



ES

# EIA CanAg PSA

REF

340-10

IVD

CE<sub>0197</sub>

Instrucciones de uso. 2009-11

EN	EXPLANATION OF SYMBOLS
BG	ОБЯСНЕНИЕ НА СИМВОЛИТЕ
CS	VÝZNAM SYMBOLŮ
DA	SYMBOLFORKLARING
DE	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE
EL	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ
ES	SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS
ET	SÜMBOLITE SELGITUS
FR	EXPLICATION DES SYMBOLES
HR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
HU	JELMAGYARÁZAT
IT	SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI
LT	SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAI
LV	SIMBOLU SKAIDROJUMS
NL	VERKLARING DER SYMBOLEN
NO	SYMBOLFORKLARING
PL	OBJAŚNIENIE SYMBOLI
PT	EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS
RO	SEMNIȚAȚIA SIMBOLURILOR
RU	ОБОЗНАЧЕНИЯ
SE	SYMBOLFÖRKLARING
SK	VÝZNAM SYMBOLOV
SL	RAZLAGA SIMBOLOV
SR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
TR	SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI



Use By/Годно до/Použitelné do/  
Holdbar til/Verwendbar bis/  
Ημερομηνία λήξης/Fecha  
de caducidad/Kölblik kuni/  
Utiliser jusque/Rok valjanosti/  
Felhasználható/Utilizzare entro/  
Sunautoti iki/Izletot līdz/Houdbaar  
tot/Brukes innen/Użyç przed/  
Prazo de validade/Expirã la/  
Использовать до/Använd före/  
Použite né do/ Uporabno do/  
Upotrebljivo do/Son Kullanna Tarihi

LOT

Batch code/Номер на партида/  
Číslo šarže/Lotnummer/  
Chargenbezeichnung/Αριθμός  
Παρτίδας/Código de lote/Partii  
kood/Code du lot/Kod serije/  
Sarzsám/Codice del lotto/  
Partijos kodus/Partijas kods/Lot  
nummer/Partikode/Kod partii/  
Código do lote/Număr de lot/  
Номер лота/Lotnummer/Číslo  
šarže/Številka serije/Kod partije/  
Parti Kodu



Date of manufacture/Дата на производство/Datum výroby/  
Produktionsdato/Herstellungsdatum/  
Hμερομηνία παραγωγής/Fecha de fabricación/Valmistamise kuupäev/  
Date de fabrication/Datum proizvodnje/  
Gyártási idő/Data di produzione/  
Pagaminimo data/Ražošanas datums/  
Productiedatum/Fremstillingsdato/  
Data produkcji/Data de fabrico/Data fabricației/Дата производства/  
Tillverkningsdatum/Dátum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Üretim tarihi



Temperature limitation/  
Температурни граници/  
Теплотни омеzeи/  
Temperaturbegrænsning/  
Temperaturbegrenzung/  
Περιορισμοί θερμοκρασίας/  
Limites de temperatura/  
Temperatuuri piirang/  
Limite de température/  
Temperaturno ograničenje/  
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/  
Limiti di temperatura/  
Temperatūriniai apribojimai/  
Temperatūras ierobežojums/  
Temperaturbepæring/  
Temperaturbegrensninger/  
Temperaturey granične/  
Limite de temperatură/  
Температурный режим/  
Temperaturbegrænsning/  
Teplotné obmedzenie  
Omejitve temperature/  
Temperaturno ograničenje/  
Sıcaklık sınırlaması/

## IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/  
Медицински уред за диагностика  
ин витро/Лéкаřský přístroj pro  
diagnostiku in vitro/Medicinsk udstyr til  
in vitro-diagnostik/In-vitro-Diagnostikum/  
Ιατροτεχνολογικό προϊόν για διάγνωση  
In Vitro/Dispositivo médico para  
diagnóstico in vitro/In vitro diagnostiline  
meditsiiniiseade/Dispositif médical  
de diagnostic in vitro/Diagnostički  
medicinski uređaj In Vitro/In vitro  
orvosdiagnosztikai eszköz/Dispositivo  
medico per test diagnostici in vitro/In  
Vitro Diagnostinė Medicinos Priemonė/  
Medicinska ierice in vitro diagnostikai/  
In vitro-diagnostisch medisch instrument/  
In vitro diagnostisk medisinsk utstyr/  
Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro/  
Dispositivo Médico de Diagnóstico In  
Vitro/Dispozitiv medical pentru diagnostic  
in vitro/Только для диагностики In  
Vitro/Endast för in vitro-diagnostik/  
Zdravotnička pomôcka na diagnostiku in  
vitro/In vitro diagnostični pripomoček/  
Diagnostički medicinski uređaj In  
Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа  
достатъчно количество за тестове  
<96>/Lze použít pro <96> testů/Ineholder  
tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96>  
Prüfungen/Πεξεχόμενο επαρκές για  
«96» εξετάσεις/Contenido suficiente para  
<96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi  
läbiviimiseks/Contenu suffisant pour "96"  
tests/Sadržji dovoljno za <96> testova/A  
doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez  
elegendő/Contenuto sufficiente per "96"  
saggi/Turiny's skirtas atlikti <96> tyrimus/  
Saturis pietiekams <96> testiem/Inhoud  
voldoende voor "96" testen/til "96" test/  
Tilstrækkelig innhold for <96> prøver/  
Wystarczy na wykonanie <96> testów/  
Conteúdo suficiente para "96" ensaios/  
Conținut suficient pentru 96 de teste/  
Содержит достаточные количества для  
«96» определений/Innehåller tillräckligt  
till "96" antal tester/Obsah postačuje na  
tento počet testov: <96>/Vsebinsa zadostuje  
za <96> testov/Sadržina dovoljna za <96>  
testova/<96> testleri için yeterlilik içerir

## REF

Catalogue number/Каталожен номер/  
Katalogové číslo/Katalognummer/  
Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/  
Número de catálogo/Katalogi number/  
Numéro de catalogue/Kataloški broj/  
Katalógusszám/Numero di catalogo/  
Katalogo numeris/Numurs katalogā/  
Catalogusnummer/Katalognummer/  
Numer katalogowy/Número do catálogo/  
Număr de catalog/Номер по каталогу/  
Produktnummer/Katalógové číslo/  
Kataloška številka/Kataloški broj/  
Katalog numarası



Consult Instructions for Use/  
Прочетете инструкцията за  
употреба/Konzultujte s návodem  
k použití/Se brugsanvisning/Siehe  
Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε  
της Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/  
Consulte las instrucciones de uso/  
Vt kasutusjuhendit/Consulter le mode  
d'emploi/Pročítajte upute za uporabu/  
Olvassa el a használati utasítást/  
Consultare le istruzioni per l'uso/Dél  
naudojimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet  
lietošanas instrukciju/Raadpleeg de  
instructies voor gebruik/Les instruksene  
for bruk/Sprawdzić w instrukcji użycia/  
Consulte as Instruções de Utilização/  
Consultați instrucțiunile de utilizare/  
Обратитесь к инструкции по  
применению/Se bruksanvisning/  
Prečítajte si návod na používanie/  
Pročitajte uputstvo za upotrebu/  
Kullanım Talimatlarını Bakınız



Contents of kit/Съдържание на набора/  
Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des  
Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido  
del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du  
kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/  
Contenuto del kit/Rinkinio turinys/  
Komplekta saturs/Inhoud van de set/  
Settets innhold/Zawartość zestawu/  
Conteúdo do kit/Conținutul setului/  
Компоненты набора/Kit innehåll/  
Obsah súpravy/Vsebina kompleta/Sadržaj  
opreme/Kitin içindekiler



Biological risks/Биологическа  
опасност/Biológická rizika/Biologisk  
fare/Biologische Gefahren/Biolóγικoi  
kίνδυνοι/Riesgos biológicos/  
Biolooigilised ohud/Risques biologiques/  
Biolóškli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi  
biologici/Biologinis pavojus/Biológiskais  
risks/Biologische risico's/Biologiske  
risikoer/Zagroženie biologiczne/Riscos  
biológicos/ Biologisk risk/Pericole  
biologice/Биологическая опасность/  
Biologický rizikové/Biológické riziká/  
Biolóškli rizici/Biolojisk risiker



Human/C човешки производ/Lidské/  
Human/Human/δείγματα αναφοράς/  
Humano/Inimāritolu/Humaine/Ljudskog  
porjekla/Humán/Origine Umana/  
Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/  
Human/Menneske/Ludzka/Humano/  
Origine umână/Человеческого  
происхождения/Human/Ludské/  
Humanega izvora/Ljudskog porekla/İnsan



From mouse/C миши производ/Myši/  
Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/  
Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/  
Egérböli/Murino/Pelės kilmės/No peles/  
Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De  
la șoareci/Мышиного происхождения/  
Från mus/Myšije/Mišjega izvora/Mišijeg  
porekla/Fareden



Bovine/C говежди производ/  
Hovēži/Bovin/Rind/από βοοειδή/  
Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/  
Szarvasmarha/Bovina/Jaučio/No  
liellopa/Bovien/Bovina/Wolowy/Bovino/  
Origine bovină/крупного рогатого  
скота/Från ko/Hovädzie/Rogaveja  
izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/  
Rozfeđe pomoći/Rekonstitues med/  
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/  
Reconstituir con/Lahjendamine/  
Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/  
Feloldáshoz/Ricostituire con/LT/Atškaidīt  
ar/Reconstitutie met/Rekonstituerees  
med/Odtworzyć za pomocą/Reconstituir  
com/A se reconstitui cu/Растворить в/  
Rekonstituera med/Rozriedte pomocou/  
Rekonstituiraite z/s/Поновно formiranje  
sa/Yeniden oluşturalur



Manufacturer/Производитель/Výrobce/  
Producent/Hersteller/Κατασκευαστής/  
Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/  
Gyártó/Fabbricante/Gamintojas/  
Ražotājs/Fabrikant/Produsent/  
Producent/Fabricante/Producător/  
Производитель/Тилverkare/ Výrobca/  
Izdevalavec/Proizvođač/Üretici

# EIA CanAg PSA

Instrucciones de uso

Kit de ensayo inmunométrico enzimático  
Para 96 determinaciones

## USO PREVISTO

El kit EIA CanAg PSA está destinado a la determinación cuantitativa de PSA (antígeno prostático específico) total en suero humano.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

El PSA es una glucoproteína serina proteasa monocatenaria de 32 kDa, con especificidad quimotripsinoide, producida por el epitelio secretor de la glándula prostática (1). El PSA se secreta normalmente en el líquido seminal y desempeña un papel funcional en la escisión de las proteínas de las vesículas seminales y la licuefacción del coágulo seminal (2). En el torrente circulatorio se detectan normalmente bajos niveles de PSA; el aumento de dichas concentraciones indica patología prostática, incluyendo hiperplasia prostática benigna y cáncer prostático. Actualmente la determinación del PSA se utiliza ampliamente para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con cáncer prostático y se considera el mejor marcador serológico de este tipo de cáncer (3, 8).

Se ha demostrado que el PSA forma complejos estables con diferentes antiproteasas, y la porción dominante del PSA en el suero de los pacientes aparece en forma de complejo con la  $\alpha_1$ -antiquimotripsina (PSA-ACT) (4). Sin embargo, se han observado grandes variaciones entre el PSA libre y el complejo PSA-ACT entre diferentes individuos. En varios estudios se ha observado que la proporción de PSA libre es superior en la hiperplasia prostática benigna que en el cáncer prostático (5). Los anticuerpos en el EIA CanAg PSA se han evaluado y seleccionado cuidadosamente para obtener la misma respuesta molar para el PSA libre que para el complejo PSA-ACT (7). El EIA CanAg PSA, por tanto, facilita un auténtico valor de PSA "total", independientemente de las variaciones individuales del PSA libre y del complejo PSA-ACT.

## **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

El EIA CanAg PSA es un inmunoensayo en fase sólida no competitivo basado en la técnica de sándwich directa. Los calibradores, los controles y las muestras del paciente se incuban junto con el anticuerpo monoclonal anti-PSA biotinilado y el anticuerpo monoclonal anti-PSA marcado con peroxidasa de rábano (HRP) en microtiras revestidas con estreptavidina. Después del lavado, se añade reactivo tamponado sustrato/cromógeno (peróxido de hidrógeno y 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) a cada pocillo y se deja que se produzca la reacción enzimática. Si hay antígeno, durante la reacción enzimática se desarrollará un color azul. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de PSA presente en las muestras.

Dicha intensidad se determina en un espectrofotómetro de microplacas a 620 nm (o bien a 405 nm tras la adición de solución de parada).

Se construyen curvas de calibración para cada ensayo representando el valor de absorbancia frente a la concentración de cada calibrador. Finalmente, se leen las concentraciones de PSA de las muestras de los pacientes a partir de la curva de calibración.

## **REACTIVOS**

- Cada kit EIA CanAg PSA contiene reactivos para 96 determinaciones.
- La fecha de caducidad del kit viene indicada en la etiqueta de la parte externa de la caja.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de diferentes lotes de kits.
- Conserve el kit a una temperatura de 2 °C a 8 °C. No lo congele.
- La estabilidad de los reactivos abiertos se resume en la tabla siguiente, siempre que no estén contaminados, que se conserven en los recipientes originales nuevamente cerrados y que se manipulen como se indica. Vuelva a dejarlos a una temperatura de 2 °C a 8 °C inmediatamente después de su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

<b>MICROPLA</b>
-----------------

<b>Microplaca</b>	1 placa	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la placa
-------------------	---------	---

12 x 8 pocillos recubiertos con estreptavidina. Después de abrir el envase, devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante. Vuelva a cerrarla cuidadosamente para mantenerlas secas.

<b>Calibradores de PSA</b>	6 viales	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales
----------------------------	----------	---

CAL	PSA	0	0 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	---	--------	-------------

CAL	PSA	1	1 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	---	--------	-------------

CAL	PSA	2	2 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	---	--------	-------------

CAL	PSA	10	10 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	----	---------	-------------

CAL	PSA	30	30 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	----	---------	-------------

CAL	PSA	60	60 µg/L	1 x 0,75 mL
-----	-----	----	---------	-------------

PSA humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl que contiene albúmina sérica bovina, un colorante amarillo inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

<b>Controles de PSA</b>	2 viales	2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales
-------------------------	----------	---

CONTROL	PSA	1	1 x 0,75 mL
---------	-----	---	-------------

CONTROL	PSA	2	1 x 0,75 mL
---------	-----	---	-------------

PSA humano en una solución salina tamponada con Tris-HCl que contiene albúmina sérica bovina y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

BIOTIN	Anti-PSA
--------	----------

<b>Anti-PSA con biotina</b>	1 x 15 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
-----------------------------	-----------	--

Anticuerpo monoclonal anti-PSA de ratón marcado con biotina, aproximadamente 1 µg/mL. Contiene solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2), albúmina sérica bovina, inmunoglobulina bovina, agentes bloqueantes, Tween 20, un colorante azul inerte y metilisotiazolona (MIT) al 0,01% como conservante. Listo para su uso.

CONJ	Anti-PSA
------	----------

<b>Marcador, Anti-PSA con HRP</b>	1 x 0,75 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
-----------------------------------	-------------	--

Solución de reserva de anticuerpo monoclonal anti-PSA de ratón con HRP, aproximadamente 20 µg/mL. Contiene conservantes. Para mezclar con anti-PSA con biotina antes de su uso.

SUBS	TMB
------	-----

<b>Sustrato TMB de HRP</b>	1 x 12 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
----------------------------	-----------	--

Contiene peróxido de hidrógeno tamponado y 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

STOP
------

<b>Solución de parada</b>	1 x 15 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el vial
---------------------------	-----------	--

Contiene ácido clorhídrico 0,12 M. Listo para su uso.

Componente	Cantidad	Conservación y estabilidad después de la primera apertura
------------	----------	---

WASHBUF	25X
---------	-----

<b>Concentrado de lavado</b>	1 x 50 mL	2–8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en el frasco
------------------------------	-----------	--

Solución salina tamponada con Tris-HCl y estabilizada con Tween 20. Contiene Germall II como conservante. Para diluir con agua 25 veces antes de usar.

### Indicaciones de inestabilidad

La solución de sustrato TMB de HRP debe ser incolora o ligeramente azulada. Un color azul indica que el reactivo se ha contaminado y debe desecharse.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### Para uso diagnóstico in vitro.

- Sólo para uso profesional.
- Consulte la publicación número 88-8395 (CDC) del U.S. Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., EEUU) sobre procedimientos de seguridad en el laboratorio, o la correspondiente normativa local o nacional.
- Manipule todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas.
- Siga las directrices locales para la eliminación de todos los materiales de desecho.

#### Advertencia

Los materiales usados en la preparación del reactivo original humano han sido analizados y se ha comprobado que no reaccionan con los anticuerpos anti-VIH-1/2, el anticuerpo anti-VCH y el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). Puesto que ningún método puede descartar completamente la presencia de enfermedades transmitidas por la sangre, la manipulación y la eliminación de los reactivos originales humanos de este producto deben realizarse como si fueran potencialmente infecciosos.

## RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El kit EIA CanAg PSA está diseñado para utilizarse con suero. Recoja la sangre mediante venopunción y separe el suero según los procedimientos habituales. Las muestras se pueden conservar entre 2 °C y 8 °C durante 48 horas. Para periodos más largos, guarde las muestras a -70 °C o menos. Las muestras no se guardarán en un congelador con sistema antiescarcha. Deje que las muestras congeladas se descongelen lentamente, a ser posible entre 2 °C y 8 °C, durante una noche, y lleve las muestras a temperatura ambiente antes del análisis.

Pueden esperarse niveles altos de PSA después de la manipulación prostática. Por tanto, se recomienda que la sangre se extraiga antes del tacto rectal. Después de la manipulación quirúrgica de la próstata, como la biopsia con aguja o la resección transuretral, se recomienda esperar  $\geq 6$  semanas antes de la extracción de sangre para la determinación del PSA (8). Cabe tener en cuenta que se ha demostrado que el tratamiento con finasterida de la HPB reduce los niveles de PSA libre (8).

## PROCEDIMIENTO

---

### Materiales necesarios pero no suministrados con el kit

---

#### 1. Agitador de microplacas

La agitación debe ser entre moderada y vigorosa. Agitación longitudinal de aproximadamente 200 golpes/min; 700-900 oscilaciones/min.

#### 2. Lavador de microplacas

El lavador automático de placas debe ser capaz de realizar 1 y 6 ciclos de lavado con un volumen de llenado mínimo de 350  $\mu$ L por pocillo y ciclo de lavado.

Se recomienda el lavador manual de tiras Nunc Immuno-8, si no se utiliza un lavador automático de microplacas.

#### 3. Espectrofotómetro de microplacas

Con una longitud de onda de 620 nm y/o 405 nm y un rango de absorbancia de 0 a 3,0.

#### 4. Pipetas de precisión

Con puntas de plástico desechables para administrar volúmenes de microlitros y mililitros.

Una pipeta de 8 canales o una pipeta dispensadora con puntas de plástico desechables para la administración de 100  $\mu$ L son útiles, pero no esenciales.

#### 5. Agua destilada o desionizada

Para la preparación de la solución de lavado.

---

## Notas del procedimiento

---

1. Es necesaria la total comprensión de las instrucciones que figuran en este prospecto para garantizar un uso adecuado del kit EIA CanAg PSA. Los reactivos suministrados con el kit están pensados para su uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote diferentes. No use los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la parte exterior de la caja.
2. Debe dejarse que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso. El ensayo sólo debe realizarse a temperaturas de entre 20 °C y 25 °C para obtener resultados exactos. Las muestras congeladas deben llevarse a temperatura ambiente lentamente y deben mezclarse suave pero concienzudamente después de la descongelación.
3. Antes de comenzar a pipetear los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes, es aconsejable marcar las tiras para poder identificar claramente las muestras durante y después del ensayo.
4. El requisito de un lavado eficaz y profundo para la separación del antígeno unido y no unido y los reactivos de los complejos anticuerpo-antígeno unidos a la fase sólida es uno de los pasos más importantes en un EIA. A fin de garantizar un lavado eficaz, compruebe que todos los pocillos estén totalmente llenos con solución de lavado hasta el borde superior durante cada ciclo de lavado, que la solución de lavado se administre con una velocidad de dispensación adecuada, que la aspiración de los pocillos entre y después de los ciclos de lavado sea completa y que los pocillos estén vacíos. Si queda líquido en los pocillos, invierta la placa y déle golpes suaves contra papel absorbente.
  - Lavador automático de tiras: Siga las instrucciones del fabricante para efectuar una limpieza y un mantenimiento apropiados y realice el número necesario de ciclos de lavado antes y después de cada paso de la incubación. Es muy recomendable utilizar el modo de procesamiento *strip* (tira) y el modo de lavado *overflow* (desbordamiento) con un volumen de dispensación de 800 µL. El dispositivo de aspiración/lavado no debe dejarse de pie con la solución de lavado durante períodos prolongados, ya que las agujas podrían obstruirse, lo que provocaría una mala dispensación y aspiración del líquido.
5. 

CAL	PSA	1
-----	-----	---

 se utilizará cuando se desee una determinación ultrasensible. Consulte la opción 2 en la página 16 para instrucciones completas.
6. La solución de sustrato TMB de HRP es muy sensible a la contaminación. Para una estabilidad óptima de la solución de sustrato TMB de HRP, vierta la cantidad necesaria del vial en un reservorio limpiado cuidadosamente o, mejor, a en bandeja de plástico desechable, para evitar la contaminación del reactivo. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias (o puntas de pipeta dispensadora).
7. Utilice siempre puntas de pipeta de plástico desechables limpias, así como una técnica de pipeteado preciso adecuada al manipular muestras y reactivos. Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido. Usar una técnica de pipeteado adecuada es especialmente importante al manipular la solución de sustrato TMB de HRP.

---

**Preparación de los reactivos**

---

**Estabilidad del reactivo preparado**

---

**Solución de lavado**

2 semanas a 2-25 °C  
en un recipiente cerrado

Vierta los 50 mL del concentrado de lavado en un recipiente limpio y diluya 25 veces añadiendo 1.200 mL de agua destilada o desionizada para conseguir una solución de lavado tamponada.

---

**Solución de anticuerpo**

3 semanas a 2-8 °C

Prepare la cantidad necesaria de solución de anticuerpo mezclando 50 µL de marcador, anti-PSA con HRP, con 1 mL de anti-PSA con biotina por tira (véase la tabla siguiente y la hoja de protocolo).

---

**Número de tiras****Marcador, Anti-PSA  
con HRP (µL)****Anti-PSA con  
biotina (mL)**

---

1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

---

Asegúrese de usar un frasco limpio de plástico o vidrio para preparar la solución de anticuerpo.

**Alternativa:** vierta el contenido del marcador, anti-PSA con HRP, en el vial de Anti-PSA con biotina y mezcle suavemente. Compruebe que todo el marcador se transfiera al vial de anti-PSA con biotina.

**Nota:** la solución de anticuerpo es estable durante 3 semanas a temperatura de 2 °C a 8 °C. No prepare más solución de anticuerpos que la que se usará en este período y compruebe que se conserva adecuadamente.

# Hoja de protocolo

**EIA CanAg PSA** REF **340-10**

Prepare los componentes directamente antes de utilizarlos. Use las condiciones de agitación indicadas en las instrucciones.

<b>Paso</b>	<b>Procedimiento</b>																																				
1. Prepare la solución de lavado	Diluya 50 mL de concentrado de lavado con 1.200 mL de agua destilada o desionizada.																																				
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">WASHBUF</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">25X</span>																																				
Prepare la solución de anticuerpos	Mezcle 50 µL de marcador, anti-PCA con HRP, con 1 mL de anti-PSA con biotina por tira:																																				
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">CONJ</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Anti-PSA</span>																																				
	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">BIOTIN</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Anti-PSA</span>																																				
	<table border="1"><thead><tr><th>Número de tiras</th><th>Marcador, Anti-PSA con HRP (µL)</th><th>Anti-PSA con biotina (mL)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>50</td><td>1</td></tr><tr><td>2</td><td>100</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>150</td><td>3</td></tr><tr><td>4</td><td>200</td><td>4</td></tr><tr><td>5</td><td>250</td><td>5</td></tr><tr><td>6</td><td>300</td><td>6</td></tr><tr><td>7</td><td>350</td><td>7</td></tr><tr><td>8</td><td>400</td><td>8</td></tr><tr><td>9</td><td>450</td><td>9</td></tr><tr><td>10</td><td>500</td><td>10</td></tr><tr><td>11</td><td>550</td><td>11</td></tr></tbody></table>	Número de tiras	Marcador, Anti-PSA con HRP (µL)	Anti-PSA con biotina (mL)	1	50	1	2	100	2	3	150	3	4	200	4	5	250	5	6	300	6	7	350	7	8	400	8	9	450	9	10	500	10	11	550	11
Número de tiras	Marcador, Anti-PSA con HRP (µL)	Anti-PSA con biotina (mL)																																			
1	50	1																																			
2	100	2																																			
3	150	3																																			
4	200	4																																			
5	250	5																																			
6	300	6																																			
7	350	7																																			
8	400	8																																			
9	450	9																																			
10	500	10																																			
11	550	11																																			



## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Realice cada determinación por duplicado para los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes. Debe elaborarse una curva de calibración con cada ensayo. Todos los reactivos y muestras deben llevarse a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes de su uso.

1. Para empezar, prepare la solución de lavado y la solución de trabajo del marcador. Es importante usar recipientes limpios. Siga las instrucciones cuidadosamente.
2. Transfiera el número necesario de tiras de microplacas a un soporte de tiras. (Devuelva inmediatamente las tiras no utilizadas a la bolsa de aluminio con desecante y vuelva a cerrarla cuidadosamente.) Lave cada tira una vez con la solución de lavado. No lave más tiras de las que puedan manejarse en 30 minutos.
3. Pipetee 25 µL de los calibradores de PSA (CAL 0, 2, 10, 30, 60), los controles (C) y las muestras de los pacientes (desconocidos o "desc.") en los pocillos de tiras de acuerdo con el esquema siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7 etc.
A	CAL 0	CAL 60	Desc. 2				
B	CAL 0	CAL 60	etc.				
C	CAL 2	C 1					
D	CAL 2	C 1					
E	CAL 10	C 2					
F	CAL 10	C 2					
G	CAL 30	Desc. 1					
H	CAL 30	Desc. 1					

4. Añada 100 µL de solución de anticuerpo a cada pocillo, usando una pipeta de precisión de 100 µL (o una pipeta de precisión de 100 µL de 8 canales). Evite la contaminación sujetando la punta de la pipeta ligeramente por encima de la parte superior del pocillo y evitando tocar la tira de plástico o la superficie del líquido.
5. Incube el marco con las tiras durante 1 hora ( $\pm$  10 min) a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C), con agitación constante de la placa usando un agitador de microplacas.
6. Lave cada tira 6 veces, usando el procedimiento de lavado descrito en las Notas del procedimiento, punto 4.

7. Añada 100 µL de sustrato TMB de HRP a cada pocillo usando el mismo procedimiento de pipeteado que en el punto 4. La solución de sustrato TMB de HRP debe añadirse a los pocillos con la mayor rapidez posible y el tiempo entre la adición al primer pocillo y al último no debe superar los 5 minutos.
8. Incube durante 30 min ( $\pm$  5 min) a temperatura ambiente, agitando constantemente. Evite la luz directa del sol.
9. Lea inmediatamente la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro de microplacas.

### Opción 1

Si el laboratorio no tiene acceso a un espectrofotómetro de microplacas capaz de leer a 620 nm, la absorbancia puede determinarse como sigue:

Añada 100 µL de solución de parada. Mezcle y lea la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro de microplacas dentro de los 15 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

### Opción 2

Para la determinación ultrasensible del PSA en el rango bajo (0-10 µg/L),

CAL	PSA	1
-----	-----	---

 (1 µg/L) se incluirá en la curva de calibración. Por tanto, es necesario excluir los dos calibradores superiores (30 y 60 µg/L). Las absorbancias se determinarán de acuerdo con la Opción 1, pero con la lectura a 450 nm.

### Rango de medición

El kit EIA CanAg PSA mide concentraciones entre 0,1 y 60 µg/L. Si se esperan concentraciones de PSA por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con suero humano normal antes del análisis. **NOTA:** el suero empleado para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de PSA endógeno (véase "Cálculo de los resultados").

### Control de calidad

Los controles 1 y 2 de PSA deben utilizarse para la validación de cada serie de ensayos. Los rangos de los resultados esperados están indicados en las etiquetas de los viales. Si se obtienen valores fuera del rango especificado, deberán revisarse completamente los reactivos y el funcionamiento del lector y repetirse el análisis. Cada laboratorio puede asimismo preparar sus propios grupos de suero con diferentes niveles, que pueden utilizarse como controles internos para garantizar la precisión del ensayo.

### Material de referencia

Puede emplearse como estándar de referencia el 1<sup>st</sup> International Standard 96/670. Los valores de los calibradores y controles de PSA se asignaron de acuerdo con una serie de estándares de referencia internos cuyos valores son trazables hasta el 1<sup>st</sup> International Standard.

## CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Si se usa un lector de espectrofotómetro de microplacas con programa de cálculo incorporado, consulte el manual del lector de placas y cree un programa usando la concentración indicada en las etiquetas de cada uno de los calibradores de PSA.

Para el cálculo automático de los resultados de PSA, se recomienda usar cualquiera de los métodos siguientes:

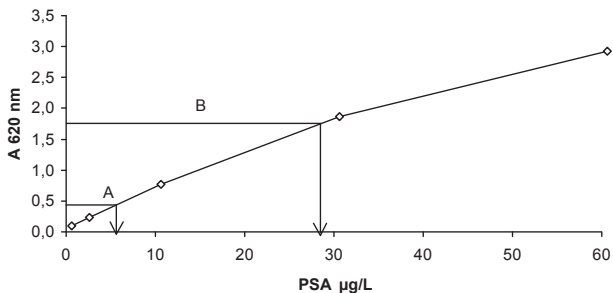
- Método de ajuste de la curva spline cúbica. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0  $\mu\text{g/L}$ .
- Método de ajuste de la curva spline suavizada. El calibrador 0 debe usarse como blanco de la placa.
- Interpolación con evaluación punto a punto. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0  $\mu\text{g/L}$ .
- Método de ajuste de la curva cuadrática. El calibrador 0 debe estar incluido en la curva con el valor 0  $\mu\text{g/L}$ .

**Nota:** no debe usarse una regresión lineal o paramétrica de grado 4.

Para la evaluación manual, se construye una curva de calibración representando los valores de absorbancia (A) para cada calibrador de PSA frente a la concentración de PSA correspondiente (en  $\mu\text{g/L}$ ) (véase la figura más abajo). Las concentraciones de PSA desconocidas pueden leerse después a partir de la curva de calibración usando el valor de absorbancia medio de cada muestra de paciente.

### Ejemplo de resultados

Muestra	Valores del calibrador	Valor de la abs. media (A)	PSA ( $\mu\text{g/L}$ )
CAL PSA 0	0 $\mu\text{g/L}$	0,036	
CAL PSA 2	2 $\mu\text{g/L}$	0,174	
CAL PSA 10	10 $\mu\text{g/L}$	0,705	
CAL PSA 30	30 $\mu\text{g/L}$	1,807	
CAL PSA 60	60 $\mu\text{g/L}$	2,864	
Muestra A		0,453	6,1
Muestra B		1,739	28,6



**Ejemplo (no use esta curva o la tabla anterior para determinar los resultados reales del ensayo).**

### Cálculo de resultados con muestras diluidas

Si las muestras en un análisis inicial dan valores de PSA superiores a 60 µg/L, deben diluirse 1/10 con suero humano normal y reanalizarse para obtener la concentración exacta de PSA. **NOTA:** la muestra empleada para la dilución debe medirse también para determinar la concentración de PSA endógeno.

La concentración de PSA de la muestra no diluida se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Dilución a 1/10: } 10 \times ([\text{PSA}]_{\text{Muestra diluida}} - (0,9 \times [\text{PSA}]_{\text{Suero masculino normal}}))$$

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No deberá utilizarse únicamente el nivel de PSA como signo de la presencia o ausencia de enfermedad maligna. Los resultados de la prueba sólo deben interpretarse junto con los resultados de otras investigaciones y procedimientos en el diagnóstico de las enfermedades y la asistencia a los pacientes. La prueba de PSA no debe sustituir a ninguna exploración clínica establecida.

Los calibradores del kit EIA CanAg PSA no deben emplearse en estudios de recuperación de PSA. Para los estudios de recuperación se recomienda utilizar una muestra de paciente muy elevada.

Los anticuerpos anti-reactivo (anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) o anticuerpos heterófilos) en la muestra del paciente pueden interferir ocasionalmente con el ensayo, aunque se incluyan agentes bloqueantes específicos en el tampón.

## VALORES ESPERADOS

Se espera que los varones sanos presenten valores de PSA inferiores a 4 µg/L. Sin embargo, puesto que los niveles de PSA aumentan con la edad, se ha indicado el uso de rangos de referencia específicos por edad para aumentar la sensibilidad en varones jóvenes y aumentar la especificidad en varones de más edad (6, 8). Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal para tener en cuenta factores ambientales locales, como la dieta, el clima, las condiciones de vida, la selección de pacientes, etc.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

### Precisión

La precisión total se calculó según la directriz EP5-A (9) del NCCLS usando 4 niveles de suero humano agrupado congelado que contenía antígeno PSA humano añadido y 6 combinaciones de reactivos diferentes del kit EIA CanAg PSA. Cada muestra se pipeteó aleatoriamente ( $n = 2/\text{análisis}$ ) y se analizó dos veces cada día durante 20 días.

Muestra	Duplicados	Media (µg/L)	Intraensayo DE (µg/L)	Intraensayo CV (%)	Interdía DE (µg/L)	Interdía CV %
PSA 1	80	1,42	0,04	2,7	0,03	2,2
PSA 2	80	5,92	0,13	2,2	0,06	1,0
PSA 3	80	14,2	0,35	2,5	0,12	0,8
PSA 4	80	39,2	0,60	1,5	0,60	1,5

### Límite de detección

El límite de detección del kit EIA CanAg PSA es  $< 0,1 \mu\text{g/L}$ , definido como la concentración correspondiente a la media de los valores de absorbancia del calibrador 0 de PSA más 2 desviaciones estándar, según la fórmula:

$$\frac{2 \times \text{DE CAL } 0}{\text{DO CAL } 2 - \text{DO CAL } 0} \times 2 \mu\text{g/L}$$

### Recuperación

Se prepararon muestras de suero enriquecidas añadiendo alícuotas de muestras con PSA alto a muestras de suero normales de varón. La recuperación del antígeno estuvo en  $\pm$  el 10% de los valores esperados. **Nota:** no se realizaron estudios de recuperación con los calibradores del kit.

## Efecto de gancho

No se ha observado efecto de gancho con muestras de hasta 23.000 µg/L.

**Nota:** en muestras muy altas, el color del sustrato cambiará de azul a verdoso (y finalmente a amarillo en muestras extremadamente altas). Esto conducirá a una absorbancia falsamente baja a 620 nm y, en casos extremos, la absorbancia puede caer dentro del rango de la curva de calibración y observarse como un gancho.

## Linealidad

Se diluyeron de forma seriada las muestras de los pacientes con suero humano normal de varones y se analizaron. Los valores obtenidos estuvieron en + el 10% de los valores esperados.

## Especificidad

El EIA CanAg PSA se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, PSA10 y PSA66, dirigidos contra dos epitopos distintos expuestos en el complejo PSA-ACT y en el PSA libre. Esta combinación de anticuerpos confiere una respuesta equimolar para el PSA libre y el complejo PSA-ACT(7). Se siguió la directriz EP7-P (10) del NCCLS para determinar posibles fuentes de interferencia. Se estudiaron las siguientes sustancias y concentraciones y se observó que no interfieren con la prueba.

	Concentración sin interferencia significativa (± 10%)
Lipemia (Intralipid®)	10 mg/mL
Bilirrubina no conjugada	0,6 mg/mL
Hemoglobina	5 mg/mL

## Comparación de métodos

El EIA CanAg PSA (n.º prod. 340-10) se comparó con el EIA CanAg PSA de dos etapas (300-10). Se determinaron 308 muestras de suero de varones con valores que oscilaron entre 0 y 53 µg/L y los análisis de regresión lineal de los resultados dieron:

$$[\text{PSA}]_{\text{N.º prod. 340-10}} = 0,92 \times [\text{PSA}]_{\text{N.º prod. 300-10}} - 0,036 \quad r = 1,00$$

## **GARANTÍA**

Los datos de rendimiento aquí presentados se obtuvieron usando el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación del procedimiento no recomendado por Fujirebio Diagnostics puede afectar a los resultados, en cuyo caso Fujirebio Diagnostics rechaza todas las garantías expresas, implícitas u obligatorias, incluida la garantía implícita de comerciabilidad e idoneidad para el uso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17: 159–163.
2. Lilja H. (1985). A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest* 76: 1899–1903.
3. Oesterling JE (1991). Prostate specific antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urology* 145: 907–923.
4. Lilja H., Christensson A., Dahlén U., Matikainen M-T, Nilsson O., Pettersson K., Lövgren T. (1991). Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with  $\alpha_1$ -antichymotrypsin. *Clin Chem* 37: 1618–1625.
5. Christensson A., Björk T., Nilsson O., Dahlén U., Matikainen M-T., Cockett ATK, Abrahamsson PA, Lilja H. (1993). Serum prostate specific antigen complexed to  $\alpha_1$ -antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urology* 150: 100–105.
6. Oesterling JE., Cooner WH., Jacobsen SJ., Guess HA., Lieber MM. (1993). The influence of patient age on the serum prostate specific antigen concentration: An important clinical observation. *Urol Clin North Am* 20: 671–80, 1993a.
7. Nilsson O., Peter A. Andersson I., Nilsson K., Grundström B., and Karlsson B. (1997) Antigenic determinants of prostatespecific antigen (PSA) and development of assays specific for different forms of PSA. *Br J Cancer* 75(6): 789–797.
8. P Price C., Allard J., Davies G., Dawney A., J Duffy M., France M., Mandarino G., Milford Ward A., Patel B., Sibley P. and Sturgeon C. (2001) Pre-and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer. *Ann Clin Biochem* 38: 188–216.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).







---

CanAg<sup>®</sup> es una marca registrada de Fujirebio Diagnostics AB

**Fujirebio Diagnostics AB**

Elof Lindälv's gata 13

SE-414 55 Gotemburgo

Suecia

Teléfono + 46 31 85 70 30

Fax + 46 31 85 70 40

[info@fdab.com](mailto:info@fdab.com)

[www.fdab.com](http://www.fdab.com)

