

PATHOZYME[®] PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN ^{Ref} OD327

Immuno análisis (EIA) de enzima para la determinación cuantitativa

de PSA en el suero humano.

Almacenar entre 2 °C y 8 °C. No congelar.

Para uso exclusivo en diagnóstico in vitro.

INTRODUCCION

El antígeno prostático específico humano (PSA) es una proteasa SERINE. Es una glicoproteína de cadena sencilla con un peso molecular de aproximadamente 34.000 daltons y con un contenido de carbohidrato por peso de un 7%. El PSA es específico inmunológicamente para el tejido prostático. También está presente en los tejidos prostáticos benignos, hiperplásticos y malignos. También se encuentra en el carcinoma prostático metastásico, en el fluido seminal y en el plasma seminal. El PSA no está presente en ningún otro tejido normal del hombre. Tampoco es producido por el cáncer de la mama, ni del pulmón, ni del recto, ni del estómago, ni del páncreas ni de la tiroides. Es diferente tanto funcional como inmunológicamente del ácido prostático PHOSPHATASE (PAP)

Se han reportado concentraciones elevadas del PSA en pacientes con cáncer de próstata, hipertrofia prostática benigna o en condiciones inflamatorias de otros tejidos genitourinarios adyacentes. No se han encontrado concentraciones elevadas del PSA en hombres aparentemente saludables. Tampoco en hombres con cáncer no prostático, ni en mujeres aparente saludables ni en mujeres con cáncer. Los reportes han demostrado que el suero PSA es uno de los más útiles en oncología. Puede servir como un marcador preciso para tasar la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer prostático y para determinar la eficiencia tanto actual como potencial de la cirugía y de otras terapias.

Los estudios más recientes también indican que las medidas del PSA pueden aumentar la detección temprana del cáncer de la próstata al combinarse con el examen rectal (DRE).

USO PRETENDIDO

El **PATHOZYME PSA** es una enzima-inmuno-análisis (EIA) para la determinación cuantitativa del Antígeno Prostático Específico (PSA) en el suero humano
Es para uso profesional únicamente.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se cubren los pozos de microtitration con anticuerpos específicos anti-PSA de cabra. Se aplica a continuación, suero de prueba y se incuba con BUFFER de análisis. Luego se añade el anti-PSA monoclonal etiquetado con la enzima HORSERADISH PEROXIDASE (conjugada). En seguida, se lava el material no adherido. Si el PSA está presente en la muestra, se combinará con el anticuerpo en el pozo y con la enzima conjugada dando como resultado que las moléculas del PSA estén en "sandwich" entre la fase sólida y los anticuerpos de enzima conectados. Después de la incubación se lavan los pozos con agua para quitar los anticuerpos marcados no adheridos. Además del sustrato (TMB) se desarrollará un color únicamente en los pozos en los cuales está presente la enzima indicando así la presencia del PSA. Se para la reacción de la enzima añadiendo ácido clorhídrico. Luego se mide la absorción en 450nm. La concentración del PSA es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra en prueba.

La prueba ha sido calibrada contra los estándares de fábrica. No existe un estándar internacional para esta prueba.

CONTENIDO



Microtitre Plate		12 x 8 pozos x 1		
Cal	A	0 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: Suero humano libre de PSA Listo para su uso. (Incoloro).				
Cal	B	2 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: PSA diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).				
Cal	C	4 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: PSA diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).				
Cal	D	15 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: PSA diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).				
Cal	E	60 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: PSA diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).				
Cal	F	120 ng / ml	1 ml	
Referencia estándar: PSA diluido en suero humano. Listo para su uso. (Incoloro).				
Conj			11 ml	
Conjugado anti-PSA HRP Monoclonal anti-PSA conjugado a HRP. Listo para su uso. (rojo).				
Buf	AS		7 ml	
Buffer basado en fosfato conteniendo proteínas estabilizadoras. Listo para su uso. (Verde).				
Subs	TMB		11 ml	
Solución de sustrato: 3,3', 5,5' tetramethyl benzidina en buffer de citrato. Listo para su uso. (Incoloro).				
Soln	Stop	HCl	1M	11 ml
Solución de paro: Ácido Clorhídrico diluido en agua purificada. Listo para su uso. (Incoloro).				
Hoja de instrucciones y hoja de registro de datos EIA.				1 + 1

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

Micro pipetas: 100µl, 200µl y de 1000µl
Puntas de pipeta desechables
Papel absorbente
Lector de micro placa con un filtro de 450nm.
Papel gráfico
Cristalería de laboratorio totalmente limpia

PRECAUCIONES

El **PATHOZYME PSA** contiene materiales de origen humano los cuales han sido probados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y el HBsAg por un procedimiento aprobado a nivel de donante único. Puesto que ninguna prueba puede asegurar con absoluta certeza que los productos derivados de origen humano no transmitan agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos incluidos en este kit sean manejados con precaución y atención extrema durante su uso y su disposición. Todos los reactivos, sin embargo, deben tratarse como biopeligrosos potenciales tanto en su uso como en su eliminación.. No se deben ingerir.

