

REFERENCIAS

1. Espana F; Sanchez-Cuenca J; Estelles A; Gilabert J; Griffin JH; Heeb MJ. Quantitative immunoassay for complexes of prostate-specific antigen with alpha2-macroglobulin. Clin Chem 1996; 42(4):545-50.
2. Corey E; Wegner SK; Stray JE; Corey MJ; Arfman EW; Lange PH; Vessella RL. Characterization of 10 new monoclonal antibodies against prostate-specific antigen by analysis of affinity, specificity and function in sandwich assays. Int J Cancer 1997; 71(6):1019-28.
3. Barak M; Cohen M; Mecz Y; Stein A; Rashkovitzki R; Laver B; Lurie A. The additional value of free prostate specific antigen to the battery of age-dependent prostate-specific antigen, prostate-specific antigen density and velocity. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35(6): 475-81.
4. Vogl M; Muller MM; Holtl W. Clinical usefulness of percentage of free serum prostate specific antigen. Clin Chim Acta 1997; 258(1):79-90.
5. Stenman UH; Leinonen J; Zhang WM. Problems in the determination of prostate specific antigen. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34(9):735-40.

2014-07-07

Cat#: PS235T (96 Tests)

Por pedidos y/o consultas técnicas por
favor contactar a:



Calbiotech Inc.,
10461 Austin Dr, Spring Valley, CA, 91978
Tel (619) 660-6162, Fax (619) 660-6970,
www.calbiotech.com



Immuno-ensayo para la Detección de Antígeno Prostático Específico (PSA) en suero humano ELISA

Número de Catálogo PS235T (96 Tests)

INTENCION DE USO:

El kit PSA ELISA de Calbiotech Inc. se utiliza para la determinación cuantitativa de Antígeno Prostático Específico (PSA) en suero humano.

RESUMEN

El Antígeno Prostático Específico (PSA) es una glicoproteína de cadena simple, sintetizada por las células epiteliales de la próstata. PSA es de utilidad en el tratamiento de pacientes con cáncer de próstata. La determinación de PSA en suero, resulta ser el método más aceptado para determinar hombres en riesgo de sufrir cáncer de próstata y que deberán ser examinados mediante otras metodologías. Utilizando un punto de corte de 4 ng/ml, el 92% de los hombres mayores de 50 años con tejidos prostáticos malignos, 8% de hombres sanos y 28% de hombres con Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP), dieron positivo en PSA. Principalmente, existen tres tipos de PSA en el suero humano: PSA Libre, PSA Unido y PSA Complejo. El PSA Unido se encuentra en altas concentraciones en pacientes con cáncer de próstata, mientras que el PSA Libre, se halla en altas concentraciones en pacientes con HBP. Si el ratio entre PSA Libre y PSA Total es >25%, resulta poco probable que el paciente haya desarrollado cáncer de próstata, mientras que si el PSA Libre es <16%, es probable que el cáncer de próstata sea el causante de dicho resultado. Medir habitualmente la concentración de PSA en suero, resulta una herramienta importante en el monitoreo de pacientes con cáncer de próstata y sirve para determinar la efectividad de cirugías u otras terapias, o bien, puede ayudar a la detección temprana de carcinoma recurrente o residual luego de una prostatectomía o de radioterapia. Las indicaciones actuales sugieren que los hombres mayores de 50 años deben ser examinados rectalmente y mediante PSA. Hombres con alto riesgo de contraer cáncer de próstata, como ser aquellos con historia familiar o de herencia africana, deben ser analizados anualmente a partir de los 40 años. Si ambos estudios tienen resultados normales, el paciente puede continuar con evaluaciones anuales y monitoreo para determinar si surgen cambios. Pequeñas elevaciones en PSA (4.1 ng/ml to 10.0 ng/ml) requerirán de un examen de ultrasonido transrectal a fin de evaluar el volumen y la ecogenicidad de la próstata. Lesiones hipoeogénicas deberán ser analizadas mediante biopsia. Elevada densidad de PSA (>0.15 ng/ml/cc), altos niveles de PSA (>10 ng/ml) o un ratio de PSA Libre a PSA Total de <16%, también requerirán de análisis mediante biopsia.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

PSA ELISA es un método en fase sólida basado en el principio Streptavidina / Biotina. Las muestras, estándares y la mezcla de Enzima Anti-PSA y de conjugados de Biotina (Conjugado Reactivo), se añaden a los pocillos designados recubiertos con Streptavidina. La PSA en el suero del paciente forma una reacción tipo sándwich entre dos anticuerpos anti-PSA altamente específicos, etiquetados con Biotina y HRP. Simultáneamente, el anticuerpo biotinilado es inmovilizado dentro del pocillo a través de una interacción de alta afinidad entre la Streptavidina y la Biotina. Las proteínas no unidas, así como el exceso de conjugado enzimático de Biotina, son lavados por la solución de lavado. Tras la adición del sustrato, la intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de PSA en las muestras. Una curva estándar se prepara sobre la intensidad del color a la concentración de PSA.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con Streptavidina	12x8x1
2. Estándares de PSA : 6 viales (listos para su uso)	0.5ml
3. Conjugado Reactivo de PSA: 1 frasco (listo para su uso)	12 ml
4. Sustrato TMB: 1 frasco (listo para su uso)	12ml
5. Solución de Frenado: 1 botella (listo para su uso)	12ml
6. Solución de Lavado Concentrado 20X: 1 frasco	25ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.

3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD ó mayor
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadriculado.

ALMACENAMIENTO

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

1. Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. No pipetee con la boca. No fume, coma , o beba en el área donde maneje este equipo.
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar.
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado.
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este puede resultar en datos no válidos.

RECOLECCION DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8° C) por cinco días. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20° C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACION DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos deberán ser traídos a la temperatura ambiente (18°-25°C) antes de su uso.
2. Preparar solución de lavado a 1x adicionando 475ml de agua destilada o desionizada al frasco de (25ml a 20x)

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°-26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micro pocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8° C.
2. Vierta 25 µl de estándares de PSA, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Vierta 100 µl de conjugado reactivo anti-PSA en todos los pocillos. Agite el platillo por 10-30 segundos.
4. Cubra e incube a temperatura ambiente por 60 minutos (18-26°C).
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micro pocillos sobre el papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de sustrato TMB en todos los pocillos.
7. Cubra e incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pozo. Sacuda gentilmente para facilitar el mezclado de la solución.
9. Lea la densidad óptica a 450nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

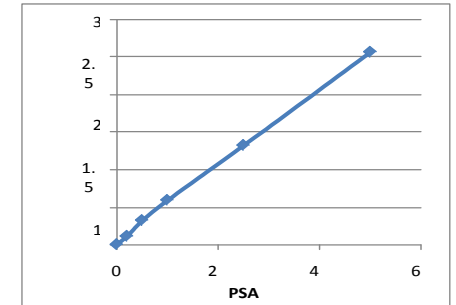
CALCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye de la siguiente manera:

1. Compruebe el valor estándar de PSA en cada vial estándar. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
2. Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para el estándar de PSA (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de PSA en IU/ml (eje horizontal) en un papel gráfico lineal. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
3. Utilice el valor de absorbancia de los controles y de cada muestra desconocida para determinar la concentración correspondiente de PSA desde la curva estándar.

EJEMPLO DE CURVA STANDARD

	OD 450 nm	Conc. ng/mL
Std 1	0.01	0
Std 2	0.12	2
Std 3	0.33	5
Std 4	0.60	10
Std 5	1.33	25
Std 6	2.57	50



VALORES EXPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de PSA pueden usar rangos utilizados solo como guía:

Rango Normal de PSA = Menos de 4 ng/ml.

SENSIBILIDAD

La concentración mínima detectable de PSA ELISA calculada por 2 X SD de la media de 20 estándares cero, se estima en 0.0144 ng/ml.

LIMITACIONES DEL TEST

1. No utilice azida de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.