

PATHOZYME® PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN Ref OD327

Enzimaimunoensaio (EIA) para a detecção de PSA no soro humano. Conservar de 2°C a 8°C. NÃO CONGELAR.

Somente para Uso Diagnóstico in vitro.

INTRODUÇÃO

O Antígeno Prostático Específico humano (PSA) é uma protease de cadeia única de glicoproteína com peso molecular de aproximadamente 34.000 daltons, contendo 7% do seu peso de carboidratos. O PSA é imunologicamente específico do tecido prostático, e está presentes nos tecidos prostáticos normais, benignos, malignos, hiperplásicos, carcinoma prostático metastático, fluido prostático e plasma seminal.

O PSA não está presente em nenhum outro tecido normal obtido do homem, nem é produzido pelo câncer de mama, colo, reto, estômago, pâncreas ou tireóide. É funcionalmente e imunologicamente diferente da Fosfatase Ácida Prostática (PAP).

Concentrações elevadas de PSA no soro estão relacionadas com câncer de próstata, hipertrofia prostática benigna ou condições inflamatórias de outros tecidos geniturinários adjacentes. O PSA elevado não foi encontrado em homens aparentemente saudáveis, homens com carcinomas não prostáticos, mulheres aparentemente saudáveis ou mulheres com câncer. Relatos vêm demonstrando que a concentração de PSA sérico é um dos marcadores mais úteis em oncologia e na determinação da resposta aos tratamentos de pacientes com câncer de próstata. Portanto a medida da concentração de PSA no soro pode ser uma importante ferramenta na monitoração de pacientes com câncer prostático e determinação da eficácia potencial e real cirúrgica, ou outras terapias.

Estudos recentes também indicam que a mensuração do PSA pode aumentar a detecção precoce de câncer de próstata, quando combinado com o toque retal.

FINALIDADE DE USO

PATHOZYME PSA é um Enzimaimunoensaio (EIA) para a determinação quantitativa do Antígeno Prostático Específico PSA no soro humano. Somente para uso profissional.

PRINCÍPIO DO TESTE

As cavidades da microplaca de titulação são revestidas com anticorpos específicos de cabra anti-PSA purificados. Aplica-se o soro teste e incuba-se com Tampão Zero. Adiciona-se o conjugado enzimático monoclonal anti-PSA/peroxidase. O material é lavado para a remoção de material não ligado. A PSA humana presente na amostra vai combinar com o anticorpo na cavidade e o conjugado enzimático, formando um sanduíche entre a fase sólida e os anticorpos ligados à enzima. Após a incubação, as cavidades são lavadas com água para a remoção de anticorpos marcados não ligados. Adiciona-se o substrato (TMB) e a cor se desenvolverá somente nas cavidades onde a enzima estiver presente indicando a presença de PSA no soro. A reação enzimática é interrompida pela adição de Ácido Clorídrico diluído e a absorbância é medida a 450 nm. A concentração de PSA é diretamente proporcional à intensidade de cor da amostra teste. Este teste foi calibrado segundo padrões internos. Não existe padronização internacional para este teste.

CONTUADOS

Ref
OD327



Microtitre Plate	12 x 8 wells x 1
Cal A 0 ng / ml	1ml
Padrão referência: soro humano livre de PSA. Pronto a usar. (Incolor)	
Cal B 2 ng / ml	1ml
Padrão referência: PSA diluído em soro humano. Pronto a usar. (Incolor)	
Cal C 4 ng / ml	1ml
Padrão referência: PSA diluído em soro humano. Pronto a usar. (Incolor)	
Cal D 15 ng / ml	1ml
Padrão referência: PSA diluído em soro humano. Pronto a usar. (Incolor)	
Cal E 60 ng / ml	1ml
Padrão referência: PSA diluído em soro humano. Pronto a usar. (Incolor)	
Cal F 120 ng / ml	1ml
Padrão referência: PSA diluído em soro humano. Pronto a usar. (Incolor)	
Conj	11ml
Conjugado Anti-PSA/HRP. Pronto para uso. (rosa)	
Buf AS	7ml
Tampão fosfato contendo proteínas estabilizantes. Pronto para uso. (verde)	
Subs TMB	11ml
Solução substrato (TMB) Pronto para o uso. (incolor)	
Soln Stop HCl 1M	11ml
Solução Bloqueadora. Ácido clorídrico diluído em água purificada. Pronto para o uso (incolor)	

Instruções de uso. Folha de Registro de Dados EIA 1+1

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- Micropipetas: 100, 200 e 1000 µl.
- Ponteiras descartáveis
- Papel absorvente
- Leitor de microplacas com filtro de 450 nm
- Papel gráfico
- Vidraria de laboratório limpa

PRECAUÇÕES

PATHOZYME PSA contém materiais de origem humana que foram testados e confirmados com resultado negativo para anticorpos anti-HCV, anti-HIV I e II e HBsAg através de procedimentos aprovados, sendo realizados para cada doador. Como nenhum teste pode oferecer uma completa segurança que

produtos derivados de material humano não transmitam agentes infecciosos, recomenda-se que os reagentes contidos neste kit sejam manuseados com o

devido cuidado e atenção durante o uso e descarte. Todos os reagentes devem portanto ser tratados como material de potencial risco biológico durante o uso e descarte. Não ingerir.

PATHOZYME PSA não contém substâncias perigosas como definido no regulamento UK Chemicals (Informações e Embalagem para fornecimento de material de Risco). Entretanto, todos os reagentes devem ser tratados como de risco biológico potencial durante o uso e descarte. O descarte final deve ser realizado de acordo com a legislação local.

PATHOZYME PSA Solução de Bloqueio é uma solução de ácido clorídrico diluído e é, portanto, corrosiva. Manipular com cuidado. Em caso de contato, lavar abundantemente com água corrente.

PATHOZYME PSA contém reagentes com 1% Proclin™ 300* como conservante, que pode ser tóxico caso seja ingerido. Em caso de contato, lavar completamente com água corrente.

* Proclin™ 300 é uma marca comercial pertencente a ROHM e HAAS limitada.

ARMAZENAMENTO

Os reagentes devem ser armazenados a temperatura entre 2°C a 8°C.

A data de vencimento é o último dia do mês indicado nos rótulos dos frascos do e kit. O kit funcionará dentro das especificações até a data de vencimento estipulada, baseada na data de fabricação do produto e impressa no kit e em seus componentes.

Não utilizar os reagentes após a data de vencimento. Evitar a exposição a temperaturas excessivas. Não expor diretamente a luz solar.

NÃO CONGELAR NENHUM DOS REAGENTES pois isso causará danos irreversíveis.

COLETA E PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Obter uma amostra de sangue venoso do paciente, permitindo que o coágulo seja formado e retraído. Centrifugar a amostra de sangue coagulada e coletar o soro límpido. O teste requer amostra de soro fresco.

Não usar soro hemolisado, contaminado ou lipêmico para o teste, pois isso afetará desfavoravelmente os resultados.

O soro pode ser armazenado a 2°C a 8°C por até 48 horas antes do uso. Se for necessário um armazenamento mais longo, armazenar a -20°C por até 1 ano. Amostras descongeladas devem ser homogeneizadas antes do uso.

Não usar azida sódica como conservante pois esta poderá inibir o sistema enzimático peroxidase.

Não congelar e descongelar repetidamente o soro, pois isso pode causar resultados falsos.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente (20°C a 25°C) e devem ser homogeneizados antes do uso. Evitar a formação de espuma.

LIMITAÇÕES DE USO

A utilização de outras amostras que não sejam soro, não foi validada para este teste. Não existe protocolo para a reutilização deste produto. Levantar em conta todos os dados clínicos na interpretação dos testes. O diagnóstico não deve ser feito baseado somente nos dados de um ensaio clínico.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

1. Deixar todos os componentes do kit e o soro teste atingirem a temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de iniciar o ensaio.
2. O soro controle do kit deve ser testado com cada grupo de amostras. Selecionar o número de cavidades desejadas prendendo-as no suporte. Anotar a posição do soro controle e dos soros testes na "Folha de Registro de Dados EIA" fornecida.
3. As tiras que não forem usadas devem ser seladas novamente na embalagem de alumínio contendo o dessecante, utilizando-se o selador "zip-lock", antes de serem recolocadas 2°C a 8°C.
4. Dispensar 50µl de padrões e soro teste em cada cavidade determinada.
5. Dispensar 50µl de tampão zero em cada cavidade.
6. Homogeneizar completamente por 30 segundos.
7. Incubar por 60 minutos a temperatura ambiente de 20°C a 25°C.
8. No final do período de incubação, descartar o conteúdo das cavidades com um rápido movimento, no recipiente de material contaminado. Bater as cavidades sobre um papel absorvente. Assegurar-se que o recipiente de material contaminado contém um desinfetante apropriado.
9. Lavagem manual: Preencher as cavidades com um mínimo de 300 µl de água destilada por cavidade. Despejar o tampão de dentro das cavidades para o interior do recipiente de material contaminado. Bater as cavidades sobre um papel absorvente. Lavar as cavidades vazias 5 vezes.
10. Bater as cavidades sobre um papel absorvente ou papel toalha para remover todo o resíduo de água.
11. Lavagem automática: assegurar-se que 300 µl de água destilada serão dispensados por cavidade e que o recipiente de material contaminado contém um desinfetante apropriado. Lavar as cavidades vazias 5 vezes. Após lavagem remover o excesso de fluido batendo as cavidades sobre papel absorvente ou papel toalha, para retirar todo o resíduo de água.
12. Dispensar 100 µl do conjugado Anti-PSA HPR em cada cavidade e homogeneizar suavemente por 5 segundos.
13. Incubar no escuro por 60 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
14. Lavar as placas como descrito acima.
15. Dispensar 100 µl de Solução de Substrato em cada cavidade e homogeneizar suavemente por 10 segundos.
16. Incubar no escuro por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
17. Interromper a reação pela adição de 100 µl da Solução de Bloqueio em cada cavidade.
18. Homogeneizar suavemente por 30 segundos para certificar-se que a cor azul mudará completamente para amarelo nas cavidades.
19. Ler a densidade óptica a 450 nm com um leitor de microplacas imediatamente após o bloqueio da reação.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Para uso por operadores com um mínimo de treinamento básico em laboratório. Não utilizar componentes do kit danificados ou contaminados. Utilizar ponteiros separados para cada amostra a fim de prevenir a contaminação cruzada. Teste em duplicata dos padrões e amostras, apesar de não requerido, é recomendado. As amostras e controles devem ser testados ao mesmo tempo para que as condições do teste sejam as mesmas. Caso se realize pipetagem manual, recomenda-se não se utilizar mais que 32 cavidades em cada ensaio e que a pipetagem de todos os padrões e amostras seja realizada dentro de 3 minutos. Uma placa completa de 96 cavidades pode ser utilizada se houver disponibilidade de pipetagem automatizada. Recolocar as tampas em todos os reagentes imediatamente após o uso. Evitar pipetagens repetidas dos reagentes estoques porque isso poderá causar contaminação. Não misturar reagentes ou cavidades marcadas com anticorpos de diferentes kits. Cuidado para não tocar a superfície da cavidade durante a dispensação. Evitar que os reagentes escorram pela parede da cavidade. Antes de iniciar o teste deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente (20°C a 25°C). Homogeneizar todos os reagentes, com cuidado, por inversão ou rotação. Uma vez iniciado o teste não deixar que as cavidades sequem. Não contaminar a Solução Substrato o que tornará o kit inoperante. Checar a precisão e exatidão dos equipamentos laboratoriais utilizados durante o procedimento para assegurar resultados reprodutíveis. As tiras não utilizadas devem ser seladas novamente dentro da embalagem de alumínio contendo o dessecante, utilizando-se para isso o "zip-lock" e armazenadas a 2°C a 8°C.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Calcular a absorbância de cada padrão e amostras. Construir uma curva padrão em um papel de gráfico, colocando os valores obtidos das absorbâncias de cada padrão versus a sua concentração em ng/ml, com os valores da absorbância no eixo Y e as concentrações no eixo X. Usar os valores de absorbância de cada amostra para determinar a concentração correspondente de PSA em ng/ml utilizando a curva padrão. Se os níveis dos controles ou amostras conhecidas não fornecerem os resultados esperados, os resultados dos testes devem ser considerados inválidos.

VALORES ESPERADOS E SENSIBILIDADE

O valor esperado do PSA em homens saudáveis é inferior a 4 ng/ml. A concentração mínima de PSA detectada por PATHOZYME PSA é estimada em 0,25ng/ml.

AVALIAÇÃO DOS DADOS

Calibrado para os maiores competidores e padrões internos. O coeficiente de variação do PATHOZYME PSA é menor ou igual a 10%.

REFERÊNCIAS

- 1- Hara, M. and Kimura H. J. Lab. Clin. Med. 113:541-548;1989.
- 2- Yuan, J.J., Coplen, D.E. et al. J. Urol. 147:810-814; 1992.
- 3- Wang, M.C. Papsidero, L.D., et al. Prostate 2.89=93;1981.
- 4- Stowell,L.L., Sharman,J. E., et al. FORENSIC science INTERN. 50: 125-138; 1991.
- 5- Frankel, A. E., Rouse, R.V. et al. Canc. Res. 42:3714;1982.
- 6- Benson, M. C., Whang, I. S., J. Urol. 147: 815-816;1992.
- 7- Gorman, C. Time. 10(5); 77-80;1992.
- 8- Walsh, P.C. J. Urol. 147: 853-854;1992.
- 9- Labrie, F. Dupont, A., et al. J. Urol. 147: 846-852; 1992.
- 10- McCarthy, R. C., et al. Clin. Chem. Acta. 132:287-293;1983.
- 11- Heller J.E. J. Urol. 137; 1091-1099;1987.
- 12- Filella, X., Molina, R., et al. Tumour Biol. 11:289-294;1990.
- 13- Shin, W. J., J. Nat. Méd. Assoc. 84:1049-1050; 1992.
- 14- Wirth, M. P. And Frohmuller, H. G. Eur. Urol. 21: 263-268; 1992.
- 15- Campbell, M.L. Uri. Times. 20:10;1992.
- 16- Braver, M.K., Chetner, M.P., et al. J. Urol. 147: 841-845; 1992.
- 17- Benson, M.C., Whang, I. S., J. Urol. 147: 817-821;1992.
- 18- Oesterling, J. E. And Hanno P. M. Urol. Times. 20:13-18;1992.
- 19-

PROCEDIMENTO RÁPIDO

1. Dispensar 50µl do soro teste ou padrões e 50µl do Tampão Zero em cada cavidade. Misturar gentilmente por 30 segundos.
2. Incubar por 60 minutos a temperatura ambiente (20° C a 25° C).
3. Descartar os conteúdos das cavidades e lavar 5 vezes com água destilada.
4. Dispensar 100µl de Conjugado Anti PSA HPR em cada cavidade de homogeneizar por 5 segundos.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente (20° C a 25° C).
6. Descartar os conteúdos das cavidades e lavar 5 vezes com água destilada.
7. Adicionar 100µl de Solução Substrato em cada cavidade e misturar gentilmente por 10 segundos.
8. Incubar no escuro por 20 minutos a temperatura ambiente (20° C a 25° C).
9. Adicionar 100µl de Solução de Bloqueio em cada cavidade e misturar gentilmente por 30 segundos.
10. Ler as Densidades Ópticas imediatamente (não mais levar mais de 10 minutos) usando um leitor de microplacas com um filtro de 450 nm.

8082 ISSUE 6A Revised December 2010

© Omega Diagnostics Ltd., 2010. PORTUGUESE.



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY