

SERATEC® PSA SEMIQUANT

Art.-Nr. PSM400F

In-vitro-Diagnostikum für den professionellen Gebrauch zum Nachweis von Samenflüssigkeit über die semiquantitative Erfassung von PSA (Prostata Spezifisches Antigen)

Anwendung

Der SERATEC® PSA SEMIQUANT Test dient dem schnellen Nachweis von PSA in der Samenflüssigkeit. Die Auswertung erfolgt optisch über das Erscheinen einer Ergebnislinie bei PSA positiven Proben, wobei bei Bedarf die Intensität der Linie mit einer internen Standardlinie, deren Färbung einer Konzentration von 4 ng/mL PSA entspricht, verglichen werden kann.

Hintergrund

PSA (Prostata Spezifisches Antigen) ist ein Glykoprotein, das in der Prostata synthetisiert und von dort in die Samenflüssigkeit sezerniert wird. Dort dient es der Verflüssigung der Samenflüssigkeit und erreicht Konzentrationen von 0,2 bis 3 mg/mL. Diese hohen Werte und die Tatsache, dass PSA im weiblichen Vaginalsekret nur in sehr geringen Mengen (0,4-0,9 ng/mL bzw. 0,0-1,25 ng/mL)^{2,3} vorliegt, machen PSA zu einem interessanten Marker in der Forensik (Sexualdelikte) zum Nachweis selbst geringer Mengen von Samenflüssigkeit. Vorteile eines PSA-Nachweises sind:

- Der Nachweis von Sperma kann selbst in Fällen geführt werden, in denen keine Samenzellen gefunden werden (z.B. vaskotomisierte Männer).
- Auch sehr geringe Mengen von Sperma können erfasst werden. Studien von MACALUSO et al. (1999) zeigen, dass bereits eine Menge von nur 10 µl Sperma zu einem ca. 200fachen Anstieg der PSA-Konzentration im Vaginalsekret führen.
- PSA weist eine gute Stabilität auf. In Vaginalabstrichen lässt es sich bis zu 14-47 Stunden nach dem Coitus nachweisen⁵. Selbst 30 Jahre alte Spermaflecken weisen noch PSA in nachweisbaren Konzentrationen auf.¹
- Es handelt sich bei PSA um einen Marker, der von der Spezifität her den sog. Saure-Phosphatase-Test übertrifft.

Beeinträchtigt wird die Aussagekräftigkeit des Tests dadurch, dass auch andere Körperflüssigkeiten wie Blut und Urin PSA enthalten können. Während die PSA-Konzentration im männlichen Blutserum in der Regel niedrig ist (< 4 ng/mL) und nur im Falle von Erkrankungen der Prostata Werte von bis zu 200 ng/mL erreicht, kann die PSA-Menge im Urin gesunder Männer z.T. mindestens 800 ng/mL (Schätzwert) betragen.⁴ Im Zweifelsfall kann eine Unterscheidung zwischen Seminalflüssigkeit und Urin über die PSA-Konzentration möglich sein. Die höchste Verdünnungsstufe von männlichen Urin, die in der Literatur zu einem positiven Testergebnis führte, ist mit 1:200 angegeben. Spermaproben hingegen zeigten in der Regel auch noch bei einer 1:200.000 Verdünnung ein positives Testergebnis, d.h. bei einer 1000fach stärkeren Verdünnung.⁴

Untersuchungen zeigen, dass geringe PSA-Konzentrationen im Urin schon bei 11 jährigen Jungen nachweisbar sind.⁴

Weitere Körperflüssigkeiten, die PSA enthalten können, sind unter der Referenz # 6 gelistet. Die PSA-Konzentrationen in den anderen Körperflüssigkeiten gering, so dass bei vorausgegangener Extraktion bzw. Verdünnung die Aussagekräftigkeit des Testergebnisses mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht beeinflusst wird.

Produktbeschreibung

Der SERATEC PSA SEMIQUANT Test wurde ursprünglich zum Nachweis von PSA in Blutserum zur Früherkennung von Prostatakrebs entwickelt und ist deshalb als semiquantitativer Test angelegt. Zum Nachweis von Samenflüssigkeit wird der Test qualitativ eingesetzt, allerdings kann bei Bedarf durch Vergleich mit einem internen Standard eine grobe Mengeneinschätzung vorgenommen werden.

Testprinzip

Der SERATEC® PSA SEMIQUANT Test ist ein chromatographischer immuntechnischer Test (Chromatographic Immunoassay, CIA) zum schnellen semiquantitativen Nachweis von PSA in Körperflüssigkeiten. Als wirksame Bestandteile enthält er zwei monoklonale Mausantikörper gegen PSA. Auf die Membran ist in der Ergebnisregion einer der Antikörper aufgetragen. Die oberhalb liegende Kontrollregion und die Region des internen Standards (Mitte) enthalten fixierte polyklonale Ziege-Anti-Maus-

Antikörper, wobei die Menge in der internen Standardregion so gewählt ist, dass die Färbung der Linie der Intensität der Ergebnislinie bei einer Konzentration von 4 ng/mL PSA entspricht. Ein vor der Membran liegendes Glasfaserkissen dient der Probenaufnahme und leitet die Flüssigkeit zu einem Vlies mit einem getrockneten zweiten monoklonalen Mausantikörper gegen PSA, der mit Goldkolloidpartikeln markiert ist und gegebenenfalls in der Probe vorhandenes PSA bindet.

Nach Auftragen der Probe wandern durch die Kapillarkräfte der Membran alle Partikel zusammen mit der Flüssigkeit zu den verschiedenen Regionen. Unabhängig vom PSA-Gehalt der Probe formt der goldmarkierte Mausantikörper mit den Anti-Maus-Antikörpern der Kontrollregion und des internen Standards einen Komplex, was durch die Entwicklung zweier farbiger Linien im oberen Bereich des Ergebnisfensters angezeigt wird. Diese Linien sind ein Hinweis auf die korrekte Durchführung des Tests.

Im Falle einer PSA-positiven Probe bindet der goldmarkierte PSA-anti-PSA-Antikörper-Komplex an den fixierten monoklonalen Maus-Anti-PSA-Antikörper der Ergebnisregion, der ein anderes Epitop von PSA erkennt. Dabei kommt es zur Ausbildung einer weiteren farbigen Linie, so dass der Test bei **PSA-positiven** Proben insgesamt **drei** Linien aufweist. Die Farbintensität der mittleren Linie (interner Standard) entspricht dabei einer PSA-Konzentration von 4 ng/mL und kann bei Bedarf zu einer Mengeneinschätzung herangezogen werden.

Materialien

Im Test enthalten: Plastikpipette und Gebrauchsanleitung, die Abgabereinheit liegt bei 40 Testkassetten pro Karton.

Zusätzlich benötigt: Stoppuhr oder Timer

Lagerung und Haltbarkeit

Der Test sollte während der angegebenen Haltbarkeitszeit gekühlt bei +4 bis +8 °C oder bei Raumtemperatur (nicht über 30 °C) ungeöffnet aufbewahrt werden.

Qualitative Eigenschaften

Sensitivität

Der Nachweisbereich des Tests liegt zwischen 2 ng/mL PSA und 100 µg/mL PSA (Mindestwerte). Bitte beachten Sie, dass häufig auch Proben mit einem niedrigeren PSA-Gehalt (bis ca. 0,5 ng/ml) noch vom Test erfasst werden und eine schwache Testergebnislinie hervorrufen können. Bei Konzentrationen von 500 µg/mL ist ein Prozone Effekt (high dose Hook Effect) deutlich erkennbar.

Referenzmaterial

Zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit des Tests in der finalen Qualitätskontrolle dient der WHO Standard: Prostate Specific Antigen (90:10), First International Standard, NIBSC Code 96/670.

Leistungsmerkmale

Für die Erkennung von 2 ng/mL PSA (angezeigt durch das Auftreten der Ergebnislinie) weist der SERATEC® PSA SEMIQUANT Test folgende Leistungsmerkmale auf:

Diagnostische Sensitivität:	100 %
Diagnostische Spezifität:	100 %
positiver Vorhersagewert:	100 %
negativer Vorhersagewert:	100 %
Reproduzierbarkeit:	100 %

Für die Unterscheidung in Konzentrationsbereiche von < bzw. ≥ 4ng/mL PSA im Blutserum, wie es für die Tumordiagnostik erforderlich ist, wurden in zwei unabhängigen klinischen Studien folgende Leistungsmerkmale ermittelt (gemittelter Wert):

Diagnostische Sensitivität:	90,0 %
Diagnostische Spezifität:	88,7 %
positiver Vorhersagewert:	83,3 %
negativer Vorhersagewert:	96,5 %
Reproduzierbarkeit:	90,2 %

Spezifität

Der Test zeigt keine Kreuzreaktion mit anderen Proteinen der Samenflüssigkeit. Im Immunoblot mit Seminalflüssigkeit zeigt sich mit den Antikörpern nur eine reaktive Bande in der Größe von PSA. Eine Kreuzreaktion mit der Samenflüssigkeit anderer Säugetiere (Hund, Katze, Pferd, Schwein, Rind)¹ wurde mit Ausnahme von Primaten nicht beobachtet. Der Test zeigt keine Kreuzreaktion mit anderen Proteinen humanen Blutserums. Weibliches Blut, dessen PSA-Gehalt unterhalb der Nachweisgrenze liegt, zeigte keinerlei Reaktivität.

Testdurchführung

Sicherheitsvorkehrungen

Bei Spermaproben handelt es sich um potentiell infektiöses Material, das mit der entsprechenden Sorgfalt und nur mit geeigneten Schutzmaßnahmen (z.B. Handschuhe, Laborkleidung) untersucht werden sollte. Während des Tests benutzte Materialien sollten vor der Entsorgung autoklaviert werden, da sie potentiell infektiöses Material enthalten.

- Nur für den einmaligen IN-VITRO Gebrauch bestimmt.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums oder bei Beschädigung des Schutzbeutels einsetzen.
- Bei den eingesetzten Materialien des Tests (z.B. Antikörpern) handelt es sich um potentiell infektiöse Materialien, von denen bei sachgemäßer Anwendung jedoch keine Gefahr ausgeht.
- Testkassette erst unmittelbar vor Gebrauch aus dem Schutzbeutel entnehmen.

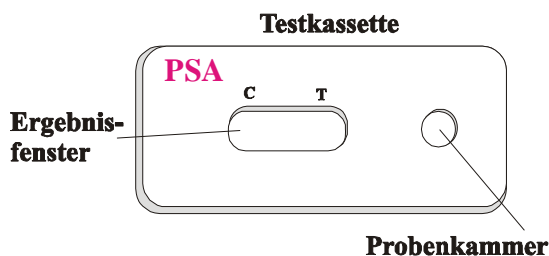
Probenaufbereitung

Auf Grund ihres extrem hohen PSA-Gehalts wird empfohlen, Samenflüssigkeit vor Gebrauch mindestens 1:500 zu verdünnen (Standardpuffersysteme im neutralen pH-Bereich oder destilliertes Wasser). Mit Samenflüssigkeit befechtete Materialien können zur PSA-Extraktion mit Puffer versetzt und 2 Stunden extrahiert sowie gegebenenfalls verdünnt werden. Nach dreiminütiger Zentrifugation dient der Überstand als Probe.¹ Der pH-Wert der Probe sollte im neutralen Bereich liegen, pH-Werte von unter 2 können zu falsch positiven oder ungültigen Ergebnissen führen. Interferenzen durch Gewebepartikel in der Probe wurden nicht beobachtet.

Achtung!

- Proben dürfen nicht zu viskos sein (mangelnder Transport durch Kapillarkräfte)
- Proben vor Testbeginn auf Raumtemperatur bringen

Testdurchführung

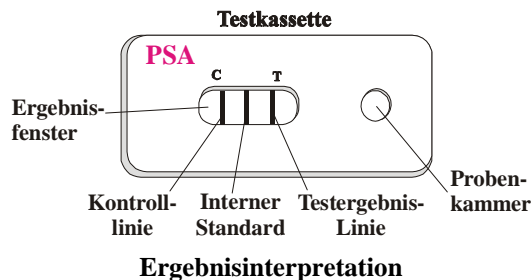


- Geben Sie 5 Tropfen der Probe (ca. 200µl) mit der beigelegten Plastikpipette in die runde Vertiefung (Probenkammer). Starten Sie die Zeitmessung. Heben Sie verbleibende Flüssigkeitsrückstände auf, um gegebenenfalls weitere Verdünnungsstufen zu untersuchen.
- Nach 10 Minuten Inkubationszeit bei Raumtemperatur kann das Ergebnis abgelesen werden. Die Flüssigkeit in der Probenkammer sollte zu diesem Zeitpunkt vollständig aufgesogen worden sein. Falls Sie eine Mengenabschätzung vornehmen wollen, sollte diese Zeit strikt eingehalten werden, da es sonst zu einer Verschiebung der Farbintensitäten zwischen internem Standard und Ergebnislinie kommen kann.

Auswertung des Ergebnisses

Im Ergebnisfenster treten bei PSA-negativen Proben 2, bei PSA-positiven Proben 3 Linien in Erscheinung:

- Testergebnislinie (T):** Spiegelt die PSA-Konzentration der Probe wieder, nur bei PSA-positiven Proben sichtbar
- Interner Standard:** Färbungsintensität der Linie entspricht einer PSA-Konzentration von ≈ 4 ng PSA/ml
- Kontrolllinie (C):** Kontrolle für mögliche Anwendungsfehler und für die Integrität der Testbestandteile

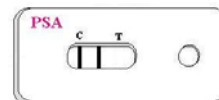


Ergebnisinterpretation

Negatives Ergebnis (kein PSA vorhanden bzw. PSA-Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze)

Testergebnislinie (T) ist nicht erkennbar. Das Erscheinen der Internen-Standard-Linie und der Kontrolllinie (C) bestätigen die korrekte Durchführung des Tests.

In diesem Fall ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auszuschließen, dass die Probe Samenflüssigkeit enthält.



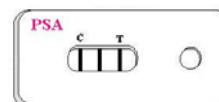
Anmerkung:

Vergewissern Sie sich, dass die Verdünnung der Probe im messbaren Bereich liegt. Zu niedrige (z.B. bei mangelhafter Extraktion) und zu hohe PSA-Konzentrationen (z.B. bei unzureichender Verdünnung; ≥ 500 µg/mL PSA resultieren in einem High Dose Hook Effekt) interferieren mit der Ausbildung der Ergebnislinie.

Positives Ergebnis (PSA vorhanden)

Testergebnislinie (T), Interne-Standard-Linie und Kontrolllinie (C) werden gebildet.

In diesem Fall kann mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass die Probe Samenflüssigkeit enthält.



Anmerkung:

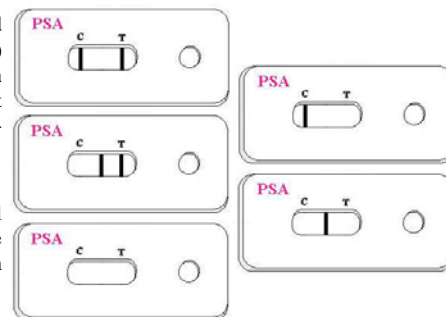
Auch andere Körperflüssigkeiten können PSA enthalten jedoch in geringeren Konzentrationen. Sollte die Möglichkeit einer Verwechslung bestehen, kann über die Testung höherer Verdünnungsstufen versucht werden, ein eindeutiges Ergebnis zu erzielen.

Ungültiges Ergebnis

Interne-Standard-Linie und /oder Kontrolllinie (C) werden nicht gebildet. In diesem Fall sollte der Test mit einer neuen PSA-Kassette wiederholt werden.

Anmerkung:

Falls die Probe sehr viel PSA enthält, kann die Kontrolllinie sehr schwach ausgeprägt sein.



Literatur

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

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

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

⁴Sato et al. (2002) Use of the „SMITEST“ PSA card to identify the presence of prostate-specific antigen in semen and male urine. Forensic Sci Int 127: 71-74.

⁵ Hochmeister et al. (1997) Evaluation of Prostate-Specific Antigen (PSA) Membrane Tests for the Forensic Identification of Semen. 8th International Symposium on Human Identification. www.promega.com/geneticidproc/ussymp8proc/33.html

⁶Laux 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>

⁷Laux 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>

⁸Gartside 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>

Stand: Juni 2007