Los reactivos **PATHOZYME PSA** no contienen sustancias peligrosas según se define en las regulaciones actuales sobre químicos (Información sobre peligros y empaque para el suministro) en el Reino Unido Todos los reactivos deben, sin embargo, tratarse como bio peligrosos tanto en su utilización como en su eliminación. La eliminación final se debe efectuar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro **PATHOZYME PSA** es ácido clorhídrico diluido y por consiguiente es corrosivo. Maneje con cuidado. En caso de contacto, lave con abundante agua.

Los reactivos del **PATHOZYME PSA** contienen un 1% de Proclin™ 300* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave muy intensamente con agua corriente y busque atención médica.

*Proclin™ 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro del rango de temperatura de 2°C a 8°C.

La fecha de vencimiento corresponde al último día del mes señalado en la botella y en la etiqueta del kit. El kit se desempeñará dentro de las especificaciones hasta la fecha de vencimiento según se determina desde la fecha de la fabricación del producto y señalada en el kit y en sus componentes. No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Debe evitarse la exposición de los reactivos a temperaturas extremas. No los exponga a luz solar directa.

NO CONGEELE NINGUNO DE LOS REACTIVOS (A excepción de los estándares de almacenamiento). Esto causaría daño irreversible.

RECOLECCION Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y retraiga. Centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero transparente. Se necesitan muestras de suero frescas.

No use suero HAEMOLYSED ni contaminado ni LIPAEMIC para las pruebas ya que esto afectará adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse dentro de un rango de temperatura de 2°C a 8°C hasta por 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere almacenamiento mas prolongado, almacene a -20°C hasta por un periodo de un año. Las muestras derretidas deben mezclarse antes de efectuar la prueba.

No use AZIDE de sodio como preservativo ya que esto puede inhibir el sistema de la enzima PEROXIDASE

No repita el ciclo de congelar-descongelar de los especímenes ya que esto puede arrojar falsos resultados.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C a 25°C) y deben mezclarse totalmente antes de usarse. No induzca la formación de espuma.

LIMITACIONES PARA EL USO

El uso de muestras aparte del suero no ha sido validado para esta prueba. No existe un protocolo de reutilización para este producto. Al efectuar una interpretación de la prueba, se recomienda intensamente tener en cuenta todos los datos clínicos. El diagnóstico no debe hacerse basados únicamente en los resultados de un análisis clínico.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Permita que los componentes del kit y el suero de prueba lleguen a la temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de empezar el análisis.
- Debe hacerse un juego de estándares con cada tiraje del suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el agarrador. Registre la posición de los estándares y el suero de prueba en la hoja de registro de datos EIA suministrada.
- Las tiras no usadas se deben resellar en la bolsa de hojilla metálica con disecante y se cierran con el zip-lock antes de colocarse nuevamente a 2°C a 8°C.
- Distribuya 50µl de estándares y de suero de prueba a los pozos asignados.
- Distribuya 50µl de BUFFER de análisis en cada pozo.
- Mezcle completamente por 30 segundos. Es muy importante tener mezclado todo en forma completa en este momento.
- Incube la placa por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Al terminar el periodo de incubación, desheche el contenido de los pozos sacudiendo el contenido de las placas al contenedor bio-peligroso. Luego golpee los pozos firmemente contra el papel absorbente. Asegúrese que el contenedor bio-peligroso tenga suficiente desinfectante.
- Lavado a mano: Llene los pozos con un mínimo de 300µl de agua destilada por pozo. Sacuda el contenido de las placas en un contenedor bio-peligroso. Luego golpee los pozos fuertemente contra el papel absorbente. Lave los pozos desocupados cinco veces.
- Golpee fuertemente los pozos contra el papel absorbente o la toalla de papel para retirar todas las gotitas de agua residual.
- Lavado a máquina: Asegúrese que una cantidad de 300µl de agua destilada sea dispensada a cada pozo y que un desinfectante apropiado sea añadido a la botella de recolección del desperdicio. Lave los pozos desocupados 5 veces. Después de lavar, retire el exceso de fluido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o toalla de papel para retirar todas las gotitas de agua residual.
- Distribuya 100µl de Anti-PSA HRP conjugado a cada pozo. Mezcle suavemente por 5 segundos.
- Incube la placa por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
- Lave la placa según se describe arriba.
- Distribuya 100µl de solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por 10 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
- Pare la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
- Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurarse que el color azul cambia completamente a color amarillo.
- Lea la densidad óptica inmediatamente (no mas tarde de 10 minutos) usando un lector de micro placa con un filtro 450 nm.

