

PSAT

Antígeno Prostático Específico PSA Total (libre + complejo). (Elisa)

Nota:

El valor de PSAT medido de la muestra de un paciente puede variar según el procedimiento de prueba utilizado. Por lo tanto, el resultado del laboratorio siempre debe contener una declaración sobre el método de ensayo de PSAT utilizado. Los valores de PSAT determinados en muestras de pacientes mediante diferentes procedimientos de prueba no pueden compararse directamente entre sí y podrían ser la causa de interpretaciones médicas erróneas. Si hay un cambio en el procedimiento de ensayo de PSAT utilizado durante el seguimiento de la terapia, los valores de PSAT obtenidos al cambiar al nuevo procedimiento deben confirmarse mediante mediciones paralelas con ambos métodos.

Uso Previsto:

El ensayo de PSA total es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la determinación cuantitativa in vitro del antígeno prostático específico total (libre+complejo) en suero humano.

Resumen:

El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína (peso molecular 30000-34000 daltons) que tiene una estrecha relación estructural con las calicreínas glandulares. Tiene la función de una serina proteinasa.¹

La actividad proteolítica del PSA en sangre es inhibida por la formación irreversible de complejos con inhibidores de la proteasa tales como alfa-1-antiquimotripsina, alfa-2-macroglobulina y otras proteínas de fase aguda.² Además de estos complejos, alrededor del 30 % del PSA presente en la sangre se presenta en forma libre, pero es proteolíticamente inactiva.^{3,4,5}

Las concentraciones elevadas de PSA en suero generalmente son indicativas de una condición patológica de la próstata (prostatitis, hiperplasia benigna o carcinoma).^{6,7}

Como el PSA también está presente en las glándulas parauretrales y anales, así como en el tejido mamario o con cáncer de mama, también se pueden detectar niveles bajos de PSA en el suero de las mujeres. El PSA aún puede ser detectable incluso después de una prostatectomía radical.

Las principales áreas en las que se emplean las determinaciones de PSA son la monitorización del progreso y la eficacia de la terapia en pacientes con carcinoma de próstata o que reciben terapia hormonal.

La pendiente de la tasa de caída del PSA hasta niveles que ya no son detectables después de la radioterapia, la terapia hormonal o la extirpación quirúrgica radical de la próstata proporciona información sobre el éxito de la terapia.⁸

Una inflamación o un traumatismo de la próstata (p. ej., en casos de retención urinaria o después de un examen rectal, cistoscopia, coloscopia, biopsia transuretral, tratamiento con láser o ergometría) puede provocar elevaciones del PSA de diversa duración y magnitud.

Los dos anticuerpos monoclonales utilizados en el ensayo de PSA total de Elecsys reconocen el PSA y el PSA-ACT de forma equimolar en el rango de 10-50 % de PSA libre/PSA total, que son las proporciones de PSA libre observadas en la práctica clínica. (9)

Principio de Prueba:

Duración total de prueba: 80 minutos.

- Se combinan la muestra, los micropocillos recubiertos con anticuerpo específico de PSA y el anticuerpo específico de PSA monoclonal marcado con enzima.
- Durante la incubación, se permite que el PSA presente en la muestra reaccione simultáneamente con los dos anticuerpos, lo que da como resultado que las moléculas de PSA queden intercaladas entre la fase sólida y los anticuerpos ligados a enzimas.
- Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida, el PSA dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas.
- Luego se agrega la solución de sustrato y este complejo la cataliza, lo que da como resultado una reacción cromogénica. La reacción cromogénica resultante se mide como absorbancia.
- La absorbancia es proporcional a la cantidad de PSA en la muestra.

Materiales Proporcionados:

- Microplaca recubierta, 8 x 12 tiras, 96 pocillos, recubierta previamente con anticuerpo monoclonal específico de PSA de ratón.
- Calibradores, 6 viales, 1 mL cada uno, listos para usar; con concentraciones indicadas en cada envase.
- Conjugado enzimático, 1 vial, 11 ml de anticuerpo monoclonal específico de PSA de ratón marcado con HRP (peroxidasa de rábano picante) en tampón Tris-NaCl que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene 0,1% de conservante ProClin300.
- Sustrato, 1 vial, 11 mL, listo para usar, (tetrametilbencidina) TMB.
- Solución de parada, 1 vial, 6,0 mL de ácido sulfúrico 1 mol/L.
- Concentrado de solución de lavado, 1 vial, 25 ml (concentrado 40X), Solución de lavado PBS-Tween.
- Inserto: 1 copia.
- Tapa Placa: 1 pieza.

Materiales Requeridos (Pero no provistos):

- Lector de microplacas con capacidad de absorción de longitudes de onda de 450 nm y 620 nm.
- Lavador de microplacas.
- Incubadora.
- Sacudidor de platos.
- Micropipetas y micropipetas multicanal de 50 µl con una precisión superior al 1,5 %.
- Papel absorbente.
- Agua destilada.

Precauciones y Advertencias:

- Sólo para uso diagnóstico in vitro.
- Tome las precauciones normales requeridas para el manejo de todos los reactivos de laboratorio.
- La eliminación de todos los materiales de desecho debe realizarse de acuerdo con las pautas locales.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Todos los desechos de muestras y reacciones deben considerarse potencialmente biopeligrosos. La manipulación de las muestras y los residuos de la reacción debe realizarse de acuerdo con las normativas y directrices locales.
- La solución de parada contiene ácido sulfúrico, que puede causar quemaduras graves. En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdate a un médico.
- Los ácidos neutralizados y otros desechos líquidos deben descontaminarse agregando un volumen suficiente de hipoclorito de sodio para obtener una concentración final de al menos

1,0%. Puede ser necesaria la exposición a hipoclorito de sodio al 1,0 % durante 30 minutos para garantizar una descontaminación eficaz.

- Algunos reactivos contienen 0,05 % o 0,1 % de ProClin 300 que puede causar sensibilización por contacto con la piel, por lo que debe evitarse. Los reactivos y sus recipientes deben desecharse de forma segura. En caso de ingestión, acúdate inmediatamente al médico y muéstrale la etiqueta o el envase.
- El sustrato tiene un efecto irritante sobre la piel y las mucosas. En caso de posible contacto, lavar los ojos con abundante agua y la piel con jabón y abundante agua. Lave los objetos contaminados antes de reutilizarlos. Si es inhalado, lleve a la persona al aire libre.
- Para obtener información sobre las sustancias peligrosas incluidas en el kit, consulte la Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS), que está disponible a pedido.
- No fume, beba, coma ni se aplique cosméticos en el área de trabajo.
- No pipeteo con la boca. Use ropa protectora, guantes desechables y protección para los ojos y la cara al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos después de su uso.
- Si alguno de los reactivos entra en contacto con la piel o los ojos, lavar abundantemente la zona con agua.

Almacenamiento y Estabilidad:

- Almacenar a 2-8°C.
- Selle y devuelva los reactivos no utilizados a 2-8°C en cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 2 meses o hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, lo que ocurra primero.

Recolección y Preparación de Muestras:

- Se recomienda suero humano para este ensayo.
- Tapar y almacenar las muestras a 18-25°C por no más de 8 horas. Estable durante 7 días a 2-8°C y 1 mes a -20°C. Congelar una sola vez.
- No utilice muestras inactivadas por calor.
- Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, por lo que se deben eliminar mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya formado completamente el coágulo en las muestras de suero antes de la centrifugación.
- Evite muestras muy hemolíticas, lipémicas o turbias.

Control de calidad:

Cada laboratorio debe tener controles de ensayo a niveles en el rango bajo, normal y elevado para monitorear el rendimiento del ensayo. Los controles deben tratarse como desconocidos y los valores deben determinarse en cada procedimiento de prueba realizado. El requisito de control recomendado para este ensayo es utilizar un control de veracidad por separado y analizarlos junto con las muestras en la misma serie. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas.

Solución de Lavado (Dilución 40X):

Agregue agua desionizada al concentrado de solución de lavado concentrado 40X. Diluya 25 ml de solución de lavado concentrada con 975 ml de agua desionizada hasta un volumen final de 1000 ml. Estable durante 2 meses a temperatura ambiente.

Procedimiento de Prueba:

- Asegúrese de que las muestras, los calibradores y los controles de los pacientes estén a temperatura ambiente (18-25°C) antes de la medición. Mezcle todos los reactivos invirtiéndolos suavemente antes de usarlos.
- Utilice solo el número de pocillos necesarios e identifique los pocillos de las microplacas para cada calibrador y muestra que vaya a analizar.
- Agregue 25 µL de calibradores o muestras a cada pocillo.
- Agregue 100 µL de conjugado enzimático a cada pocillo.
- Agite suavemente la microplaca durante 30 segundos para mezclar.
- Cubra la placa con una tapa para placas e incuba a 37°C durante 60 minutos.
- Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, golpee y seque la placa con papel absorbente.
- Agregue 350 µL de solución de lavado, decante (golpee y seque) o aspire. Repita 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede utilizar un lavador automático de tiras de microplacas. Al final del lavado, invierta la placa y saque la solución de lavado residual sobre papel absorbente.
- Agregue 100 µl de sustrato a cada pocillo.
- Cubra e incuba a temperatura ambiente (18-25°C) en la oscuridad para que reaccione durante 20 minutos. No agite la placa después de agregar el sustrato.
- Agregue 50 µL de solución de parada a cada pocillo.
- Agite durante 15 a 20 segundos para mezclar el líquido dentro de los pocillos. Es importante asegurarse de que el color azul cambie a amarillo por completo.
- Lea la absorbancia de cada pocillo a 450 nm (usando de 620 a 630 nm como longitud de onda de referencia para minimizar las imperfecciones de los pocillos) en un lector de microplacas. Los resultados deben leerse dentro de los 30 minutos posteriores a la adición de la solución de parada.

Cálculo:

- Registre la absorbancia obtenida de la impresión del lector de microplacas.
- Calcule la absorbancia media de cualquier medición duplicada y utilice la media para el siguiente cálculo.
- Grafique el logaritmo común de absorbancia frente a la concentración en ng/mL para cada calibrador.
- Dibuje la curva que mejor se ajuste a través de los puntos trazados en papel cuadrículado lineal. Se sugiere el método punto a punto para generar una curva de calibración.

Limitaciones e Interferencias:

El ensayo no se ve afectado por ictericia (bilirubina < 1000 µmol/L o < 58 mg/dL), hemólisis (Hb < 1,0 mmol/L o < 1,61 g/dL), lipemia (Intralpid < 1500 mg/dL) y biotina (< 200 nmol/L o < 49 ng/mL).

Criterio: Recuperación dentro del ± 10 % del valor inicial.

No se observó interferencia de factores reumatoides hasta una concentración de 1500 UI/mL. No hay efecto de gancho de dosis alta en concentraciones de PSAT de hasta 8000 ng/mL. Se realizaron pruebas in vitro en 28 productos farmacéuticos de uso común. No se encontraron interferencias con el ensayo.

Se sabe que en casos raros existen isoformas de PSA que pueden medirse de manera diferente mediante diferentes pruebas de PSA. Ocasionalmente se han informado hallazgos de este tipo para pruebas de PSA de varios fabricantes.^{10,11,12}

Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia pueden desarrollar HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón). HAMA puede producir valores falsamente altos o falsamente bajos en inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico. Para fines de diagnóstico, los resultados siempre deben evaluarse junto con el historial médico del paciente, el examen clínico y otros hallazgos.

Rango de Medición:

0,02-80 ng/mL (definido por el límite inferior de detección y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite de detección inferior se notifican como < 0,02 ng/mL. Los valores por

encima del rango de medición se notifican como > 80 ng/mL (o hasta 500 ng/mL para muestras diluidas 40 veces).

Límite Inferior de Detección:

0,02 ng/mL
El límite de detección representa el nivel de analito más bajo que se puede distinguir de cero. Se calcula como el valor que se encuentra dos desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (calibrador maestro, estándar 1+2 SD, estudio de repetibilidad, n= 18).

