

## Immunoensayo para la Determinación del Antígeno Prostático

### Solo para diagnóstico In Vitro

Para uso exclusivo en laboratorios clínicos o de gabinete  
Conservar entre 2°C a 8°C

#### NOMBRES COMUNES Y DE PROPIEDAD

Immunoensayo de la Enzima de PSA

#### USO DESTINADO

La prueba PSA EIA se utiliza para la determinación cuantitativa de la concentración del antígeno prostático específico en suero humano que sirve como indicador de presencia de cáncer prostático e hipertrofia prostática benigna, así como de condiciones inflamatorias de otros tejidos genitourinarios adyacentes.

#### INTRODUCCIÓN

El antígeno específico de la próstata humana (PSA) es una proteasa sérica, la cual es una glicoproteína de cadena simple con un peso molecular de aproximadamente 34,000 daltons que contiene 7% de carbohidrato por peso. El PSA es inmunológicamente específico para el tejido prostático, está presente en el tejido prostático maligno e hiperplásico benigno normal, en carcinoma prostático metastático, y también en el fluido prostático y plasma seminal. El PSA no está presente en ningún otro tejido normal obtenido del hombre, ni está producido por cánceres del pecho, pulmón, colon, recto, estómago, páncreas, o tiroides. Además, es funcional e inmunológicamente diferente de la fosfatasa del ácido prostático (PAP).

Las concentraciones de PSA en suero elevadas han sido reportadas en pacientes con cáncer prostático, hipertrofia prostática benigna, o con condiciones inflamatorias de otros tejidos genitourinarios adyacentes, pero no en hombres aparentemente saludables, hombres con carcinoma no prostático, mujeres aparentemente saludables, o mujeres con cáncer. Los reportes han sugerido que el PSA en suero es uno de los marcadores de tumores más útiles en oncología. Este puede servir como un marcador preciso para evaluar la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer prostático. Por lo tanto, la medición de las concentraciones de PSA en suero puede ser una herramienta importante para monitorear a pacientes con cáncer prostático y para determinar la efectividad potencial y real de la cirugía u otros tratamientos.

Estudios recientes también indican que las mediciones de PSA pueden aumentar la detección de cáncer en la próstata tempranamente cuando son combinadas con la examinación rectal digital (ERD).

#### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba de PSA EIA es un immunoensayo en fase sólida de dos sitios. Conejo anti-PSA está revestido en la superficie de los pocillos de microtitulación y otro anticuerpo monoclonal anti-PSA marcado con peroxidasa de rábano picante utilizado como trazador. Las moléculas de PSA presentes en la solución o suero estándar están "intercalados" entre los dos anticuerpos. Después de la formación del complejo que cubre el anticuerpo-antígeno-anticuerpo-enzima, los trazadores anticuerpo-enzima no unidos son eliminados mediante el lavado. La actividad de la peroxidasa

de rábano picante unido en los pozos después, se ensayó mediante una reacción colorimétrica. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de PSA presente en la muestra.

#### REACTIVOS

##### Materiales abastecidos con el equipo de prueba

1. Placa de micropozos recubiertas de anticuerpo con 96 pozos
2. Enzima Conjugada, 1 Frasco
3. Estándares de referencia PSA, que contienen 0, 2.5, 5, 15, 30 y 60 ng/mL. Líquido. Listo para usarse
4. Búfer de lavado concentrado (50x). 1 Frasco
5. Reactivo TMB. 1 Frasco
6. Solución de Paro. 1 Frasco

##### Materiales requeridos pero no abastecidos

1. Pipetas de precisión 5 ~ 40 µL, 50 ~ 200 µL y 1.0 mL
2. Puntas para pipetas desechables.
3. Agua destilada
4. Mezclador Vórtex o equivalente.
5. Papel absorbente o toalla de papel
6. Papel cuadriculado
7. Un lector de Microelisa.

#### COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. La sangre debe extraerse utilizando técnicas de venopunción estándar y el suero debe ser separado de las células rojas de la sangre tan pronto como sea posible. Evite muestras con alto grado de hemólisis, lipemia o turbias.
2. Las muestras de plasma recolectadas en tubos que contienen EDTA, heparina u oxalato pueden interferir con los procedimientos de ensayo y deben evitarse.
3. Las muestras deben ser tapadas y se pueden almacenar hasta 48 horas a 2-8°C, antes del ensayo. Las muestras almacenadas por más tiempo pueden congelarse a -20°C. Muestras descongeladas deben mezclarse antes de la prueba.

El almacenamiento de los equipos de prueba sin abrir deben almacenarse a 2-8°C después de recibirlo. La placa de microtitulación debe mantenerse en una bolsa sellada con desecantes, para minimizar la exposición a la humedad. Equipos de prueba abiertos permanecerán estables hasta la fecha de vencimiento, siempre que se almacene como se describe anteriormente.

#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 a 22°C) y mezclar invirtiendo suavemente o girando antes de su uso. No provocar la formación de espuma.
2. Diluir 1 volumen de buffer de lavado (50x) con 49 volúmenes de agua destilada. Por ejemplo, diluir 15 mL de buffer de lavado (50x) en 735 mL de agua destilada para preparar 750 mL de amortiguador de lavado (1x). Mezclar bien antes de usar.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el soporte.



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

#### Distribuido por:

DIAGNÓSTICA INTERNACIONAL S.A. de C.V.  
Rudyard Kipling 4886 Col. Jardines de la Patria  
CP 45110 Zapopan, Jalisco, México  
Lada sin costo: 01 800 440 0404 c/ 10 líneas  
Tel: 01 (33) 3770 1940 c/ 10 líneas

2. Dispense 25  $\mu\text{L}$  de estándares, muestras y controles en los pozos apropiados.
3. Dispense 100  $\mu\text{L}$  de Reactivo conjugado enzimático en cada pocillo. Mezclar suavemente durante 5 segundos.
4. Incubar a temperatura ambiente por 45 minutos.
5. Retire la mezcla de incubación vaciando el contenido de la placa en un contenedor de residuos.
6. Enjuague y vacíe los pocillos de microtitulación 5 veces con el búfer de lavado (1X).
7. Golpear ligeramente los pozos sobre el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
8. Dispense 100  $\mu\text{L}$  de solución de TMB dentro de cada pozo. Mezclar suavemente durante 5 segundos.
9. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos.
10. Detenga la reacción añadiendo 100  $\mu\text{L}$  de solución de paro a cada pocillo.
11. Mezclar suavemente durante 30 segundos para asegurarse de que el color azul cambie a amarillo por completo.
12. Con el uso de un lector de placa de microtitulación, leer la densidad óptica a 450 nm dentro de los 15 minutos.

#### Nota Importante

1. El procedimiento de lavado es crítico. Un lavado insuficiente producirá una falta de precisión y las lecturas de absorbancia falsamente elevadas.
2. Se recomienda que no más de 32 pozos se utilicen para cada ensayo, si se utiliza el pipeteado manual, ya que el pipeteo de todos los estándares, muestras y controles deben ser completado dentro de 3 minutos. Un plato lleno de 96 pocillos puede ser utilizado si el pipeteo automatizado está disponible.
3. Duplicación de todos los estándares y de las muestras, aunque no es obligatorio, es recomendado.

#### CÁLCULO DE RESULTADOS

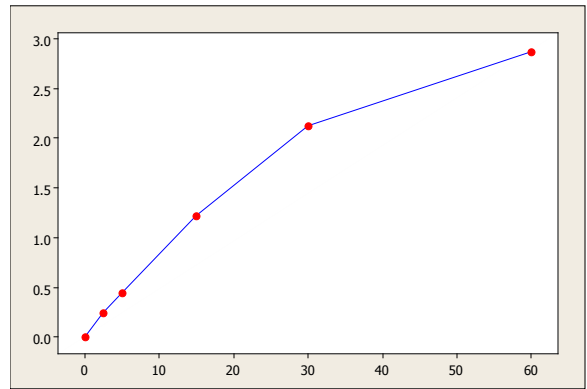
Calcular el valor de absorbancia media (A450) para cada juego de estándares de referencia, controles y muestras de pacientes. Construya una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida de cada estándar de referencia contra su concentración en ng/mL en papel cuadriculado. Los valores de absorbancia se colocan en el eje Y y las concentraciones verticales o en el eje X horizontal.

Utilice los valores de absorbancia media para cada muestra para determinar la concentración correspondiente de PSA en ng/mL desde la curva estándar.

#### EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Resultados de una corrida estándar típica ejecutada con la lectura de la densidad óptica a 450 nm se muestran en el eje Y contra concentraciones de PSA se muestra en el eje X

| PSA (ng/mL) | Absorbancia (450 nm) |
|-------------|----------------------|
| 0.0         | 0.005                |
| 2.5         | 0.246                |
| 5.0         | 0.444                |
| 15.0        | 1.223                |
| 30.0        | 2.127                |
| 60.0        | 2.879                |



Esta curva estándar es con el propósito de ilustración solamente y no debe ser usada para calcular resultados. Cada usuario debe obtener su propia curva y datos estándar.

#### VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se espera que los hombres sanos tener valores de PSA por debajo de 4 ng/mL. La concentración mínima detectable de PSA en este ensayo se estima en 0.5 ng/mL.

#### REFERENCIAS

1. Hara, M. and Kimura, H. Two prostate-specific antigens, gammaseminoprotein and beta-microseminoprotein. *J. Lab. Clin. Med.* 113:541-548;1989.
2. Yuan, J.J.; Coplen, D.E.; Petros, J.A.; Figenshau, R.S.; Ratliff, T.L.; Smith, D.S. and Catalona, W.J. Effects of rectal examination, prostatic massage, ultrasonography and needle biopsy on serum prostate specific antigen levels. *J. Urol.* 147:810-814; 1992.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Gorman, C. The private pain of prostate cancer. *Time* 10(5):77- 80; 1992.
8. Walsh, P.C. Why make an early diagnosis of prostate cancer. *J. Urol.* 147:853-854; 1992.
9. 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.
10. McCarthy, R.C.; Jakubowski, H.V. and Markowitz, H. Human prostate acid phosphatase : purification, characterization, and optimization of conditions for radioimmunoassay. *Clin. Chim. Acta.* 132:287-293; 1983.
11. Heller, J.E. Prostatic acid phosphatase: its current clinical status. *J. Urol.* 137:1091-1099; 1987.
12. Filella, X.; Molina, R.; Umbert, J.J.B.; Bedini, J.L. and Ballesta, A.M. Clinical usefulness of prostate-specific antigen. *Tumor Biol.* 11:289-294; 1990.
13. 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.

**Diagnóstica**  
Internacional



"Rápida solución a tus necesidades clínicas"

FABRICADO POR:

INTERNATIONAL IMMUNO-DIAGNOSTICS

1155 CHESS DRIVE No. 121

FOSTER CITY, CA 94404 USA