similares. A análise individual de cada amostra mostrou uma variabilidade nos resultados que deve ser considerada com cuidado. Ainda que a média (0.63 ng/ml) e mediana (0.48 ng/ml) das diferenças dos valores absolutos obtidos nos 2 métodos de dosagem, situados na faixa de 0 - 10 ng/ml, não fossem marcantes, verifica-se que 36.8% das amostras mostraram variações, em termos absolutos, maiores ou menores que 1.0 ng/ml e esta variação chegou a 4.26 ng/ml em uma das amostras (valor obtido pelo Immulite = 6.8 ng/ml, valor obtido pelo IMx = 2.54 ng/ml). Nesta faixa, observou-se que 6 amostras apresentavam PSA acima de 4.0 ng/ml pelo método da DPC enquanto que pelo método do IMx elas exibiam valores inferiores. O oposto ocorreu em 3 outras amostras, com valores acima de 4 ng/ml pelo método IMx e mais baixos pelo Immulite. Na faixa de valores entre > 10 - 20 ng/ml, as diferenças em valores absolutos foram maiores, observando-se, também, valores mais elevados com o método DPC-Immulite em relação ao IMx, ainda que a média percentual das diferenças tenha sido similar ao valor obtido na faixa de 0 - 10 ng/ml, em torno de 10%. Na faixa > 20 - 100 ng/ml (N = 8) com exceção de 3 amostras, os valores obtidos não foram diferentes estatisticamente considerando as variações intra-ensaio de cada método, porém o número de casos é muito pequeno para permitir uma conclusão mais definitiva. Brawer et al.(9) utilizando 3 lotes de Tandem E e 3 lotes de IMx demonstraram valores significativamente menores obtidos com o método IMx em um dos lotes e esta diferença foi interpretada como o método IMx tendo maior afinidade pelo PSA livre do que pelo PSA total, influenciando o resultado. Em outro estudo (10), ele demonstrou uma equivalência significativa entre os métodos Ciba Corning ACS PSA e o Hybritech porém uma diferença entre esses métodos e o IMx, documentando valores menores de PSA com este último método. Oesterling et al.(5) também obtiveram os valores de PSA menores com o método IMx em 52% das amostras em relação aos obtidos pelos métodos Tandem-R e Tandem-E, porém na faixa de 0 - 10 ng/ml os valores obtidos com o Tandem-R foram menores que os do Tandem-E e do IMx. Existe um grande número de fatores que podem justificar as di-

ferenças observadas na comparação entre os métodos diagnósticos incluindo: os diferentes lotes, o desempenho do aparelho, as características próprias de cada método, o tempo de estocagem, e a proporção de PSA livre na amostra a ser testada (11).

CONCLUSÕES

Conclui-se que as dosagens de PSA total pelos métodos DPC-Immulite e IMx-Abbott oferecem resultados comparáveis, do ponto de vista estatístico, nas 3 faixas de comparação: 0 - 10, 10.1 - 20 e 20.1 - 100 ng/ml. Não obstante, variações individuais importantes são observadas nas faixas estudadas, sendo a maioria dos valores mais elevados quando se utiliza o método da DPC.

Os autores agradecem ao Sr. Ailton Marques Ramos, representante da Aimara, Abbott, São Paulo, Brasil, pelo fornecimento de kit para a dosagem do PSA.

REFERÊNCIAS

1. Barry MJ: Prostate-specific-antigen testing for early diagnosis of prostate cancer. *N Engl J Med*, 344: 1373-1377, 2001.
2. Ashford AR, Albert SM, Hoke G, Cushman LF, Miller DS, Basset M: Prostate carcinoma knowledge, attitudes, and screening behavior among African-American men in Central Harlem, New York City. *Cancer*, 91: 164-172, 2001.
3. Catalona WJ: Screening for early detection of prostate cancer. *Lancet*, 347: 1629, 1996.
4. Karakiewicz P, Aprikian AG: Prostatic Cancer: 5. Diagnostic tools for early detection. *Canadian Med Ass J*, 159: 1139-1146, 1998.
5. Oesterling JE, Moyad MA, Wright Jr GL, Beck GR: An analytical comparison of the three most commonly used prostate-specific antigen assays: Tandem-R, Tandem-E, and IMx. *Urology*, 46: 524-532, 1995.
6. Fiore M, Mitchell J, Doan T, Nelson R, Winter G, Grandone C, Zeng K, Haraden R, Smith J,

- Harris K: The Abbott IMx automated benchtop immunochemistry analyzer system. *Clin Chem*, 94: 1726-1732, 1998.
7. Babson AL, Olson DR, Palmieri T, Ross AF, Becker DM, Mulqueen P: The IMMULITE assay tube: a new approach to heterogeneous ligand assay. *Clin Chem*; 37: 1521-1522, 1991.
 8. Luderer AA, Chen YT, Soriano TF, Kramp WJ, Carlson G, Cuny C, Sharp T, Smith W, Petteway J, Brawer MK: Measurement of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate-specific antigen. *Urology*, 46: 187-194, 1995.
 9. Brawer MK, Daum PR, Tagle WS, Blumenstein BA, Lange PH, Vessela RL, Wener MH: Variability in serum PSA levels owing to different manufacturers' assays: result of a prospective study (Abstract 944). *J Urol*, 153 (Suppl): 464A, 1995.
 10. Brawer MK, Bankson DD, Haver VM, Petteway JC: Comparison of Three commercial PSA assays: results of restandardization of the Ciba Corning method. *Prostate*, 30: 269-273, 1997.
 11. Wener MH, Daum PR, Brawer MK: Variation in measurement of prostate-specific antigen: importance of method and lot variability. *Clin Chem*, 41: 1730-1737, 1995.

Received: July 26, 2001

Accepted after revision: November 13, 2001

Correspondence address:

Dra. Léa Maria Zanini Maciel
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP
Av. Bandeirantes, 3900
Ribeirão Preto, SP, 14049-900, Brazil
Fax: + + (55) (16) 633-1144
E-mail: lmzmacie@fmrp.usp.br