Límite de blanco (LoB) y límite de detección (LoD)

LoB = 0,01 ng/mL LoD = 0,015 ng/mL

Tanto el límite de blanco como el límite de detección se determinaron de acuerdo con los requisitos EP17-A del CLSI (Instituto de estándares clínicos y de laboratorio). El límite de blanco es el valor del 95 por ciento de n ≥ 60 mediciones de muestras sin analito en varias series independientes. El Límite de Blanco corresponde a la concentración por debajo de la cual se encuentran muestras libres de analito con una probabilidad del 95 %. El límite de detección se determina en función del límite de blanco y la desviación estándar de las muestras de baja concentración. El Límite de Detección corresponde a la concentración de analito más baja que se puede detectar (valor por encima del Límite de Blanco con una probabilidad del 95 %).

Valores Esperados:

Valores esperados en varones sanos normales
Los estudios en dos hospitales con el ensayo de PSA total en sueros de 316 hombres sanos de varios grupos de edad arrojaron los siguientes resultados:

Edad (años)	n	PSAT (ng/mL)	
		Media	95%
< 40	62	0.55	1.38
40-49	58	0.58	1.88
50-59	146	0.71	2.61
60-69	38	1.58	3.76
≥ 70	12	1.63	4.25

Valores de PSAT en la detección del cáncer de próstata

Se realizó un estudio para demostrar la eficacia del ensayo de PSA total cuando se usa junto con el examen rectal digital (DRE) como ayuda en la detección del cáncer de próstata en hombres de 50 años de edad o más.

Un total de 951 hombres acumulados en serie de 50 años de edad o más participaron en el estudio. La edad media de la cohorte fue de 66,4 años (intervalo de confianza del 95 % = 65,9 a 66,8 años).

Distribución de valores de tPSA por resultado de biopsia y resultado de tacto rectal

Resultado de la biopsia de próstata: benigno

DRE resultado	n	PSAT (ng/mL)		
		Media	Mínimo	Máximo
Normal	298	5.7	0.38	68.4
Patológico	301	4.5	0.25	23.6
Total	599	5.0	0.25	68.4

Resultado de biopsia de próstata: maligno.

DRE resultado	N	PSAT (ng/mL)		
		Media	Mínimo	Máximo
Normal	154	7.4	2.4	136.5
Patológico	198	8.0	0.55	1044.9
Total	352	7.6	0.55	1044.9

Utilidad del PSAT en la detección del cáncer de próstata.

Como se muestra en la siguiente tabla, dentro de esta cohorte de 951 hombres, se detectaron mediante biopsia 352 (37,0 %) cánceres de próstata. Se informaron resultados anormales del examen rectal digital (DRE) para 220 (62,5 %) de los 352 cánceres de próstata, mientras que se informaron resultados de PSAT superiores a 4 ng/mL para 302 (85,7 %) cánceres para PSAT ELISA. De los 352 hombres diagnosticados con cáncer, 337 (95,7 %) tuvieron un resultado DRE anormal o un valor de PSAT superior a 4,0 ng/mL.

El valor predictivo positivo para el ELISA de PSA total fue de 0,414 usando 4,0 ng/ml como punto de corte (biopsia de próstata maligna + PSAT > 4,0 ng/ml: n = 302 / PSAT > 4,0 ng/ml: n = 729).

Resultados del examen rectal digital y PSAT referidos a los cánceres de próstata detectados por biopsia en una cohorte de:

951 hombres de 50 años o más remitidos a un urólogo para evaluación de la próstata.

	Total	DRE+ a)	PSA+b)	PSA+o DRE+	PSA+y DRE+	PSA+y DRE- c)	PSA-y DRE+d)
Total número	951	521	729	899	366	370	154
No. de Biopsias malignas	352	220	302	337	176	125	36
%biopsias positivas	37.0%	42.2%	41.4%	37.5%	48.1%	33.8%	23.4%

- a) DRE anormal.
- b) valor de PSAT > 4 ng/mL
- c) DRE normal
- d) valor de PSAT < 4 ng/mL

Cada laboratorio debe investigar la transferibilidad de los valores esperados a su propia población de pacientes y, si es necesario, determinar sus propios rangos de referencia.

Datos de Rendimiento Específicos:

Los datos de rendimiento representativos se dan a continuación. Los resultados obtenidos en laboratorios individuales pueden diferir.

Precisión:

La precisión se determinó usando reactivos, sueros humanos agrupados y controles en un protocolo modificado (EP5-A) del CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio): 2 veces al día durante 20 días (n = 40). Los siguientes resultados fueron obtenidos:

Muestra	Reproducibilidad			Precisión Intermedia		
	Media ng/mL	SD ng/mL	CV %	Media ng/mL	SD ng/mL	CV %
Suero 1	0.96	0.07	7.3%	1.03	0.08	8.1%
Suero 2	5.13	0.28	5.5%	5.23	0.39	7.4%
Suero 3	32.88	1.6	4.9%	30.76	1.72	5.6%
PC Universal 1	3.11	0.2	6.4%	3.25	0.20	6.2%
PC Universal 2	25.4	0.59	2.3%	28.1	1.04	3.7%

Comparación de Métodos:

Una comparación del ensayo de PSA total (y) con el PSA total de Roche Cobas (x) usando muestras clínicas arrojó las siguientes correlaciones:

Número de muestras medidas: 171

Regresión Lineal.

y = 1.0321x + 0.077

r = 0,9856

Las concentraciones de la muestra estaban entre aprox. 0 y 80 ng/mL.

Especificidad Analítica:

Para los anticuerpos monoclonales utilizados, se encontraron las siguientes reactividades cruzadas: PAP y ACT: ninguna; PSA y PSA-ACT se reconocen sobre una base equimolar.

Sensibilidad Funcional:

0,07 ng/mL

La sensibilidad funcional es la concentración de analito más baja que se puede medir de forma reproducible con un CV de precisión intermedia del 20 %.

Referencias:

1. Henttu P, Vihko P. Antígeno prostático específico y calicreína glandular humana: dos calicreínas de la próstata humana. Ann Med 1994;26:157-164.
2. Tewari PC, Bluestein BI. Múltiples formas de antígeno prostático específico y las influencias del diseño de inmunoensayos en su medición en el suero del paciente. J Clin Ligand Assay, 18 1995;3:186-196.
3. Zhang WM, Leinonen J, Kalkinen N, et al. Purificación y Caracterización de Diferentes Formas Moleculares de Antígeno Prostático-Específico en Líquido Seminal Humano. Clin Chem 1995;41/11:1567-1573.
4. Prestigiacomo AF, Stamey TA. Utilidad clínica del PSA libre y complejado. Clin Lab Invest Suppl 1995;221:32-34.
5. Partin AW, Carter HB, Chan DW, et al. Antígeno prostático específico en la estadificación del cáncer de próstata localizado: influencia de la diferenciación tumoral, volumen tumoral e hiperplasia benigna. JUrol 1990;143:747-752.
6. Scher HI, Kelly WK. Síndrome de abstinencia de flutamida: su impacto en los ensayos clínicos en cáncer de próstata refractario a hormonas. J Clin Oncol 1993;11:1566-1572.
7. Semjonow A, Brandt B, Oberpenning F, et al. Las discrepancias en los ensayos perjudican la interpretación del antígeno prostático específico. Urología 1995;34:303-315.
8. Partin AW, Pound CR, Clemens JQ, et al. PSA sérico después de una prostatectomía radical anatómica. La experiencia Hopkins después de 10 años. Urol Clin North Am 1993;20:713-725.
9. Roddam AW, Rimmer J, Nickerson C, et al. Antígeno prostático específico: sesgo y molaridad de ensayos comerciales para PSA en uso en Inglaterra. Ann Clin Biochem 2006;43:35-48.
10. Roddam AW, Rimmer J, Nickerson C, et al. Antígeno prostático específico: sesgo y molaridad de ensayos comerciales para PSA en uso en Inglaterra. Ann Clin Biochem 2006;43:35-48.
11. VanDuijnhoven HLP, Perqueriauz NCV, vanZon JPHM, et al. Gran discrepancia entre los resultados del antígeno prostático específico de diferentes ensayos durante el seguimiento longitudinal de un paciente con cáncer de próstata. clin quimica 1996; 42:637-641.
12. Wians FH. La concentración de PSA "correcta". ClinChem 1996; 42: 1882-1885.
13. Cohen RJ, Haffjee Z, Steele GS, et al. Advanced Prostate Cancer con normal Valores séricos de antígeno prostático específico. Arch Pathol Lab Med 1994; 118: 1123-1126

