

## hPSA [I-125] IRMA KIT

**RK-10CT.** Estuche para 100 determinaciones

Ensayo inmunoradiométrico para la determinación cuantitativa *in vitro* del antígeno prostático específico (PSA) en suero humano, en el rango de 0-100 ng/mL.

### Introducción

El antígeno prostático específico (PSA), miembro de las calicreínas humanas, es una serino-proteasa con actividad parecida a la de la quimotripsina. La enzima activa es una glicoproteína de cadena única de 237 aminoácidos y aproximadamente 30 kDa de masa molecular.

El PSA se produce fundamentalmente en el epitelio glandular de la próstata. Su función principal es la división proteolítica de las proteínas formadoras del coloide gelatinoso en el fluido seminal. En el suero, la mayor parte del PSA (70-90 %) se encuentra ligado a la alfa-1-antiquimotripsina (ACT). La concentración de PSA total (libre + ACT-enlazado) se incrementa tanto en la hiperplasia benigna prostática como en el cáncer de próstata.

La determinación del PSA en sangre constituye un método imprescindible en el diagnóstico del carcinoma prostático, en el establecimiento del estadio de la enfermedad y en el seguimiento de la terapia.

El presente sistema IRMA se caracteriza por el reconocimiento equimolar de las formas libre y conjugada del PSA y ha sido calibrado funcionalmente a inmunoensayos aprobados por la FDA, de acuerdo a las recomendaciones del comité de estandarización internacional.

### Principio del ensayo

Este ensayo utiliza el principio del análisis inmunoradiométrico (IRMA) en fase sólida. Para ello emplea dos anticuerpos monoclonales que reconocen dos epítopes diferentes de la molécula. Uno de ellos está marcado con radioyodo (anticuerpo "señal") y el otro, biotinilado, funciona como anticuerpo "captura".

El inmunocomplejo formado por el antígeno con los dos anticuerpos ("sandwich") se inmoviliza en la superficie recubierta con estreptavidina de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 1 hora bajo agitación constante. Después se decantan y lavan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma. La radiactividad presente en los tubos es directamente proporcional a la concentración del antígeno presente en el sistema. Utilizando calibradores de concentración conocida de PSA se prepara una curva de calibración a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de PSA presente en las muestras.

### Contenido del juego

**1. TRAZADOR,** 1 frasco con 11 mL, listo para usar, contiene < 980 kBq de anti-PSA marcado con <sup>125</sup>I y anti-PSA conjugado a biotina en solución tampón con 0,1 % NaN<sub>3</sub> y colorante rojo.

**2. CALIBRADORES (S0-S6),** 7 frascos listos para usar con 1 mL de suero bovino con 0,1% NaN<sub>3</sub>. Contienen: 0; 0,15; 0,5; 2; 8; 25; 100 ng/mL y han sido calibrados contra el estándar de referencia WHO ECBS 96/670.

**3. SUERO CONTROL,** 2 frascos listos para usar, contienen 1 mL de suero humano con 0,1% NaN<sub>3</sub>. La concentración de los controles se especifica en el certificado de calidad incluido.

**4. TUBOS RECUBIERTOS:** 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

### Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipetas de precisión con puntas desechables (25, 100 y 2000 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

#### Materiales y equipos recomendados:

Pipetas de repetición (100 y 2000 µL). Jeringa automática (dispensador) para el lavado.

### Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis habrá de efectuarse dentro de las 24 horas siguientes, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

### Conservación de los reactivos

Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

#### PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente. Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

### Procedimiento para el ensayo

(Ver *Tabla 1.*)

1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para la actividad total (T), calibradores (S0-S6), suero control (CI/CII) y muestras (M).
2. Añadir por duplicado 25 µL de calibrador, controles y muestras en los tubos apropiados, cuidando de no arañar el fondo del tubo.
3. Añadir 100 µL de trazador en cada tubo.
4. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente. Incubar 1 hora agitando a temperatura ambiente.

5. Añadir 2 mL de agua destilada a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 2 minutos manteniendo la posición invertida.
6. Repetir una vez más el procedimiento de lavado según el punto 5.
7. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de PSA en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (*volúmenes en microlitros*)

	T	S0-S6	CI/CII	M
Calibrador		25		
Control			25	
Muestra				25
Trazador	100	100	100	100
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Agua destilada		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Agua destilada		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Procesar los datos				

### Cálculo de los resultados

En la *Tabla 2* se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos. Restar de cada media el promedio de cpm obtenido para el calibrador de concentración cero (S0 = enlace no específico, NSB). Los valores así corregidos se dividen por la actividad total (T) como se muestra a continuación:

$$B/T (\%) = \frac{S1-6/C/Mx/(\text{cpm}) - S0(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

Construir una curva estándar ploteando las medias de cpm o, alternativamente, los valores B/T% contra la concentración de PSA de cada calibrador en un papel log-log.

Determinar la concentración de PSA en las muestras basándose en las respectivas medias de cpm o en los valores B/T%, por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva. Para el procesamiento automatizado de los datos, recomendamos el uso del programa de ajuste tipo spline, desarrollado especialmente para el análisis inmunoradiométrico. Existen programas que interpolan los valores que se encuentran entre el calibrador de concentración cero y el primer calibrador. Entre las concentraciones así calculadas, solo aquellas mayores que el límite de detección del ensayo pueden considerarse como reales (ver sensibilidad).

