

PSA-CHECK-1

Test rapido qualitativo per la determinazione del antigene Prostatico Specifico

- Sangue intero – plasma – siero –

Ref. 8051A

I. PRINCIPIO

Il PSA (Antigene Prostatico Specifico) è una glicoproteina presente nel sangue sia in forma libera (freePSA) che legata alla alfa1antichimotripsina.

I livelli sierici di PSA possono essere elevati per aumentata produzione in caso di iperplasia prostatica benigna (IPB) ad elevata componente ghiandolare, nei pazienti con patologie infiammatorie prostatiche, a seguito di aumentata vascolarizzazione, e in presenza di adenocarcinoma prostatico, per una precoce invasione del microcircolo.

Il PSA-CHECK-1 è un test rapido qualitativo per la determinazione del PSA umano (forma libera o legata alla α 1antichimotripsina) nel plasma, siero o sangue intero. Il metodo utilizza una unica combinazione di Coniugato monoclonale colorato e di un anticorpo (topo) che forma la fase solida per la determinazione selettiva del PSA in campioni di origine umana con un alto grado di sensibilità. Appena il campione filtra attraverso lo strato assorbente della card, l'eventuale PSA presente, si lega con il coniugato formando un complesso antigeneanticorpo. Questo complesso migra poi sulla membrana di cellulosa della card raggiungendo la zona di reazione positiva (B) in cui è adeso un anticorpo antiPSA (fase solida). Si forma quindi, in caso di reazione positiva, una banda colorata di rosa quando la concentrazione nel campione è maggiore a 4 ng/mL (cutoff).

In assenza di PSA non si ha formazione di alcuna banda. La miscela di reazione continua poi a migrare fino alla zona di controllo, in cui è adeso un anticorpo generico, e si ha la formazione di una banda rosa, a dimostrazione che la card ha funzionato correttamente.

II. COMPONENTI DEL KIT PSA-CHECK-1

Ogni kit contiene il materiale necessario per eseguire 10 o 20 tests:

1) PSA-CHECK-1 Cards di reazione	10	20
2) Diluente in flacone contagocce contenente tampone salino, detergente e sodio azide ($\text{NaN}_3 < 0.1\%$)	2.5 mL	5 mL
3) Pipette di plastica Disposable	10	20
4) Metodica d'uso	1	1

III. CONSERVAZIONE e STABILITA'

1. Tutti i componenti del kit PSA-CHECK-1 vanno conservati a temperatura ambiente (4°C a 30°C).

2. Non congelare i componenti del kit.

3. Il kit PSA-CHECK-1 è stabile sino alla data di scadenza indicate sulle etichette.

IV. PRECAUZIONI

1. Tali prodotti sono solo per uso professionale e vanno utilizzati da personale qualificato.

2. Tutto il siero analizzato va considerato come potenzialmente infettivo e va quindi maneggiato con le normali precauzioni.

Usare una soluzione al 5% di ipoclorito di sodio per disinfettare i materiali usati nel test. Trattare tutti i materiali usati nel test come potenzialmente infettivi. Autoclavare tutti materiali per 1 ora a 110°C .

Aggiungere ipoclorito di sodio ai liquidi e ai materiali usati nel test fino ad ottenere una concentrazione finale del 5%. Lasciare il materiale per almeno 30 minuti in questa soluzione. Incenerire tutto il materiale possibile.

3. Portare guanti monouso.

4. Non fumare, mangiare, bere nei locali dove si esegue il test e non pipettare mai con la bocca.

5. Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di usare il test.

6. Non usare dopo la data di scadenza indicate sulle etichette.

7. Non usare le card il cui foil di alluminio dovesse risultare danneggiato.

Il diluente contiene sodio azide come conservante ($< 0.1\%$). Non ingerire! Evitare il contatto con la pelle e le mucose. In caso di spargimento accidentale diluire con acqua.

V. CAMPIONE

Siero, plasma (litio o ammonio eparina, EDTA) o sangue intero.

I campioni di sangue intero vanno testati immediatamente.

Il campione va conservato in frigo a $2-8^\circ$ per non più di 48 ore (8).

Se è necessario conservarlo per un periodo maggiore, congelarlo a -20° (8). Evitare di congelare e scongelare più volte.

In caso di torbidità, alta viscosità o presenza di particolari sostanze nel siero, il campione va diluito con un egual volume di tampone di diluizione (V/V). Tale tampone non è presente nel kit e va richiesto a parte.

VI. PROCEDIMENTO

1– Portare i campioni e le cards del PSA-CHECK-1 a temperatura ambiente prima dell'uso.

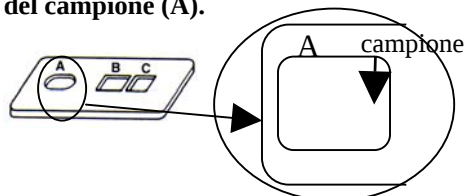
2– Rimuovere la card dall'involucro di alluminio in cui è sigillata.

3– Etichettare la card con il nome del paziente o con il numero di un eventuale controllo usato.

4- Riempire la pipetta contagocce con il campione (siero, plasma o sangue intero) e, tenendola verticalmente, dispensare una goccia (25 µL) nel pozzetto della card (A). (Se si usa sangue intero, dispensare 2 gocce (50 µL) nel pozzetto della card (A) **e attendere il completo assorbimento del sangue nel pozzetto prima di aggiungere il diluente.**

ATTENZIONE !

Per ottenere migliori risultati, il campione (siero, plasma o sangue intero) deve essere posto al lato destro del pozzetto del campione (A).



5- Aggiungere poi esattamente 5 o 6 gocce piene di diluente (200 µL) nel pozzetto della card (A).

6- Leggere il risultato dopo 10 minuti. Non interpretare il test dopo 15 minuti.

VII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

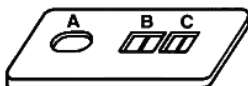
Negativo :

Appare una sola banda colorata nella finestra di controllo (C). Nessuna banda nella finestra di reazione (B).



Positivo :

Appaiono due bande colorate, una nella finestra di reazione (B) ed una nella finestra di controllo (C).



Ripetere il test :

Non appare alcuna banda colorata, né nella finestra B e né nella finestra C.

La card è avariata, ripetere la determinazione usando una nuova card e, se possibile, un campione fresco.

VIII. CARATTERISTICHE DEL TEST

A) ACCURATEZZA

E' stato effettuato uno studio su 190 campioni (sangue intero – Tabella 1 e siero – Tabella 2) pretestati con un metodo EIA.

I risultati mostrano una buona correlazione tra i campioni di sangue intero e quelli su siero ed anche una buona correlazione con i risultati ottenuti con il metodo EIA di riferimento

Tabella 1 : Comparazione del test Rapido PSA Vedalab con un metodo EIA usando come campioni il sangue intero.

PSA EIA		VEDALAB (%)	
		Tempo di lettura	
(ng/mL)	Campioni	5 min	10 min
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	96.6	82.8
3 – < 4	21	95.2	66.7
4 – < 5	24	41.7	70.8
5 – < 6	21	38.1	88.7
6 – < 8	27	61.5	96.3
8 – < 10	19	73.7	100
> 10	25	92.0	100

Tabella 2 : Comparazione del test Rapido PSA Vedalab con un metodo EIA usando come campioni il siero.

PSA EIA		VEDALAB (%)	
		Tempo di lettura	
(ng/mL)	Campioni	5 min	10 min
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	100	82.8
3 – < 4	21	95.2	57.1
4 – < 5	24	4.2	79.2
5 – < 6	21	4.8	90.5
6 – < 8	27	33.3	88.9
8 – < 10	19	57.9	94.7
> 10	25	76.0	100

B) INTERFERENZE

Sono state aggiunte ad un campione di siero umano precedentemente testato e trovato negativo, sostanze potenzialmente interferenti. In ogni caso non si è avuta alcuna interferenza aggiungendo le seguenti sostanze fino alle concentrazioni indicate:

Callicreina	1 µg/mL
Fosfatasi Acida prostatica	1 U/L
Fattore Reumatoide	36 U/mL

C) PRECISIONE

RIPETIBILITA' Nellaserie

La ripetibilità viene espressa come coefficiente di variazione nella serie. E' stata determinata testando 10 replicati di 3 campioni contenenti 0, 5 e 10 ng/mL di PSA. I valori negativi e positivi mostrano una correlazione del 100%.

RIPRODUCIBILITA' Fra le serie

La riproducibilità viene espressa come coefficiente di variazione tra le serie. Sono stati testati gli stessi 3 campioni di 0, 5 e 10 ng/mL di PSA in 10 indipendenti sedute di esame ed utilizzando 3 diversi lotti di prodotto in un periodo di 6 mesi. Di nuovo, I valori negativi e positivi mostrano una correlazione del 100%.

D) SENSIBILITA'

PSA-CHECK-1, Test Rapido è in grado di rilevare livelli di PSA superiori a 4 ng/mL secondo il materiale Internazionale certificato di riferimento per il PSA (CRM 613 N°1004 from the Community Bureau of Reference – Belgium 1998).

Comunque risultati falsi positivi e negativi possono aversi specialmente in campioni di PSA il cui valore è intorno al cutoff valori di +4.0 ng/mL (cf. Tabella 1).

Campioni di siero uonimi giovani normalmente dà livelli di PSA non rilevabili con questo test.

E) EFFETTO HOOK

Campioni contenenti alti livelli di PSA (fino a 10 µg/mL), quando testati, danno risultati positivi e non si ha alcun effetto Hook.

IX. LIMITAZIONI

1– Alcuni campioni di siero con alti livelli di Fattore Reumatoide (RF) possono dare risultati falsi positivi. Tali casi dovrebbero essere discriminati preventivamente prima di effettuare il test.

2– Il test è concepito per eliminare potenziali interferenze di anticorpi anti IgG di topo (HAMA). Comunque alti livelli di HAMA potrebbero dare dei falsi positivi.

3– Uno studio (3) eseguito su 130 pazienti (di età compresa fra 53 e 95 anni) mostra che un tumore prostatico è stato confermato per 56 pazienti che avevano una concentrazione serica di PSA compresa fra 1.5 e 1515 ng/mL. Una BPH (iperplasia prostatica benigna) è stata invece diagnosticata in 74 pazienti con un livello serico di PSA compreso fra 0.1 e 34 ng/mL. E' consigliabile che ogni laboratorio determini il proprio valore di riferimento per il PSA.

4– Per una diagnosi corretta tale test non va usato da solo, ma nel contesto di una diagnosi clinica confermata, eventualmente, anche da altri esami diagnostici.

X. BIBLIOGRAFIA

1–**Bagshawe, K.D.** 1993. Tumor markers. Br J. Cancer 48 : 167-175.

2–**Berg, W., Linder, Ch., Eschholz, G., Link, St., Schubert, J.** 1999. Possibility of Improving the Acceptance Rate of Early Detection Testing for Prostate Cancer with a OneStep Test for ProstateSpecific Antigen in Whole Blood. Urol. Int. 63 : 102–106.

3– **Irani, J. Millet, C., Levillain, P., Doré, B., Begon, F., Aubert, J.** 1997. Serurtourinary prostate specific antigen ratio : its impact in distinguishing prostate cancer when serum prostate specific antigen level is 4 to 10 ng/ml. J. of Urology. 157 : 185-188.

4–**Kuriyama, M, MC Wang, CL Lee, LD Papsidero, C.S. Killian, H. Inaji, N.H. Slack, T. Nishiura, GP. Murphy and T.M. Chu.** 1981. Use of human prostate specific antigen in monitoring cancer. Cancer res. 41: 3874-3876.

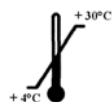
5–**Liedtke R.L. and JD Batjer.** 1984. Measurement of prostate specific antigen by radioimmunoassay. Clin. Chem. 30 : 649-652.

6–**Papsidero, LD, G.A. Crighan, M.C. Wang, M. Kuriyama, E.A. Johnson, L.A. Valenzuela and T.M. Chu.** 1983. Monoclonal antibody to human prostate antigen. Hybridoma 2 : 139-147.

7–**Wang, M.C., M. Kuriyama, L.D. Papsidero, R.M. Loor, L.A. Valenzuela, G.P. Murphy and T.M. Chu.** 1982. Prostate antigen of human cancer patients, P. 179-197.

In H. Busch and L.C. Yeoman (ed). Methods in cancer research. Academic Press Inc, New York.

8–**Piironen T., Pettersson K., Suonpää M., Stenman U.H., Oesterling J. E., Lövgren T. and Lilja H.** 1996. In vitro stability of free ProstateSpecific Antigen (PSA) and ProstateSpecific Antigen (PSA) complexed to α1antichymotrypsin in blood samples. Urology 48 (6A) : 81-87.



Temperatura di conservazione



Consultare la metodica acclusa nel kit



Non riutilizzare



Per uso diagnostico *in vitro*

Prodotto da VEDALAB - Francia

PSA-CHECK-1

Qualitative rapid test for the detection of Prostate-Specific Antigen

- Whole Blood, plasma or serum –
Ref. 8051A

I- PRINCIPLE

Prostate-specific antigen (PSA) is an intracellular glycoprotein (M.W. 34000 Dalton) synthesized only by the prostate gland and in seminal plasma. PSA, a normal constituent of prostate tissue, is present in benign hyperplastic and malignant prostatic tissue, in metastatic prostatic carcinoma, and in prostatic fluid and seminal plasma. PSA is elevated in serum of prostate cancer patients due to the release of the antigen into circulation.

The PSA-CHECK-1 test is a rapid qualitative assay for the detection of Human PSA (free form or complexed with α -1-antichymotrypsin) in plasma, serum or whole blood.

The method employs an unique combination of monoclonal-dye (mouse) conjugate and monoclonal (mouse) solid phase antibodies to selectively identify PSA in the test samples with a high degree of sensitivity.

As the test sample flows through the absorbent device, the labelled antibody-dye conjugate binds to the PSA forming an antibody antigen complex. This complex binds to the Anti-PSA antibody in the positive reaction zone (B) and produces a pink-rose colour band when PSA concentration is higher than 4 ng/mL. In the absence of PSA, there is no line in the positive reaction zone. The reaction mixture continues flowing through the absorbent device past the reaction zone and control zone. Unbound conjugate binds to the reagents in the control zone producing a pink-rose colour band, demonstrating that the reagents are functioning correctly.

II- PSA-CHECK-1 KIT COMPONENTS

Each kit contains everything needed to perform 10 or 20 tests:

- PSA-CHECK-1 reaction devices	10	20
- Diluent in a dropper bottle containing saline buffer, detergent and sodium azide ($\text{NaN}_3 < 0.1\%$)	2.5 mL	5 mL
- Disposable plastic pipettes	10	20
- Instruction leaflet	1	1

III- STORAGE AND STABILITY

1- All PSA-CHECK-1 kit components should be stored at room temperature (+4°C to +30°C).

2- Do not freeze the test kit.

3- PSA-CHECK-1 is stable until the expiry date stated on the package label.

IV- PRECAUTIONS

- 1- For *in vitro* diagnostic use and professional use only.
- 2- Handle all specimens as if they contain infectious agents. When the assay procedure is completed, dispose of specimens carefully after autoclaving them for at least one hour. Alternatively, they can be treated with 0.5 to 1% solution of Sodium hypochlorite for one hour before disposal.
- 3- Wear protective clothing such as laboratory coats and disposable gloves while assaying samples. Avoid any contact between hands and eyes or nose during specimens collection and testing.
- 4- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and kit reagents are handled.
- 5- Read carefully the instruction notice before using this test.
- 6- Do not use beyond the expiration date which appears in the package label.
- 7- Do not use a test from a damaged protective wrapper.

V- SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum, plasma (lithium or ammonium heparinate, EDTA) or whole blood

The specimen should be collected under the standard laboratory conditions (aseptically in such a way as to avoid hemolysis).

Each specimen should be treated as if potentially infectious

Whole blood samples should be tested immediately.

If the test is to be run within 48 hours after collection the specimen should be stored (8) in the refrigerator (+2° to +8°C). If testing is delayed more than 48 hours, the specimen should be frozen (8). The frozen specimen must be completely thawed, thoroughly mixed and brought to room temperature prior to testing. Avoid repeated freezing and thawing.

In the case of cloudiness, high viscosity or presence of particulate matter into the serum specimen, it should be diluted with equal volume (V/V) of diluting buffer (not provided but available upon request) before testing.

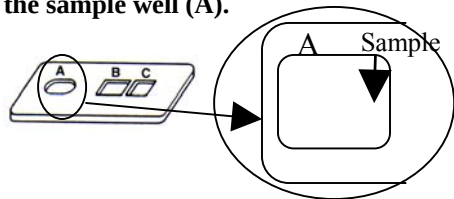
VI- ASSAY PROCEDURE

- 1- Allow samples and PSA-CHECK-1 test devices to come to room temperature prior to testing.
- 2- Remove the “reaction device” from its protective wrapper by tearing along the split.
- 3- Label device with the patient’s name or control number.

4– Fill the serum dropper with specimens (serum, plasma or whole blood) and by holding it vertically, dispense exactly one drop (25 µL) into sample well (A). If whole blood is used, dispense exactly 2 drops (50 µL) into the sample well (A) **and wait for the whole blood sample to be completely absorbed before adding diluent.**

Warning !

In order to obtain better results, the sample (serum, plasma or whole blood) must be added at the right side of the sample well (A).



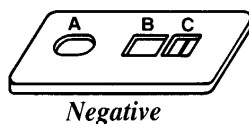
5– Add exactly 5 or 6 full drops of diluent (200 µL) into the sample well (A).

6– Read the results at 10 minutes. Do not interpret after 15 minutes.

VII– READING TEST RESULTS

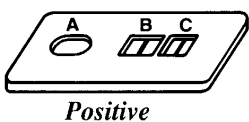
Negative

Only one coloured band appears in the control window (C). No apparent band in the test region.



Positive

In addition to the control band, a clearly distinguishable band also appears in the test window (B).



Inconclusive :

If there is no distinct colour band visible in the test window and test control window, the test is inconclusive. It is recommended in this case to repeat the test.

VIII– PERFORMANCE CHARACTERISTICS

A) ACCURACY

A study was performed on 190 samples (whole blood – table 1 and serum – table 2) pretested with an EIA method. The results show a good correlation between whole blood and serum samples and also a good overall correlation with EIA results.

Table 1 : Comparison of Vedalab PSA rapid test versus EIA method with whole blood samples

PSA EIA		VEDALAB (%)	
		Reading time	
(ng/mL)	Number	5 min	10 min
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	96.6	82.8
3 – < 4	21	95.2	66.7
4 – < 5	24	41.7	70.8
5 – < 6	21	38.1	88.7
6 – < 8	27	61.5	96.3
8 – < 10	19	73.7	100
> 10	25	92.0	100

Table 2 : Comparison of Vedalab PSA rapid test versus EIA method with serum samples

PSA EIA		VEDALAB (%)	
		Reading time	
(ng/mL)	Number	5 min	10 min
0 – < 2	24	100	100
2 – < 3	29	100	82.8
3 – < 4	21	95.2	57.1
4 – < 5	24	4.2	79.2
5 – < 6	21	4.8	90.5
6 – < 8	27	33.3	88.9
8 – < 10	19	57.9	94.7
> 10	25	76.0	100

B) INTERFERENCES

Potentially interfering substances were added to a negative human serum previously tested using the PSA test. In each case, no interference with the expected Vedalab rapid PSA-check-1 test results were observed.

Kallikrein	1 µg/mL
Prostatic acid phosphatase	1 U/L
Rheumatoid factor	36 U/mL

C) PRECISION

Intra-assay

Within run precision was determined by using 10 replicates of three specimens containing 0, 5 and 10 ng/mL of PSA. The negative and positives values were correctly identified 100% of time.

Inter-assay

Between run precision was determined by using the same three specimens of 0, 5 and 10 ng/mL of PSA in 10 independent assays and with three different lots of reaction device over a 6 months period. Again, the negative and positive values were correctly identified 100% of time.

D) SENSITIVITY

PSA-CHECK-1, Rapid Test is capable of detecting PSA levels higher than 4 ng/L according to INTERNATIONAL PSA certified reference material (CRM 613 N°1004 from the Community Bureau of Reference – Belgium 1998).

However, false positive and false negative results can be found especially in the specimens around the cut-off value of 4.0 ng/mL (cf. table 1).

Serum from healthy men will normally show undetectable levels of PSA when tested on Vedalab's PSA-CHECK-1 Rapid Test.

E) HOOK EFFECT

Specimens containing very high levels of PSA (up to 10 µg/mL) when tested consistently gave positive results.

IX- LIMITATIONS

1- Some serum specimens with high rheumatoid factor concentration (RF) may yield non specific positive results during testing. Such cases should be discriminated before testing.

2- The test is designed to eliminate the potential interference of human antibodies to murine IgG (HAMA). However high level of HAMA could give falsely positive results.

3- A study (3) performed among 130 patients (53 to 95 years old) showed that a prostate cancer was confirmed for 56 patients having a serum PSA level within 1.5 up to 1515 ng/mL. BPH (benign prostatic hyperplasia) was diagnosed for 74 subjects having a serum PSA level within 0.1 and 34 ng/mL. It is advisable to determine your own values of reference for PSA level.

4- As it is true with any diagnostic procedure, the physician should evaluate data obtained by the use of this kit in light of other clinical information.

X- BIBLIOGRAPHY

1- **Bagshawe, K.D.** 1993. Tumor markers. Br J. Cancer 48 : 167-175.

2- **Berg, W., Linder, Ch., Eschholz, G., Link, St. , Schubert, J.** 1999. Possibility of Improving the Acceptance Rate of Early Detection Testing for Prostate Cancer with a One-Step Test for Prostate-Specific Antigen in Whole Blood. Urol. Int. 63 : 102- 106.

3- **Irani, J. Millet, C., Levillain, P., Doré, B., Begon, F., Aubert, J.** 1997. Serum-to-urinary prostate specific antigen ratio : its impact in distinguishing prostate cancer when serum prostate specific antigen level is 4 to 10 ng/ml. J. of Urology. 157 : 185-188.

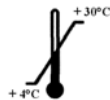
4- **Kuriyama, M, MC Wang, CL Lee, LD Papsidero, C.S. Killian, H. Inaji, N.H. Slack, T. Nishiura, GP. Murphy and T.M. Chu.** 1981. Use of human prostate specific antigen in monitoring cancer. Cancer res. 41: 3874-3876.

5- **Liedtke R.L. and JD Batjer.** 1984. Measurement of prostate specific antigen by radioimmunoassay. Clin. Chem. 30 : 649-652.

6- **Papsidero, LD, G.A. Crighan, M.C. Wang, M. Kuriyama, E.A. Johnson, L.A. Valenzuela and T.M. Chu.** 1983. Monoclonal antibody to human prostate antigen. Hybridoma 2 : 139-147.

7- **Wang, M.C., M. Kuriyama, L.D. Papsidero, R.M. Looor, L.A. Valenzuela, G.P. Murphy and T.M. Chu.** 1982. Prostate antigen of human cancer patients, P. 179-197. In H. Busch and L.C. Yeoman (ed). Methods in cancer research. Academic Press Inc, New York.

8- **Piironen T., Pettersson K., Suonpää M., Stenman U.-H., Oesterling J. E., Lövgren T. and Lilja H.** 1996. In vitro stability of free Prostate-Specific Antigen (PSA) and Prostate-Specific Antigen (PSA) complexed to α_1 -antichymotrypsin in blood samples. Urology 48 (6A) : 81-87.



Temperature limitation



Consult operating instructions



Do not re-use



For *in vitro* diagnostic use

Manufactured by VEDALAB - France