

### INDICACIONES DE USO

El equipo PSA está diseñado principalmente para la determinación de la concentración de PSA en suero humano.

### RESUMEN Y APLICACIÓN

El antígeno prostático específico, (PSA) es una glicoproteína con un peso molecular de 34,000 Daltons. El PSA es una proteasa sérica que es producida exclusivamente por las células epiteliales de la próstata. El PSA es inmunológicamente específico del tejido prostático, está presente en el tejido prostático normal, hiperplásico benigno y maligno, en carcinoma prostático metastático así como en fluido prostático y plasma seminal. Puede servir como un marcador preciso para la evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de próstata. Por lo tanto, la medición de la concentración de PSA en suero puede ser una herramienta importante en el monitoreo de pacientes con cáncer prostático y en la determinación potencial y real de la efectividad de la cirugía u otras terapias. Entre el 30-50% de los pacientes con hiperplasia prostática benigna tienen concentraciones elevadas de PSA en suero, dependiendo del tamaño de la próstata y del grado de obstrucción, y las concentraciones están incrementadas en el 25-92% de pacientes con cáncer prostático, dependiendo del volumen del tumor. No está presente en ningún otro tejido normal obtenido de varones, ni es producido por cánceres de mama, pulmón, colon, recto, estómago, páncreas o tiroides, además de que es diferente, funcional e inmunológicamente, del ácido fosfático prostático. Tanto el examen digital rectal como el cistoscópico y la biopsia de próstata pueden causar elevación en la concentración de PSA en suero. Condiciones tales como prostatitis bacteriana y retención urinaria aguda también pueden incrementar el nivel de PSA en suero. Estudios recientes indican que las mediciones de PSA pueden aumentar la detección temprana de cáncer de próstata cuando se combina con el DRE (examen digital rectal). Cuando se compara con la fosfatasa ácida prostática, el PSA es un marcador más útil y preciso en todas las situaciones clínicas.

### DESCRIPCIÓN

Este ensayo está basado en un método de un solo paso tipo sándwich. Primero, en los micropozos recubiertos con anticuerpos anti-PSA se agregan la muestra y la enzima conjugada con anticuerpos anti-PSA y se incuban. Durante la incubación, el PSA presente en la muestra reacciona simultáneamente con los dos anticuerpos, resultando en que el PSA queda emparejado entre la fase sólida de los micropozos y la enzima conjugada. Después de una serie de lavados para eliminar los componentes no unidos, se genera un complejo entre la fase sólida, el PSA en la muestra y la enzima conjugada por reacciones inmunológicas. Entonces se agregan el sustrato A y B, y son catalizados por este complejo dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante es medida en RLU. Los RLU son proporcionales a la cantidad de PSA en la muestra.

### MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 96 Micropozos recubiertos con anticuerpos anti-PSA.
2. Enzima Conjugada (2 viales de 6 ml).
3. Calibradores: 0, 2, 4, 15, 50 y 100 ng/ml (6 viales de 1 ml)
4. Sustrato A: 6.0 ml (peróxido de hidrogeno).
5. Sustrato B: 6.0 ml (luminol con potenciadores).
6. PBS-T en polvo 2 bolsas de 5 g.
7. Control 1 liofilizado (1 ml).
8. Control 2 liofilizado (1 ml).
9. 2 piezas de papel adherente.
10. 1 bolsa tipo zip-lock
11. 1 instructivo.

### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Pipetas de precisión de los volúmenes apropiados.
2. Agua destilada.
3. Papel absorbente o una toalla de papel.
4. Mezclador Vórtex.
5. Papel milimétrico para graficar (si aplica).
6. Luminómetro.
7. Incubadora.

### ALMACENAMIENTO DE EQUIPO E INSTRUMENTACIÓN

1. El equipo sin abrir debe guardarse entre 2-8°C a partir de la recepción y la placa debe guardarse en una bolsa sellada con desecantes para minimizar la exposición a la humedad del aire. El equipo se puede utilizar hasta la fecha de caducidad del mismo.
2. El equipo abierto se mantendrá estable hasta la fecha indicada, siempre y cuando se almacene según lo estipulado anteriormente.
3. Selle y regrese los calibradores a refrigeración (2-8°C) inmediatamente después de usar, condiciones bajo las cuales permanecerán estables por 1 mes, para mayor tiempo, congelar a -20°C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso en diagnóstico profesional solamente.
2. CUIDADO: este ensayo contiene material de origen animal. Los componentes bovinos se originaron en países donde no se ha reportado EEB.
3. El procedimiento de lavado es fundamental. La insuficiencia de lavado se traducirá en mala precisión y lecturas de absorbancia falsamente elevadas.
4. Se recomienda que no más de 32 pozos sean utilizados para cada ensayo, si el pipeteado es manual, ya que los especímenes y los controles deben ser completados dentro de 5 minutos. Una placa de 96 pocillos puede utilizarse si el pipeteado es automático.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Todos los reactivos deben alcanzar la temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso.
2. Reconstituir cada estándar liofilizado con 1 ml de agua destilada. Deje que el material reconstituido repose durante un mínimo de 10 minutos. Los estándares reconstituidos deberán conservarse a 2-8°C
3. Preparar la solución de lavado mezclando el contenido del sobre PBS-T con 500 ml de agua destilada.
4. Para preparar el sustrato de trabajo: mezclar suavemente el sustrato A y B en proporción 1:1. Esta solución es estable por 20 minutos, deseche la solución que no haya empleado después de este tiempo.

### PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso durante al menos 30 minutos. Mezclar todos los reactivos por inversión suavemente o girando antes de su uso. No provocar la formación de espuma.
2. Ajustar la incubadora a 37 grados.
3. Reconstituir cada control con 1 ml de agua destilada y mezclar bien con vórtex durante 1 minuto. Permita que el material reconstituido repose durante al menos 10 minutos.
4. Para preparar Buffer de Lavado: añadir una bolsa de PBS-T en Polvo a 500ml de agua destilada y mezclar. El buffer de lavado es estable a temperatura ambiente durante dos meses.
5. Determinar la cantidad que de la solución de sustrato necesario y preparar mezclando volúmenes iguales de sustrato A y B en un recipiente limpio. Por ejemplo, añadir 1 ml de sustrato A y 1 ml de sustrato B por 2 tiras de ocho pocillos (quedará un ligero exceso de material preparado). Deseche la porción no utilizada si no se utiliza dentro de 20 minutos después de la mezcla.

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos.
2. Dispensar 25 µl de calibradores, muestras y/o controles en los pocillos apropiados.
3. Agregar 100 µl de enzima conjugada a cada pocillo.
4. Mezclar perfectamente bien y suavemente durante 30 segundos.
5. Cubra la placa con el papel adherente e incube a 37°C por 60 minutos.
6. Deseche la mezcla vaciándola en un contenedor de residuos. Enjuagar y vaciar la placa 5 veces con solución PBS-T. Secar la placa golpeándola sobre un papel absorbente o toallas de papel para eliminar todas las gotas de agua residual. El volumen del micropozo es de aproximadamente 350 µl.
7. Dispensar 100 µl de la mezcla de sustratos previamente preparada. Mezcle suavemente durante 10 segundos.
8. Incubar 5 minutos dentro de la cámara oscura del Luminómetro y leer los valores RLU.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

Le recomendamos utilizar el software adecuado para el cálculo de los resultados, en caso de que esto no sea posible, construya una curva estándar trazando los RLU obtenidos a partir de cada calibrador en contra de su concentración en ng/mL en papel milimétrico cuadrado, con los valores RLU en la vertical o eje Y las concentraciones en la horizontal o eje X. Utilice los valores RLU de cada muestra para determinar la concentración correspondiente de PSA (ng/ml) de la curva estándar por interpolación. Cualquier espécimen diluido debe de ser corregido por el factor apropiado de dilución.

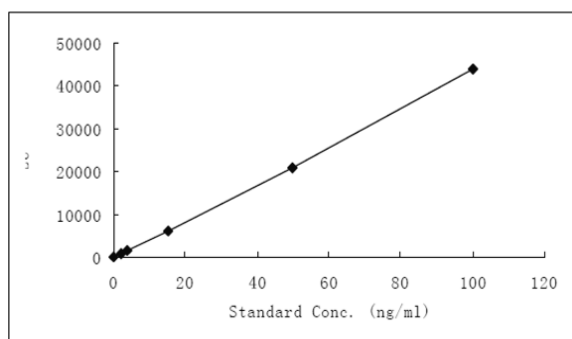
## VALORES DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer su propio rango normal. La siguiente información se da sólo para orientación. Un rango normal de menos de 4 ng/ml fue obtenido probando 653 individuos clínicamente sanos.

## EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Los datos mostrados a continuación son solamente una ilustración y no deben emplearse en lugar de una curva de calibración.

Muestra	Concentración (ng/ml)	RLU
Cal A	0	138
Cal B	2	793
Cal C	4	1607
Cal D	15	5960
Cal E	50	21004
Cal F	100	44025



## PERFORMANCE

### 1. Precisión:

Este ensayo fue diseñado para tener una precisión Intra-ensayo de <10%. Dos sueros control (alto y bajo) fueron probados con 20 repeticiones cada uno.

Suero	Número	Media	SD	CV %
Bajo	20	4.52	0.34	7.52
Alto	20	15.26	0.96	6.29

Este ensayo está diseñado para tener una precisión inter-ensayo de <15%. Se probaron 2 sueros (alto y bajo) con dos repeticiones por suero cada día durante 10 días de ensayo.

Suero	Número	Media	SD	CV %
Bajo	20	3.95	0.31	7.85
Alto	20	15.29	0.91	5.95

### 2. Sensibilidad analítica:

Se define como la concentración correspondiente a la media de RLU's de 10 repeticiones del calibrador A menos 2 desviaciones estándar. La sensibilidad es de  $\leq 0.5$  ng/ml.

### 3. Especificidad analítica:

Este ensayo está diseñado para tener una especificidad de menos de 0.5 ng/ml, con las sustancias que se muestran a continuación y a las concentraciones que se indican.

Substancia	Concentración
AFP	500 ng/ml
CEA	500 ng/ml
SF	400 ng/ml

### 3. Medición de precisión por correlación:

Un estudio fue diseñado, en el que las muestras fueron probadas usando este ensayo y un ensayo Inmunoenzimático de PSA que se encuentra actualmente en el mercado. Los datos se muestran a continuación.

Método de correlación	Nº de muestras	Intercepto	Pendiente	Coefficiente de correlación
Regresión lineal	72	0.9781	1.046	0.943

### 4. Efecto gancho de altas dosis:

Una muestra adicionada con PSA a una concentración mayor a 900 ng/ml da un valor de RLU más alto que el último punto de calibración.

## REFERENCIAS

1. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. Invest Urol. 1979; 17(2):159-163.
2. Stamey TA, Yang N, Hay AR, et al. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. N. Engl. J. Med. 1987; 317(15):909-916.
3. Hudson MA, Bahnsen RR, catalona WJ. Clinical use of prostate specific antigen in patients with prostate cancer. J. Urol. 1989; 142(4):1011-1017.
4. Partin AW, Carter HB, Chan DW, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volumen and benign hiperplasia. J. Urol. 1990; 143(4):747-752.
5. Stamey TA, Kabalin JN. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. i. untreated patients. J. Urol. 1989; 141(5):1070-1075.
6. Armitage TG, Cooper EH, Newling DW, Robinson MR, Appleyard I. the value of the measurement of serum prostate specific antigen in patients with benign prostatic hiperplasia and untreated prostate cancer. Br J Urol. 1988; 62(6):584-589.
7. Seamonds B, Yang N, Anderson K, et al. Evaluation of prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase as prostate cancer markers. Urology. 1986; 28(6):472-479.