Tabla 2. Resultados característicos del ensayo

Tubos	PSA (ng/mL)	Media (cpm)	B/T%
T		266559	-
S0	0	242	0,09
S1	0,15	550	0,2
S2	0,5	1120	0,4
S3	2	3439	1,3
S4	8	13016	4,9
S5	25	37874	14,2
S6	100	124568	46,7
CI	4,46	7356	2,8
CII	12,9	20236	7,6

## Características del ensayo

### Sensibilidad

En base a 120 determinaciones (60 de calibrador cero y 60 de muestras con baja concentración) y con un 95% de probabilidad, los límites de medición son:

Límite del Blanco (LoB): 0,035 ng/mL

Límite de Detección (LoD): 0,09 ng/mL

Para resultados por debajo del LoB, se debe reportar como "análito no detectado" y para resultados entre el LoB y el LoD se debe reportar "análito detectado, concentración menor que 0,09 ng/mL".

La *sensibilidad analítica* es de 0,02 ng/mL, calculada como la concentración correspondiente al valor de enlace medio más dos desviaciones estándar, para 20 réplicas del calibrador de concentración cero.

La *sensibilidad funcional* es de 0,04 ng/mL, determinada por extrapolación del 22% del perfil de precisión obtenido con la evaluación de muestras de pacientes con baja concentración de PSA en 15 series diferentes.

### Especificidad

Los anticuerpos monoclonales utilizados en este producto son específicos al PSA. Se observó menos de un 0,04% de reacción cruzada con calicreínas humanas y con PAP.

### Precisión

La precisión intra-ensayo fue determinada a partir de 15 réplicas de 5 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 5 muestras, en 20 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-ensayo		Inter-ensayo	
Media (ng/mL)	CV %	Media (ng/mL)	CV %
0,94	3,7	0,99	5,7
1,98	1,9	2,03	4,2
4,12	3,2	4,27	2,8
8,43	2,2	8,83	2,7
17,24	1,4	17,7	2,9

### Prueba de dilución (linealidad)

Se diluyeron serialmente cuatro muestras con calibrador de concentración cero y se sometieron a ensayo. Se obtuvo la siguiente relación lineal entre los valores medidos (Y) y los valores esperados (X):

$$Y = 0,9916X + 0,073 \quad R = 0,9997 \quad n = 16$$

### Prueba de recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir concentraciones conocidas de PSA a 5 muestras de suero diferentes. La recuperación obtenida fue de  $96,3 \pm 4,9\%$  (media  $\pm$ SD).

### Valores de referencia

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia. Los valores que se proporcionan a continuación deben considerarse solo como informativos.

Varones sanos adultos (n = 285): < 3,0 ng/mL

Distribución por grupos de edad:

Edad	Muestras	ng/mL PSA (< media + 3SD)
20-30	76	< 1,2
31-40	57	< 2,6
41-50	54	< 2,7
51-60	68	< 2,8
> 60	34	< 4,4

### Limitaciones del procedimiento

- Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición del PSA en suero.
- Los resultados de este análisis deben ser utilizados conjuntamente a la información clínica pertinente.
- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- No se observa efecto Hook con el uso del presente producto en concentraciones de PSA hasta 20000 ng/mL. Para cualquier muestra con una concentración en el intervalo entre 100-20000 ng/mL se obtendrán valores superiores a 100 ng/mL. Estas muestras deben ser diluidas con el calibrador de concentración cero y reanalizadas.

### Notas acerca del procedimiento

1) **Fuente de error!** Los tubos recubiertos no están marcados individualmente. Se debe evitar la mezcla con tubos de ensayo comunes. Para minimizar este riesgo, no se deben sacar de la caja más tubos de los necesarios, de igual manera los tubos no utilizados en una serie deben ser guardados de nuevo en su caja. Se recomienda rotular los tubos con marcador permanente.

2) **Fuente de error!** Para asegurar la agitación eficiente de los tubos se debe utilizar una gradilla que los ajuste firmemente. Una agitación inadecuada puede provocar un rendimiento deficiente del ensayo y falsos resultados.

3) **Dosificación de agua destilada.** Para la adición de agua destilada se recomienda una jeringa automática o dispensador, equipado con un recipiente de 1 litro y un tubo flexible para la dosificación. En su ausencia puede utilizarse una pipeta automática apropiada.

**Atención!** No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

## Precauciones

### Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.
















### Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como *material potencialmente infeccioso*.

Todos los productos y derivados de origen animal provienen de animales saludables. No obstante, los componentes que contienen suero animal deben considerarse como *material potencialmente infeccioso*.

### Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 20 mg de azida sódica.

	Fecha de vencimiento		Número de lote
	Almacenar entre 2 y 8 °C		Suero Control
	Precaución		Calibrador
	Peligro biológico		Tubos recubiertos
	Consulte las instrucciones		Trazador
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>		Número de determinaciones
	Fabricante		Material radiactivo
	Código de referencia		

**CE 1011**

Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>  
E-mail técnico: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)  
E-mail comercial: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.  
1535 Budapest. P.f.: 851.

Tel.: +36 1 392-2577, Fax: +36 1 395-9247

Edición: Noviembre/2016