PREVENCIÓN DE INCONVENIENTES

Para ser usado por operarios con un mínimo de entrenamiento básico de laboratorio.

No use los componentes del kit que estén dañados ni contaminados.

Use una punta desechable y separada para cada muestra para prevenir contaminación cruzada.

Se recomienda, aunque no es absolutamente necesario, duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse los especímenes y los estándares al mismo tiempo para mantener las condiciones de la prueba iguales

Se recomienda que no se usen mas de 32 pozos para cada tiraje de análisis si se usa una medición manual, ya que toda la medición de los estándares y los especímenes debe ser completada dentro de tres minutos. Si se usa una medición automática, puede usarse una placa completa de 96 pozos.

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite la medición con pipeta repetida desde los reactivos guardados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo de diferentes kits. Al eliminar, hay que tener cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que los reactivos se escurran a los lados del pozo. Antes de comenzar el análisis los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C-25°C). Mezcle suavemente los reactivos por inversión o por giro.

Una vez que se haya iniciado un análisis, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que ésto tomará todo el kit inoperante.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio utilizado durante el procedimiento para así garantizar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben resellarse en la bolsa de hojilla metálica con disecante. Use el cierre zip.lock antes de almacenar a 2°C a 8°C.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule usted el valor medio de absorción (A450) para cada juego de estándares y especímenes. Construya una curva estándar dibujando en papel gráfico la absorbencia media de cada estándar contra la concentración en ng/ml. Use los valores de absorción medios para cada espécimen para poder determinar la concentración correspondiente de PSA en ng/ml de la curva estándar. Si los niveles de control o las muestras conocidas de los usuarios no arrojan los resultados esperados, los resultados de prueba deben considerarse inválidos. Si usa el paquete de software, escoja una compatibilidad de curva de regresión cuadrática.

VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores debe ser hiperbólica en forma con el OD450 de los calibradores y es proporcional a su concentración. El OD del calibrador A debe ser menos de 0.75 y el OD del calibrador F debe ser mayor que 1.5 para que los resultados del ensayo sean válidos. Se espera que los hombres saludables tengan valores del PSA inferiores a 4 ng/ml. La concentración mínima del PSA por el **PATHOZYME PSA** se estima ser 0.25 ng/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Calibre según competidores mayores y los estándares de fábrica.

El coeficiente de variación del **PATHOZYME PSA** es menor o equivalente a un 10%.

En una evaluación efectuada entre el kit Omega **PATHOZYME PSA** y el Abbott AxSym PSA para muestras con niveles entre 0.1 y 1410 ng/ml, se generaron los siguientes datos:

Numero de muestras	161
Correlación del Coeficiente	0.987
Pendiente	0.958
Intercepción	0.04
Medio del Omega	47.72 ng/ml
Medio del Abbott	45.78 ng/ml

En una evaluación efectuada entre el kit Omega **PATHOZYME PSA** y el kit activo PSA DSL para muestras con un nivel entre 0.1 y 1320 ng/ml se generaron los siguientes datos:

Número de muestras	161
Correlación del Coeficiente	0.993
Pendiente	0.951
Intercepción	0.61
Medio del Omega	47.72 ng/ml
Medio del DSL	45.99 ng/ml

Los dos kits dieron una Buena correlación en ambos estudios.

REFERENCIAS

- Hara, M. and Kimura, H. Two prostate specific antigens, gamma-seminoprotein and beta-microseminoprotein. *J. Lab. Clin. Med.* 113:541-548;1989.
- Yuan, J. J., Copley, D. E., Petros, J. A., Figenshau, R. S., Ratliff, T. L., Smith, D. S. and Catalona, W. J. Effects of rectal examination, prostatic massage, ultra-sonography and needle biopsy on serum prostate specific antigen levels. *J. Urol.* 147:810-814;1992.
- Wang, M. C., Papsidero, L. D., Kuriyama, M., Valenzuela, L. A., Murphy, G. P. and Chu, T. M. Prostatic antigen: a new potential marker for prostatic cancer. *Prostate* 2:89-93;1981.
- Stowell, L. I., Sharman, I. E. and Hamel, K. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Prostate-specific antigen. *Forensic Science Intern.* 50:125-138; 1991.
- Frankel, A. E., Rouse, R. V., Wang, M. C., Chu, T. M. and Herzenberg, L. A. Monoclonal Antibodies to a human prostate antigen. *Canc. Res.* 42:3714-1982.
- Benson, M. C., Whang, I. S., Pantuck, A., Ring, K., Kaplan, S. A., Olsson, C. A. and Cooner, W. H. Prostate specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J. Urol.* 147:815-816;1992.
- Gorman, C. The private pain of prostate cancer. *Time* 10(5):77-80; 1992.
- Walsh, P. C. Why make an early diagnosis of prostate cancer. *J. Urol.* 147:853-854;1992.
- Labrie, F., Dupont, A., Suburu, R., Cusan, L., Tremblay, M., Gomez, J.-L. and Emond, J. Serum prostate specific antigen as pre-screening test for prostate cancer. *J. Urol.* 147:846-852; 1992.
- McCarthy, R. C., Jakubowski, H. V. and Markowitz, H. Human prostate acid Phosphatase: purification, characterisation, and optimisation of conditions for radioimmunoassay. *Clin. Chem. Acta.* 132:287-293;1983
- Heller, J. E. Prostatic acid phosphatase: Its current clinical status. *J. Urol.* 137:1091-1099;1987.
- Filella, X., Molina, R., Umbert, J. J. B., Bedini, J. L. and Ballesta, A. M. Clinical usefulness of prostate specific antigen. *Tumour Biol.* 11:289-294; 1990.
- Shin, W. J., Gross, K., Mitchell, B., Collins, J., Wierzbinski, B., Magoun, S. and Ryo, U. Y. Prostate adenocarcinoma using Gleason scores correlates with prostate-specific antigen and prostate acid phosphatase measurements. *J. Nat. Med. Assoc.* 84:1049-1050; 1992.
- Wirth, M. P. and Frohmuller, H. G. Prostate specific antigen and prostate acid phosphatase in the detection of early prostate cancer and in the prediction of regional lymph node metastases. *Eur. Urol.* 21:263-268; 1992.
- Campbell, M. L. More cancer found with sensitive PSA assay. *Urol. Times.* 20:10; 1992.
- Brawer, M. K., Chetner, M. P., Beattie, J., Buchner, D. M., Vessella, R. L. and Lange, P. H. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. *J. Urol.* 147:841-845; 1992.
- Benson, M. C., Whang, I. S., Olsson, C. A., McMahon, D. J. and Cooner, W. H. The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen. *J. Urol.* 147:817-821; 1992.
- Oesterling, J. E. and Hanno, P. M. PSA still finding niches in cancer diagnosis. *Urol. Times.* 20:13-18; 1992.
- Babaian, R. J., Fritsche, H. A. and Evans, R. B. Prostate-specific antigen and the prostate gland volume: correlation and clinical application. *J. Clin. Lab. Anal.* 4:135-137; 1990.
- Vessella, R.L., Noteboom, J. and Lange, P.H. Evaluation of the Abbott IMx Automated Immunoassay of Prostate Specific Antigen. *Clin Chem* 38: 2044-2054;1992.

GUIA RAPIDA DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Distribuya 50µl del suero de prueba o estándares y 50µl de BUFFER de análisis en cada pozo. Mezcle suavemente por 30 segundos
- Incube por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Elimine los contenidos del pozo y lave cinco veces con agua destilada.
- Distribuya 100µl de conjugado Anti-PSA HRP en cada pozo y mezcle suavemente por 5 segundos.
- Incube por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Elimine los contenidos del pozo y lave cinco veces con agua destilada.
- Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo y sacuda suavemente por 10 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y sacuda suavemente por 30 segundos.
- Lea las densidades ópticas inmediatamente (no mas tarde de 10 minutos) usando el lector de micro placa con un filtro 450 nm.

8082 ISSUE 6B Revised December 2011. SPANISH

© Omega Diagnostics Ltd., 2011



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY