

## SERATEC® PSA SEMIQUANT

### Инструкция по применению

#### ПРИМЕНЕНИЕ

Тест SERATEC® PSA SEMIQUANT — иммунохроматографический экспресс-тест, подтверждающий наличие простатического специфического антигена (ПСА) в пробе. Поскольку данный антиген в больших количествах содержится в семенной жидкости, тест может быть использован при проведении судебно-биологической экспертизы для определения следов спермы. Положительный результат наступает при появлении полосы результата, легко определяемой визуальным способом. Для полуколичественной оценки концентрации ПСА возможно сравнение цветовой интенсивности полосы результата с интенсивностью полосы внутреннего стандарта (4 нг/мл).

#### ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Простатический специфический антиген — гликопротеин, синтезирующийся в простате, откуда он поступает в семенную жидкость. Концентрация ПСА в семенной жидкости колеблется от 0,2 мг/мл до 3 мг/мл. Благодаря высокой концентрации ПСА в семенной жидкости и низкой концентрации в вагинальном секрете (от 0,4 нг/мл до 0,9 нг/мл), ПСА является надёжным маркером семенной жидкости в рамках судебно-биологической экспертизы при расследовании половых деликтов. Тест на ПСА обладает следующими преимуществами:

- С помощью теста сперма может быть обнаружена, даже если отсутствуют семенные клетки (например, в случае проведённой ранее вазектомии).
- Тест подтверждает наличие очень малых количеств спермы. Исследования Макалузо и др. показали, что 10 мкл. спермы приводили к 200-кратному росту концентрации ПСА в вагинальном секрете.
- Простатический специфический антиген очень устойчив. Обнаружение ПСА возможно в вагинальных мазках спустя 14-47 часов после коитуса. Известны случаи обнаружения ПСА в значимых концентрациях в 30-летних пятнах спермы.
- Специфичность теста на ПСА превосходит специфичность теста на предстательную кислотную фосфатазу.

Следует принять во внимание, что ПСА присутствует и в других телесных жидкостях, например, в крови и моче. Концентрация ПСА в мужской кровяной сыворотке достаточно низка (< 4 нг/мл). В случае заболеваний простаты, концентрация может возрасти до 200 нг/мл. В моче здорового мужчины концентрация ПСА может быть от 800 нг/мл и более. В таких случаях во избежание ложно-положительных результатов рекомендуется произвести разведение пробы. Самый высокий документированный уровень разведения мочи, при котором был обнаружен ПСА, составил 1:200. Результат теста на ПСА с пробами спермы даёт положительный результат даже при разведении 1:200000.

Исследования показывают, что в малом количестве ПСА уже присутствует в моче одиннадцатилетних мальчиков.

Прочие телесные жидкости, содержащие ПСА, подробно описаны в литературе<sup>1</sup>. Концентрация ПСА в этих жидкостях настолько мала, что при соответствующем разведении она не влияет на специфичность и результативность теста.

#### ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Тест SERATEC PSA SemiQuant был первоначально разработан как полуколичественный экспресс-тест для обнаружения ПСА в крови при проведении ранней диагностики рака простаты. Для обнаружения семенной жидкости он используется как качественный тест. Оценка количества концентрации ПСА возможна путём сравнения полосы результата с полосой внутреннего стандарта (4 нг/мл).

#### ПРИНЦИП ТЕСТА

Тест SERATEC PSA SemiQuant — иммунохроматографический экспресс-тест (Chromatographic Immunoassay, CIA). Действующими составляющими теста являются два моноклональных мышиных антитела против ПСА. Одно из антител нанесено на мембрану в области результата. Область контроля и область внутреннего стандарта содержат фиксированные козы поликлональные противомышинные антитела, причём их количество в области внутреннего стандарта выбрано таким образом, что интенсивность окраски линии внутреннего стандарта будет соответствовать концентрации ПСА 4 нг/мл. Перед мембраной находится стекловолоконная подушка, впитывающая

нанесённую пробу. Она направляет пробную жидкость к волоконной области, на которую нанесено второе моноклональное мышиное антитело против ПСА, маркированное коллоидом золота. Это антитело также связывает ПСА.

После нанесения пробы, содержимое пробы продвигается по мембране к указанным областям контроля, внутреннего стандарта и результата. Независимо от присутствия ПСА в пробе антитела, маркированные коллоидом золота, образуют комплексные соединения с противомышинными антителами области контроля и внутреннего стандарта, что проявляется в образовании двух цветных полосок. Эти полоски служат знаком правильного проведения теста.

Если исследуемая проба содержит ПСА, то маркированный ПСА-анти-ПСА-антительный комплекс связывает фиксированное моноклональное мышиное анти-ПСА-антитело в области результата, которое, в свою очередь, распознаёт другой эпитоп ПСА. В результате образуется ещё одна цветная полоска, так что при положительном результате теста всего образуются три цветные полоски. Цветовая интенсивность средней линии (внутреннего стандарта) соответствует концентрации ПСА 4 нг/мл и может быть использована для оценки концентрации нанесённой пробы.

#### МАТЕРИАЛЫ

Набор содержит 40 тест-кассет с пластиковыми пипетками, 50 мл буферного раствора, инструкцию по применению.

Дополнительные материалы (не содержатся в наборе): таймер

#### ХРАНЕНИЕ И СРОК ГОДНОСТИ

Тест подлежит хранению в закрытом виде при комнатной температуре (не выше +30°C).

#### КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

##### Стандарт качества

Для проверки качественных характеристик теста используется стандарт ВОЗ: Prostate Specific Antigen (90:10), First International Standard, NIBSC Code 96/670.

##### Детальные свойства

При обнаружении нижней границы диапазона измерения ПСА были установлены следующие свойства теста:

Диагностическая чувствительность:	100%
Диагностическая специфичность:	100%
Положительное прогнозируемое значение:	100%
Отрицательное прогнозируемое значение:	100%
Воспроизводимость:	100%

##### Чувствительность

Диапазон обнаружения: 2 нг/мл ПСА – 100 мкг/мл ПСА. При низкой концентрации ПСА (до 0,5 нг/мл) возможно образование слабо видимой линии результата. При больших концентрациях ПСА (>500 мкг/мл) наблюдается пронозный эффект (High Dose Hook Effect).

##### Специфичность

Тест не показывает кросс-реакций с другими протеинами семенной жидкости. Белковый иммуноблот семенной жидкости показывает реакцию исключительно с ПСА. Кросс-реакций с семенной жидкостью млекопитающих (собака, кошка, лошадь, свинья, корова), за исключением семенной жидкости приматов, не наблюдалось.

Отсутствует кросс-реакция с женской кровью, содержащей ПСА в малых количествах.

#### ПРОВЕДЕНИЕ ТЕСТА

##### Указания мер предосторожности

- Тест предназначен для одноразовой диагностики in vitro!
- Не проводить тест после истечения срока годности!
- Содержащий сперму материал является потенциальным носителем инфекции. Пожалуйста, примите надлежащие меры, касающиеся обращения с изделием и его устранения!
- Не проводить тест в случае повреждения защитной упаковки!

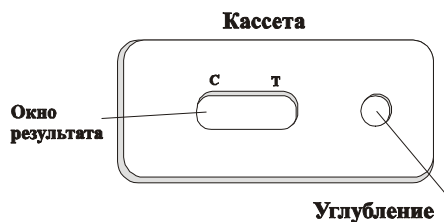
<sup>1</sup> Dale L. Laux. Forensic Detection of Semen II

## Взятие и подготовка пробы

Пожалуйста, обратите внимание а диапазон концентрации ПСА! Слишком высокая концентрация ПСА приводит к т.н. «эффекту высокой дозы» и, следовательно, к ложно-положительным результатам теста. Диапазон измерения данного теста лежит в пределах 2 ng/ml и 100 µg/ml ПСА. Часто наблюдается положительный результат даже при низком содержании ПСА (≈0,5 ng/ml). Для приготовления пробы следовать нижеуказанным рекомендациям:

- Развести семенную жидкость как минимум до 1:500. Разведение рекомендуется провести в буферной жидкости 1 M TRIS с pH=8,2.
- Для экстракции ПСА из плохо растворимых материалов, содержащих пятна семенной жидкости, поместить материал в буферную жидкость и экстрагировать при 4°C в течении двух часов. При необходимости развести. После трёхминутного центрифугирования использовать всплывшую часть в качестве пробы. Согласно наблюдениям, частицы материала не препятствуют подготовке пробы.
- Сохраняйте оставшиеся разведённые пробы для дальнейшего анализа.

## Начало проведения теста



- Установите температуру пробы и кассеты на уровне комнатной. (18-30 °C)
- Откройте упаковку. Возьмите кассету и пипетку. В случае необходимости пометьте кассету для последующей идентификации.
- С помощью пипетки добавьте 5 капель пробного материала (ок. 200 µl) в округлое углубление. С этого момента начните отсчёт времени.
- После 10 минут ожидания уже можно определить результат. К этому моменту пробная жидкость должна полностью впитаться. Если Вы желаете произвести оценку количества ПСА, то необходимо строго придерживаться временного интервала. В противном случае может произойти смещение цветовой интенсивности полосы внутреннего стандарта и полосы результата теста.

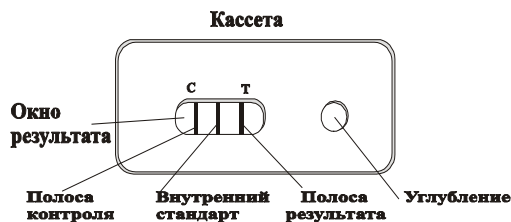
## Результаты теста

В случае отрицательного результата происходит образование двух красноватых полос. В случае положительного результата происходит образование трёх красноватых полос.

**Полоса результата (Т):** видна при положительном результате, показывает концентрацию ПСА

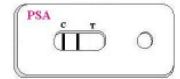
**Полоса внутреннего стандарта:** цветовая интенсивность соответствует концентрации ПСА в размере ≈ 4 ng/ml

**Полоса контроля (С):** проверка правильного проведения теста



## Отрицательный результат (Отсутствие ПСА или концентрация ПСА ниже границ диапазона определения)

*Полоса результата (Т) отсутствует. Появление полосы внутреннего стандарта и полосы контроля (С) свидетельствует о правильном проведении теста.*



В этом случае можно с большой вероятностью исключить содержание семенной жидкости в пробном материале.

### Примечание:

убедитесь, что Вы работали в допустимом диапазоне концентрации. В сомнительном случае проведите тест с различными уровнями разведения пробы.

## Положительный результат (Наличие ПСА)

*Полоса результата (Т), полоса внутреннего стандарта и полоса контроля (С) чётко видны в окне результата.*



В этом случае можно с большой вероятностью подтвердить наличие семенной жидкости в пробном материале.

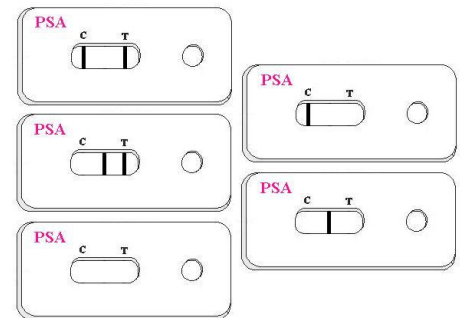
### Примечание:

Очень небольшое количество ПСА содержится также в других телесных жидкостях. Во избежание путаницы следует протестировать пробный материал при ином уровне разведения, чтобы получить однозначный результат.

## Результат недействителен

*Полоса внутреннего стандарта и/или полоса контроля не образуются.*

В этом случае необходимо повторить тест, используя новую кассету.



### Примечание:

Если проба содержит большое количество ПСА, полоса контроля может быть выражена слабо.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup>Hochmeister et al. (1999) Evaluation of Prostrate- Specific Antigen (PSA) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid: J Forensic Sci Vol 44: 1057-1060.

<sup>2</sup>Lawson et al. (1998) Objective markers of condom failure. Sex Transm Dis 25: 427-423.

<sup>3</sup>Macaluso et al. (1999) Prostrate-specific antigen in vaginal fluid as a biologic marker of condom failure. Contraception 59: 195-201.

<sup>4</sup>Sato et al. (2002) Use of the „SMITEST” PSA card to identify the presence of prostrate – specific antigen in semen and male urine. Forensic Sci Int 127: 71-74.

<sup>5</sup> Hochmeister et al. (1997) Evaluation of Prostrate-Specific Antigen (PSA) Membrane Tests for the Forensic Identification of Semen. 8<sup>th</sup> International Symposium on Human Identification. [www.promega.com/geneticidproc/ussymp8proc/33.html](http://www.promega.com/geneticidproc/ussymp8proc/33.html)

<sup>6</sup>Laux et al., Forensic Detection of Semen III. Detection of PSA Using Membrane Based Tests: Sensitivity Issues with Regards to the presence of PSA in other Body Fluids. <http://mafs.net/pdf/forensicedetectionsemen3.pdf>

<sup>7</sup>Laux et al., Forensic Detection of Semen II. Comparison of the Abacus Diagnostics OneStep ABA card p30 Test and the Seratec PSA Semiquant Kit for the Determination of the Presence of Semen in Forensic Cases. <http://mafs.net/pdf/laux2.pdf>

<sup>8</sup>Gartside et al., Estimation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Extraction Efficiency from Forensic Samples Using the Seratec PSA Semiquant Semiquantitative Membrane Test. Forensic Science Communications 2003 April; 5 (2). <http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2003/gartside.htm>