

FPSA

Free Prostate Specific Antigen (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de antígeno prostático específico libre (PSA libre o FPSA) en suero

Significación clínica

El cáncer de próstata es el cáncer más común en el hombre. La detección precoz es muy importante para el tratamiento médico de pacientes con cáncer de próstata.

El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína de cadena única producida en el epitelio glandular de la próstata. Se secreta en el líquido seminal en alta concentración. El PSA es una serina proteasa con actividad similar a la quimotripsina. La función principal del PSA es la escisión proteolítica de las proteínas formadoras de gel I y II en el líquido seminal, lo que resulta en la licuefacción del gel seminal y una mayor movilidad de los espermatozoides.

Normalmente, la concentración de PSA en el líquido espermático es elevada, pero su concentración en suero es muy baja. Niveles elevados de PSA en suero están asociados con una condición patológica de la próstata (prostatitis, hiperplasia benigna de próstata o carcinoma prostática).

El PSA existe en tres formas principales en sangre: PSA libre, complejo de PSA con inhibidor de serina proteasa, alfa-1-antiquimotripsina (PSA-ACT), y complejo de PSA con alfa-2-macroglobulina que no posee reacción inmune. Sólo el PSA libre y el PSA-ACT se pueden detectar en el presente inmunoensayo y se definen conjuntamente como PSA total. Normalmente, cuanto menor sea la proporción de PSA libre/PSA total en suero, mayor será la probabilidad de enfermedad prostática en el hombre.

Fundamentos del método

Free Prostate Specific Antigen (CLIA) es un ensayo sandwich para la determinación cuantitativa de PSA libre en suero.

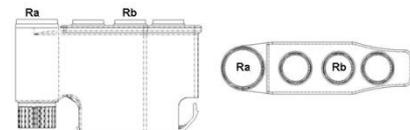
En el primer paso se agregan a una cubeta de reacción: muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-PSA libre y conjugado anti-PSA-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, el complejo sandwich formado ante la presencia de PSA libre es capturado magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante sucesivos lavados.

En el segundo paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción. La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de PSA libre presente en la muestra es directamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de PSA libre se determina mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo monoclonal anti-PSA libre en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de anticuerpo monoclonal anti-PSA y fosfatasa alcalina en buffer PBS.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- Free PSA Calibrators
- Tumor Marker Multi Control (L)
- Tumor Marker Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero

- a) **Recolección:** obtener suero de la manera habitual.
- b) **Aditivos:** no se requieren.
- c) Centrifugar las muestras y separar el suero antes de las dos horas.
- d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 10 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Free Prostate Specific Antigen (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de antígeno prostático específico libre (código NIBSC: 96/668).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de FPSA. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Tumor Marker Multi Control (L) y **Tumor Marker Multi Control (H)** de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en ng/mL.

Factor de conversión: ng/mL x 1 = µg/L

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 304 hombres sanos se obtuvo el siguiente intervalo de referencia:

Categoría	N	Percentilo 97,5%
Hombre	304	< 1,0 ng/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 30 ng/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de PSA libre inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >30 ng/mL.

La concentración de PSA libre en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) **Sensibilidad analítica:** ≤0,01 ng/mL.

b) **Rango de medición:** 0,01 - 30 ng/mL.

c) **Especificidad:**

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 20 mg/dL, triglicéridos hasta 1500 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta 400 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 2000 UI/L.

- Se llevaron a cabo pruebas de interferencia con fármacos utilizados habitualmente. Estos compuestos mostraron una interferencia inferior al 10% en el ensayo de FPSA con los niveles indicados a continuación.

Compuesto	Concentración
Acetato de leuporelina	100 µg/mL
Ciclofosfamida	700 µg/mL
Finasterida	370 ng/mL
Megestrol	2,4 mg/dL
Metopterina	30 µg/mL
Flutamida	10 µg/mL
Clorhidrato de doxorubicina	16 µg/mL
Aspirina	0,5 mg/mL
Biotina	50 ng/mL

Estrógenos dietílicos	2 µg/mL
-----------------------	---------

- El calibrador C0 de **Free PSA Calibrators** de Wiener lab. se complementó con otros marcadores tumorales indicados en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente, dado que todos los resultados fueron $\leq 0,5$ ng/mL

Marcador tumoral	Concentración	FPSA obtenida (ng/mL)	Criterio de aceptación
AFP	1000 ng/mL	0,00	FPSA obtenida $\leq 0,5$ ng/mL
CA 125	1000 UI/mL	0,00	
CA 15-3	100 UI/mL	0,01	
CA 19-9	1000 UI/mL	0,00	
CEA	1000 ng/mL	0,01	
FERR	1000 ng/mL	0,01	

d) Efecto prozona: no se observó efecto prozona hasta 30.000 ng/mL de FPSA.

e) Exactitud:

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de antígeno prostático específico libre (código NIBSC: 96/668) con un valor definido y trazable para verificar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	FPSA medida (ng/mL)	FPSA definida (ng/mL)	Desvío relativo
PSA libre de la OMS	10,37	10,12	2,50%

f) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (ng/mL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	0,93	3,99%	2,89%	8,61%
2	11,46	1,28%	2,45%	5,53%

g) Linealidad: la reacción es lineal entre 0,01 y 20 ng/mL

h) Correlación:

El kit **Free Prostate Specific Antigen (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 1182 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,01-30	0,715	0,174	0,9950

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód 1001189)
- 2 x 100 tests (cód. 1001086)

Referencias

- Henttu P, Vihko P. Prostate-specific Antigen and Human Glandular Kallikrein: Two Kallikreins of the Human Prostate. *Ann Med*, 1994, 26(3):157-164.

- Prestigiacomo AF, Stamey TA. Clinical usefulness of free and complexed PSA. *Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 221: 32-34.

- Christensson A, Laurell CB, Lilja H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine protease inhibitors. *Eur J Biochem*, 1990, 194(3): 755-763.

- Armbruster DA. Prostate Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods and Clinical Application. *Clin Chem*, 1993, 39(2):181-195.

- McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: A new era. *Urology*, 1995, 45(5): 729-744.

- Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate specific antigen in serum: differences in immunorecognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem*, 1993, 39(12):2483-2491.

- Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UH. Purification and Characterization of Different Molecular Forms of Prostate-Specific Antigen in Human Seminal Fluid. *Clin Chem*, 1995, 41(11):1567-1573.

- Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen M-T, Nilsson O, Petterson K, et al. Prostate Specific Antigen in Human Serum occurs predominantly in Complex with Alpha-1-Antichymotrypsin. *Clin Chem*, 1991, 37(9):1618-1625.

SÍMBOLOS

Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Elaborado por

Uso diagnóstico "in vitro"

Consultar instrucciones de uso

Este lado arriba

Límite de temperatura (conservar a)

Número de lote

Fecha de caducidad

Número de catálogo

Riesgo biológico

Contenido

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
Cert. N°
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica

Free PSA Calibrators

APLICACIONES

El kit **Free PSA Calibrators** de Wiener lab. está diseñado para ser usado en la calibración de **Free Prostate Specific Antigen (CLIA)** de Wiener lab.

Los valores de los calibradores son específicos de cada lote y se relacionan con los valores contenidos en el código bidimensional provisto.

REACTIVOS PROVISTOS

C0: albúmina sérica bovina (BSA) en buffer.

C1, C2: PSA libre sintética en BSA en dos niveles de concentración (~2 y ~15 ng/mL).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Free PSA Calibrators: listos para usar.

Retirar el vial del refrigerador y dejarlo reposar durante, al menos, 30 minutos hasta que alcance temperatura ambiente.

Mezcle el contenido invirtiendo suavemente el vial no menos de 10 veces antes de su uso. Evitar la formación de burbujas.

PRECAUCIONES

El reactivo es para uso "in vitro".

No mezclar calibradores de diferentes lotes.

El Calibrador ha sido preparado a partir de material no reactivo para HIV, HCV y HBsAg. Sin embargo debe manipularse como si se tratara de material infectivo.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Si hubiera algún indicio de contaminación microbiana o una turbidez excesiva en el producto, desechar el vial.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa legal vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO.

Free PSA Calibrators: estables en

refrigerador (2-8°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en el envase, protegidos de la luz.

Una vez abiertos son estables 30 días en refrigerador (2-8°C) o 90 días en congelador (-20°C).

CALIBRACION

El kit **Free Prostate Specific Antigen (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de antígeno prostático específico libre 96/668.

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de PSA libre. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

TRAZABILIDAD

El kit **Free Prostate Specific Antigen (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de de antígeno prostático específico libre 96/668.

PRESENTACION

3 x 2 mL (Cód. 1001087):

C0: 1x2,0 mL

C1: 1x2,0 mL

C2: 1x2,0 mL

BIBLIOGRAFIA

- HHS Publication, 5th ed., December 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.

- EN ISO 17511:2003. In vitro diagnostic medical devices - Measurement of quantities in biological samples - Metrological

traceability of values assigned to calibrators and control materials

Dir. Téc.: Viviana E. Cétola Bioquímica

SÍMBOLOS

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Elaborado por

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Consultar instrucciones de uso

 Este lado arriba

 Límite de temperatura (conservar a)

 Número de lote

 Fecha de caducidad

 Número de catálogo

 Riesgo biológico

 Contenido

 SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
Cert. Nº
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica