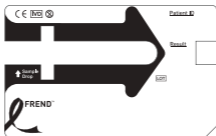


FREND PSA Plus

 FRPS 025



- English
- German
- Italian
- Spanish
- French
- Portuguese

FREND PSA Plus

Rapid quantitative assay for Prostate Specific Antigen

REF FRPS 025

IVD For *in vitro* diagnostic use only



Caution!

The use of this device is restricted to, by, or on the order of a physician. Because of differences in reagent specificity and assay methods, the concentration of PSA in a given specimen may vary with devices from different manufacturers. Values obtained with different assay methods cannot be used interchangeably. It is mandatory that results reported by the laboratory to the physician include the identity of the assay used. If the assay method for PSA is changed during the course of monitoring patients with serial PSA levels, baseline values for the patients being serially monitored must be confirmed by additional sequential testing.

1. Name and Intended Use

The FRENDS PSA Plus is designed for in vitro DIAGNOSTIC USE ONLY for the quantitative measurement of total Prostate Specific Antigen (PSA) in human serum, heparinized plasma, and EDTA plasma using the FRENDS™ System. This device is indicated for the serial measurement of total PSA in serum, heparinized plasma and EDTA plasma to be used as an aid in the management of patients with prostate cancer.

2. Summary and Explanation of Test

Prostate-specific antigen (PSA) is a single-chain glycoprotein with molecular weight of 34 kilodaltons.^{1, 2, 3} As a serine protease with chymotrypsin-like activity, PSA belongs to the kallikrein family. In blood, PSA exists as a free or complex form with protease inhibitors such as α -1-antichymotrypsin (ACT). Total PSA represents the sum of both free and complex forms.⁴ PSA is uniquely associated with prostate tissues from normal, inflamed or cancerous stages. Elevated PSA in serum or plasma is found in patients with prostate cancer, benign prostatic hypertrophy, or inflammatory tissues. Studies on a variety of PSA methods have shown that PSA can be useful as an indicator for the diagnosis and management of prostate cancer.⁵

PSA has been found in normal, benign hyperplastic, and malignant prostatic tissue, in metastatic prostatic carcinoma, and also in prostatic fluid as well as in seminal fluid.⁶ PSA is not found in any other tissue in men, and it is not produced by cancers originating in the lung, colon, rectum, stomach, pancreas or thyroid. Though increased concentrations of PSA are found in the serum of patients with benign prostate hyperplasia (BPH), prostatitis and prostate infections and inflammation, they are also found in patients with cancer of the prostate.^{8,9} PSA measurement is an essential tool in assessing the status of disease in patients with prostate cancer when serial samples are measured over time.¹⁰ The clinical value realized by monitoring tPSA concentrations in patients with prostate cancer regardless of the treatment regimen is well known.¹¹ Since the mid-1980's, there has been a growing body of literature concerning the utility of Prostate Specific Antigen (PSA) for both the monitoring and detection of prostate cancer (CaP).

3. Principle of the assay

The FRENDS PSA Plus is a rapid quantitative "sandwich" immunoassay using fluorescent nanoparticles which measures the concentration of total PSA. 35 μ L of patient serum or plasma (heparin or EDTA only) is manually presented to the inlet on the individual single-unit test cartridge where it is mixed with fluorescent nano-particles conjugated with PSA antibodies. PSA molecules

in the specimen bind to conjugated antibodies to form immune complexes which then move by capillary action through the reagent cartridge channel to the detection area. When the specimen reaches the test zone, it hydrates dried solid-phase anti-PSA antibodies. PSA-fluorescent particle-immune complexes in the specimen are grabbed by the capture antibodies to form sandwich immune-complexes.

The residual PSA-unbound fluorescent nano-particles conjugated with PSA-antibodies pass through the test zone and bind to PSA antigens in the reference zone. As the sample moves forward to the waste reservoir, non-specific binding components are washed away. The intensity of fluorescence measured by a light source (laser) is proportional to the amount of total PSA in the original sample. The result is calculated using information stored on the lot specific FRENDS PSA Plus Code Chip and then is displayed on the FRENDS™ System screen. A hard copy printout can be obtained if desired. A ratio calculated between the Reference zone and the Test zone corrects for test-to-test variations.

Total PSA concentration in a sample analyzed with the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System correlates directly with the fluorescence intensity - the higher the tPSA concentration, the greater the fluorescence. The FRENDS PSA Plus has a measuring range determined as 0.05 ng/mL to 25.0 ng/mL.

The FRENDS PSA Plus uses single-use transparent plastic cartridges in which all required reagents are stored within the cartridge itself. All that is added by the user is a 35 µL test sample. The cartridge is inserted into the FRENDS™ System in a prescribed fashion indicated with a black arrow on the cartridge. The reaction is read multiple times as the sample moves via capillary action through the cartridge. This type of assay system is sometimes referred to as one which incorporates laminar flow.

4. Material provided (FRENDS PSA Plus)

*Catalog Number: FRPS 025

FRENDS PSA Plus cartridge(s)	25
Pipette tip(s) (micro-pipette provided)	30
FRENDS PSA Plus Code chip	1
FRENDS PSA Plus Package Insert	1

One cartridge contains:

Monoclonal anti-PSA1 -----	48 ± 9.6 ng
Monoclonal anti-PSA2 -----	144 ± 28.8 ng
Fluorescent particles -----	2.4 ± 0.48 µg

5. Materials required but not provided

The following materials are not provided with the reagent but are required to perform Prostate Specific Antigen analysis using the FREND PSA Plus on the FREND™ System. They are available separately from NanoEntek.

Materials	Cat No.
FREND™ System	F10

6. Warning and Precautions

- The FREND PSA Plus cartridges are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- PSA Plus cartridges are only to be used on the FREND™ System.
- Allow cartridges to come to room temperature for 15 ~ 30 minutes prior to use.
- Avoid cross-contamination between samples by using a new pipette tip for each new specimen.
- Avoid high humidity, direct sunlight or heat in the area used for cartridge storage.
- Inaccurate results are possible if the sample used is contaminated in any way.
- Using specimens containing clotted fibrin could result in erroneous results.
- Over or under loading the cartridge with sample may result in inaccurate results.
- Cartridges should not be frozen.
- Human specimens are not used in the preparation of this product, however, since human specimens will be used for samples and other quality control products in the lab maybe derived from human materials, please use standard laboratory safety procedures when handling all specimens and controls.
- Do not use the cartridges beyond the expiration date on the pouch.
- Do not use the cartridge if the pouch is damaged or the seal is broken.
- Perform testing as specified in the Package Insert and User Manual.
- PSA Plus cartridges are disposable, single use devices. Do not reuse them under any circumstances.
- Keep the cartridge sealed in the pouch until just ready for use.
- Use the cartridge immediately after opening its pouch.
- Wear disposable gloves when handling the cartridges and the samples.

- Wash hands thoroughly and often after handling reagent cartridges or samples.
- For professional use only.

PSA Plus has been designed so that the high dose “hook effect” is not a problem for the vast majority of samples. Samples with PSA concentrations between 25 and 1,200 ng/mL will read > 25ng/mL. The “hook effect” phenomenon may occur only at PSA concentrations > 1,200 ng/mL.

7. Storage and Stability

All unopened materials are stable until the expiration date on the label when stored at the specified temperature. Cartridge stability has been demonstrated for twenty four months from the date of manufacture.

The expiration date is clearly indicated on the product box and the cartridges

Material	Cat. No
Refrigerator Temperature (2~8 °C): PSA Plus cartridges	FRPS 025
Room Temperature: Pipette Tips	None

8. Specimen collection and handling

Serum or plasma (heparinized or K3-EDTA only) is required for the assay. Citrated plasma SHOULD NOT BE USED.

No special patient preparation is necessary. To use serum, a blood sample is collected aseptically without additives by venous puncture. After allowing the sample to clot for 30 minutes at room temperature, the collection tube should be centrifuged for 10 minutes at 3000 rpm.

For heparinized or K3-EDTA plasma, a venous blood sample is collected aseptically with the designated additive. The plasma should be separated from the packed cells as soon as possible.

Prostatic manipulation has been shown to affect the PSA results so samples should be drawn before any prostatic procedures such as DRE, prostatic massage and TRUS are performed.

Samples may be stored at 2°-8°C for up to 6 hours prior to analysis. If the analysis is scheduled to be done at some later time, the sample should be stored frozen at -20°C or below for future use. Sample stability study was performed at -20°C only for three weeks by manufacturer but there are many

literatures available showing that total PSA kept frozen is stable for 3 months or longer.^{16,17,18}

Repeated freeze-thaw cycles should be avoided. Turbid serum samples or samples containing particulate matter such as fibrin clots or strands should be centrifuged before being tested. Prior to assay, slowly bring frozen samples to room temperature (18° C - 25° C) and mix gently but thoroughly before testing.

9. Procedure

1) Reagent Preparation

• Cartridges

There is no reagent preparation required to measure PSA using the FREND PSA Plus cartridge on the FREND™ System. However, the cartridges needed for a particular run should be removed from the refrigerator and allowed to reach room temperature for 15 ~ 30 minutes before they are used.

2) Calibration

The calibrators used during the reagent manufacture process to create the information placed electronically on the FREND PSA Plus Code chip are prepared gravimetrically and are compared to international reference standards (WHO International Prostate Specific Antigen (90:10) NIBSC code: 96/670). However, for the end user, there is no need for calibration as is generally performed on other automated laboratory equipment. All calibration statistics and information have been electronically stored on the FREND PSA Plus Code chip included in each box of FREND PSA Plus reagent. The FREND PSA Plus Code chip is specific for that manufactured lot of FREND PSA Plus. The appropriateness of the calibration information should always be checked by running sufficient external quality control materials as samples to verify that the results obtained for tPSA on the FREND™ System using the FREND PSA Plus cartridges of a particular lot meet the laboratory criterion for acceptability.

• FREND PSA Plus Code chip installation

Please refer to the FREND™ System User Manual for more detailed instructions relative to the Code Chip installation. Abbreviated instructions follow here:

- 1) Insert the FRENDSM System electrical cord into an appropriate outlet.
- 2) Insert the Code chip into the Code chip slot at the rear of the FRENDSM System following the arrows.
- 3) Press the **'Setup'** button on the **'Main'** screen.
- 4) Press the **'Code chip'** button on the **'Setup'** screen.
- 5) The information embedded on the FRENDSM PSA Plus Code chip is automatically saved on the FRENDSM System.
- 6) When the Code chip installation is completed, press the **'OK'** button to go to the **'Setup'** screen.
- 7) Press the **'Item'** button on the **'Setup'** screen.
- 8) Check the FRENDSM PSA Plus cartridge lot number and the installation date of the Code chip.
- 9) Press the **'Home'** button to go to the **'Main'** screen to begin running external quality control and patient samples.

3) Quality control

• Commercially Available Controls

Commercially available controls from a variety of manufacturers are available that contain tPSA as a measured analyte. It is recommended that these external controls be run at least once per day when testing is scheduled for FRENDSM PSA Plus on the FRENDSM System. A minimum of at least two (2) levels of controls, normal and abnormal, should be used. Individual laboratory policy will dictate exactly which control materials and lot numbers should be run, the frequency with which controls materials and lot numbers should be run, the frequency with which controls are to be tested, criteria for acceptance of the results and required corrective to be taken if results do not meet laboratory criteria.

Do not assay patient samples on the FRENDSM System using the FRENDSM PSA Plus if quality control results do not give expected values. Refer to your laboratory policies on how to determine acceptability of external control material results.

• Quality Control Procedure

External quality control materials to be assayed using the FRENDSM PSA Plus is defined by individual laboratory policy. The assay procedure used to obtain results on the selected external quality control material is identical to that used when testing patient samples and follows below.

If lyophilized quality control material is to be used, please reconstitute according to the manufacturer's instructions and allow the pellet to dissolve as stipulated until the material has gone into solution. Be sure to mix gently but thoroughly before testing.

Refrigerated and/or frozen control material should be treated as described below under preparation for specimen processing. All materials should be at room temperature use.

4) Specimen processing

• Preparation

Remove from the refrigerator sufficient cartridges of FREND PSA Plus to test the number of patient samples and required external quality control materials. Allow the cartridges to come to room temperature for 15 – 30 minutes prior to the start of the testing sequence

If using refrigerated patient samples, remove those from the refrigerator and allow to them to come to room temperature prior to testing. If frozen samples will be utilized, be sure these are removed from the freezer, thawed naturally and then mixed gently but thoroughly prior to testing.

There are no other reagents or sample preparations necessary.

• Assay procedure

- 1) Prepare the FREND PSA Plus and specimen.
- 2) Record the Sample ID on the cartridge in the designated area.
- 3) Drop the sample (35 μ L) into the sample inlet on the cartridge using a calibrated micro-pipette with a fresh pipette tip.
- 4) Press the 'Test' button on the 'Main' screen of the FREND™ System.
- 5) The system moves to the Patient ID screen automatically.
- 6) Type the Patient ID and press the 'Enter' button to begin the test.
- 7) Insert the cartridge into the cartridge slot using the cartridge arrows as a guide.

▲ Caution: Please check the direction of the cartridge before insertion and assure the insertion is complete.

- 8) When the reaction in the cartridge is complete within 3 minutes, the FREND™ System will automatically begin the reading process.
- 9) When the measurements are completed, the cartridge will automatically be expelled and the results displayed.

▲ Caution: Do not remove power from the FREND™ System while a cartridge is in the reading chamber. This may cause a system error.

- 10) If the FRENDS™ System is connected to the optional printer, press the 'Print' button and the results will be output on the printer paper.
- 11) For more detailed instructions, please refer to the 'FRENDS™ System User Manual.'




10. Procedural notes

If a specimen Prostate Specific Antigen concentration is found to be greater than the linearity limit of the assay of 25.0 ng/mL and a definitive result is required, the specimen should be diluted with female sera that has been previously measured on the FRENDS PSA Plus and found to contain < 0.05 ng/mL tPSA and then re-assayed according to the Assay Procedure. The recommended dilution for samples with an initial result of > 25.0 ng/mL is 1:10 or 1:50. It is desirable to dilute the sample so that the diluted sample reads between 2 and 20 ng/mL. Dilutions must be made manually and the final result on the diluted sample calculated manually by multiplying the result obtained on the diluted sample by the dilution factor.

11. Calculation of results

The FRENDS™ System performs all sample and cartridge handling operations automatically within the cartridge once the sample has been manually added to the sample well in the cartridge and the cartridge placed into the FRENDS™ System. The rate of fluorescence produced by the reaction is read at various intervals during the analysis process, blank reading are subtracted after which the net rate is automatically converted to total Prostate Specific Antigen concentration in ng/mL based upon information stored on the PSA Code chip. This result is then output on the screen and to the optional printer. It is also stored in memory on the FRENDS™ System.

Screen displayed for various concentration scenarios

Displayed result	Description
 <p>Lab: PINK</p> <p>Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM User ID : Nano Patient ID : T-01</p> <p>PSA < 0.05 ng/mL</p>	PSA Concentration Less than 0.05 ng/mL
 <p>Lab: PINK</p> <p>Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM User ID : Nano Patient ID : T10</p> <p>PSA 0.73 ng/mL</p>	PSA Concentration Not less than 0.05 ng/mL And not higher than 25.00 ng/mL
 <p>Lab: PINK</p> <p>Date/Time : 2012-1-18 11:30 AM User ID : Nano Patient ID : T-04</p> <p>PSA > 25.00 ng/mL</p>	PSA Concentration Higher than 25.00 ng/mL

12. Evaluation of Results

1) Quality Control

In order to monitor and evaluate the precision of the analytical performance, it is recommended that commercially available control samples be assayed daily.

The minimum recommendations for the frequency of running external control material are:

- When beginning a new lot of reagent, three levels of controls are run in order to validate the calibration.
- The three levels of controls are also repeated when certain service procedures are performed such as software updates, mechanical work on the optical system or system relocation.

If any external quality control sample values are out of the acceptable range, it will be necessary to investigate the problem before reporting patient results to assure there is not an instrument or software malfunction.

Each laboratory operates under a different set of regulations. Every laboratory must follow the standardized procedures acceptable to the regulatory agencies to whom the laboratory is responsible.

13. Limitations of the procedure

When used for diagnostic purposes, the results obtained from this assay should be used in conjunction with other data (e.g, symptoms, results of other tests, clinical impressions, medical history, therapy, etc.)

The FRENDS™ System, paired with a FRENDS PSA Plus cartridge, is programmed to report 25.0 ng/mL, as the highest concentration of PSA Plus measurable without dilution. The lowest measurable concentration is 0.05 ng/mL, the assay sensitivity limit.

Heterophilic antibodies in a sample have the potential to cause interference in immunoassay systems.^{12,13} Infrequently, PSA levels may appear elevated due to heterophilic antibodies present in the patient's serum or plasma or to nonspecific protein binding. If the PSA level is inconsistent with clinical evidence, additional PSA testing is suggested to confirm the results.

Although hemolysis has an insignificant effect on the assay, hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen prior to assay and results should be interpreted with caution.

Lipemia has an insignificant effect on the assay except in the case of gross lipemia where interference with the lateral flow of the sample in the cartridge may occur.

Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show falsely elevated or decreased PSA values.

Certain medications may interfere with assay performance. All results should be interpreted with respect to the clinical picture of the patient.

The concentration of tPSA in a given sample determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods, calibration, and antibody specificity.

Please refer to the Specimen Collection and Handling, Warnings and Precautions, Storage and Stability, and Procedural Notes sections in this insert sheet.

Clinical results must be interpreted with regard to medications administered to the patient.

The ability of the assay to detect both free and complexed forms of total PSA (free PSA complexed with alpha-1-antichymotrysin) on an equal molar basis (equipmolarity) has not been established.

14. Expected Values

As with every clinical diagnostic test, a reference interval corresponding to the characteristics of the population being tested should be determined by each laboratory. The FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System is to be used on serial blood samples to manage patients with prostate cancer.

Testing of ambulatory male subjects fifty years old and older who reported themselves as healthy without any known illnesses, diseases or conditions was performed using the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System and another commercially available PSA method. The currently accepted reference interval for tPSA of up to 4.0 ng/mL was validated for both systems.

As is true for all PSA methods, no tPSA results can be interpreted as being definitive for the presence or absence of prostate cancer. Patients with levels of PSA within the reference interval found in apparently healthy subjects may have prostate cancer; patients with levels exceeding those in the reference interval maybe prostate cancer free. Results from the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System should be interpreted in the light of other clinical findings and diagnostic procedures such as DRE, various imaging studies, etc. since certain treatments can cause PSA values to decrease by virtue of the treatment while the cancer is still progressing.

15. Reference Ranges

The interval given here was determined in serum samples from 196 apparently healthy male subjects from the age of 50 ~ 71 years.

Category	Men
Number of Samples (n)	196
Reference Interval	0~4.0 ng/mL

In this study, greater than 99% of the healthy subjects had serum PSA concentrations less than or equal to 4.0 ng/mL by FRENDS PSA Plus on both the FRENDS™ System and another commercially available tPSA fluorescent assay. Results of this study are shown below:

Category	Other FDA Cleared PSA	PSA Plus on FRENDS™
Number of Samples (n)	196	196
Mean (x)	0.71 ng/mL	0.83 ng/mL
SD	0.38 ng/mL	0.43 ng/mL
Range of Values	0.00~2.03 ng/mL	0.02~2.69 ng/mL
Median	0.66 ng/mL	0.77 ng/mL

Expected Values for Management of Patients with Prostate Cancer

Distribution of Serum FRENDS PSA Plus Concentrations Healthy, Benign and Various Malignant Disease States

	N	0~4.0 ng/mL	4.1~10.0 ng/mL	10.1~20.0 ng/mL	20.1~40.0 ng/mL	>40.0 ng/mL
Healthy Subjects	196					
Men ≥ 50 yrs	196	100%	0%	0%	0%	0%
Benign Disease/Cond*	410					
Benign Prostate	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabetes	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
HTN/Heart Disease	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
Benign GI	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Malignant Diseases*	302					
Prostate Cancer*	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Gleason Score 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Gleason Score 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Gleason Score 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Lung/Liver Cancer	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
GB, Gastric, Pancreatic	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Colorectal Cancer	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Other Cancers	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
TOTAL Subjects	908					

*Treated and untreated subjects

**Serial samples are not included in this cohort.

16. Performance characteristics

Performance characteristics were evaluated for the FREND PSA Plus as follows:

1) Accuracy

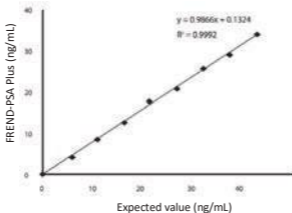
1a) Recovery

Known samples of PSA were added to a female serum specimen (0.01 ng/mL). The concentration of PSA was determined before and after the addition of the exogenous PSA and the percent recovery was calculated.

Concentration Added (ng/mL)	Observed Concentration (ng/mL)	Recovery (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Dilution Linearity

Specimens from a high concentration pool (34 ng/mL tPSA) were diluted with a low concentration pool following instructions in the CLSI protocol EP6-A document. Correlation with the expected linearity showed $R^2=0.9992$.



Dilution Linearity – FREN PSA Plus

Dilution Linearity – FREND PSA Plus

No.	Blank	1	2	3	4	5	6	7	High
Dilution	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
Test 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
Test 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
Test 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
Test 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
Test 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
Test 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
Mean (ng/mL)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.608	21.015	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV(%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Expected Value	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% Recovery		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1c) Comparative Analysis:

A group of well-characterized serum samples collected with IRB oversight from subjects with pathology-verified prostate cancer and stored at -70°C under monitored conditions were analyzed for total PSA. Results from the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System (y) were compared to those obtained using the TOSOH ST AIA-PACK PA assay (x). A total of 160 unique samples were analyzed in the study, however, only samples with tPSA results within the linearity of the FRENDS PSA Plus (up to 25.0 ng/mL: (n=143)) were used in the comparative analysis.

Slope: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Intercept: -0.01179 (95% CI: -0.2763; 0.2527)

Correlation Coefficient (R) = 0.9671 (95% CI: 0.9545 ~ 0.9763)

Number of Samples = 143

Range of FRENDS PSA Plus values: 0.04 ~ 29.99 ng/mL

Range of ST AIA-PACK PA values: 0.00 ~ 25.86 ng/mL

2) Precision

2a) Precision Testing Single Lot and Single Site

Precision was determined as described in the CLSI protocol EP5-A. Four clinical samples across the measuring range were assayed in replicates of two at two separated times per day for twenty days using a single lot of FREND PSA Plus cartridge. The findings follow showing repeatability, between-run, between-day and within-laboratory precision data.

Sample	Mean PSA (ng/mL)	Repeatability		Between-run		Between-day		Within-laboratory	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Precision Testing Multiple Lots and Multiple Sites

Three different lots of FREND PSA Plus were evaluated at three geographically diverse sites. Four replicates each of Material A, Material B, and Material C and two replicates of QC 1, QC 2 and QC 3 were evaluated in each of two runs performed for five days at each site. A total of 40 results on each material were generated at each of the three sites yielding a grand total of 120 replicates of each material. The data was analyzed using a CLSI format from EP5-A2 for an ANOVA analysis. Instrument-to-Instrument is the same as Site-to-Site in this scenario. As can be seen from the table below, the largest source of variation is the cartridge which would be the expected result. The FREND PSA Plus cartridge is a single use cartridge that contains all the reagents within the cartridge necessary to support the reactions.

%CV by Material						
Material						
Variation Source	MAT A (0.29 ng/mL)	MAT B (3.67 ng/mL)	MAT C (18.33 ng/mL)	QC 1 (0.30 ng/mL)	QC 2 (2.93 ng/mL)	QC 3 (20.25 ng/mL)
Site to Site	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Day to Day	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Lot to Lot	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
Inter-cartridge	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Total	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Specificity

The following substances were evaluated for potential cross-reactivity with the FREND PSA Plus at the concentrations indicated below. Testing was done according to the instructions recommended by CLSI protocol EP7-A. No significant cross-reactivity was found.

Specificity of FREND PSA Plus

No.	Substrate	Concentration
1	PAP (Prostate Acid Phosphatase)	10.0 ng/mL
2	Kallikrein	15.0 ng/mL

4) Analytical Sensitivity

The Limit of Detection (LoD) for the FREND PSA Plus was determined using the CLSI EP17-A protocol. The analytical sensitivity of the FREND PSA Plus was determined to be 0.03 ng/mL.

17. Interference

Interference is defined, for purposes of this study, to be recovery outside of 15% of the known specimen mean concentration. In other words, recovery from 85% to 115% of the expected is considered acceptable performance.

1) Endogenous Interference

These interference studies on endogenous substances were performed using the FREND PSA Plus on the FREND™ System according to the recommendations in the CLSI protocol EP7-A:

- Added hemoglobin (up to 500 mg/dL) does not interfere with the assay. Average recovery when added to serum containing tPSA at 1.0 and 4.0 ng/mL was 97.25%.
- Added unconjugated bilirubin (up to 20 mg/dL) does not interfere with the assay.
- Average recovery when added to serum containing tPSA at 1.0 and 4.0 ng/mL was 98.2%.
- Added gamma globulin (Total Protein) up to 5.0 g/dL does not interfere with the assay. Average recovery when added to serum containing tPSA at 1.0 and 4.0 ng/mL was 106.3%
- Added triglyceride up to 3 g/dL does not interfere with this assay. Average recovery when added to serum containing tPSA at 1.0 and 4.0 ng/mL was 101.5%.

2) Pharmaceutical Interference

The following chart shows the interference studies performed using the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System for various drugs that might be found in the serum/plasma of men diagnosed with prostate cancer. The concentrations of the drugs that were added to the test samples and controls at base concentrations of tPSA of 1.0 ng/mL and 4.0 ng/mL are shown as are the % recoveries on the far right side of the chart. It is unlikely since the substances without a tertiary structure similar to PSA would interfere. The testing showed that indeed there was no significant interference from the tested drugs that would affect the interpretation of a tPSA result as assayed on the FRENDS PSA Plus.

Interference Study Results for FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System

No.	Substrate	Concentration	Average Recovery %
1	Flutamide	10 µg/mL	94.50%
2	Diethylstilbestrol (DES)	5 µg/mL	103.80%
3	Goserelin	40 ng/mL	103.20%
4	Tamsulosin	100 ng/mL	98.85%
5	Acetaminophen	250 ng/mL	100.45%
6	Acetylsalicylic acid	600 µg/mL	95.85%
7	Leuprolide	275 ng/mL	101.50%
8	Ibuprofen	500 µg/mL	102.25%
9	Finasteride	250 mg/mL	93.60%
10	Docetaxel	10 µg/mL	114.45%

18. Serial Measurements and Concordance with Medical Status

Since the FRENDS PSA Plus indication for use is that the assay results will be used as a tool in managing the care for patients with prostate cancer, it is imperative that the changes in the marker are compared to clinical status changes to determine the efficacy of the test. Therefore, as an important part of the clinical studies performed to characterize the FRENDS PSA Plus, serial samples collected longitudinally from patients previously diagnosed with prostate cancer and treated in a variety of ways over the clinical course of their disease (including prostatectomy, radioactive seeds, external beam radiation, chemotherapy, hormone therapy alone or in combination) were assayed for tPSA with the FRENDS PSA Plus on the FRENDS™ System. The

same samples were also measured for tPSA by another FDA cleared method.

For each point to point in a sample serial set, the change in the tPSA concentration was compared to the change in the clinical status of the patients as measured by other laboratory tests, patient interviews, physical examinations and imaging studies of a variety of types and recorded on a Clinical Report Form.

These changes in the tPSA marker concentration were defined as significant or not by multiplying the overall CV of the assay at the midrange (as determined by the test imprecision study) by a factor of 2.5 to define a percentage change different from what would be expected because of assay imprecision. For the FRENED PSA Plus assay with an overall mid-range CV of 8.5%, significance was set at a change in excess of 20%. Any increase in value from one time period to the next that did not exceed 20% was logged as $\leq 20\%$ change. For the other FDA using that method's significance was set at a change $> 8.5\%$. This was calculated using that method's published overall mid-range CV of $3.4\% \times 2.5$.

Physician's impressions regarding subject's disease status at each blood draw were recorded on CRFs for all serial PSA samples. The status information at one visit was compared with the status at the next and a change in status was determined for the visit pair. The change in clinical status from the physician's impression was then compared to significant changes in the PSA concentration of each sample as measured by both the test device (FRENED PSA Plus) and the predicate device (FDA Cleared Assay). The results of these comparisons are shown below where clinical status was divided into two group: those visit pairs showing progression and those showing no disease progression per the visit to visit status.

1) Samples with no Progression (Negative Concordance)

FRENED PSA Plus	Other FDA Cleared PSA Assay		
	$\geq 8.5\%$	$< 8.5\%$	Total
$\geq 20\%$	31	15	46
$< 20\%$	15	67	82
Total	46	82	128
NC (FRENED PSA Plus)	0.641		
NC (AIA-PACK PSA)	0.641		
Different	0.000		

There is no difference in the Negative Concordance (NC) between the two assays.

2) Samples with Progression (Positive Concordance)

FREND PSA Plus	Other FDA Cleared PSA Assay		
	≥ 8.5%	<8.5%	Total
≥ 20%	83	1	84
< 20%	5	19	24
Total	88	20	108
NC (FREND PSA Plus)	0.778		
NC (AIA-PACK PSA)	0.815		
Different	0.037		

A McNemar test of the paired data in the above table yields a p value of 0.218. The associated 95% confidence interval for the true difference is – 0.0157 to 0.0551. Both estimators agree: there are no statistically significant differences in the Positive Concordances (PC) between the two assays.

Below is a chart comparing the concordances of the FREND PSA Plus assay and the other FDA cleared PSA assay. Based on the 95% confidence intervals there appears to be no differences between the concordances for the FREND PSA Plus assay and the other FDA cleared PSA assay.



















Concordance	FREND PSA Plus	95% CI*	FDA Cleared PSA	95% CI*
Positive	77.8%	69.8% to 85.3%	81.5%	73.8% to 88.7%
Negative	64.1%	55.1% to 71.5%	64.1%	55.1% to 71.5%
Total	70.3%	64.1% to 76.9%	72.0%	66.1% to 77.5%

* Confidence Intervals are based on 10,000 resamples of the patient data.

19. References

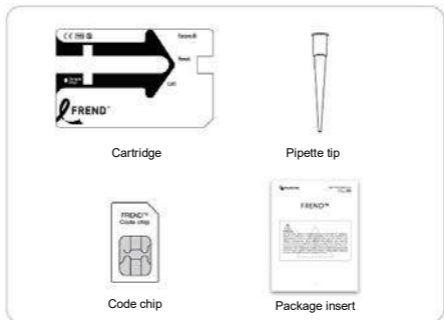
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471-2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203-1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol.13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press.*
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Glossary of Symbols

	Caution, warning, Consult accompanying documents
	Catalogue number/Reference number
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consult Instructions for Use An electronic instructions for use (eIFU) indicator (website address) may accompany the symbol when used to indicate an instruction to consult an eIFU.
	Lot number/Batch number
	Use by YYYY-MM-DD or YYYY-MM
	Manufacturer
	CE mark with identification number of notified body
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests
	Do not reuse
	Do not use if package is damaged
	For prescription use only CAUTION: Federal (U.S.) law restricts this device to sale by or on order of a physician.
	US Corporation
	Patient ID
	Result
	Sample Drop
	Authorized representative in the European Community

UK Representative	Authorized representative in United Kingdom
CH REP	Authorized representative in Switzerland
BRH	Authorized representative in Brazil

Kit Contents



Revised on 2023.02

FREND PSA Plus

Quantitativer schnelltest für Prostata-spezifisches Antigen

REF FRPS 025

IVD Nur für die professionelle *in-vitro*-diagnostische Verwendung.



Achtung!

Dieses Gerät darf nur von, durch oder auf Anweisung eines medizinischen Fachpersonals verwendet werden. Da es unterschiedliche Reagenzienspezifitäten und Testmethoden gibt, kann sich die PSA-Konzentration in einer bestimmten Probe bei Geräten verschiedener Hersteller unterscheiden. Die mit verschiedenen Testmethoden ermittelten Werte können nicht austauschbar verwendet werden. Die dem medizinischen Fachpersonal vom Labor mitgeteilten Ergebnisse müssen zwingend die Identität des verwendeten Tests enthalten. Erfolgt im Verlauf der Überwachung von Patienten mit seriellen PSA-Werten ein Wechsel der Testmethode für PSA, müssen die Ausgangswerte für die seriell überwachten Patienten durch zusätzliche sequenzielle Tests bestätigt werden.

1. Bezeichnung und Verwendungszweck

Der FRENDS PSA Plus ist nur für die *in-vitro*-Diagnostik zur quantitativen Messung des gesamten prostataspezifischen Antigens (PSA) in Humanserum, heparinisiertem Plasma und EDTA-Plasma unter Verwendung des FRENDS™ Systems mit Unit-use-Reagenzien bestimmt. Dieses Gerät ist für die serielle Messung des Gesamt-PSA (tPSA) in Serum, heparinisiertem Plasma und EDTA-Plasma als Hilfsmittel bei der Behandlung von Patienten mit Prostatakrebs angezeigt.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Das prostataspezifische Antigen (PSA) ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 34 Kilodalton.^{1, 2, 3} Als Serinprotease mit Chymotrypsin-ähnlicher Aktivität zählt PSA zur Kallikrein-Genfamilie. Im Blut liegt PSA in einer freien oder gebundenen Form mit Proteaseinhibitoren wie α -1-Antichymotrypsin (ACT) vor. Beim Gesamt-PSA handelt es sich um die Summe der freien und gebundenen Formen.⁴ PSA steht in eindeutigen Zusammenhang mit Prostatagewebe in normalen, entzündeten oder krebsartigen Stadien. Erhöhte PSA-Werte im Serum oder Plasma werden bei Patienten mit Prostatakrebs, gutartiger Prostatahypertrophie oder entzündlichen Geweben festgestellt. Aus Studien zu verschiedenen PSA-Methoden geht hervor, dass der PSA-Wert bei der Diagnose und Behandlung von Prostatakrebs von Nutzen sein kann.

Neben normalem, gutartigem, hyperplastischem und bösartigem Prostatagewebe wurde PSA auch in metastasierendem Prostatakarzinom sowie in Prostataflüssigkeit und Samenflüssigkeit nachgewiesen.⁶ Bei Männern kommt PSA in keinem anderen Gewebe vor und wird auch nicht von Krebserkrankungen der Lunge, des Dickdarms, des Mastdarms, des Magens, der Bauchspeicheldrüse oder der Schilddrüse gebildet.⁷ Erhöhte PSA-Konzentrationen finden sich nicht nur im Serum von Patienten mit gutartiger Prostatahyperplasie (BPH), Prostatitis, Prostatainfektionen und -entzündungen, sondern auch bei Patienten mit Prostatakrebs.^{8, 9} Für Patienten mit Prostatakrebs ist die PSA-Messung ein unverzichtbares Instrument zur Beurteilung des Krankheitszustands, und zwar dann, wenn die Proben in regelmäßigen Abständen gemessen werden.¹⁰ Es ist wohl bekannt, dass die Überwachung der tPSA-Konzentration bei Patienten mit Prostatakrebs unabhängig vom Behandlungsschema von klinischem Nutzen ist.¹¹ Schon seit Mitte der 1980er Jahre gibt es immer mehr Literatur über den Nutzen des prostataspezifischen Antigens (PSA) sowohl für die Überwachung als auch für den Nachweis von Prostatakrebs (CaP).

3. Prinzip des Tests

Beim FRENDS PSA Plus handelt es sich um einen schnellen quantitativen „Sandwich“-Immunoassay mit fluoreszierenden Nanopartikeln zur Messung der Konzentration des Gesamt-PSA. 35 µl Patientenserum oder -plasma (nur Heparin oder EDTA) werden manuell in den Einlass der einzelnen Testkartusche gegeben und mit den mit PSA-Antikörpern konjugierten fluoreszierenden Nanopartikeln vermischt. Dabei bilden die PSA-Moleküle in der Probe mit den konjugierten Antikörpern Immunkomplexe, die sich dann durch Kapillarwirkung durch den Kanal der Reagenzienkartusche zum Nachweisbereich bewegen. Beim Erreichen der Testzone hydratisiert die Probe getrocknete Anti-PSA-Antikörper in fester Phase. Die in der Probe enthaltenen Immunkomplexe mit PSA-Fluoreszenzpartikeln werden von den Fänger-Antikörpern abgefangen und bilden Sandwich-Immunkomplexe. Die mit den PSA-Antikörpern konjugierten und nicht an PSA gebundenen fluoreszierenden Nanopartikel passieren die Testzone und binden an PSA-Antigene in der Referenzzone. Bei der Weiterleitung der Probe in den Abfallbehälter werden unspezifische Bindungskomponenten gewaschen. Die mittels einer Lichtquelle (Laser) gemessene Fluoreszenzintensität ist proportional zur PSA-Gesamtmenge in der Originalprobe. Das Ergebnis wird anhand der auf dem chargenspezifischen FRENDS PSA Plus Code-Chip gespeicherten Informationen berechnet und anschließend auf dem Bildschirm des FRENDS™ System angezeigt. Ein Papiausdruck ist auf Wunsch auch erhältlich. Ein zwischen der Referenzzone und der Testzone berechnetes Verhältnis dient zur Korrektur von Abweichungen von Test zu Test.

Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Gesamt-PSA-Konzentration in einer mit dem FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System analysierten Probe und der Fluoreszenzintensität – je höher die tPSA-Konzentration, desto stärker die Fluoreszenz. Beim FRENDS PSA Plus wird ein Messbereich von 0.05 ng/ml bis 25.0 ng/ml vorgegeben.

Beim FRENDS PSA Plus werden transparente Einweg-Kunststoffkartuschen verwendet, wobei alle erforderlichen Reagenzien in der Kartusche aufbewahrt werden. Der Benutzer muss lediglich eine 35 µl große Testprobe hinzufügen. Die Probenkartusche wird in der vorgeschriebenen Weise in das FRENDS™ System eingesetzt, und zwar mit Hilfe eines schwarzen Pfeils auf der Kartusche. Dabei wird die Reaktion mehrfach abgelesen, während die Probe durch Kapillarwirkung durch die Kartusche fließt. Diese Art von Testsystem wird manchmal auch als System mit laminarer Strömung bezeichnet.

4. Mitgeliefertes Material (FREND PSA Plus) * Bestellnummer: FRPS 025

FREND PSA Plus Kartuschen	25
Einweg-Pipettenspitzen (Mikropipettierer mitgeliefert)	30
FREND PSA Plus Code-Chip	1
FREND PSA Plus Packungsbeilage	1

Eine Kartusche enthält:

Monoklonales Anti-PSA1 -----	48 ± 9.6 ng
Monoklonales Anti-PSA2 -----	144 ± 28.8 ng
Fluoreszierende Partikel -----	2.4 ± 0.48 µg

5. Zusätzlich benötigte Materialien (nicht enthalten)

Die folgenden Materialien werden zwar nicht mit dem Reagenz mitgeliefert, sind aber für die Durchführung der Prostata-spezifischen Antigen-Analyse mit dem FREND PSA Plus auf dem FREND™ System erforderlich. Sie sind separat bei NanoEntek erhältlich.

Materialien	Kat.Nr.
FREND™ System	F10

6. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Die FREND PSA Plus-Kartuschen sind ausschließlich für die *in-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die PSA Plus-Kartuschen sind nur für das FREND™ System geeignet.
- Die Kartuschen vor dem Gebrauch für 15-30 Minuten bei Raumtemperatur einlegen und auf Raumtemperatur bringen. Unbedingt für jede neue Probe eine neue Pipettenspitze verwenden, um jegliche Kreuzkontamination von Proben zu vermeiden.
- Bei der Lagerung von Kartuschen hohe Luftfeuchtigkeit, direkte Sonneneinstrahlung oder Hitze vermeiden.
- Bei einer Verunreinigung der verwendeten Probe sind ungenaue Ergebnisse möglich.
- Bei Verwendung von fibrinhaltigen Proben kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen.
- Eine Über- oder Unterbeladung der Kartusche mit Proben kann ebenfalls zu ungenauen Ergebnissen führen.
- Die Kartuschen dürfen nicht tiefgekühlt gelagert werden.

- Bei der Herstellung dieses Produkts werden keine menschlichen Proben verwendet. Da jedoch menschliche Proben als Proben verwendet werden und andere Qualitätskontrollprodukte im Labor von menschlichen Materialien stammen können, sind beim Umgang mit allen Proben und Kontrollen die üblichen Laborsicherheitsverfahren anzuwenden.
- Verwenden Sie die Kartuschen nicht nach dem auf der äußeren Verpackung angegebenen Verfallsdatum.
- Verwenden Sie die Kartusche nicht, wenn der Folienbeutel beschädigt oder das Siegel gebrochen ist.
- Die Tests sind wie in der Packungsbeilage und im Benutzerhandbuch beschrieben durchzuführen.
- Die PSA Plus-Kartuschen sind Einwegprodukte, die nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt sind. Sie dürfen unter keinen Umständen wiederverwendet werden.
- Lassen Sie die Kartusche bis kurz vor der Verwendung versiegelt in ihrem Folienbeutel.
- Verwenden Sie die Kartusche sofort nach dem Öffnen des Folienbeutels.
- Beim Umgang mit den Kartuschen und den Proben sind stets Einweghandschuhe zu tragen.
- Nach der Handhabung von Reagenzienkartuschen oder Proben die Hände gründlich und häufig waschen.
- Nur für den professionellen Gebrauch.

PSA Plus wurde so konzipiert, dass der sogenannte „High-Dose-Hook-Effekt“ für die große Mehrheit der Proben kein Problem darstellt. Bei Proben mit PSA-Konzentrationen zwischen 25 und 1,200 ng/ml werden > 25 ng/ml angezeigt. Das „Hook-Effekt“-Phänomen ist nur bei PSA-Konzentrationen > 1,200 ng/ml möglich.

7. Lagerung und Haltbarkeit

Alle ungeöffneten Materialien bleiben bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar, wenn sie bei der angegebenen Temperatur aufbewahrt werden. Die Haltbarkeit der Kartuschen wurde für vierundzwanzig Monate ab dem Herstellungsdatum nachgewiesen.

Das Verfallsdatum ist deutlich auf dem Produktkarton und den Kartuschen angegeben

Materialien	Kat. Nr.
Kühlschranktemperatur (2-8 °C): PSA Plus Kartuschen	FRPS 025
Kühlschranktemperatur (18-25 °C): Pipettenspitzen	Keine

8. Probenentnahme und Handhabung

Für den Test wird Serum oder Plasma (nur heparinisiert oder Ks-EDTA) benötigt. Citriertes Plasma DARF NICHT VERWENDET WERDEN.

Es ist keine besondere Vorbereitung des Patienten erforderlich. Zur Verwendung von Serum erfolgt eine aseptische Blutentnahme ohne Zusätze durch Venenpunktion. Nach einer 30-minütigen Gerinnungszeit bei Raumtemperatur sollte das Entnahmeröhrchen 10 Minuten lang bei 3000 U/min zentrifugiert werden.

Bei heparinisiertem oder Ks-EDTA-Plasma erfolgt eine aseptische Entnahme einer venösen Blutprobe mit dem vorgesehenen Zusatzstoff. Die Trennung des Plasmas von den gepackten Zellen sollte so bald wie möglich erfolgen.

Nachweislich können Manipulationen an der Prostata die PSA-Ergebnisse beeinflussen. Die Entnahme von Proben sollte daher vor der Durchführung von Prostatauntersuchungen wie DRU, Prostatamassage und TRUS erfolgen.

Die Proben können vor der Analyse bis zu 6 Stunden bei 2-8 °C gelagert werden. Erfolgt die Analyse erst zu einem späteren Zeitpunkt, sollte die Probe für die spätere Verwendung bei -20 °C oder darunter eingefroren gelagert werden. Die vom Hersteller durchgeführte Probenstabilitätsstudie wurde bei -20 °C nur für drei Wochen durchgeführt, aber in der Literatur gibt es zahlreiche Belege dafür, dass eingefrorenes Gesamt-PSA für 3 Monate oder länger haltbar ist^{16, 17, 18}.

Wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen sind zu vermeiden. Bei trüben Serumproben oder Proben, die Partikel wie Fibrinklumpchen oder -stränge enthalten, muss vor dem Test zentrifugiert werden. Gefrorene Proben müssen vor dem Test auf Raumtemperatur (18-25 °C) gebracht und vorsichtig, aber gründlich gemischt werden.

9. Testverfahren

1) Vorbereitung der Reagenzien

• Kartuschen

Es ist keine Vorbereitung der Reagenzien zur Messung von tPSA mit der FREND PSA Plus Kartusche auf dem FREND™ System erforderlich. Allerdings sind die für einen bestimmten Testlauf benötigten Kartuschen aus dem Kühlschrank zu nehmen und vor der Verwendung für 15 bis 30 Minuten auf Raumtemperatur zu bringen.

2) Kalibrierung

Die bei der Kartuschenherstellung verwendeten Kalibratoren zur Erstellung der auf dem FREND PSA Plus Code-Chip elektronisch gespeicherten Informationen werden gravimetrisch hergestellt und mit internationalen Referenzstandards verglichen (WHO Internationales Prostata-spezifisches Antigen (90:10) NIBSC-Code: (90:10) NIBSC-Code: 96/670). Für den Endanwender entfällt jedoch durch die Verwendung von Unit-use-Reagenzien die Notwendigkeit einer Kalibrierung, wie sie bei anderen automatisierten Laborgeräten üblich ist. Alle Informationen und Statistiken zur Kalibrierung sind elektronisch auf dem mit jeder FREND PSA Plus Kartusche mitgelieferten FREND PSA Plus Code-Chip gespeichert. Der FREND PSA Plus Code-Chip ist speziell für die hergestellte Charge von FREND PSA Plus bestimmt.

Zur Überprüfung der Angemessenheit der Kalibrierungsdaten sollten immer genügend Qualitätskontrollmaterialien als Proben verwendet werden, um sicherzustellen, dass die mit dem FREND™ System unter Verwendung der FREND PSA Plus Kartuschen einer bestimmten Charge erzielten tPSA-Ergebnisse die Akzeptanzkriterien des Labors erfüllen.

• Installation des FREND PSA Plus Code-Chips

Ausführliche Anweisungen zur Installation des Code-Chips entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch für das FREND™ System. Nachfolgend finden Sie eine Kurzanleitung:

- (1) Schließen Sie das Netzkabel des FRENDS™ Systems an eine geeignete Steckdose an.
- (2) Führen Sie den Code-Chip in den Steckplatz für den Code-Chip auf der Rückseite des FRENDS™ Systems ein und folgen Sie dabei den Pfeilen.
- (3) Drücken Sie die Taste „Setup“ auf dem Hauptbildschirm.
- (4) Drücken Sie die Taste „Code Chip“ auf dem Bildschirm „Setup“.
- (5) Die auf dem FRENDS PSA Plus Code-Chip enthaltenen Informationen werden automatisch im FRENDS™ System gespeichert.
- (6) Drücken Sie nach Abschluss der Installation des Code-Chips die Taste „OK“, um zum Bildschirm „Setup“ zu gelangen.
- (7) Drücken Sie die Taste „Item“ auf dem Bildschirm „Setup“.
- (8) Überprüfen Sie die Chargennummer der FRENDS PSA Plus Kartusche und das Installationsdatum des Code-Chips.
- (9) Drücken Sie die Taste „Home“, um zum Bildschirm „Main“ zu gelangen oder die Qualitätskontrolle der Patientenproben durchzuführen.

3) Qualitätskontrolle

• Elektronische Qualitätskontrolle

Um zu verhindern, dass fehlerhafte Messergebnisse ausgegeben werden können, muss benutzungstäglich vor den Patiententestungen eine Überprüfung des FRENDS™ System erfolgen. Hierzu wird eine „Q.C. Pouch“ zu jedem FRENDS™ System mitgeliefert. Beachten Sie hierzu auch die FRENDS™ System Bedienungsanleitung.

Das System überprüft damit drei wichtige Funktionen:

- Step1. Laser power (Laserleistung)
- Step2. Laser alignment (Laser Ausrichtung)
- Step3. Calculate ratio (Berechnungsverhältnis)

Eine elektronische Qualitätskontrolle sollte ebenfalls erfolgen

- (1) bei der Ersteinrichtung des FRENDS™ System,
- (2) wenn das FRENDS™ System transportiert oder bewegt wurde,
- (3) oder dem Anwender sonstige Unstimmigkeiten auffallen.

• Messtechnische Qualitätskontrollen

Im Handel sind Kontrollen von verschiedenen Herstellern (NanoEntek, Bio-Rad, Cliniqa) erhältlich, die tPSA als gemessenen Analyten enthalten. Bei

geplanten Tests für FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System wird empfohlen, diese Kontrollen mindestens einmal pro Woche durchzuführen. Dabei sollten abwechselnd mindestens zwei (2) Kontrollstufen, eine normale und eine abnormale, verwendet werden. In den Richtlinien des jeweiligen Labors ist genau festgelegt, welche Kontrollmaterialien und Chargennummern zu verwenden sind, wie häufig die Kontrollen zu testen sind, welche Kriterien für die Akzeptanz der Ergebnisse gelten und welche Korrekturmaßnahmen zu ergreifen sind, wenn die Ergebnisse nicht den Laborkriterien entsprechen.

Es dürfen keine Patientenproben auf dem FRENDS™ System mit dem FRENDS PSA Plus untersucht werden, wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle nicht die erwarteten Werte ergeben. Das FRENDS™ System muss hierbei für die weitere Patiententestung sofort gesperrt werden. Informationen zur Bestimmung der Akzeptanz der Ergebnisse des Kontrollmaterials entnehmen Sie den lokalen Richtlinien und der Packungsbeilage des jeweiligen Kontrollmaterials.

• **Verfahren zur Qualitätskontrolle**

Die Festlegung von Qualitätskontrollmaterialien, die mit dem FRENDS PSA Plus getestet werden sollen, erfolgt nach den Richtlinien des jeweiligen Labors. Das Testverfahren zur Ermittlung der Ergebnisse für die ausgewählten Qualitätskontrollmaterialien ist identisch mit dem Testverfahren für Patientenproben und wird im Folgenden beschrieben.

Bei Verwendung von lyophilisiertem Qualitätskontrollmaterial muss das Pellet nach den Anweisungen des Herstellers rekonstituiert und wie vorgeschrieben aufgelöst werden, bis das Material gelöst ist. Das Material vor dem Test unbedingt vorsichtig, aber gründlich mischen.

Bei gekühltem und/oder gefrorenem Kontrollmaterial ist wie unten unter Vorbereitung der Probenverarbeitung beschrieben vorzugehen. Alle Materialien sind vor der Verwendung auf Raumtemperatur zu bringen und es ist die jeweilige Packungsbeilage der Qualitätskontrolle zu beachten.

4) Verarbeitung der Proben

• **Vorbereitung**

Nehmen Sie genügend FRENDS PSA Plus Kartuschen aus dem Kühlschrank, um die Patientenproben oder die erforderlichen Qualitätskontrollmaterialien

zu testen. Die Kartuschen vor Beginn der Testsequenz 15-30 Minuten lang auf Raumtemperatur kommen lassen.

Bei Verwendung gekühlter Patientenproben diese aus dem Kühlschrank nehmen und vor dem Test auf Raumtemperatur kommen lassen. Bei Verwendung gefrorener Proben ist darauf zu achten, dass diese aus dem Gefrierschrank genommen, auf natürliche Weise aufgetaut und dann vor dem Test vorsichtig, aber gründlich gemischt werden.

Es sind keine weiteren Reagenzien oder Probenvorbereitungen erforderlich.

• Testverfahren

- (1) Bereiten Sie die FREND PSA Plus und die Probe vor.
- (2) Vermerken Sie die Proben-ID auf der Kartusche in dem dafür vorgesehenen Bereich.
- (3) Geben Sie die Probe (35 µL) mit einer kalibrierten Mikropipette und einer neuen Pipettenspitze in den Probeneinlass der Kartusche.
- (4) Drücken Sie die Taste „Test“ auf dem Hauptbildschirm des FREND™ System.
- (5) Der Bildschirm des FREND™ System wechselt automatisch zum Bildschirm mit der Patienten-ID.
- (6) Geben Sie die Patienten-ID ein und drücken Sie die Taste „Enter“, um den Test zu starten.
- (7) Führen Sie die Kartusche in den Kartuschensteckplatz ein und orientieren Sie sich dabei an den Pfeilen der Kartusche.
▲ Achtung: Bitte überprüfen Sie die Richtung der Kartusche, bevor Sie diese einführen, und achten Sie darauf, dass sie vollständig eingelegt ist.
- (8) Nach 3 Minuten ist die Reaktion in der Kartusche abgeschlossen, und das FREND™ System beginnt automatisch mit dem Ablesen.
- (9) Nach Abschluss der Messungen erfolgt automatisch das Auswerfen der Kartusche und die Ergebnisse werden angezeigt.
▲ Achtung: Trennen Sie das FREND™ System nicht vom Strom, während sich eine Kartusche in der Lesekammer befindet. Dies kann zu einem Systemfehler führen.
- (10) Wenn das FREND™ System an einen optionalen Drucker angeschlossen ist, drücken Sie die Taste „Print“ (Drucken) und die Messergebnisse werden ausgedruckt.
- (11) Ausführlichere Anweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch für das FREND™ System.

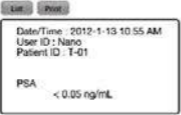
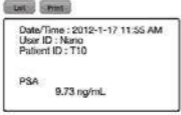

10. Hinweise zum Verfahren

Wenn die Prostata-spezifische Antigenkonzentration einer Probe über der Linearitätsgrenze des Tests von 25.0 ng/ml liegt und ein definitives Ergebnis erforderlich ist, sollte die Probe mit einem zuvor mit dem FRENDS PSA Plus gemessenen weiblichen Serum verdünnt werden, das einen tPSA-Gehalt von < 0.05 ng/ml aufweist, und dann gemäß dem Testverfahren erneut getestet werden. Die empfohlene Verdünnung für Proben mit einem ursprünglichen Ergebnis von > 25.0 ng/ml liegt bei 1:10 oder 1:50. Idealerweise sollte die Probe so verdünnt werden, dass das Ergebnis der verdünnten Probe zwischen 2 und 20 ng/ml liegt. Die Verdünnungen müssen manuell vorgenommen und das Endergebnis der verdünnten Probe manuell berechnet werden, indem das mit der verdünnten Probe erzielte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert wird.

11. Berechnung der Ergebnisse

Beim FRENDS™ System erfolgen alle Operationen zur Proben- und Kartuschenhandhabung automatisch innerhalb der Kartusche, nachdem die Probe manuell in die Probenvertiefung der Kartusche gegeben und die Kartusche in das FRENDS™ System eingesetzt wurde. Die durch die Reaktion erzeugte Fluoreszenzrate wird in verschiedenen Intervallen während des Analyseprozesses abgelesen, Leerwerte werden subtrahiert, woraufhin die Nettorate basierend auf den auf dem PSA-Code-Chip gespeicherten Informationen automatisch in die Gesamtkonzentration des prostataspezifischen Antigens in ng/ml umgerechnet wird. Dieses Ergebnis wird dann auf dem Bildschirm angezeigt und über den optionalen Drucker ausgedruckt. Es wird auch im FRENDS™ System gespeichert.

Bildschirmanzeigen für verschiedene Konzentrationsszenarien

Angezeigtes Ergebnis	Beschreibung
 <p>The screenshot shows a user interface with two buttons at the top: 'List' and 'Print'. Below them is a box containing the following text: 'Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM', 'User ID : Nano', 'Patient ID : T-01', and 'PSA : < 0.05 ng/mL'.</p>	PSA-Konzentration Weniger als 0.05 ng/ml
 <p>The screenshot shows a user interface with two buttons at the top: 'List' and 'Print'. Below them is a box containing the following text: 'Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM', 'User ID : Nano', 'Patient ID : T10', and 'PSA : 9.73 ng/mL'.</p>	PSA-Konzentration Nicht weniger als 0.05 ng/ml und nicht höher als 25.00 ng/ml
 <p>The screenshot shows a user interface with two buttons at the top: 'List' and 'Print'. Below them is a box containing the following text: 'Date/Time : 2012-1-13 11:30 AM', 'User ID : Nano', 'Patient ID : T-04', and 'PSA : > 25.00 ng/mL'.</p>	PSA-Konzentration Höher als 25.00 ng/ml

12. Bewertung der Ergebnisse

1) Messtechnische Qualitätskontrolle

Zur Überwachung und Bewertung der Präzision der analytischen Leistung wird eine wöchentliche Untersuchung von handelsüblichen Kontrollproben empfohlen.

Die Mindestempfehlungen für die Häufigkeit der Verwendung von Kontrollmaterial lauten:

- Bei Beginn einer neuen Reagenziencharge werden zwei Kontrollstufen zur Validierung der Kalibrierung durchgeführt.

- Die zwei Kontrollstufen werden auch bei bestimmten Servicearbeiten wie Software-Updates, mechanischen Arbeiten am optischen System oder einem Systemumzug wiederholt.

Liegen die Werte einer Qualitätskontrolle außerhalb des zulässigen Bereichs, muss das Problem vor der Meldung der Patientenergebnisse untersucht werden, um sicherzustellen, dass es sich nicht um eine Fehlfunktion des Geräts oder der Software handelt.

Jedes Labor untersteht einem anderen Regelwerk. Jedes Labor hat sich an die standardisierten Verfahren zu halten, die von den für das Labor zuständigen Aufsichtsbehörden akzeptiert werden.

13. Einschränkungen des Verfahrens

Bei der Verwendung zu diagnostischen Zwecken sollten die mit diesem Test erzielten Ergebnisse in Verbindung mit anderen Daten (z. B. Symptome, Ergebnisse anderer Tests, klinischer Eindruck, Krankengeschichte, Therapie usw.) verwendet werden.

Das FRENDS™ System ist in Verbindung mit einer FRENDS PSA Plus Kartusche so programmiert, dass 25.0 ng/ml als höchste ohne Verdünnung messbare PSA-Konzentration angezeigt wird. Die niedrigste messbare Konzentration liegt bei 0.05 ng/ml als Empfindlichkeitsgrenze des Tests.

Heterophile Antikörper in einer Probe können Störungen in Immunoassay-Systemen verursachen.^{12, 13} In seltenen Fällen können die PSA-Werte aufgrund von heterophilen Antikörpern im Serum oder Plasma des Patienten oder aufgrund unspezifischer Proteinbindung erhöht erscheinen. Stimmt der PSA-Wert mit dem klinischen Befund nicht überein, wird ein zusätzlicher PSA-Test zur Bestätigung der Ergebnisse empfohlen.

Zwar übt die Hämolyse einen kaum nennenswerten Einfluss auf den Test aus, doch können hämolytierte Proben auf eine unsachgemäße Behandlung der Probe vor dem Test hinweisen, und die Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden.

Eine Lipämie hat keine signifikante Auswirkung auf den Test, außer im Falle einer groben Lipämie, bei der es zu Störungen des seitlichen Flusses der Probe in der Kartusche kommen kann.

Die Proben von Patienten, die Präparate von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder erniedrigte PSA-Werte zeigen.

Bestimmte Medikamente können die Testleistung beeinträchtigen. Die Interpretation aller Ergebnisse sollte im Hinblick auf das klinische Bild des Patienten erfolgen.¹⁴

Die mit Tests verschiedener Hersteller ermittelte tPSA-Konzentration in einer bestimmten Probe kann je nach Testmethode, Kalibrierung und Reagenzienspezifität variieren.¹⁵

Bitte beachten Sie die Abschnitte Probenentnahme und Handhabung, Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen, Lagerung und Haltbarkeit sowie Hinweise zum Verfahren in diesem Beiblatt.

Die Interpretation der klinischen Ergebnisse muss im Zusammenhang mit den dem Patienten verabreichten Medikamenten erfolgen.¹⁴

Die Fähigkeit des Tests, sowohl freie als auch komplexierte Formen des Gesamt-PSA (freies PSA komplexiert mit Alpha-1-Antichymotrypsin) auf gleicher molarer Basis (Äquimolarität) nachzuweisen, wurde nicht nachgewiesen.

14. Erwartete Werte

Wie bei jedem klinischen Diagnosetest legt jedes Labor ein Referenzintervall fest, das den Merkmalen der zu testenden Population entspricht. Das FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System ist für serielle Blutproben zur Behandlung von Patienten mit Prostatakrebs bestimmt.

Die Untersuchung von ambulanten männlichen Probanden im Alter von 50 Jahren und älter, die sich selbst als gesund und ohne bekannte Krankheiten oder Zustände bezeichneten, wurde sowohl mit dem FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System als auch mit einer anderen kommerziell erhältlichen PSA-Methode durchgeführt. Das aktuell akzeptierte Referenzintervall für tPSA von bis zu 4.0 ng/ml wurde für beide Systeme validiert.

Wie bei allen PSA-Methoden lässt sich auch bei der tPSA-Bestimmung nicht mit Sicherheit feststellen, ob ein Prostatakrebs vorliegt oder nicht. Bei Patienten mit PSA-Werten innerhalb des Referenzintervalls, die bei scheinbar gesunden Probanden festgestellt wurden, kann Prostatakrebs vorliegen. Bei Patienten mit Werten, die über dem Referenzintervall liegen,

kann kein Prostatakrebs vorliegen. Bei der Interpretation der Ergebnisse des FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System sollten andere klinische Befunde und diagnostische Verfahren wie DRE, verschiedene bildgebende Untersuchungen usw. berücksichtigt werden, da bestimmte Behandlungen dazu führen können, dass die PSA-Werte aufgrund der Behandlung bei noch fortschreitendem Krebs abnehmen.

15. Referenzbereiche

Das hier angegebene Intervall wurde in Serumproben von 196 scheinbar gesunden männlichen Probanden im Alter von 50 bis 71 Jahren ermittelt.

Kategorie	Männer
Anzahl der Proben (n)	196
Referenzintervall	0~4.0 ng/ml

In dieser Studie wiesen mehr als 99% der gesunden Probanden Serum-PSA-Konzentrationen von weniger als oder gleich 4.0 ng/ml auf, und zwar sowohl mit dem FRENDS PSA Plus System als auch mit einem anderen handelsüblichen tPSA-Fluoreszenztest. Die Ergebnisse dieser Studie sind unten aufgeführt:

Kategorie	Andere von der FDA zugelassene PSA	PSA Plus auf FRENDS
Anzahl der Proben (n)	196	196
Mittelwert (x)	0.71 ng/ml	0.83 ng/ml
SD	0.38 ng/ml	0.43 ng/ml
Wertebereich	0.00 ~ 2.03 ng/ml	0.02 ~ 2.69 ng/ml
Medianwert	0.66 ng/ml	0.77 ng/ml

Erwartete Werte für die Behandlung von Patienten mit Prostatakrebs

Verteilung der FRENED PSA Plus-Konzentrationen im Serum Gesunde, gutartige und verschiedene bösartige Krankheitszustände

	N	0-4.0 ng/ml	4.1-10.0 ng/ml	10.1-20.0 ng/ml	20.1-40. 0 ng/ml	>40.0 ng/ml
Gesunde Probanden	196					
Männer ü. 50 Jahre alt	196	100%	0%	0%	0%	0%
Gutartige Erkrankung/Zust*	410					
Gutartige Prostata	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabetes	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
HTN/Herzkrankheit	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
Gutartige GI	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Bösartige Krankheiten*	302					
Prostatakrebs**	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Gleason-Wert 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Gleason-Wert 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Gleason-Wert 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Lungen-/Leberkrebs	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
GB, Magen- und Bauchspeicheldrüsenkrebs	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Kolorektaler Krebs	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Andere Krebsarten	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
Probanden INSGESAMT	908					

* Behandelte und unbehandelte Probanden.

** Serienproben sind in dieser Kohorte nicht enthalten.

16. Leistungsmerkmale

Die Leistungsmerkmale des FREND PSA Plus wurden wie folgt bewertet:

1) Genauigkeit

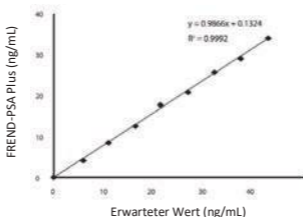
1a) Wiederfindung

Bekannte PSA-Proben wurden zu einer weiblichen Serumprobe (0.01 ng/ml) hinzugefügt. Die PSA-Konzentration wurde vor und nach der Zugabe des exogenen PSA bestimmt und die prozentuale Wiederfindung berechnet.

Zugesetzte Konzentration (ng/ml)	Beobachtet Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Verdünnungslinearität:

Proben aus einem Pool mit hoher Konzentration (34 ng/ml tPSA) wurden mit einem Pool mit niedriger Konzentration gemäß den Anweisungen im Dokument CLSI-Protokoll EP6-A verdünnt. Die Korrelation mit der erwarteten Linearität ergab $R^2 = 0.9992$.



Verdünnungslinearität - FREN D PSA Plus

Daten zur Verdünnungslinearität - FREN D PSA Plus

Nr.	Leer	1	2	3	4	5	6	7	Hoch
Verdünnung	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
TEST 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
TEST 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
TEST 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
TEST 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
TEST 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
TEST 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
MITTELWERT (ng/ml)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.508	21.315	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV (%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Erwarteter Wert	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% Wiederfindung		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1 c) Vergleichende Analyse:

Eine Reihe gut charakterisierter Serumproben, die mit Genehmigung des IRB von Probanden mit pathologisch verifiziertem Prostatakrebs entnommen und bei -70 °C unter überwachten Bedingungen gelagert wurden, wurden auf Gesamt-PSA analysiert. Die Ergebnisse des FRENDS PSA Plus auf dem FRENDS™ System (y) wurden mit den mit dem TOSOH ST AIA-PACK PA Test (x) erzielten Ergebnissen verglichen. Dabei wurden insgesamt 160 Einzelproben analysiert, wobei jedoch nur Proben mit tPSA-Ergebnissen innerhalb der Linearität des FRENDS PSA Plus (bis zu 25.0 ng/ml; (n=143)) für die vergleichende Analyse verwendet wurden.

Steigung: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Achsenabschnitt: -0.01179 (95% CI: -0.2763; 0.2527)

Korrelationskoeffizient (R) = 0.9671 (95% CI: 0.9545~0.9763)

Anzahl der Proben = 143

Bereich der FRENDS PSA Plus Werte: 0.04~29.99 ng/ml

Bereich der ST AIA-PACK PA Werte: 0.00~25.86 ng/ml

2) Präzision

2a) Präzisionstest für eine Charge und einen Standort

Die Präzision wurde wie im CLSI-Protokoll EP5-A beschrieben bestimmt. Vier klinische Proben über den gesamten Messbereich wurden in zwei Wiederholungen zu zwei verschiedenen Zeiten pro Tag zwanzig Tage lang mit einer einzigen Charge der FRENDS PSA Plus Kartusche untersucht. Die folgenden Ergebnisse zeigen Präzisionsdaten für die Wiederholbarkeit, zwischen den Durchgängen, zwischen den Tagen und innerhalb des Labors.

Probe	PSA-Mittelwert (ng/ml)	Wiederholbarkeit		Zwischen den Durchgängen		Zwischen Den Tagen		Innerhalb Des Labors	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Präzisionstests mit mehreren Chargen und an mehreren Standorten

Drei verschiedene Chargen von FREND PSA Plus wurden an drei geografisch unterschiedlichen Standorten untersucht. Jeweils vier Wiederholungen von Material A, Material B und Material C sowie zwei Wiederholungen von QC 1, QC 2 und QC 3 wurden in zwei Durchläufen von jeweils fünf Tagen an jedem Standort ausgewertet. An jedem der drei Standorte wurden insgesamt 40 Ergebnisse für jedes Material erzielt, was eine Gesamtzahl von 120 Wiederholungen für jedes Material ergab. Zur Analyse der Daten wurde ein CLSI-Format aus EP5-A2 für eine ANOVA-Analyse verwendet. In diesem Szenario ist Gerät-zu-Gerät dasselbe wie Standort-zu-Standort. Aus der nachstehenden Tabelle geht hervor, dass die Kartusche die größte Schwankungsquelle darstellt, was das erwartete Ergebnis wäre. Bei der FREND PSA Plus Kartusche handelt es sich um eine Einwegkartusche, die alle für die Reaktionen erforderlichen Reagenzien enthält.

%CV nach Material						
Material						
Variations- quelle	MATA (0.29 ng/ml)	MATB (3.67 ng/ml)	MATC (18.33 ng/ml)	QC1 (0.30 ng/ml)	QC2 (2.93 ng/ml)	QC3 (20.25 ng/ml)
Standort-zu Standort	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Tag-zu-Tag	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Charge-zu- Charge	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
Zwischen Kartuschen	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Total	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Spezifität

Bei den folgenden Substanzen wurde eine mögliche Kreuzreaktivität mit dem FREND PSA Plus in den unten angegebenen Konzentrationen festgestellt. Die Tests erfolgten gemäß den im CLSI-Protokoll EP7-A empfohlenen Anweisungen. Es wurde keine signifikante Kreuzreaktivität festgestellt.

Spezifität von FREND PSA Plus

Nr.	Substrat	Konzentration
1	Prostata-spezifische saure Phosphatase (PAP)	10.0 ng/ml
2	Kallikrein	15.0 ng/ml

4) Analytische Empfindlichkeit

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) für den FREND PSA Plus wurde anhand des Protokolls CLSI EP17-A bestimmt. Die analytische Empfindlichkeit des FREND PSA Plus liegt bei 0.03 ng/ml.

17. Interferenz

Für die Zwecke dieser Studie wird Interferenz als Wiederfindung definiert, die außerhalb von 15% der bekannten mittleren Probenkonzentration liegt. Mit anderen Worten: Eine Wiederfindung von 85% bis 115% des erwarteten Wertes wird als akzeptable Leistung angesehen

1) Endogene Interferenzen

Diese Interferenzstudien zu endogenen Substanzen wurden mit dem FREND PSA Plus auf dem FREND™ System gemäß den Empfehlungen im CLSI-Protokoll EP7-A durchgeführt:

- Der Zusatz von Hämoglobin (bis zu 500 mg/dl) beeinträchtigt den Test nicht. Die durchschnittliche Wiederfindung bei Zugabe von tPSA-haltigem Serum bei 1.0 und 4.0 ng/ml betrug 97.25%.
- Der Zusatz von unkonjugiertem Bilirubin (bis zu 20 mg/dl) beeinträchtigt den Test nicht.
- Die durchschnittliche Wiederfindung bei Zugabe von tPSA-haltigem Serum bei 1.0 und 4.0 ng/ml betrug 98.2%.
- Der Zusatz von Gammaglobulin (Gesamtprotein) bis zu 5.0 g/dl beeinträchtigt den Test nicht. Die durchschnittliche Wiederfindung bei Zugabe von tPSA-haltigem Serum bei 1.0 und 4.0 ng/ml betrug 106.3%.
- Der Zusatz von Triglyceriden bis zu 3 g/dl beeinträchtigt diesen Test nicht. Die durchschnittliche Wiederfindung bei Zugabe von tPSA-haltigem Serum bei 1.0 und 4.0 ng/ml betrug 101.5%

2) Pharmazeutische Interferenzen

In der folgenden Tabelle sind die mit dem FREND PSA Plus auf dem FREND™ System durchgeführten Interferenzstudien für verschiedene Medikamente dargestellt, die im Serum/Plasma von Männern mit diagnostiziertem Prostatakrebs vorkommen können. Die Konzentrationen

der Medikamente, die den Testproben und Kontrollen bei tPSA-Basiskonzentrationen von 1.0 ng/ml und 4.0 ng/ml zugesetzt wurden, sind ebenso wie die prozentualen Wiederfindungen ganz rechts im Diagramm angegeben. Da die FREND PSA Plus-Methode mit monoklonalen Antikörpern arbeitet, ist es unwahrscheinlich, dass Substanzen ohne eine PSA-ähnliche Tertiärstruktur interferieren könnten. Die Ergebnisse zeigen, dass es keine signifikanten Interferenzen mit den getesteten Medikamenten gibt, die die Interpretation eines tPSA-Ergebnisses mit dem FREND PSA Plus beeinträchtigen würden.

Ergebnisse der Interferenzstudie für FREND PSA Plus auf dem FREND™ System

Nr.	Substrat	Konzentration	Durchschnittliche Wiederfindung %
1	Flutamid	10 µg/ml	94.50%
2	Diethylstilbestrol (DES)	5 µg/ml	103.80%
3	Goserelin	40 ng/ml	103.20%
4	Tamsulosin	100 ng/ml	98.85%
5	Paracetamol	250 ng/ml	100.45%
6	Acetylsalicylsäure	600 µg/ml	95.85%
7	Leuprolid	275 ng/ml	101.50%
8	Ibuprofen	500 µg/ml	102.25%
9	Finasterid	250 ng/ml	93.60%
10	Docetaxel	10 µg/ml	114.45%

18. Serienmessungen und Konkordanz mit dem medizinischen Status

Da laut der Indikation für FREND PSA Plus die Testergebnisse als Hilfsmittel für die Behandlung von Patienten mit Prostatakrebs verwendet werden sollen, müssen die Veränderungen des Markers unbedingt mit den Veränderungen des klinischen Status zur Ermittlung der Effektivität des Tests verglichen werden. Aus diesem Grund wurden als wichtiger Teil der zur Charakterisierung des FREND PSA Plus durchgeführten klinischen Studien serielle Proben von Patienten, bei denen zuvor Prostatakrebs diagnostiziert wurde und die im Verlauf ihrer Erkrankung auf unterschiedliche Weise behandelt wurden (einschließlich Prostatektomie, radioaktive Samen, externe Bestrahlung, Chemotherapie, Hormontherapie allein oder in Kombination), mit dem FREND PSA Plus auf dem FREND™ System auf tPSA untersucht. Die gleichen Proben wurden auch mit einer anderen von der FDA zugelassenen Methode auf tPSA untersucht.

Dabei erfolgte für jeden Punkt einer Probenserie ein Vergleich der Veränderung der tPSA-Konzentration mit der Veränderung des klinischen Zustands der Patienten, wobei die Veränderungen durch andere Labortests, Patientenbefragungen, körperliche Untersuchungen und bildgebende Untersuchungen verschiedener Art gemessen und in einem klinischen Berichtsformular festgehalten wurden.

Diese Veränderungen in der tPSA-Markerkonzentration wurden als signifikant oder nicht signifikant definiert, indem der Gesamt-CV des Tests im mittleren Bereich (wie in der Studie zur Testungenaugigkeit ermittelt) mit dem Faktor 2.5 zur Ermittlung einer prozentualen Veränderung multipliziert wurde, die sich von dem unterscheidet, was aufgrund der Ungenauigkeit des Test zu erwarten wäre. Beim FRENDA PSA Plus Test mit einem mittleren Gesamtvariationskoeffizienten von 8,5

% wurde die Signifikanz auf eine Veränderung von mehr als 20% festgelegt. Jeder Anstieg des Wertes von einem Zeitraum zum nächsten, der 20% nicht übersteigt, wurde als $\leq 20\%$ Änderung protokolliert. Bei der anderen von der FDA zugelassenen Methode wurde die Signifikanz auf eine Veränderung von $> 8.5\%$ festgelegt. Die Berechnung erfolgte anhand des für diese Methode veröffentlichten mittleren Gesamt-KV von $3.4\% \times 2.5$.

Die Eindrücke des medizinischen Fachpersonals über den Krankheitsstatus des Probanden bei jeder Blutentnahme wurden auf CRFs für alle PSA-Serienproben festgehalten. Die Statusinformationen bei einem Besuch wurden mit dem Status beim nächsten Besuch verglichen, und es wurde eine Statusänderung für das Besuchspaar ermittelt. Anschließend erfolgte ein Vergleich der Veränderung des klinischen Zustands gegenüber dem Eindruck des medizinischen Fachpersonals mit signifikanten Veränderungen der PSA-Konzentration jeder Probe, die sowohl mit dem Testgerät (FRENDA PSA Plus) als auch mit dem Prädikatgerät (FDA-zugelassener Test) gemessen wurden. Die Ergebnisse dieser Vergleiche sind im Folgenden dargestellt, wobei der klinische Status in zwei Gruppen unterteilt wurde: diejenigen Besuchspaare, die eine Progression aufwiesen, und diejenigen, die keine Krankheitsprogression gemäß dem Besuch-zu-Besuch-Status zeigten.

1) Proben ohne Progression (Negative Konkordanz)

	Anderer FDA-zugelassener PSA-Test		
FREND PSA Plus	≥8.5%	<8.5%	Total
≥20%	31	15	46
<20%	15	67	82
Total	46	82	128
NC (FREND PSA Plus)	0.641		
NC (AIA-PACK PSA)	0.641		
Sonstiges	0.000		

Es gibt keinen Unterschied in der Negativen Konkordanz (NC) zwischen den beiden Tests.

2) Proben mit Progression (Positive Konkordanz)

	Anderer FDA-zugelassener PSA-Test		
FREND PSA Plus	≥8.5%	<8.5%	Total
≥20%	83	1	84
<20%	5	19	24
Total	88	20	108
PC (FREND PSA Plus)	0.778		
PC (AIA-PACK PSA)	0.815		
Sonstiges	0.037		

Ein McNemar-Test der gepaarten Daten in der obigen Tabelle ergibt einen p-Wert von 0.218. Das zugehörige 95%-Konfidenzintervall für den wahren Unterschied beträgt – 0.0157 bis 0.0551. Beide Schätzer stimmen überein: Es gibt keine statistisch signifikanten Unterschiede bei den positiven Konkordanzen (PC) zwischen den beiden Tests.

In der folgenden Tabelle werden die Konkordanzen des FREND PSA Plus Tests und des anderen FDA-zugelassenen PSA-Tests verglichen. Ausgehend von den 95%-Konfidenzintervallen scheint es keine Unterschiede zwischen den Konkordanzen für den FREND PSA Plus Test und den anderen von der FDA-zugelassenen PSA-Tests zu geben.


















Konkordanz	FREND PSA Plus	95% CI*	FDA Zugelassenes PSA	95% CI*
Positive	77.8%	69.8% bis 85.3%	81.5%	73.8% bis 88.7%
Negative	64.1%	55.1% bis 71.5%	64.1%	55.1% bis 71.5%
Total	70.3%	64.1% bis 76.9%	72.0%	66.1% bis 77.5%

* Die Konfidenzintervalle beruhen auf 10,000 Wiederholungsstichproben der Patientendaten.

19. Referenzen

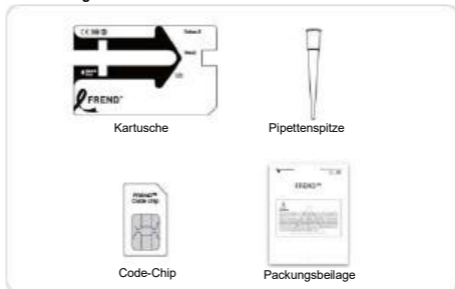
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471–2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203–1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol.13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press*.
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Symbolerklärung

	Vorsicht, Warnung, siehe Begleiddokumente
	Katalognummer / Referenznummer
 www.nanoentek.com/eifu.php	Gebrauchsanweisung beachten Bei Verwendung zur Angabe einer Anleitung zur Konsultation der elektronischen Gebrauchsanweisung (eIFU) wird dieses Symbol von einem eIFU-Indikator (eIFU-Website) begleitet und neben dem Symbol platziert.
	Losnummer / Chargennummer
	Verwendbar bis JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM
	Hersteller
	CE-Kennzeichnung mit Identifikationsnummer der benannten Stelle
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Temperaturbegrenzung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Nicht wiederverwenden
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Nur gegen Rezept erhältlich HINWEIS: Nach US-Bundesgesetzen darf dieses Gerät nur von einem Arzt bzw. auf Anordnung eines Arztes verkauft werden.
	US-amerikanisches Unternehmen
	Patienten-ID
	Ergebnis
	Probenentropfen

EC REP	In der Gemeinschaft niedergelassener Bevollmächtigter
UK Representative	Bevollmächtigter im Vereinigten Königreich
CH REP	Bevollmächtigter in der Schweiz
BRH	Bevollmächtigter in Brasilien

Lieferumfang



Überarbeitet am 02.2023

FREND PSA Plus

Test quantitativo rapido per l'Antigene Prostatico Specifico

REF FRPS 025

IVD Solo per uso diagnostico *in vitro*



Attenzione!

L'uso di questo dispositivo è limitato a, da, o su ordine di un medico. A causa delle differenze nella specificità del reagente e nei metodi di analisi, la concentrazione di PSA in un determinato campione può variare con i dispositivi di diversi produttori. I valori ottenuti con diversi metodi di analisi non possono essere utilizzati in modo intercambiabile. È obbligatorio che i risultati riportati dal laboratorio al medico includano l'identità del saggio utilizzato. Se il metodo di saggio per il PSA viene modificato durante il monitoraggio dei pazienti con livelli di PSA seriali, i valori base per i pazienti sottoposti a monitoraggio seriale devono essere confermati da ulteriori test sequenziali.

1. Nome e destinazione d'uso

Il FRENDS PSA Plus è progettato per USO DIAGNOSTICO in vitro SOLO per la misurazione quantitativa dell'antigene prostatico specifico totale (PSA) nel siero umano, nel plasma eparinizzato e nel plasma EDTA utilizzando il sistema FRENDS™. Questo dispositivo è indicato per la misurazione seriale del PSA totale nel siero, nel plasma eparinizzato e nel plasma EDTA da utilizzare come ausilio nella gestione dei pazienti con carcinoma prostatico.

2. Sintesi e spiegazione del test

L'antigene prostatico specifico (PSA) è una glicoproteina a catena singola con peso molecolare di 34 chilodaltoni.^{1,2,3} In quanto serina proteasi con attività simile alla chimotripsina, il PSA appartiene alla famiglia delle callicreine. Nel sangue, il PSA esiste come forma libera o complessa con inibitori della proteasi come l' α -1-antichimotripsina (ACT). Il PSA totale rappresenta la somma delle forme sia libere che complesse.⁴ Il PSA è associato in modo univoco ai tessuti della prostata in fase normale, infiammata o cancerosa. Il PSA elevato nel siero o nel plasma si riscontra in pazienti con cancro alla prostata, ipertrofia prostatica benigna o tessuti infiammatori. Studi su una varietà di metodi PSA hanno dimostrato che il PSA può essere utile come indicatore per la diagnosi e la gestione del cancro alla prostata.⁵

Il PSA è stato trovato nel tessuto prostatico normale, iperplastico benigno e maligno, nel carcinoma prostatico metastatico e anche nel liquido prostatico e nel liquido seminale.⁶ Il PSA non si trova in nessun altro tessuto negli uomini e non è prodotto da tumori originari del polmone, del colon, del retto, dello stomaco, del pancreas o della tiroide.⁷ Anche se l'aumento delle concentrazioni di PSA si trovano nel siero di pazienti con iperplasia prostatica benigna (BPH), prostatite e infezioni della prostata e infiammazione, si trovano anche nei pazienti con cancro della prostata.^{8,9} La misurazione del PSA è uno strumento essenziale per valutare lo stato della malattia nei pazienti con cancro alla prostata quando i campioni seriali vengono misurati nel tempo.¹⁰ Il valore clinico ottenuto dal monitoraggio delle concentrazioni di tPSA in pazienti con cancro alla prostata indipendentemente dal regime di trattamento è ben noto.¹¹ Dalla metà degli anni '80, c'è stato un crescente corpus di letteratura sull'utilità dell'antigene prostatico specifico (PSA) sia per il monitoraggio che per il rilevamento del cancro alla prostata (CaP).

3. Principio del saggio

Il FRENDS PSA Plus è un test rapido quantitativo immunologico "sandwich" che utilizza nano particelle fluorescenti che misura la concentrazione del PSA totale. 35 µL di siero o plasma del paziente (solo eparina o EDTA) vengono presentati manualmente all'iniettore della cartuccia per test a unità singola dove viene miscelato con nano particelle fluorescenti coniugate con anticorpi PSA. Le molecole di PSA nel campione si legano agli anticorpi coniugati per formare immunocomplessi che poi si spostano per azione capillare attraverso il canale della cartuccia del reagente verso l'area di rilevamento. Quando il campione raggiunge la zona del test, idrata gli anticorpi anti-PSA essiccati in fase solida. I complessi immunitari delle particelle fluorescenti PSA nel campione vengono afferrati dagli anticorpi di cattura per formare immunocomplessi sandwich. Le nano particelle fluorescenti residue non legate al PSA coniugate con gli anticorpi del PSA passano attraverso la zona del test e si legano agli antigeni del PSA nella zona di riferimento. Mentre il campione si sposta in avanti verso il serbatoio dei rifiuti, i componenti leganti non specifici vengono lavati via. L'intensità della fluorescenza misurata da una sorgente luminosa (laser) è proporzionale alla quantità di PSA totale nel campione originale. Il risultato viene calcolato utilizzando le informazioni memorizzate sul chip di codice FRENDS PSA Plus specifico per lotto e quindi viene visualizzato sullo schermo del sistema FRENDS™. Se lo si desidera, è possibile ottenere una stampa cartacea. Un rapporto calcolato tra la zona di riferimento e la zona di test corregge le variazioni da test a test.

La concentrazione totale di PSA in un campione analizzato con il FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™ è direttamente correlata all'intensità della fluorescenza: maggiore è la concentrazione di tPSA, maggiore è la fluorescenza. Il FRENDS PSA Plus ha un intervallo di misurazione determinato da 0.05 ng/mL a 25.0 ng/mL.

Il FRENDS PSA Plus utilizza cartucce di plastica trasparente monouso in cui tutti i reagenti necessari sono conservati all'interno della cartuccia stessa. Tutto ciò che viene aggiunto dall'utente è un campione di prova da 35 µL. La cartuccia viene inserita nel sistema FRENDS™ in modo prescritto indicato con una freccia nera sulla cartuccia. La reazione viene letta più volte mentre il campione si muove per l'azione capillare attraverso la cartuccia. Questo tipo di sistema di analisi è a volte indicato come uno che incorpora il flusso laminare.

4. Materiale fornito (FREND PSA Plus) * Numero di catalogo: FRPS 025

Cartucce FREND PSA Plus	25
Punte monouso per pipette (micropipetta in dotazione)	30
Chip di codice FREND PSA Plus	1
FREND PSA Plus Foglietto illustrativo	1

Una cartuccia contiene:

Anti-PSA1 monoclonale-----	48 ± 9.6 ng
Anti-PSA2 monoclonale-----	144 ± 28.8 ng
Particella fluorescente-----	2.4 ± 0.48 µg

5. Materiali richiesti ma non forniti

I seguenti materiali non sono forniti con il reagente, ma sono necessari per eseguire l'analisi dell'antigene prostatico specifico utilizzando FREND PSA Plus sul sistema FREND™. Sono disponibili separatamente da NanoEntek.

Materiali	Cat. N.
Sistema FREND™	F10

6. Avvertenze e precauzioni

- Le cartucce FREND PSA Plus sono destinate solo per uso diagnostico in vitro
- Le cartucce PSA Plus devono essere utilizzate solo sul sistema FREND™.
- Lasciare che le cartucce raggiungano la temperatura ambiente per 15 ~ 30 minuti prima dell'uso.
- Evitare la contaminazione incrociata tra i campioni utilizzando una nuova punta della pipetta per ogni nuovo campione.
- Evitare l'umidità elevata, la luce solare diretta o il calore nell'area utilizzata per la conservazione delle cartucce.
- Sono possibili risultati imprecisi se il campione utilizzato è comunque contaminato.
- L'uso di campioni contenenti fibrina coagulata potrebbe portare a risultati errati.
- Un caricamento eccessivo o insufficiente della cartuccia con il campione può causare risultati imprecisi.
- Le cartucce non devono essere congelate.

- I campioni umani non sono utilizzati nella preparazione di questo prodotto, tuttavia, poiché i campioni umani saranno utilizzati per i campioni e altri prodotti di controllo di qualità in laboratorio possono essere derivati da materiali umani, si prega di utilizzare procedure di sicurezza di laboratorio standard quando si maneggiano tutti i campioni e controlli.
- Non utilizzare le cartucce oltre la data di scadenza indicata sulla busta.
- Non utilizzare la cartuccia se la busta è danneggiata o il sigillo è rotto.
- Eseguire i test come specificato nel foglietto illustrativo e nel manuale utente.
- Le cartucce PSA Plus sono dispositivi monouso, usa e getta. Non riutilizzarli in nessun caso.
- Tenere la cartuccia sigillata nella busta fino al momento dell'uso.
- Utilizzare la cartuccia immediatamente dopo aver aperto la busta.
- Indossare guanti monouso durante la manipolazione con le cartucce e i campioni.
- Lavarsi accuratamente le mani e spesso dopo aver maneggiato cartucce o campioni di reagenti.
- Solo per uso professionale.

PSA Plus è stato progettato in modo che l'"effetto gancio" ad alte dosi non sia un problema per la stragrande maggioranza dei campioni. I campioni con concentrazioni di PSA comprese tra 25 e 1,200 ng/mL leggeranno > 25 ng/mL. Il fenomeno "effetto gancio" può verificarsi solo a concentrazioni di PSA > 1,200 ng/mL.

7. Stoccaggio e stabilità

Tutti i materiali non aperti sono stabili fino alla data di scadenza sull'etichetta se conservati alla temperatura specificata. La stabilità della cartuccia è stata dimostrata per ventiquattro mesi dalla data di produzione.

La data di scadenza è chiaramente indicata sulla confezione del prodotto e sulle cartucce

Materiali	Cat. N.
Temperatura del frigorifero (2 ~ 8° C): Cartucce PSA Plus	FRPS 025
Temperatura ambiente (18 ~ 25° C): Punte per pipette	Nessuna

8. Raccolta e manipolazione dei campioni

Il Siero o plasma (eparinizzato o K3- Solo EDTA) è richiesto per il saggio. Il plasma citrato NON DEVE ESSERE USATO.

Non è necessaria alcuna preparazione speciale del paziente. Per utilizzare il siero, un campione di sangue viene raccolto asepticamente senza additivi mediante puntura venosa. Dopo aver lasciato coagulare il campione per 30 minuti a temperatura ambiente, il tubo di raccolta deve essere centrifugato per 10 minuti a 3000 giri/min.

Per il plasma eparinizzato o K3-EDTA, un campione di sangue venoso viene raccolto asepticamente con l'additivo designato. Il plasma deve essere separato dalle cellule impaccate il prima possibile.

È stato dimostrato che la manipolazione prostatica influisce sui risultati del PSA; quindi, i campioni devono essere prelevati prima di eseguire qualsiasi procedura prostatica come DRE, massaggio prostatico e TRUS.

I campioni possono essere conservati a 2 ~ 8 °C fino a 6 ore prima dell'analisi. Se l'analisi è programmata per essere eseguita in un secondo momento, il campione deve essere conservato congelato a -20° C o inferiore per un uso futuro. Lo studio della stabilità del campione è stato condotto a -20°C dal produttore solo per tre settimane, ma sono disponibili molte pubblicazioni che dimostrano che il PSA totale mantenuto congelato è stabile per 3 mesi o più^{16, 17, 18}

I cicli ripetuti di congelamento-scongelo dovrebbero essere evitati. I campioni di siero torbido o i campioni contenenti particolato come coaguli o filamenti di fibrina devono essere centrifugati prima di essere analizzati. Prima del saggio, portare lentamente i campioni congelati a temperatura ambiente (18 ~ 25 °C) e mescolare delicatamente ma completamente prima del test.

9. Procedura

1) Preparazione del reagente

• Cartucce

Non è necessaria alcuna preparazione di reagenti per misurare tPSA utilizzando la cartuccia FRENDA PSA Plus sul sistema FRENDA™. Tuttavia, le cartucce necessarie per una particolare corsa devono essere rimosse dal frigorifero e lasciate raggiungere la temperatura ambiente per 15-30 minuti prima di essere utilizzate.

2) Calibrazione

I calibratori utilizzati durante il processo di fabbricazione della cartuccia per creare le informazioni inserite elettronicamente sul chip di codice FREND PSA Plus sono preparati gravimetricamente e sono confrontati con gli standard internazionali di riferimento (WHO International Prostate Specific Antigen (90:10) Codice NIBSC: 96/670). Tuttavia, per l'utente finale, non vi è alcuna necessità di calibrazione come viene generalmente eseguita su altre apparecchiature di laboratorio automatizzate. Tutte le statistiche e le informazioni di calibrazione sono state memorizzate elettronicamente sul chip di codice FREND PSA Plus incluso in ogni scatola della cartuccia FREND PSA Plus. Il chip di codice FREND PSA Plus è specifico per questo lotto prodotto di FREND PSA Plus.

L'adeguatezza delle informazioni di calibrazione deve sempre essere verificata utilizzando un numero sufficiente dei materiali esterni di controllo qualità come campioni per verificare che i risultati ottenuti per tPSA sul sistema FREND™ utilizzando le cartucce FREND PSA Plus di un particolare lotto soddisfino il criterio di laboratorio per l'accettabilità.

• Installazione del chip di codice FREND PSA Plus

Fare riferimento al Manuale dell'utente del sistema FREND™ per istruzioni più dettagliate relative all'installazione del chip di codice. Istruzioni abbreviate da seguire qui:

- (1) Inserire il cavo elettrico del sistema FREND™ in una presa appropriata.
- (2) Inserire il chip di codice nello slot Code chip sul retro del sistema FREND™ seguendo le frecce.
- (3) Premere il pulsante 'Setup' nella schermata 'Main'.
- (4) Premere il pulsante 'Code chip' nella schermata 'Setup'.
- (5) Le informazioni incorporate sul chip di codice FREND PSA Plus vengono salvate automaticamente sul sistema FREND™.
- (6) Quando l'installazione del chip di codice è completata, premere il pulsante 'OK' per andare alla schermata 'Setup'.
- (7) Premere il pulsante 'Item' nella schermata 'Setup'.
- (8) Controllare il numero di lotto della cartuccia FREND PSA Plus e la data d'installazione del chip di codice.
- (9) Premere il pulsante 'Home' per andare alla schermata 'Main' per iniziare a eseguire il controllo di qualità esterno e di campioni di pazienti.

3) Controllo qualità

• Controlli disponibili in commercio

Sono disponibili controlli in commercio da una varietà di produttori che contengono tPSA come analita misurato. Si raccomanda di eseguire questi controlli esterni almeno una volta al giorno quando è previsto il test per FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™. Devono essere utilizzati almeno due (2) livelli di controllo, normali e anormali. La politica individuale del laboratorio determinerà esattamente quali materiali di controllo e numeri di lotto devono essere eseguiti, la frequenza con cui i controlli devono essere effettuati, i criteri per l'accettazione dei risultati e le necessarie azioni correttive da intraprendere se i risultati non soddisfano i criteri di laboratorio.

Non analizzare i campioni dei pazienti sul sistema FRENDS™ utilizzando il FRENDS PSA Plus se i risultati del controllo qualità non forniscono i valori attesi. Fare riferimento alle politiche di laboratorio su come determinare l'accettabilità dei risultati dei materiali di controllo esterni.

• Procedura di controllo qualità

I materiali per il controllo di qualità esterno da analizzare utilizzando il FRENDS PSA Plus sono definiti dalla politica del singolo laboratorio. La procedura di analisi utilizzata per ottenere risultati sul materiale di controllo qualità esterno selezionato è identica a quella utilizzata durante il test di campioni dei pazienti ed è quella di seguito.

Se deve essere utilizzato materiale liofilizzato per il controllo della qualità, ricostituire secondo le istruzioni del produttore e lasciare che il pellet si dissolva come previsto fino a quando il materiale non è andato in soluzione. Assicurarsi di mescolare delicatamente ma completamente prima del test.

Il materiale di controllo refrigerato e/o congelato deve essere trattato come descritto di seguito durante la preparazione per la lavorazione dei campioni. Tutti i materiali devono essere a temperatura ambiente prima dell'uso.

4) Lavorazione dei campioni

• Preparazione

Rimuovere dal frigorifero le cartucce sufficienti di FRENDS PSA Plus per testare il numero di campioni dei pazienti e i materiali esterni necessari per il controllo qualità. Lasciare che le cartucce arrivino a temperatura ambiente per 15-30 minuti prima dell'inizio della sequenza di test.

Se si utilizzano campioni refrigerati di pazienti, rimuoverli dal frigorifero e lasciarli a temperatura ambiente prima del test. Se verranno utilizzati campioni congelati, assicurarsi che questi vengano rimossi dal congelatore, scongelati naturalmente e quindi miscelati delicatamente ma completamente prima del test.

Non sono necessari altri reagenti o preparazioni di campioni.

• **Procedura di saggio**

- (1) Preparare il FRENDS PSA Plus e il campione.
- (2) Registrare l'ID del campione sulla cartuccia nell'area designata.
- (3) Far cadere una goccia del campione (35 µL) nell'ingresso del campione sulla cartuccia utilizzando una micro-pipetta calibrata con una punta nuova della pipetta.
- (4) Premere il pulsante 'Test' sulla schermata 'Main' del sistema FRENDS™.
- (5) Dalla schermata del sistema FRENDS™ alla schermata ID paziente automaticamente.
- (6) Digitare l'ID paziente e premere il pulsante 'Enter' per iniziare il test.
- (7) Inserire la cartuccia nello slot della cartuccia usando le frecce della cartuccia come guida.

▲ Attenzione: *Verificare la direzione della cartuccia prima dell'inserimento e assicurarsi che l'inserimento sia completo.*

- (8) Quando la reazione nella cartuccia è completata in 3 minuti, il sistema FRENDS™ inizierà automaticamente il processo di lettura.
- (9) Una volta completate le misurazioni, la cartuccia verrà espulsa automaticamente e verranno visualizzati i risultati.

▲ Attenzione: *Non rimuovere l'alimentazione dal sistema FRENDS™ mentre una cartuccia è nella camera di lettura. Questo potrebbe causare un errore di sistema.*

- (10) Se il sistema FRENDS™ è collegato alla stampante opzionale, premere il pulsante "Print" e i risultati verranno visualizzati sulla carta della stampante.
- (11) Per istruzioni più dettagliate, consultare il Manuale utente del sistema FRENDS™.




10. Note procedurali

Se la concentrazione di antigene prostatico specifico del campione risulta essere maggiore del limite di linearità del saggio di 25.0 ng/mL ed è necessario un risultato definitivo, il campione deve essere diluito con sieri femminili che sono stati precedentemente misurati su FRENDA PSA Plus e trovato contenere < 0.05 ng/mL tPSA e quindi nuovamente analizzato secondo la procedura di saggio. La diluizione raccomandata per i campioni con un risultato iniziale >25.0 ng / mL è 1:10 o 1:50. È opportuno diluire il campione in modo che il campione diluito legga tra 2 e 20 ng/ml. Le diluizioni devono essere effettuate manualmente e il risultato finale sul campione diluito calcolato manualmente moltiplicando il risultato ottenuto sul campione diluito per il fattore di diluizione

11. Calcolo dei risultati

Il sistema FRENDA™ esegue automaticamente tutte le operazioni di manipolazione del campione e della cartuccia all'interno della cartuccia una volta che il campione è stato aggiunto manualmente al pozzetto del campione nella cartuccia e la cartuccia è stata inserita nel sistema FRENDA™. La velocità di fluorescenza prodotta dalla reazione viene letta a vari intervalli durante il processo di analisi, le letture in bianco vengono sottratte, dopodiché la velocità netta viene automaticamente convertita alla concentrazione totale di antigene prostatico specifico in ng/mL in base alle informazioni memorizzate sul chip del codice PSA. Questo risultato viene quindi emesso sullo schermo e sulla stampante opzionale. È anche memorizzato in memoria sul sistema FRENDA™.

Schermi per vari scenari di concentrazione

Risultato visualizzato	Descrizione
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab.' and 'Print'. Below them, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-01'. The main result is 'PSA < 0.05 ng/mL'.</p>	<p>Concentrazione di PSA Meno di 0.05 ng/mL</p>
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab.' and 'Print'. Below them, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T10'. The main result is 'PSA 0.73 ng/mL'.</p>	<p>Concentrazione di PSA Non meno di 0.05 ng/mL e non superiore a 25.00 ng/mL</p>
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab.' and 'Print'. Below them, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-18 11:30 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-04'. The main result is 'PSA > 25.00 ng/mL'.</p>	<p>Concentrazione di PSA Superiore a 25.00 ng/mL</p>

12. Valutazione dei risultati

1) Controllo di qualità

Al fine di monitorare e valutare la precisione delle prestazioni analitiche, si raccomanda di analizzare quotidianamente i campioni di controllo disponibili in commercio.

Le raccomandazioni minime per la frequenza di utilizzo del materiale di controllo esterno sono:

- Quando si inizia un nuovo lotto di reagente, vengono eseguiti tre livelli di controlli per convalidare la calibrazione.

- I tre livelli di controllo si ripetono anche quando vengono eseguite alcune procedure di servizio quali aggiornamenti software, interventi meccanici sul sistema ottico o riposizionamento del sistema.

Se i valori dei campioni del controllo di qualità esterno non rientrano nell'intervallo accettabile, sarà necessario indagare sul problema prima di riportare i risultati del paziente per assicurarsi che non vi sia un malfunzionamento dello strumento o del software.

Ogni laboratorio opera in base a un diverso insieme di regolamenti. Ogni laboratorio deve seguire le procedure standardizzate accettate dalle agenzie di regolamentazione davanti a cui il laboratorio è responsabile

13. Limitazioni della procedura

Se utilizzati a fini diagnostici, i risultati ottenuti da questo saggio devono essere utilizzati insieme ad altri dati (ad es. sintomi, risultati di altri test, impressioni cliniche, anamnesi, terapia, ecc.).

Il sistema FRENDSM, abbinato a una cartuccia FRENDS PSA Plus, è programmato per riportare 25.0 ng/mL, come la più alta concentrazione di PSA misurabile senza diluizione. La concentrazione misurabile più bassa è 0.05 ng/ml, il limite di sensibilità del saggio.

Gli anticorpi eterofili in un campione possono potenzialmente causare interferenze nei sistemi di dosaggio immunologico.^{12,13} Raramente, i livelli di PSA possono apparire elevati a causa degli anticorpi eterofili presenti nel siero o plasma del paziente o per il legame proteico non specifico. Se il livello del PSA non è coerente con l'evidenza clinica, si suggerisce un ulteriore test del PSA per confermare i risultati.

Although hemolysis has an insignificant effect on the assay, hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen prior to assay and results should be interpreted with caution.

Sebbene l'emolisi abbia un effetto insignificante sul dosaggio, i campioni emolizzati possono indicare un maltrattamento di un campione prima del dosaggio e i risultati devono essere interpretati con cautela.

La lipemia ha un effetto insignificante sul dosaggio, tranne nel caso di lipemia macroscopica, in cui può verificarsi un'interferenza con il flusso laterale del campione nella cartuccia.

I campioni di pazienti che hanno ricevuto preparazioni di anticorpi monoclonali murini per la diagnosi o la terapia possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali campioni possono mostrare valori di PSA falsamente elevati o diminuiti.

Alcuni farmaci possono interferire con le prestazioni del saggio. Tutti i risultati devono essere interpretati rispetto al quadro clinico del paziente.¹⁴

La concentrazione di tPSA in un dato campione determinato con saggi di diversi produttori può variare a causa delle differenze nei metodi di analisi, nella calibrazione e nella specificità del reagente.¹⁵

Fare riferimento alle sezioni Raccolta e manipolazione dei campioni, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità e Note procedurali in questo foglio d'inserimento.

I risultati clinici devono essere interpretati in relazione ai farmaci somministrati al paziente.¹⁴

Non è stata stabilita la capacità del test di rilevare sia forme libere che complesse di PSA totale (PSA libero complessato con alfa-1-antichimotripsina) su base molare uguale (equimolarità).

14. Valori attesi

Come per ogni test clinico diagnostico, ciascun laboratorio dovrebbe determinare un intervallo di riferimento corrispondente alle caratteristiche della popolazione sottoposta a test. Il FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™ deve essere utilizzato su campioni di sangue in serie per gestire i pazienti con cancro alla prostata.

Il test su soggetti ambulatoriali maschi di età pari o superiore a cinquant'anni che si sono dichiarati sani senza alcuna malattia, disturbo o condizione nota sono stati eseguiti utilizzando sia il FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™ che un altro metodo PSA disponibile in commercio. L'intervallo di riferimento attualmente accettato per tPSA fino a 4.0 ng/mL è stato convalidato per entrambi i sistemi..

Come è vero per tutti i metodi PSA, nessun risultato tPSA può essere interpretato come definitivo per la presenza o l'assenza di cancro alla prostata. I pazienti con livelli di PSA entro l'intervallo di riferimento riscontrati in soggetti apparentemente sani possono avere il cancro alla prostata; i pazienti con livelli superiori a quelli nell'intervallo di riferimento possono essere liberi da cancro alla prostata. I risultati del FRENDS PSA Plus sul

sistema FRENTM devono essere interpretati alla luce di altri riscontri clinici e procedure diagnostiche come DRE, vari studi di imaging, ecc. poiché alcuni trattamenti possono far diminuire i valori di PSA in virtù del trattamento mentre il cancro sta ancora progredendo.

15. Intervalli di riferimento

L'intervallo qui indicato è stato determinato in campioni di siero di 196 soggetti maschi apparentemente sani di età compresa tra 50 e 71 anni.

Categoria	Uomo
Numero di campioni (n)	196
Intervallo di riferimento	0~4.0 ng/mL

In questo studio, più del 99% dei soggetti sani aveva concentrazioni sieriche di PSA inferiori o uguali a 4.0 ng/mL di FREN PSA Plus sia sul sistema FRENTM che su un altro saggio fluorescente tPSA disponibile in commercio. I risultati di questo studio sono mostrati di seguito:

Categoria	Altro PSA approvato dalla FDA	PSA Plus su FRENTM
Numero di campioni (n)	196	196
Media (x)	0.71 ng/mL	0.83 ng/mL
SD	0.38 ng/mL	0.43 ng/mL
Intervallo di valori	0.00-2.03 ng/mL	0.02 - 2.69 ng/mL
Mediano	0.66 ng/mL	0.77 ng/mL

Valori attesi per la gestione dei pazienti con carcinoma prostatico

Distribuzione delle concentrazioni sieriche di FREND PSA Plus Stati sani, benigni e vari stati di malattie maligne

	N	0~4.0 ng/mL	4.1~10.0 ng/mL	10.1~20. 0 ng/mL	20.1~40. 0 ng/mL	>40.0 ng/mL
Soggetti sani	196					
Uomini & 50 anni.	196	100%	0%	0%	0%	0%
Malattia benigna/Cond*	410					
Prostata benigna	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabete	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
HTN/Malattie cardiache	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
GI benigna	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Malattie maligne*	302					
Cancro alla prostata**	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Gleason Punteggio 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Punteggio Gleason 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Punteggio Gleason 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Cancro del polmone/fegato	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
GB, gastrico, pancreatico	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Cancro coloretale	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Altri tumori	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
TOTALE soggetti	908					

* Soggetti trattati e non trattati

** I campioni seriali non sono inclusi in questa coorte.

16. Caratteristiche prestazionali

Le caratteristiche prestazionali sono state valutate per il FRENDA PSA Plus come segue:

1) Precisione

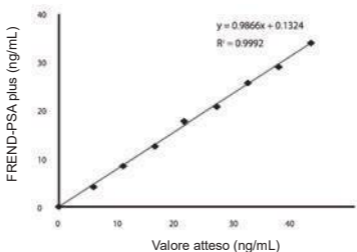
1a) Recupero

Campioni noti di PSA sono stati aggiunti a un campione di siero femminile (0.01 ng/mL). La concentrazione di PSA è stata determinata prima e dopo l'aggiunta del PSA esogeno e il recupero percentuale è stato calcolato.

Concentrazione aggiunta (ng/mL)	Concentrazione osservata (ng/mL)	Recupero (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Linearità di diluizione

I campioni provenienti da un pool ad alta concentrazione (34 ng/mL di tPSA) sono stati diluiti con un pool a bassa concentrazione seguendo le istruzioni contenute nel documento EP6-A del protocollo CLSI. La correlazione con la linearità attesa ha mostrato $R^2 = 0.9992$.



Linearità di diluizione - FRENDS PSA Plus

Dilution Linearity – FRENDS™ PSA Plus

N.	Vuoto	1	2	3	4	5	6	7	Alto
Diluizione	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
TEST 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
TEST 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
TEST 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
TEST 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
TEST 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
TEST 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
MEDIA (ng/mL)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.608	21.015	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV(%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Valore atteso	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% Recupero		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1c) Analisi comparativa:

Un gruppo di campioni di siero ben caratterizzati raccolti con supervisione IRB da soggetti con carcinoma prostatico verificato dalla patologia e conservati a -70°C in condizioni monitorate è stato analizzato per il PSA totale. I risultati del FREND PSA Plus sul sistema FREND™ (y) sono stati confrontati con quelli ottenuti utilizzando il test TOSOH ST AIA-PACK PA (x). Un totale di 160 campioni unici è stato analizzato nello studio, tuttavia, solo i campioni con risultati tPSA entro la linearità del FREND PSA Plus (fino a 25.0 ng/mL; (n=143)) sono stati utilizzati nell'analisi comparativa.

Pendenza: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Intercetta: -0.01179 (95% CI: -0.2763; 0.2527)

Coefficiente di correlazione (R) = 0.9671 (95% CI: 0.9545 ~ 0.9763)

Numero di campioni = 143

Intervallo di valori FREND PSA Plus: 0.04 ~ 29.99 ng/mL

Intervallo di valori ST AIA-PACK PA: 0.00 ~ 25.86 ng/mL

2) Precisione

2a) Test di precisione Singolo lotto e singolo sito

La precisione è stata determinata come descritto nel protocollo CLSI EP5-A. Quattro campioni clinici nell'intervallo di misurazione sono stati analizzati in replicati di due in due momenti diversi al giorno per venti giorni utilizzando un unico lotto di cartuccia FREND PSA Plus. I risultati seguono mostrando la ripetibilità, tra una corsa, tra una giornata e l'altra e con dati di precisione in laboratorio.

Campione	PSA medio (ng/mL)	Ripetibilità		Tra una corsa		Tra un giorno e l'altro		Con dati di precisione in laboratorio	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Precision Testing Multiple Lots and Multiple Sites

Sono stati valutati tre diversi lotti di FREND PSA Plus in tre siti geograficamente diversi. Quattro replicati ciascuno di Materiale A, Materiale B e Materiale C e due replicati di QC 1, QC 2 e QC 3 sono stati valutati in ciascuna delle due prove eseguite per cinque giorni in ciascun sito. Un totale di 40 risultati su ciascun materiale è stato generato in ciascuno dei tre siti per un totale di 120 repliche di ciascun materiale. I dati sono stati analizzati utilizzando un formato CLSI da EP5-A2 per un'analisi ANOVA. Da strumento a strumento è lo stesso da sito a sito in questo scenario. Come si può vedere dalla tabella sottostante, la più grande fonte di variazione è la cartuccia che sarebbe il risultato atteso. La cartuccia FREND PSA Plus è una cartuccia monouso che contiene tutti i reagenti all'interno della cartuccia necessari per supportare le reazioni

% CV per materiale						
Materiale						
Fonte di variazione	MAT A (0.29 ng/mL)	MAT B (3.67 ng/mL)	MAT C (18.33 ng/mL)	QC 1 (0.30 ng/mL)	QC 2 (2.93 ng/mL)	QC 3 (20.25 ng/mL)
Da sito a sito	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Giorno per giorno	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Da lotto a lotto	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
Inter-cartuccia	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Totale	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Specificità

Le seguenti sostanze sono state valutate per la potenziale reattività crociata con FREND PSA Plus alle concentrazioni indicate di seguito. Il test è stato eseguito secondo le istruzioni raccomandate dal protocollo CLSI EP7-A. Non è stata trovata alcuna reattività crociata significativa.

Specificità di FREND PSA Plus

N.	Substrato	Concentrazione
1	PAP (Fosfatasi acida prostatica)	10.0 ng/mL
2	Callicrein	15.0 ng/mL

4) Sensibilità analitica

L'interferenza è definita, ai fini del presente studio, come un recupero al di fuori del 15% della concentrazione media nota del campione. In altre parole, il recupero dall' 85% al 115% della performance attesa è considerato accettabile

17. Interferenza

L'interferenza è definita, ai fini del presente studio, come un recupero al di fuori del 15% della concentrazione media nota del campione. In altre parole, il recupero dall' 85% al 115% della performance attesa è considerato accettabile.

1) Interferenti endogeni

Questi studi di interferenza su sostanze endogene sono stati eseguiti utilizzando il FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™ secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI EP7

Added hemoglobin (up to 500 mg/dL) does not interfere with the assay. Average recovery when added to serum containing tPSA at 1.0 and 4.0 ng/mL was 97.25%.

- L'emoglobina aggiunta (fino a 500 mg/dL) non interferisce con il saggio. Il recupero medio quando aggiunto al siero contenente tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL è stato del 97.25%.
- L'aggiunta di bilirubina non coniugata (fino a 20 mg/dL) non interferisce con il saggio.
- Il recupero medio quando aggiunto al siero contenente tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL è stato del 98.2%.
- L'aggiunta di gammaglobulina (proteina totale) fino a 5.0 g/dL non interferisce con il saggio. Il recupero medio quando aggiunto al siero contenente tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL è stato del 106.3%.
- L'aggiunta di trigliceridi fino a 3 g/dL non interferisce con questo saggio. Il recupero medio quando aggiunto al siero contenente tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL è stato del 101.5%.

2) Interferenti farmaceutici

La tabella seguente mostra gli studi di interferenza eseguiti utilizzando il FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™ per vari farmaci che potrebbero essere trovati nel siero/plasma di uomini con diagnosi di cancro alla prostata. Le concentrazioni dei farmaci che sono state aggiunte ai campioni di prova e ai controlli a concentrazioni di base di tPSA di 1.0 ng/mL e 4.0 ng/mL sono

mostrate così come le percentuali di recupero all'estrema destra del grafico. Poiché il metodo FRENDS PSA Plus utilizza anticorpi monoclonali, è improbabile che interferisca con qualsiasi sostanza senza una struttura terziaria simile al PSA. Il test ha dimostrato che in effetti non vi era alcuna interferenza significativa da parte dei farmaci testati che avrebbe influenzato l'interpretazione di un risultato tPSA come testato sul FRENDS PSA Plus.

Risultati dello studio delle interferenze per FRENDS PSA Plus sul sistema FRENDS™

N.	Substrato	Concentrazione	Recupero medio %
1	Flutammide	10 µg/mL	94.50%
2	Stilbestrolo dietilico (DES)	5 µg/mL	103.80%
3	Goserelin	40 ng/mL	103.20%
4	Tamsulosina	100 ng/mL	98.85%
5	Acetaminophen	250 ng/mL	100.45%
6	Acetilsalicilicadd	600 µg/mL	95.85%
7	Leuprolide	275 ng/mL	101.50%
8	Ibuprofene	500 µg/mL	102.25%
9	Finasteride	250 ng/mL	93.60%
10	Docetaxel	10 µg/mL	114.45%

18. Misurazioni seriali e concordanza con lo stato medico

Poiché l'indicazione per l'uso di FRENDS PSA Plus prevede che i risultati del test verranno utilizzati come strumento per la gestione della cura dei pazienti con cancro alla prostata, è imperativo che i cambiamenti nel marker siano confrontati con i cambiamenti dello stato clinico per determinare l'efficacia del test. Pertanto, come parte importante degli studi clinici eseguiti per caratterizzare il FRENDS PSA Plus, i campioni seriali raccolti longitudinalmente da pazienti precedentemente diagnosticati con cancro alla prostata e trattati in vari modi nel corso clinico della loro malattia (tra cui prostatectomia, semi radioattivi, radiazione del fascio esterno, chemioterapia, terapia ormonale da sola o in combinazione) sono stati testati per tPSA con il PSA FRENDS™ Plus sul sistema FRENDS™. Gli stessi campioni sono stati misurati anche per tPSA con un altro metodo approvato dalla FDA.

Per ogni punto a punto in un set seriale di campioni, la variazione della concentrazione di thetPSA è stata confrontata con la variazione dello stato clinico dei pazienti misurata da altri test di laboratorio, interviste ai pazienti, esami fisici e studi di imaging di una varietà di tipi e registrata su un modulo di rapporto clinico.

Questi cambiamenti nella concentrazione del marcatore tPSA sono stati definiti significativi o meno moltiplicando il CV complessivo del test al livello medio (come determinato dallo studio sull'imprecisione del test) per un fattore di 2.5 per definire una variazione percentuale diversa da quella che ci si aspetterebbe a causa dell'imprecisione del test. Per il test FRENDS PSA Plus con un CV medio complessivo dell' 8.5%, la significatività è stata impostata con una variazione superiore al 20%. Qualsiasi aumento di valore da un periodo di tempo all'altro che non superasse il 20% è stato registrato come Variazione \leq 20%. Per l'altro metodo approvato dalla FDA, la significatività è stata fissata a una variazione $>$ 8.5%. Questo è stato calcolato utilizzando il CV globale di fascia media pubblicato da quel metodo di $3.4\% \times 2.5$.

Le impressioni del medico per quanto riguarda lo stato di malattia del soggetto ad ogni prelievo di sangue sono state registrate su CRFS per tutti i campioni di PSA seriali. Le informazioni sullo stato in una visita sono state confrontate con lo stato in quella successiva ed è stato determinato un cambiamento di stato per la coppia di visite. Il cambiamento dello stato clinico rispetto all'impressione del medico è stato quindi confrontato con i cambiamenti significativi nella concentrazione di PSA di ciascun campione misurata sia dal dispositivo di test (FRENDS PSA Plus) che dal dispositivo predicato (FDA Cleared Assay). I risultati di questi confronti sono mostrati di seguito in cui lo stato clinico è stato diviso in due gruppi: quelle coppie di visite che mostravano progressione e quelle che non mostravano progressione della malattia per lo stato da una visita all'altra visita.

1) Campioni senza progressione (Concordanza negativa)

FRENDS PSA Plus	Altro PSA approvato dal saggio FDA		
	$\geq 8.5\%$	$< 8.5\%$	Total
$\geq 20\%$	31	15	46
$< 20\%$	15	67	82
Totale	46	82	128
NC (FRENDS PSA Plus)	0.641		
NC(AIA-PACKPSA)	0.641		
Diverso	0.000		

Non vi è alcuna differenza nella Concordanza negativa (NC) tra i due saggi.

2) Campioni con progressione (Concordanza positiva)

FREND PSA Plus	Altro PSA approvato dal saggio FDA		
	≥ 8.5%	<8.5%	Total
≥ 20%	83	1	84
< 20%	5	19	24
Totale	88	20	108
PC(FREND PSA Plus)	0.778		
PC (AIA-PACCHETTO PSA)	0.815		
Diverso	0.037		

Un test McNemar dei dati accoppiati nella tabella precedente produce un valore p di 0.218. L'intervallo di confidenza associato al 95% per la vera differenza è da - 0.0157 a 0.0551. Entrambi gli stimatori concordano: non ci sono differenze statisticamente significative nelle Concordanze positive (PC) tra i due saggi.

Di seguito è riportato un grafico che confronta le concordanze del test FREND PSA Plus e dell'altro test PSA approvato dalla FDA. Sulla base degli intervalli di confidenza del 95% non sembrano esserci differenze tra le concordanze per il test FREND PSA Plus e l'altro test PSA approvato dalla FDA.











Concordanza	FREND PSA Plus	95% CI*	FDA Cleared PSA	95% CI*
Positivo	77.8%	69.8% to 85.3%	81.5%	73.8% to 88.7%
Negativo	64.1%	55.1% to 71.5%	64.1%	55.1% to 71.5%
Totale	70.3%	64.1% to 76.9%	72.0%	66.1% to 77.5%

* Gli intervalli di confidenza si basano su 10.000 ricampionamenti dei dati del paziente.

19. Riferimenti

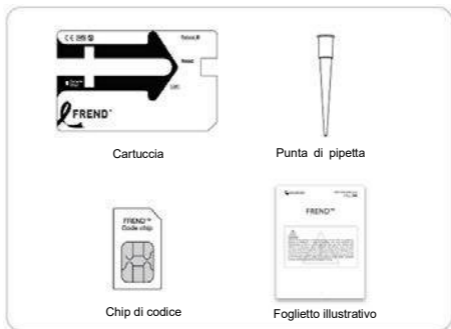
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471-2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203-1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol.13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press*.
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Glossario dei simboli

	Attenzione, avvertenza, Consultare i documenti di accompagnamento
REF	Numero di catalogo / Numero di riferimento
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consultare le istruzioni per l'uso Un indicatore elettronico delle istruzioni per l'uso (eIFU) (indirizzo del sito web) può accompagnare il simbolo quando viene utilizzato per indicare un'istruzione di consultazione di un eIFU.
LOT	Numero di lotto / Numero di partita
	Utilizzare da GG-MM-AAAA o MM-AAAA
	Società
	Marchio CE con numero di identificazione dell'organismo notificato
IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Limitazione della temperatura
	Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Non riutilizzare
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
Rx Only	Solo per uso su prescrizione medica ATTENZIONE: la legge federale (USA) limita la vendita di questo dispositivo da parte o su ordine di un medico.
US Corporation	Società statunitense
Patient ID	ID paziente
Result	Risultato
 Sample Drop	Goccia del campione
EC REP	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea

UK Representative	Rappresentante autorizzato nel Regno Unito
CH REP	Rappresentante autorizzato in Svizzera
BRH	Rappresentante autorizzato in Brasile

Contenuto del kit



Cartuccia

Punta di pipetta

Chip di codice

Foglietto illustrativo

Rivisto in data 02.2023

FREND PSA Plus

Ensayo cuantitativo rápido del Antígeno Prostático Específico

REF FRPS 025

IVD Sólo para uso diagnóstico *in vitro*



Precaución!

El uso de este dispositivo está restringido a, por, o por orden de un médico. Debido a las diferencias en la especificidad de los reactivos y los métodos de ensayo, la concentración de PSA en una muestra dada puede variar con dispositivos de diferentes fabricantes. Los valores obtenidos con diferentes métodos de ensayo no se pueden usar indistintamente. Es obligatorio que los resultados informados por el laboratorio al médico incluyan la identidad del ensayo utilizado. Si se cambia el método de ensayo de PSA durante el curso de la monitorización de pacientes con niveles de PSA en serie, los valores de referencia para los pacientes que se monitorizan en serie deben confirmarse mediante pruebas secuenciales adicionales.

1. Nombre y uso previsto

El FRENDA PSA Plus está diseñado para USO DE DIAGNÓSTICO *in vitro* ÚNICAMENTE para la medición cuantitativa del antígeno prostático específico (PSA) total en suero humano, plasma heparinizado y plasma con EDTA mediante el sistema FRENDA™. Este dispositivo está indicado para la medición en serie del PSA total en suero, plasma heparinizado y plasma EDTA para ser utilizado como ayuda en el tratamiento de pacientes con cáncer de próstata.

2. Resumen y explicación de la prueba

El antígeno prostático específico (PSA) es una glicoproteína monocatenaria con un peso molecular de 34 kilodaltons.^{1,2,3} Como serina proteasa con actividad similar a la de la quimotripsina, el PSA pertenece a la familia de las calicreínas. En la sangre, el PSA existe como forma libre o compleja con inhibidores de la proteasa como la α -1-antiquimotripsina (ACT). El PSA total representa la suma de las formas libre y compleja.⁴ El PSA se asocia únicamente con tejidos de próstata de estadios normales, inflamados o cancerosos. El PSA elevado en suero o plasma se encuentra en pacientes con cáncer de próstata, hipertrofia prostática benigna o tejidos inflamatorios. Los estudios sobre una variedad de métodos de PSA han demostrado que el PSA puede ser útil como indicador para el diagnóstico y el tratamiento del cáncer de próstata.⁵

El PSA se ha encontrado en tejido prostático normal, hiperplásico benigno y maligno, en el carcinoma de próstata metastásico y también en el líquido prostático y en el líquido seminal.⁶ El PSA no se encuentra en ningún otro tejido en los hombres, y no es producido por cánceres que se originan en el pulmón, colon, recto, estómago, páncreas o tiroides.⁷ Aunque se encuentran concentraciones elevadas de PSA en el suero de pacientes con hiperplasia benigna de próstata (BPH), prostatitis e infecciones e inflamación de la próstata, también se encuentran en pacientes con cáncer de próstata.^{8,9} La medición del PSA es una herramienta esencial para evaluar el estado de la enfermedad en pacientes con cáncer de próstata cuando se miden muestras seriadas a lo largo del tiempo.¹⁰ El valor clínico obtenido al monitorear las concentraciones de tPSA en pacientes con cáncer de próstata independientemente del régimen de tratamiento es bien conocido.¹¹ Desde mediados de la década de 1980, ha habido un creciente cuerpo de literatura sobre la utilidad del antígeno prostático específico (PSA) tanto para el control como para la detección del cáncer de próstata (CaP).

3. Principio del ensayo

El FRENDA PSA Plus es un inmunoensayo cuantitativo rápido tipo "sándwich" que utiliza nanopartículas fluorescentes que mide la concentración de PSA total. 35 µL de suero o plasma del paciente (solo heparina o EDTA) se presentan manualmente en la entrada del cartucho de prueba de una sola unidad individual, donde se mezclan con nanopartículas fluorescentes conjugadas con anticuerpos PSA. Las moléculas de PSA en la muestra se unen a los anticuerpos conjugados para formar complejos inmunes que luego se mueven por acción capilar a través del canal del cartucho de reactivo hasta el área de detección. Cuando la muestra llega a la zona de prueba, se hidrata con anticuerpos anti-PSA secos en fase sólida. Los complejos inmunes de partículas fluorescentes de PSA en la muestra son capturados por los anticuerpos de captura para formar complejos inmunes tipo sándwich. Las nanopartículas fluorescentes residuales no unidas a PSA conjugadas con anticuerpos de PSA pasan a través de la zona de prueba y se unen a los antígenos de PSA en la zona de referencia. A medida que la muestra avanza hacia el depósito de residuos, los componentes de unión no específicos se eliminan por lavado. La intensidad de la fluorescencia medida por una fuente de luz (láser) es proporcional a la cantidad de PSA total en la muestra original. El resultado se calcula usando la información almacenada en el chip de código FRENDA PSA Plus específico del lote y luego se muestra en la pantalla del sistema FRENDA™. Si lo desea, puede obtener una copia impresa. Una relación calculada entre la zona de referencia y la zona de prueba corrige las variaciones de prueba a prueba.

La concentración total de PSA en una muestra analizada con FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ se correlaciona directamente con la intensidad de la fluorescencia: cuanto mayor sea la concentración de tPSA, mayor será la fluorescencia. El FRENDA PSA Plus tiene un rango de medición determinado de 0.05 ng/mL a 25.0 ng/mL.

El FRENDA PSA Plus utiliza cartuchos de plástico transparente de un solo uso en los que todos los reactivos necesarios se almacenan dentro del propio cartucho. Todo lo que el usuario agrega es una muestra de prueba de 35 µL. El cartucho se inserta en el sistema FRENDA™ en la forma prescrita que se indica con una flecha negra en el cartucho. La reacción se lee varias veces a medida que la muestra se mueve a través de la acción capilar a través del cartucho. Este tipo de sistema de ensayo se denomina a veces como uno que incorpora flujo laminar.

4. Material proporcionado (FREND PSA Plus) Número de catálogo: FRPS 025

Cartuchos FREND PSA Plus	25
Puntas de pipeta (micropipeta incluida)	30
Chip de código FREND PSA Plus	1
Prospecto de FREND PSA Plus	1

Un cartucho contiene:

Anti-PSA1 monoclonal----- 48 ± 9.6 ng

Anti-PSA2 monoclonal----- 144 ± 28.8 ng

Partícula fluorescente ----- 2.4 ± 0.48 µg

5. Materiales requeridos pero no provistos

Los siguientes materiales no se proporcionan con el reactivo, pero son necesarios para realizar análisis de antígeno prostático específico con FREND PSA Plus en el sistema FREND™. Están disponibles por separado de NanoEntek.

Materiales	Cat. No.
Sistema FREND™	F10

6. Advertencias y precauciones

- Los cartuchos FREND PSA Plus están destinados únicamente para diagnóstico *in vitro*.
- Los cartuchos PSA Plus solo deben usarse en el sistema FREND™.
- Deje que los cartuchos alcancen la temperatura ambiente durante 15 ~ 30 minutos antes de usarlos.
- Evite la contaminación cruzada entre muestras utilizando una punta de pipeta nueva para cada muestra nueva.
- Evite la humedad alta, la luz solar directa o el calor en el área utilizada para el almacenamiento de cartuchos.
- Es posible que se produzcan resultados inexactos si la muestra utilizada está contaminada de algún modo.
- El uso de muestras que contengan fibrina coagulada podría generar resultados erróneos.
- La carga excesiva o insuficiente del cartucho con muestra puede generar resultados inexactos.
- Los cartuchos no deben congelarse.

- No se utilizan especímenes humanos en la preparación de este producto; sin embargo, debido a que se utilizarán especímenes humanos para las muestras y otros productos de control de calidad en el laboratorio pueden derivarse de materiales humanos, utilice los procedimientos estándar de seguridad de laboratorio al manipular todos los especímenes y controles.
- No utilice los cartuchos más allá de la fecha de caducidad que figura en la bolsa.
- No utilice el cartucho si la bolsa está dañada o el sello está roto.
- Realice las pruebas como se especifica en el prospecto y el manual del usuario.
- Los cartuchos de PSA Plus son dispositivos desechables de un solo uso. No los reutilice bajo ninguna circunstancia.
- Mantenga el cartucho sellado en la bolsa hasta que esté listo para usar.
- Use el cartucho inmediatamente después de abrir la bolsa.
- Use guantes desechables cuando manipule los cartuchos y las muestras.
- Lávese las manos minuciosamente y con frecuencia después de manipular cartuchos de reactivos o muestras.
- Solo para uso profesional.

PSA Plus ha sido diseñado para que el "efecto gancho" de dosis altas no sea un problema para la gran mayoría de las muestras. Las muestras con concentraciones de PSA entre 25 y 1,200 ng/mL darán una lectura > 25 ng/mL. El fenómeno del "efecto gancho" puede ocurrir solo con concentraciones de PSA > 1,200 ng/mL.

7. Storage and Stability

Todos los materiales sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad que figura en la etiqueta cuando se almacenan a la temperatura especificada. La estabilidad del cartucho se ha demostrado durante veinticuatro meses a partir de la fecha de fabricación.

La fecha de caducidad está claramente indicada en la caja del producto y en los cartuchos.

Materiales	Cat. No.
Temperatura del refrigerador (2 ~ 8° C): Cartuchos PSA Plus	FRPS 025
Temperatura ambiente (18 ~ 25° C): Puntas de pipeta	Ninguno

8. Recolección y manipulación de espécimes

Suero o plasma (heparinizado o K3- EDTA solamente) para el ensayo. NO SE DEBE USAR plasma citratado.

No es necesaria una preparación especial del paciente. Para usar suero, se recoge una muestra de sangre asépticamente sin aditivos mediante punción venosa. Después de permitir que la muestra se coagule durante 30 minutos a temperatura ambiente, el tubo de recolección debe centrifugarse durante 10 minutos a 3000 rpm.

Para plasma heparinizado o Ks-EDTA, se recoge una muestra de sangre venosa asépticamente con el aditivo designado. El plasma debe separarse de las células empaquetadas lo antes posible.

Se ha demostrado que la manipulación prostática afecta los resultados del PSA, por lo que se deben extraer muestras antes de realizar cualquier procedimiento prostático como DRE, masaje prostático y TRUS.

Las muestras se pueden almacenar a 2 ~ 8 °C durante un máximo de 6 horas antes del análisis. Si el análisis está programado para realizarse en algún momento posterior, la muestra debe almacenarse congelada a -20 °C o menos para su uso futuro. El fabricante realizó un estudio de estabilidad de la muestra a -20 °C solo durante tres semanas, pero hay muchas publicaciones disponibles que muestran que el PSA total mantenido congelado es estable durante 3 meses o más.^{16, 17, 18}

Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación y descongelación. Las muestras de suero turbio o las muestras que contengan partículas, como coágulos o hebras de fibrina, deben centrifugarse antes de analizarse. Antes del ensayo, lleve lentamente las muestras congeladas a temperatura ambiente (18 ~ 25 °C) y mezcle suavemente pero completamente antes de realizar la prueba.

9. Procedimiento

1) Preparación de reactivos

- **Cartuchos**

No se requiere preparación de reactivos para medir el tPSA con el cartucho FREND PSA Plus en el sistema FREND™. Sin embargo, los cartuchos necesarios para una ejecución en particular deben retirarse del refrigerador y dejar que alcancen la temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos antes de usarlos.

2) Calibración

Los calibradores utilizados durante el proceso de fabricación del cartucho para crear la información colocada electrónicamente en el chip FRENDS PSA Plus Code se preparan gravimétricamente y se comparan con estándares de referencia internacionales (código NIBSC del antígeno prostático específico internacional de la OMS (90:10): 96/670) . Sin embargo, para el usuario final, no hay necesidad de calibración como se realiza generalmente en otros equipos de laboratorio automatizados. Todas las estadísticas y la información de calibración se han almacenado electrónicamente en el chip de código FRENDS PSA Plus incluido en cada caja del cartucho FRENDS PSA Plus. El chip de código FRENDS PSA Plus es específico para ese lote fabricado de FRENDS PSA Plus.

La idoneidad de la información de calibración siempre debe verificarse procesando suficientes materiales de control de calidad externos como muestras para verificar que los resultados obtenidos para tPSA en el sistema FRENDS™ usando los cartuchos FRENDS PSA Plus de un lote en particular cumplen con el criterio de aceptabilidad del laboratorio.

• Instalación del chip de código FRENDS PSA Plus

Por favor, consulte el manual del usuario del sistema FRENDS™ para obtener instrucciones más detalladas sobre la instalación del chip de código. Siga las instrucciones abreviadas aquí:

- (1) Inserte el cable eléctrico del sistema FRENDS™ en un tomacorriente apropiado.
- (2) Inserte el chip de código en la ranura del chip de código en la parte posterior del sistema FRENDS™ siguiendo las flechas.
- (3) Presione el botón ' Configuración 'en la pantalla 'Principal'.
- (4) Presione el botón 'Chip de código' en la pantalla 'Configuración'.
- (5) La información integrada en el chip del código FRENDS PSA Plus se guarda automáticamente en el sistema FRENDS™.
- (6) Cuando se complete la instalación del chip de código, presione el botón 'OK' para ir a la pantalla 'Configuración'.
- (7) Presione el botón 'Artículo' en la pantalla 'Configuración'.
- (8) Verifique el número de lote del cartucho FRENDS PSA Plus y la fecha de instalación del chip de código.
- (9) Presione el botón 'Inicio' para ir a la pantalla 'Principal' para comenzar a ejecutar el control de calidad externo y las muestras de los pacientes.

3) Control de calidad

- **Controles disponibles comercialmente**

Hay controles comercialmente disponibles de una variedad de fabricantes que contienen tPSA como analito medido. Se recomienda ejecutar estos controles externos al menos una vez al día cuando se programen pruebas para FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™. Se debe utilizar un mínimo de al menos dos (2) niveles de controles, normal y anormal. La política del laboratorio individual dictará exactamente qué materiales de control y números de lote se deben ejecutar, la frecuencia con la que se deben probar los controles, los criterios para la aceptación de los resultados y la acción correctiva requerida que se debe tomar si los resultados no cumplen con los criterios del laboratorio. No analice muestras de pacientes en el sistema FRENDA™ utilizando el FRENDA PSA Plus si los resultados del control de calidad no dan los valores esperados. Consulte las políticas de su laboratorio sobre cómo determinar la aceptabilidad de los resultados de los materiales de control externos.

- **Procedimiento de control de calidad**

Los materiales de control de calidad externos que se analizarán con FRENDA PSA Plus están definidos por la política de laboratorio individual. El procedimiento de ensayo utilizado para obtener resultados en el material de control de calidad externo seleccionado es idéntico al utilizado cuando se analizan muestras de pacientes y se describe a continuación.

Si se va a utilizar material de control de calidad liofilizado, reconstituya de acuerdo con las instrucciones del fabricante y deje que el sedimento se disuelva según lo estipulado hasta que el material se haya disuelto. Asegúrese de mezclar suave pero completamente antes de probar.

El material de control refrigerado y/o congelado debe tratarse como se describe a continuación en la preparación para el procesamiento de muestras. Todos los materiales deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

4) Procesamiento de espécimes

- **Preparación**

Retire del refrigerador suficientes cartuchos de FRENDA PSA Plus para analizar el número de muestras de pacientes y los materiales de control de calidad externos requeridos. Deje que los cartuchos alcancen la temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos antes de comenzar la secuencia de prueba.

Si usa muestras de pacientes refrigeradas, sáquelas del refrigerador y permita que alcancen la temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Si se van a utilizar muestras congeladas, asegúrese de sacarlas del congelador, descongelarlas de forma natural y luego mezclarlas suave pero completamente antes de la prueba.

No son necesarios otros reactivos o preparaciones de muestras.

• **Procedimiento de ensayo**

- (1) Prepare el FRENDS PSA Plus y el espécimen.
- (2) Registre la identificación de la muestra en el cartucho en el área designada.
- (3) Deje caer la muestra (35 µL) en la entrada de muestra del cartucho usando una micropipeta calibrada con una punta de pipeta nueva.
- (4) Pulse el botón 'Prueba' en la pantalla 'Principal' del sistema FRENDS™.
- (5) La pantalla del sistema FRENDS™ a la pantalla de identificación del paciente automáticamente.
- (6) Escriba la identificación del paciente y presione el botón 'Entrar' para comenzar la prueba.
- (7) Inserte el cartucho en la ranura del cartucho utilizando las flechas del cartucho como guía.

⚠ Precaución: *Por favor, verifique la dirección del cartucho antes de insertarlo y asegúrese de que la inserción esté completa.*

- (8) Cuando la reacción en el cartucho se completa en 3 minutos, el sistema FRENDS™ comenzará automáticamente el proceso de lectura.
- (9) Cuando se completen las mediciones, el cartucho se expulsará automáticamente y se mostrarán los resultados.

⚠ Precaución: *No desconecte la alimentación del sistema FRENDS™ mientras haya un cartucho en la cámara de lectura. Esto puede causar un error del sistema.*

- (10) Si el sistema FRENDS™ está conectado a la impresora opcional, presione el botón 'Imprimir' y los resultados se imprimirán en el papel de la impresora.
- (11) Para obtener instrucciones más detalladas, consulte el 'Manual del usuario del sistema FRENDS™'.


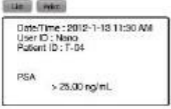
10. Notas de procedimiento

Si se determina que la concentración de antígeno prostático específico de una muestra supera el límite de linealidad del ensayo de 25.0 ng/mL y se requiere un resultado definitivo, la muestra debe diluirse con sueros femeninos que se hayan medido previamente en el FRENDA PSA Plus y se encontró que contenía < 0.05 ng/mL de tPSA y luego se volvió a analizar de acuerdo con el procedimiento de ensayo. La dilución recomendada para muestras con un resultado inicial de > 25.0 ng/mL es 1:10 o 1:50. Es deseable diluir la muestra para que la muestra diluida lea entre 2 y 20 ng/mL. Las diluciones deben realizarse manualmente y el resultado final de la muestra diluida debe calcularse manualmente multiplicando el resultado obtenido en la muestra diluida por el factor de dilución.

11. Cálculo de resultados

El sistema FRENDA™ realiza todas las operaciones de manejo de muestras y cartuchos automáticamente dentro del cartucho una vez que la muestra se ha agregado manualmente al pocillo de muestra en el cartucho y el cartucho se ha colocado en el sistema FRENDA™. La tasa de fluorescencia producida por la reacción se lee en varios intervalos durante el proceso de análisis, las lecturas en blanco se restan después de lo cual la tasa neta se convierte automáticamente en la concentración total de antígeno prostático específico en ng/mL según la información almacenada en el chip de código PSA. Este resultado se envía luego a la pantalla y a la impresora opcional. También se almacena en la memoria del sistema FRENDA™.

Visualizaciones en pantalla para varios escenarios de concentración

Resultado mostrado	Descripción
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, it displays 'Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-01'. The main result is 'PSA < 0.05 ng/mL'.</p>	Concentración de PSA Menos de 0.05 ng/mL
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, it displays 'Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T10'. The main result is 'PSA 0.73 ng/mL'.</p>	Concentración de PSA No menos de 0.05 ng/mL y no superior a 25.00 ng/mL
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, it displays 'Date/Time : 2012-1-18 11:30 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-04'. The main result is 'PSA > 25.00 ng/mL'.</p>	Concentración de PSA Superior a 25.00 ng/mL

12. Visualización de resultados

1) Control de calidad

Con el fin de controlar y evaluar la precisión del rendimiento analítico, se recomienda que las muestras de control disponibles comercialmente se analicen diariamente.

Las recomendaciones mínimas para la frecuencia de funcionamiento del material de control externo son:

- Al comenzar un nuevo lote de reactivo, se ejecutan tres niveles de controles para validar la calibración.
- Los tres niveles de controles también se repiten cuando se realizan ciertos procedimientos de servicio, tales como actualizaciones de software, trabajo mecánico en el sistema óptico o reubicación del sistema.

Si los valores de alguna muestra de control de calidad externa están fuera del rango aceptable, será necesario investigar el problema antes de informar los resultados del paciente para asegurarse de que no haya un mal funcionamiento del instrumento o del software.

Cada laboratorio opera bajo un conjunto diferente de regulaciones. Cada laboratorio debe seguir los procedimientos estandarizados aceptables para las agencias reguladoras ante las cuales el laboratorio es responsable.

13. Limitaciones del Procedimiento

Cuando se utilice con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos de este ensayo deben utilizarse junto con otros datos (p. ej., síntomas, resultados de otras pruebas, impresiones clínicas, historial médico, terapia, etc.).

El sistema FREND™, combinado con un cartucho FREND PSA Plus, está programado para informar 25.0 ng/mL, como la concentración más alta de PSA medible sin dilución. La concentración medible más baja es de 0.05 ng/mL, el límite de sensibilidad del ensayo.

Los anticuerpos heterofílicos en una muestra tienen el potencial de causar interferencia en los sistemas de inmunoensayo.^{12,13} Con poca frecuencia, los niveles de PSA pueden parecer elevados debido a la presencia de anticuerpos heterofílicos en el suero o plasma del paciente o a la unión inespecífica a proteínas. Si el nivel de PSA es inconsistente con la evidencia clínica, se sugiere una prueba de PSA adicional para confirmar los resultados.

Aunque la hemólisis tiene un efecto insignificante en el ensayo, las muestras hemolizadas pueden indicar un maltrato de una muestra antes del ensayo y los resultados deben interpretarse con precaución.

La lipemia tiene un efecto insignificante en el ensayo, excepto en el caso de una lipemia grave en la que puede producirse una interferencia con el flujo lateral de la muestra en el cartucho.

Las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Dichos especímenes pueden mostrar valores de PSA falsamente elevados o disminuidos.

Ciertos medicamentos pueden interferir con el rendimiento del ensayo. Todos los resultados deben interpretarse con respecto al cuadro clínico del paciente.¹⁴

La concentración de tPSA en una muestra determinada determinada con ensayos de diferentes fabricantes puede variar debido a las diferencias en los métodos de ensayo, la calibración y la especificidad de los reactivos.¹⁵

Por favor, consulte las secciones de recolección y manipulación de muestras, advertencias y precauciones, almacenamiento y estabilidad y notas de procedimiento en esta hoja de inserción.

Los resultados clínicos deben interpretarse con respecto a los medicamentos administrados al paciente.¹⁴

No se ha establecido la capacidad del ensayo para detectar formas libres y complejas de PSA total (PSA libre complejo con alfa-1-antiquimotripsina) en una base molar igual (equimolaridad).

14 Valores esperados

Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico clínico, cada laboratorio debe determinar un intervalo de referencia que corresponda a las características de la población que se está analizando. El FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ se debe usar en muestras de sangre en serie para tratar a pacientes con cáncer de próstata.

Las pruebas de sujetos masculinos ambulatorios de cincuenta años o más que se reportaron como sanos sin enfermedades, padecimientos o condiciones conocidas se realizaron utilizando FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ y otro método de PSA disponible en el mercado. El intervalo de referencia actualmente aceptado para tPSA de hasta 4.0 ng/mL fue validado para ambos sistemas.

Como ocurre con todos los métodos de PSA, ningún resultado de tPSA puede interpretarse como definitivo para la presencia o ausencia de cáncer de próstata. Los pacientes con niveles de PSA dentro del intervalo de referencia que se encuentran en sujetos aparentemente sanos pueden tener cáncer de próstata; los pacientes con niveles superiores a los del intervalo de referencia pueden estar libres de tener cáncer de próstata. Los resultados del FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ deben interpretarse a la luz de otros hallazgos clínicos y procedimientos de diagnóstico, como DRE, varios estudios de imágenes, etc., ya que ciertos tratamientos pueden hacer que los valores de PSA disminuyan en virtud del tratamiento mientras el cáncer sigue progresando.

15. Rangos de referencia

El intervalo dado aquí se determinó en muestras de suero de 196 sujetos masculinos aparentemente sanos de 50 a 71 años de edad.

Categoría	Hombres
Número de muestras (n)	196
Intervalo de referencia	0~4.0 ng/mL

En este estudio, más del 99 % de los sujetos sanos tenían concentraciones séricas de PSA inferiores o iguales a 4.0 ng/mL mediante FRENDA PSA Plus tanto en el sistema FRENDA™ como en otro ensayo fluorescente de tPSA disponible comercialmente en el mercado. Los resultados de este estudio se muestran a continuación:

Categoría	Otro PSA aprobado por la FDA	FRENDA PSA Plus
Número de muestras (n)	196	196
Media (x)	0.71 ng/mL	0.83 ng/mL
SD	0.38 ng/mL	0.43 ng/mL
Rango de valores	0.00~2.03 ng/mL	0.02~2.69 ng/mL
Mediana	0.66 ng/mL	0.77 ng/mL

Valores esperados para el manejo de pacientes con cáncer de próstata

Distribución de las concentraciones séricas de FRENDA PSA Plus en estados de enfermedades sanas, benignas y malignas diversas

	N	0~4.0 ng/mL	4.1~10.0 ng/mL	10.1~20.0 ng/mL	20.1~40.0 ng/mL	>40.0 ng/mL
Sujetos sanos	196					
Hombres y 50 años.	196	100%	0%	0%	0%	0%
Enfermedad/Cond * benigna	410					
Próstata benigna	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabetes	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
HTA/enfermedad cardíaca	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
GI benigno	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Enfermedades malignas*	302					
Cáncer de próstata**	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Puntuación de Gleason 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Puntuación de Gleason 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Puntuación de Gleason 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Cáncer de pulmón/hígado	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
GB, gástrico-pancreático	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Cáncer colorrectal	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Otros tipos de cáncer	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
TOTAL Sujetos	908					

* Sujetos tratados y no tratados

** Las muestras seriadas no se incluyen en esta cohorte.

16. Características de rendimiento

Las características de rendimiento se evaluaron para el FRENDA PSA Plus de la siguiente manera:

1) Exactitud

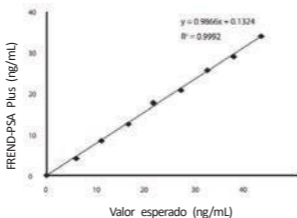
1a) Recuperación

Se añadieron muestras conocidas de PSA a un espécimen de suero femenino (0.01 ng/mL). La concentración de PSA se determinó antes y después de la adición del PSA exógeno y se calculó el porcentaje de recuperación.

Concentración Añadida (ng/mL)	Concentración observada (ng/mL)	Recuperación (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Linealidad de dilución

Las muestras de un grupo de alta concentración (34 ng/ml de tPSA) se diluyeron con un grupo de baja concentración siguiendo las instrucciones del documento EP6-A del protocolo CLSI. La correlación con la linealidad esperada mostró $R^2 = 0.9992$.



Linealidad de dilución - FRENDS-PSA Plus

Datos de linealidad de dilución - FRENDS-PSA Plus

No.	En blanco	1	2	3	4	5	6	7	Alto
Dilución	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
PRUEBA 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
PRUEBA 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
PRUEBA 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
PRUEBA 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
PRUEBA 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
PRUEBA 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
MEDIA (ng/mL)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.608	21.015	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV(%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Valor esperado	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% de recuperación		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1c) Análisis comparativo:

Se analizó el PSA total de un grupo de muestras de suero bien caracterizadas recolectadas con la supervisión del IRB de sujetos con cáncer de próstata verificado por patología y almacenadas a -70° C bajo condiciones monitoreadas. Los resultados del FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ (y) se compararon con los obtenidos con el ensayo TOSOH ST AIA-PACK PA (x). En el estudio se analizaron un total de 160 muestras únicas; sin embargo, en el análisis comparativo solo se usaron muestras con resultados de tPSA dentro de la linealidad de FRENDA PSA Plus (hasta 25.0 ng/mL; (n=143)).

Pendiente: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Intersección: -0.01179 (95% CI: -0.2763; 0.2527)

Coefficiente de correlación (R) = 0.9671 (95% CI: 0.9545 ~ 0.9763)

Número de muestras = 143

Rango de valores de FRENDA PSA Plus: 0.04 ~ 29.99 ng/mL

Rango de valores de ST AIA-PACK PA: 0.00 ~ 25.86 ng/mL

2) Precisión

2a) Pruebas de precisión de lote único y sitio único

La precisión se determinó como se describe en el protocolo CLSI EP5-A. Se analizaron cuatro muestras clínicas en todo el rango de medición en réplicas de dos en dos momentos distintos por día durante veinte días utilizando un solo lote de cartuchos FRENDA PSA Plus. A continuación, los hallazgos muestran la repetibilidad, entre ejecuciones, entre días y con datos de precisión en el laboratorio.

Muestra	PSA medio (ng/mL)	Repetibilidad		Entre ejecuciones		Entre días		Con laboratorio TI	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Pruebas de precisión en múltiples lotes y múltiples sitios

Se evaluaron tres lotes diferentes de FRENDA PSA Plus en tres sitios geográficamente diversos. Se evaluaron cuatro réplicas de cada uno del Material A, Material B y Material C y dos réplicas de QC 1, QC 2 y QC 3 en cada una de las dos ejecuciones realizadas durante cinco días en cada sitio.

Se generaron un total de 40 resultados de cada material en cada uno de los tres sitios, lo que dió un total de 120 réplicas de cada material. Los datos se analizaron usando un formato CLSI de EP5-A2 para un análisis ANOVA. De instrumento a instrumento es lo mismo que de sitio a sitio en este escenario. Como puede verse en la siguiente tabla, la mayor fuente de variación es el cartucho, que sería el resultado esperado. El cartucho FREND PSA Plus es un cartucho de un solo uso que contiene todos los reactivos dentro del cartucho necesarios para soportar las reacciones.

%CV por Material						
Material						
Fuente de variación	MAT A (0.29 ng/mL)	MAT B (3.67 ng/mL)	MAT C (18.33 ng/mL)	QC 1 (0.30 ng/mL)	QC 2 (2.93 ng/mL)	QC 3 (20.25 ng/mL)
De sitio a sitio	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Día a día	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Lote a lote	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
intercartucho	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Total	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Especificidad

Las siguientes sustancias se evaluaron para determinar la reactividad cruzada potencial con el FREND PSA Plus en las concentraciones indicadas a continuación. Las pruebas se realizaron de acuerdo con las instrucciones recomendadas por el protocolo CLSI EP7-A. No se encontró reactividad cruzada significativa.

Especificidad de FREND PSA Plus

No.	Sustrato	Concentración
1	PAP (Fosfatasa ácida prostática)	10.0 ng/mL
2	Calicreína	15.0 ng/mL

4) Sensibilidad analítica

El límite de detección (LoD) para el FREND PSA Plus se determinó mediante el protocolo CLSI EP17-A. Se determinó que la sensibilidad analítica del FREND PSA Plus era de 0.03 ng/mL.

17. Interferencia

La interferencia se define, para los fines de este estudio, como una recuperación fuera del 15% de la concentración media conocida de la muestra. En otras palabras, la recuperación del 85% al 115% de lo esperado se considera un desempeño aceptable.

1) Interferentes endógenos

Estos estudios de interferencia en sustancias endógenas se realizaron usando el FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ de acuerdo con las recomendaciones del protocolo CLSI EP7-A:

- La hemoglobina añadida (hasta 500 mg/dL) no interfiere con el ensayo. La recuperación promedio cuando se agregó al suero que contenía tPSA a 1.0 y 4.0 ng/mL fue de 97.25%.
- La bilirrubina no conjugada añadida (hasta 20 mg/dL) no interfiere con el ensayo.
- La recuperación promedio cuando se agregó al suero que contenía tPSA a 1.0 y 4.0 ng/mL fue del 98.2%.
- La gammaglobulina añadida (Proteína total) hasta 5.0 g/dL no interfiere con el ensayo. La recuperación promedio cuando se agregó al suero que contenía tPSA a 1.0 y 4.0 ng/ml fue del 106.3%.
- Los triglicéridos añadidos hasta 3 g/dL no interfieren con este ensayo. La recuperación promedio cuando se agregó al suero que contenía tPSA a 1.0 y 4.0 ng/ml fue del 101.5%.

2) Interferentes farmacéuticos

El siguiente gráfico muestra los estudios de interferencia realizados con FRENDA PSA Plus en el sistema FRENDA™ para varios medicamentos que pueden encontrarse en el suero/plasma de hombres diagnosticados con cáncer de próstata. Las concentraciones de los fármacos que se agregaron a las muestras de prueba y los controles a concentraciones base de tPSA de 1.0 ng/mL y 4.0 ng/mL se muestran como el % de recuperación en el extremo derecho del gráfico. Dado que el método FRENDA PSA Plus utiliza anticuerpos monoclonales, es poco probable que interfiera alguna sustancia sin una estructura terciaria similar al PSA. Las pruebas mostraron que, de hecho, no hubo interferencia significativa de los medicamentos probados que pudiera afectar la interpretación de un resultado de tPSA según lo analizado en el FRENDA PSA Plus.

Resultados del estudio de interferencia para FREND PSA Plus en el sistema FREND™

No.	Sustrato	Concentración	% de recuperación promedio
1	Flutamida	10 µg/mL	94.50%
2	Dietilestilbestrol (DES)	5 µg/mL	103.80%
3	Goserelina	40 ng/mL	103.20%
4	Tamsulosina	100 ng/mL	98.85%
5	Acetaminofén	250 ng/mL	100.45%
6	Ácido acetilsalicílico	600 µg/mL	95.85%
7	Leuprolide	275 ng/mL	101.50%
8	Ibuprofeno	500 µg/mL	102.25%
9	Finasterida	250 mg/mL	93.60%
10	Docetaxel	10 µg/mL	114.45%

18. Mediciones en serie y concordancia con el estatus médico

Dado que la indicación de uso de FREND PSA Plus es que los resultados del ensayo se utilizarán como una herramienta para controlar la atención de los pacientes con cáncer de próstata, es imperativo que los cambios en el marcador se comparen con los cambios en el estatus clínico para determinar la eficacia de la prueba. Por lo tanto, como parte importante de los estudios clínicos realizados para caracterizar el FREND PSA Plus, se recopiló longitudinalmente muestras en serie de pacientes previamente diagnosticados con cáncer de próstata y tratados de diversas maneras durante el curso clínico de su enfermedad (incluyendo prostatectomía, semillas radiactivas, radiación de haz externo, quimioterapia, terapia hormonal sola o en combinación) se analizaron para tPSA con el FREND PSA Plus en el sistema FREND™. Las mismas muestras también se midieron para tPSA mediante otro método aprobado por la FDA.

Para cada punto a punto en un conjunto de muestras en serie, el cambio en la concentración de tPSA se comparó con el cambio en el estado clínico de los pacientes medido por otras pruebas de laboratorio, entrevistas con pacientes, exámenes físicos y estudios de imágenes de una variedad de tipos y registrado en un Formulario de informe clínico.

Estos cambios en la concentración del marcador tPSA se definieron como significativos o no al multiplicar el CV general del ensayo en el rango medio (según lo determinado por el estudio de imprecisión de la prueba) por un factor de 2.5 para definir un cambio porcentual diferente del que se esperaría debido a la imprecisión del ensayo. Para el ensayo FRENDA PSA Plus con un CV general de rango medio del 8.5%, la significación se fijó en un cambio superior al 20%. Cualquier aumento en el valor de un período de tiempo al siguiente que no supere el 20% se registró como $\leq 20\%$ de cambio. Para el otro método aprobado por la FDA, la significación se estableció en un cambio $> 8.5\%$. Esto se calculó utilizando el CV de rango medio general publicado de ese método de $3.4\% \times 2.5$.

Las impresiones del médico con respecto al estado de la enfermedad del sujeto en cada extracción de sangre se registraron en CRF para todas las muestras de PSA en serie. La información de estado de una visita se comparó con el estado de la siguiente y se determinó un cambio de estatus para el par de visitas. Luego se comparó el cambio en el estatus clínico de la impresión del médico con los cambios significativos en la concentración de PSA de cada muestra medida por el dispositivo de prueba (FRENDA PSA Plus) y el dispositivo predicado (Ensayo aprobado por la FDA). Los resultados de estas comparaciones se muestran a continuación, donde el estado clínico se dividió en dos grupos: aquellos pares de visitas que mostraron progresión y aquellos que no mostraron progresión de la enfermedad por estatus de visita a visita.

1) Muestras sin progresión (Concordancia negativa)

	Otro ensayo de PSA autorizado por la FDA		
FRENDA PSA Plus	$\geq 8.5\%$	$< 8.5\%$	Total
$\geq 20\%$	31	15	46
$< 20\%$	15	67	82
Total	46	82	128
NC (FRENDA PSA Plus)	0.641		
NC (AIA-PACK PSA)	0.641		
Diferente	0.000		

No hay diferencia en la concordancia negativa (NC) entre los dos ensayos.

2) Muestras con progresión (Concordancia positiva)

	Otro ensayo de PSA autorizado por la FDA		
FREND PSA Plus	≥ 8.5%	<8.5%	Total
≥20%	83	1	84
<20%	5	19	24
Total	88	20	108
PC (FREND PSA Plus)	0.778		
PC (AIA-PACK PSA)	0.815		
Diferente	0.037		

Una prueba de McNemar de los datos pareados de la tabla anterior arroja un valor p de 0.218. El intervalo de confianza del 95 % asociado para la diferencia verdadera es - 0.0157 a 0.0551. Ambos estimadores coinciden: no existen diferencias estadísticamente significativas en las concordancias positivas (PC) entre los dos ensayos.

A continuación se muestra un gráfico que compara las concordancias del ensayo FREND PSA Plus y el otro ensayo de PSA aprobado por la FDA. En base a los intervalos de confianza del 95%, parece que no hay diferencias entre las concordancias para el ensayo FREND PSA Plus y el otro ensayo de PSA aprobado por la FDA.


















Concordancia	FREND PSA Plus	95% de CI*	PSA aprobado por la FDA	95% de CI*
Positivo	77.8%	69.8% to 85.3%	81.5%	73.8% to 88.7%
Negativo	64.1%	55.1% to 71.5%	64.1%	55.1% to 71.5%
Total	70.3%	64.1% to 76.9%	72.0%	66.1% to 77.5%

* Los intervalos de confianza se basan en 10,000 remuestras de los datos del paciente.

19. Referencias

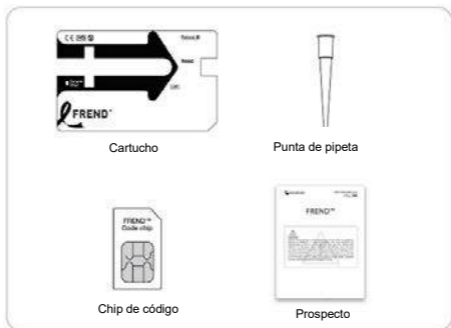
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471-2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203-1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol. 13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press*.
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Glosario de Símbolos

	Precaución, advertencia, Consulte los documentos adjuntos
	Número de catálogo/Número de referencia
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consulte las instrucciones de uso Un indicador de instrucciones electrónicas de uso (eIFU) (dirección de sitio web) podrá acompañar al símbolo cuando se utilice para indicar una instrucción de consulta de un eIFU.
	Número de Lote
	Usar para la fecha DD-MM-YYYY o MM-AAAA
	Fabricante
	Marca CE con número de identificación del organismo notificado
	Dispositivos médicos para diagnósticos <i>in vitro</i>
	Limitación de temperatura
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	No reutilizar
	No utilizar si el paquete está dañado
	Solo con receta médica PRECAUCIÓN: La legislación federal (EE.UU.) restringe la venta de este dispositivo a médicos, o por prescripción facultativa.
	Corporación Estadounidense
	Identificación del Paciente (ID)
	Resultado
	Gota de Muestra

EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
UK Representative	Representante autorizado en el Reino Unido
CH REP	Representante autorizado en Suiza
BRH	Representante autorizado en Brasil

Contenidos del Kit



Revisado en 02.2023

FREND PSA Plus

Dosage quantitatif rapide de l'Antigène Spécifique de la Prostate

REF

FRPS 025

IVDPour usage diagnostique *in vitro* uniquement

Avertissement !

L'utilisation de cet appareil est limitée à, par, ou sur l'ordre d'un médecin. En raison des différences de spécificité des réactifs et des méthodes de dosage, la concentration d'APS dans un échantillon donné peut varier avec les dispositifs de différents fabricants. Les valeurs obtenues avec des méthodes de dosage différentes ne peuvent pas être utilisées de manière interchangeable. Il est obligatoire que les résultats communiqués par le laboratoire au médecin comprennent l'identité du test utilisé. Si la méthode de dosage de l'APS est modifiée au cours du suivi des patients avec des taux d'APS en série, les valeurs de base des patients faisant l'objet d'un suivi en série doivent être confirmées par des tests séquentiels supplémentaires.

1. Nom et utilisation prévue

Le FRENDS PSA Plus est conçu pour une UTILISATION DIAGNOSTIQUE in vitro UNIQUEMENT pour la mesure quantitative de l'Antigène prostatique spécifique (APS) total dans le sérum humain, le plasma hépariné et le plasma EDTA à l'aide du système FRENDS™. Ce dispositif est indiqué pour la mesure en série de l'APS total dans le sérum, le plasma hépariné et le plasma EDTA pour être utilisé comme aide à la gestion des patients atteints du cancer de la prostate.

2. Résumé et explication du test

L'antigène prostatique spécifique (APS) est une glycoprotéine à chaîne unique dont le poids moléculaire est de 34 kilodaltons.^{1,2,3} En tant que sérine protéase ayant une activité semblable à celle de la chymotrypsine, l'APS appartient à la famille des kallikréines. Dans le sang, l'APS existe sous forme libre ou complexe avec des inhibiteurs de protéase tels que l'a-1-antichymotrypsine (ACT). L'APS total représente la somme des formes libres et complexes.⁴ L'APS est associé de manière unique aux tissus de la prostate à des stades normaux, enflammés ou cancéreux. Un taux élevé d'APS dans le sérum ou le plasma est constaté chez les patients atteints de cancer de la prostate, d'hypertrophie bénigne de la prostate ou de tissus inflammatoires. Des études sur diverses méthodes de dosage de l'APS ont montré qu'il peut être utile comme indicateur pour le diagnostic et la gestion du cancer de la prostate.⁵

L'APS a été retrouvé dans les hyperplasies normales bénignes, et dans le tissu prostatique malin, dans le carcinome prostatique métastatique, et aussi dans le liquide prostatique ainsi que dans le liquide séminal.⁶ L'APS ne se trouve dans aucun autre tissu chez l'homme et n'est pas produit par des cancers provenant du poumon, du côlon, du rectum, de l'estomac, du pancréas ou de la thyroïde.⁷ Bien que des concentrations accrues de PSA soient trouvées dans le sérum des patients atteints d'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), de prostatite et d'infections et d'inflammation de la prostate, elles sont également trouvées chez les patients atteints d'un cancer de la prostate.^{8,9} La mesure de l'APS est un outil essentiel pour évaluer l'état de la maladie chez les patients atteints d'un cancer de la prostate lorsque des échantillons en série sont mesurés au fil du temps.¹⁰ La valeur clinique obtenue en surveillant les concentrations de l'APS total chez les patients atteints d'un cancer de la prostate, quel que soit le schéma thérapeutique, est bien connue.¹¹ Depuis le milieu des années 1980, la littérature concernant l'utilité de l'antigène prostatique spécifique (APS) à la fois pour la surveillance et la détection du cancer de la prostate (CaP) n'a cessé de croître.

3. Principe de l'essai

Le FRENDA PSA Plus est un immunodosage quantitatif rapide de type "sandwich" utilisant des nanoparticules fluorescentes qui mesure la concentration de l'APS total. 35 µL de sérum ou de plasma de patient (héparine ou EDTA uniquement) sont présentés manuellement à l'entrée de la cartouche de test individuelle à unité unique où ils sont mélangés à des nanoparticules fluorescentes conjuguées à des anticorps anti-APS. Les molécules de l'APS présentes dans l'échantillon se lient aux anticorps conjugués pour former des complexes immuns qui se déplacent ensuite par capillarité dans le canal de la cartouche de réactifs jusqu'à la zone de détection. Lorsque l'échantillon atteint la zone de test, il hydrate les anticorps anti-APS en phase solide séchés. Les complexes immunitaires à particules fluorescentes d'APS présents dans l'échantillon sont captés par les anticorps de capture pour former des complexes immunitaires en "sandwich". Les nanoparticules fluorescentes résiduelles non liées à l'APS et conjuguées à des anticorps anti-APS traversent la zone de test et se lient aux antigènes d'APS dans la zone de référence. Au fur et à mesure que l'échantillon avance vers le réservoir de déchets, les composants de liaison non spécifiques sont éliminés par lavage. L'intensité de la fluorescence mesurée par une source lumineuse (laser) est proportionnelle à la quantité d'APS total dans l'échantillon d'origine. Le résultat est calculé à l'aide des informations stockées sur la puce d'étalonnage FRENDA PSA Plus spécifique au lot, puis s'affiche sur l'écran du système FRENDA™. Une copie papier peut être obtenue si vous le souhaitez. Un rapport calculé entre la zone de référence et la zone de test permet de corriger les variations d'un test à l'autre..

La concentration totale de PSA dans un échantillon analysé avec le FRENDA PSA Plus sur le système FRENDA™ est en corrélation directe avec l'intensité de la fluorescence - plus la concentration de l'APS total est élevée, plus la fluorescence est importante. Le FRENDA PSA Plus a une plage de mesure déterminée de 0.05 ng/ml à 25.0 ng/ml.

Le FRENDA PSA Plus utilise des cartouches en plastique transparent à usage unique dans lesquelles tous les réactifs nécessaires sont stockés dans la cartouche elle-même. Tout ce que l'utilisateur doit ajouter est un échantillon de test de 35 µL. La cartouche est insérée dans le système FRENDA™ de la manière prescrite, indiquée par une flèche noire sur la cartouche. La réaction est lue plusieurs fois pendant que l'échantillon se déplace par capillarité à travers la cartouche. Ce type de système d'analyse est parfois appelé système à flux laminaire.

4. Matériel fourni (FREND PSA Plus) * Numéro de catalogue : FRPS 025

Cartouches FREND PSA Plus	25
Pointes de pipettes (micro-pipette fournie)	30
Puce d'étalonnage FREND PSA Plus	1
Notice d'emballage FREND PSA Plus	1

Une cartouche contient :

Anti-PSA1 monoclonal -----	48 ± 9.6 ng
Anti-PSA2 monoclonal -----	144 ± 28.8 ng
Particule fluorescente -----	2.4 ± 0.48 µg

5. Matériel requis mais non fourni

Les matériels suivants ne sont pas fournis avec le réactif mais sont nécessaires pour effectuer l'analyse de l'Antigène prostatique spécifique (APS) à l'aide du FREND PSA Plus sur le système FREND™. Ils sont disponibles séparément auprès de NanoEntek.

Matériaux	Cat. N°
Système FREND™	F10

6. Avertissement et précautions

- Les cartouches FREND PSA Plus sont destinées à un usage de diagnostic in vitro uniquement.
- Les cartouches PSA Plus doivent être utilisées uniquement sur le système FREND™.
- Laissez les cartouches atteindre la température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant de les utiliser.
- Évitez la contamination croisée entre les échantillons en utilisant une nouvelle pointe de pipette pour chaque nouvel échantillon.
- Évitez une forte humidité, la lumière directe du soleil ou la chaleur dans la zone utilisée pour le stockage des cartouches.
-
- Des résultats inexacts sont possibles si l'échantillon utilisé est contaminé de quelque manière que ce soit.
- L'utilisation de spécimens contenant de la fibrine coagulée pourrait entraîner des résultats erronés.
- Un chargement excessif ou insuffisant de la cartouche avec l'échantillon peut entraîner des résultats inexacts.

- Les cartouches ne doivent pas être congelées.
- Les spécimens humains ne sont pas utilisés dans la préparation de ce produit. Cependant, étant donné que des spécimens humains seront utilisés pour les échantillons et que d'autres produits de contrôle de qualité dans le laboratoire peuvent être dérivés de matériaux humains, veuillez utiliser les procédures de sécurité standard de laboratoire lors de la manipulation de tous les spécimens et contrôles.
- N'utilisez pas les cartouches au-delà de la date d'expiration indiquée sur le sachet.
- N'utilisez pas la cartouche si le sachet est endommagé ou si le sceau est brisé.
- Effectuez les tests comme indiqué dans la notice d'emballage et le manuel d'utilisation.
- Les cartouches PSA Plus sont des dispositifs jetables à usage unique. Ne les réutilisez en aucun cas.
- Gardez la cartouche scellée dans la pochette jusqu'à ce qu'elle soit prête à être utilisée.
- Utilisez la cartouche immédiatement après avoir ouvert sa pochette.
- Portez des gants jetables pour manipuler les cartouches et les échantillons.
- Se laver les mains soigneusement et souvent après avoir manipulé des cartouches de réactifs ou des échantillons.
- Pour un usage professionnel uniquement

PSA Plus a été conçu de manière à ce que "l'effet crochet" de la dose élevée ne soit pas un problème pour la grande majorité des échantillons. Les échantillons dont la concentration d'APS se situe entre 25 et 1,200 ng/mL seront lus > 25 ng/mL. Le phénomène de " l'effet crochet " ne peut se produire qu'à des concentrations d'APS > 1,200 ng/mL.

7. Stockage et stabilité

Tous les produits non ouverts sont stables jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés à la température spécifiée. La stabilité des cartouches a été démontrée pendant vingt-quatre mois à compter de la date de fabrication.

La date d'expiration est clairement indiquée sur la boîte du produit et sur les cartouches.

Matériaux	Cat. N°
Température du réfrigérateur (2 ~ 8°C) : Cartouches PSA Plus	FRPS 025
Température ambiante (18 ~ 25°C) : Pointe de pipette	Aucun

8. Collecte et manipulation des spécimens

Du sérum ou du plasma (hépariné ou K3-EDTA uniquement) est nécessaire pour le test. Le plasma citraté ne doit pas être utilisé.

Aucune préparation spéciale du patient n'est nécessaire. Pour utiliser le sérum, un échantillon de sang est prélevé de manière aseptique sans additif par ponction veineuse. Après avoir laissé l'échantillon coaguler pendant 30 minutes à température ambiante, le tube de prélèvement doit être centrifugé pendant 10 minutes à 3000 tr/min.

Pour le plasma hépariné ou Ks-EDTA, un échantillon de sang veineux est prélevé de manière aseptique avec l'additif désigné. Le plasma doit être séparé des cellules emballées le plus rapidement possible.

Il a été démontré que les manipulations prostatiques affectent les résultats de l'APS. Les échantillons doivent donc être prélevés avant toute procédure prostatique telle que le toucher rectal, le massage prostatique et la TRUS (échographie transrectale).

Les échantillons peuvent être conservés à 2 ~ 8 °C jusqu'à 6 heures avant l'analyse. Si l'analyse doit être effectuée ultérieurement, l'échantillon doit être conservé congelé à -20° C ou moins pour une utilisation ultérieure. L'étude de stabilité de l'échantillon a été réalisée à -20°C pendant trois semaines seulement par le fabricant, mais il existe de nombreuses publications montrant que l'APS total conservé à l'état congelé est stable pendant 3 mois ou plus ^{16, 17, 18}.

Les cycles répétés de gel-dégel doivent être évités. Les échantillons de sérum turbides ou contenant des particules telles que des caillots ou des brins de fibrine doivent être centrifugés avant d'être testés. Avant de procéder à l'analyse, amener lentement les échantillons congelés à la température ambiante (18 ~ 25 °C) et les mélanger doucement mais soigneusement.

9. Procédure

1) Préparation des réactifs

• Cartouches

Aucune préparation de réactif n'est nécessaire pour mesurer l'APS total à l'aide de la cartouche FREND PSA Plus sur le système FREND™. Cependant, les cartouches nécessaires pour une série particulière doivent être retirées du réfrigérateur et laissées à température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant d'être utilisées.

2) Étalonnage

Les calibreurs utilisés au cours du processus de fabrication des cartouches pour créer les informations placées électroniquement sur la puce d'étalonnage FREND PSA Plus sont préparés par gravimétrie et sont comparés à des normes de référence internationales (code NIBSC de l'OMS International Antigène prostatique spécifique (90:10): 96/670). Cependant, pour l'utilisateur final, il n'est pas nécessaire de procéder à un étalonnage comme c'est généralement le cas pour d'autres équipements de laboratoire automatisés. Toutes les statistiques et informations relatives à l'étalonnage ont été enregistrées électroniquement sur la puce d'étalonnage FREND PSA Plus incluse dans chaque boîte de cartouche FREND PSA Plus. La puce d'étalonnage de FREND PSA Plus est spécifique à ce lot fabriqué de FREND PSA Plus.

La pertinence des informations d'étalonnage doit toujours être vérifiée en exécutant suffisamment de matériaux de contrôle de qualité externe comme échantillons pour vérifier que les résultats obtenus pour l'APS total sur le système FREND™ utilisant les cartouches FREND PSA Plus d'un lot particulier répondent au critère d'acceptabilité du laboratoire.

• Installation de la puce d'étalonnage FREND PSA Plus

Veuillez-vous référer au manuel d'utilisation du système FREND™ pour des instructions plus détaillées relatives à l'installation de la puce d'étalonnage. Des instructions abrégées sont comme suit :

- (1) Insérez le cordon électrique du système FREND™ dans une prise de courant appropriée.
- (2) Insérez la puce d'étalonnage dans la fente prévue à cet effet à l'arrière du système FREND™ en suivant les flèches.
- (3) Appuyez sur le bouton "Setup" sur l'écran "Main".
- (4) Appuyez sur le bouton "Code chip" sur l'écran "Setup".
- (5) Les informations intégrées à la puce d'étalonnage FREND PSA Plus sont automatiquement enregistrées sur le système FREND™.
- (6) Une fois l'installation de la puce d'étalonnage terminée, appuyez sur le bouton 'OK' pour accéder à l'écran 'Setup'.
- (7) Appuyez sur le bouton "Item" dans l'écran "Setup".
- (8) Vérifiez le numéro de lot de la cartouche FREND PSA Plus et la date d'installation de la puce d'étalonnage.
- (9) Appuyez sur le bouton "Home" pour accéder à l'écran "Main" et commencer à analyser le contrôle de qualité externe et les échantillons de patients.

3) Contrôle de qualité

• Contrôles disponibles sur le marché

Il existe des contrôles disponibles sur le marché, provenant de divers fabricants, qui contiennent de l'APS total comme analyte mesuré. Il est recommandé d'exécuter ces contrôles externes au moins une fois par jour lorsque des tests sont programmés pour FRENDS PSA Plus sur le système FRENDS™. Un minimum d'au moins deux (2) niveaux de contrôles, normal et anormal, doit être utilisé. La politique de chaque laboratoire dictera exactement quels matériaux de contrôle et quels numéros de lot doivent être analysés, la fréquence à laquelle les contrôles doivent être testés, les critères d'acceptation des résultats et les mesures correctives à prendre si les résultats ne répondent pas aux critères du laboratoire.

Ne pas analyser les échantillons de patients sur le système FRENDS™ en utilisant le FRENDS PSA Plus si les résultats du contrôle de qualité ne donnent pas les valeurs attendues. Reportez-vous aux politiques de votre laboratoire pour savoir comment déterminer l'acceptabilité des résultats des matériaux de contrôle externe.

• Procédure de contrôle de la qualité

Les matériaux de contrôle de qualité externe à analyser à l'aide du FRENDS PSA Plus sont définis par la politique de chaque laboratoire. La procédure de test utilisée pour obtenir des résultats sur le matériel de contrôle de qualité externe sélectionné est identique à celle utilisée pour tester les échantillons de patients et est décrite ci-dessous.

Si du matériel de contrôle de qualité lyophilisé doit être utilisé, veuillez reconstituer selon les instructions du fabricant et laisser le pellet se dissoudre comme stipulé jusqu'à ce que le matériel soit en solution. Veuillez à mélanger doucement mais complètement avant de procéder au test.

Le matériel de contrôle réfrigéré et/ou congelé doit être traité comme décrit ci-dessous dans la section Préparation pour le traitement des échantillons. Tous les matériaux doivent être à température ambiante avant d'être utilisés.

4) Traitement des échantillons

• Préparation

Retirer du réfrigérateur suffisamment de cartouches de FRENDS PSA Plus pour tester le nombre d'échantillons de patients et les matériaux de contrôle de qualité externe requis. Laissez les cartouches revenir à température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant le début de la séquence de test.

Si vous utilisez des échantillons de patients réfrigérés, sortez-les du réfrigérateur et laissez-les revenir à température ambiante avant de les tester. Si des échantillons congelés sont utilisés, assurez-vous qu'ils sont sortis du congélateur, décongelés naturellement et mélangés doucement mais complètement avant le test.

Il n'y a pas d'autres réactifs ou préparations d'échantillons nécessaires.

• **Procedura di saggio**

- (1) Préparez le FRENDS PSA Plus et l'échantillon.
- (2) Enregistrez l'identifiant de l'échantillon sur la cartouche dans la zone prévue à cet effet.
- (3) Déposez l'échantillon (35 µL) dans l'entrée de l'échantillon sur la cartouche à l'aide d'une micro-pipette calibrée avec une nouvelle pointe de pipette.
- (4) Appuyez sur le bouton "Test" de l'écran "Main" du système FRENDS™.
- (5) L'écran du système FRENDS™ passe automatiquement à l'écran d'identification du patient.
- (6) Saisissez l'identifiant du patient et appuyez sur le bouton "Enter" pour commencer le test.
- (7) Insérez la cartouche dans la fente de la cartouche en utilisant les flèches de la cartouche comme guide.

▲ Attention: *Veillez vérifier le sens de la cartouche avant de l'insérer et assurez-vous que l'insertion est complète.*

- (8) Lorsque la réaction dans la cartouche est terminée en 3 minutes, le système FRENDS™ commence automatiquement le processus de lecture.
- (9) Lorsque les mesures sont terminées, la cartouche est automatiquement expulsée et les résultats sont affichés.

▲ Attenzione: *Non rimuovere l'alimentazione dal sistema FRENDS™ mentre una cartuccia è nella camera di lettura. Questo potrebbe causare un errore di sistema.*

- (10) Si le système FRENDS™ est connecté à l'imprimante en option, appuyez sur le bouton "Print" et les résultats seront édités sur le papier de l'imprimante.
- (11) Pour des instructions plus détaillées, veuillez-vous reporter au "Manuel de l'utilisateur du système FRENDS™".




10. Notes de procédure

Si la concentration de l'antigène prostatique spécifique d'un échantillon s'avère supérieure à la limite de linéarité du test de 25.0 ng/mL et qu'un résultat définitif est nécessaire, l'échantillon doit être dilué avec du sérum féminin qui a été précédemment mesuré sur le FRENDS PSA Plus et dont on a constaté qu'il contenait < 0.05 ng/mL de l'APS total, puis testé à nouveau conformément à la procédure de test. La dilution recommandée pour les échantillons dont le résultat initial est > 25.0 ng/mL est de 1:10 ou 1:50. Il est souhaitable de diluer l'échantillon de façon à ce que l'échantillon dilué indique entre 2 et 20 ng/mL. Les dilutions doivent être effectuées manuellement et le résultat final sur l'échantillon dilué doit être calculé manuellement en multipliant le résultat obtenu sur l'échantillon dilué par le facteur de dilution.

11. Calcul des résultats

Le système FRENDS™ effectue automatiquement toutes les opérations de manipulation de l'échantillon et de la cartouche à l'intérieur de la cartouche, une fois que l'échantillon a été ajouté manuellement dans le puits d'échantillon de la cartouche et que la cartouche a été placée dans le système FRENDS™. Le taux de fluorescence produit par la réaction est lu à différents intervalles au cours du processus d'analyse, les lectures à blanc sont soustraites, après quoi le taux net est automatiquement converti en concentration totale d'antigène prostatique spécifique en ng/mL sur la base des informations stockées sur la puce d'étalonnage d'APS. Le résultat est ensuite affiché à l'écran et sur l'imprimante en option. Il est également stocké en mémoire sur le système FRENDS™.

Affichages à l'écran pour différents scénarios de concentration

Résultat affiché	Description
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-01'. The main result is 'PSA < 0.05 ng/mL'.</p>	Concentration d'APS Moins de 0.05 ng/mL
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T10'. The main result is 'PSA 0.73 ng/mL'.</p>	Concentration d'APS Pas moins de 0.05 ng/mL et pas plus de 25.00 ng/mL
 <p>The screenshot shows a user interface with a header containing 'Lab' and 'Print' buttons. Below the header, the following text is displayed: 'Date/Time : 2012-1-18 11:30 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-04'. The main result is 'PSA > 25.00 ng/mL'.</p>	Concentration d'APS Supérieur à 25.00 ng/mL

12. Évaluation des résultats

1) Contrôle de la qualité

Afin de contrôler et d'évaluer la précision de la performance analytique, il est recommandé d'analyser quotidiennement des échantillons de contrôle disponibles sur le marché.

Les recommandations minimales pour la fréquence d'exécution du matériel de contrôle externe sont les suivantes :

- Au début d'un nouveau lot de réactif, trois niveaux de contrôles sont effectués afin de valider l'étalonnage.
- Les trois niveaux de contrôle sont également répétés lorsque certaines procédures de service sont effectuées, telles que des mises à jour de logiciels, des travaux mécaniques sur le système optique ou le déplacement du système

Si les valeurs d'un échantillon de contrôle de qualité externe se situent hors de la plage acceptable, il sera nécessaire d'examiner le problème avant de communiquer les résultats du patient afin de s'assurer qu'il ne s'agit pas d'un dysfonctionnement de l'instrument ou du logiciel.

Chaque laboratoire fonctionne selon un ensemble différent de réglementations. Chaque laboratoire doit suivre les procédures normalisées acceptables pour les organismes de réglementation dont il relève.

13. Limites de la procédure

Lorsqu'ils sont utilisés à des fins de diagnostic, les résultats obtenus par ce test doivent être utilisés conjointement avec d'autres données (par exemple, les symptômes, les résultats d'autres tests, les impressions cliniques, les antécédents médicaux, le traitement, etc.)

Le système FRENDSM, associé à une cartouche FRENDS PSA Plus, est programmé pour signaler 25.0 ng/mL, soit la plus forte concentration d'APS mesurable sans dilution. La plus faible concentration mesurable est de 0.05 ng/mL, soit la limite de sensibilité du test.

Les anticorps hétérophiles présents dans un échantillon peuvent provoquer des interférences dans les systèmes de dosage immunologique.^{12,13} Il est rare que les taux d'APS semblent élevés en raison de la présence d'anticorps hétérophiles dans le sérum ou le plasma du patient ou d'une liaison protéique non spécifique. Si le taux d'APS ne correspond pas aux données cliniques, il est suggéré de procéder à un autre test d'APS pour confirmer les résultats.

Bien que l'hémolyse ait un effet insignifiant sur le test, les échantillons hémolysés peuvent indiquer un mauvais traitement de l'échantillon avant le test et les résultats doivent être interprétés avec prudence.

La lipémie a un effet insignifiant sur le test, sauf dans le cas d'une lipémie importante où une interférence avec le flux latéral de l'échantillon dans la cartouche peut se produire.

Les échantillons provenant de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour le diagnostic ou le traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent présenter des valeurs APS faussement élevées ou diminuées.

Certains médicaments peuvent interférer avec les performances du test.

Tous les résultats doivent être interprétés en fonction du tableau clinique du patient.¹⁴

La concentration d'APS total dans un échantillon donné, déterminée à l'aide de tests de différents fabricants, peut varier en raison de différences dans les méthodes de test, l'étalonnage et la spécificité des réactifs.¹⁵

Veillez-vous reporter aux sections Collecte et manipulation des échantillons, Avertissements et précautions, Stockage et stabilité, et Notes de procédure de cette notice.

Les résultats cliniques doivent être interprétés en fonction des médicaments administrés au patient.¹⁴

La capacité du test à détecter les formes libres et complexées d'APS total (APS libre et APS complexe avec l'alpha-1-antichymotrypsine) sur une base molaire égale (équimolarité) n'a pas été établie.

14. Valeurs attendues

Comme pour tout test de diagnostic clinique, un intervalle de référence correspondant aux caractéristiques de la population testée doit être déterminé par chaque laboratoire. Le PSA Plus du système FRENDSM doit être utilisé sur des échantillons sanguins en série pour prendre en charge les patients atteints de cancer de la prostate.

Des tests ont été effectués sur des sujets masculins ambulatoires âgés de cinquante ans et plus qui se sont déclarés en bonne santé sans aucune maladie, affection ou condition connue, en utilisant à la fois le PSA Plus du système FRENDSM et une autre méthode APS disponible sur le marché. L'intervalle de référence actuellement accepté pour l'APS total jusqu'à 4.0 ng/mL a été validé pour les deux systèmes.

Comme c'est le cas pour toutes les méthodes de test d'APS, aucun résultat d'APS total ne peut être interprété comme étant définitif pour la présence ou l'absence de cancer de la prostate. Les patients dont les taux d'APS se situent dans l'intervalle de référence trouvé chez des sujets apparemment sains peuvent avoir un cancer de la prostate ; les patients dont les taux dépassent ceux de l'intervalle de référence peuvent être indemnes de cancer de la prostate. Les résultats du test PSA Plus sur le système FRENDSM doivent être interprétés à la lumière d'autres résultats cliniques et procédures de diagnostic tels que le toucher rectal, diverses études d'imagerie, etc. car certains traitements peuvent entraîner une diminution des valeurs d'APS en vertu du traitement alors que le cancer continue à progresser.

15. Plages de Référence

L'intervalle donné ici a été déterminé dans des échantillons de sérum provenant de 196 sujets masculins apparemment sains, âgés de 50 à 71 ans.

Catégorie	Hommes
Nombre d'échantillons (n)	196
Intervalle de référence	0~4.0 ng/mL

Dans cette étude, plus de 99 % des sujets en bonne santé présentaient des concentrations sériques d'APS inférieures ou égales à 4.0 ng/ml selon le système FRENDA PSA Plus et un autre test fluorescent d'APS total disponible sur le marché. Les résultats de cette étude sont présentés ci-dessous :

Catégorie	Autre APS approuvé par la FDA	PSA Plus sur FRENDA™
Nombre d'échantillons (n)	196	196
Moyenne (x)	0.71 ng/mL	0.83 ng/mL
SD	0.38 ng/mL	0.43 ng/mL
Plage de valeurs	0.00 ~ 2.03 ng/mL	0.02 ~ 2.69 ng/mL
Médiane	0.66 ng/mL	0.77 ng/mL

Valeurs attendues pour la prise en charge des patients atteints de cancer de la prostate

Distribution des concentrations sériques de FRENDS PSA Plus - sains, bénins et divers états pathologiques malins.

	N	0~4.0 ng/mL	4.1~10.0 ng/mL	10.1~20. 0 ng/mL	20.1~40. 0 ng/mL	>40.0 ng/mL
Sujets sains	196					
Hommes & 50 ans.	196	100%	0%	0%	0%	0%
Cond./Maladie bénigne*	410					
Prostate bénigne	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabète	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
Hypertension/Maladie cardiaque	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
GI bénigne	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Maladies Malignes*	302					
Cancer de la prostate**	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Score de Gleason 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Score de Gleason 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Score de Gleason 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Cancer du poumon/foie	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
Pontage gastrique, gastrique/pancréatique	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Cancer colorectal	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Autres cancers	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
TOTAL Sujets	908					

* Sujets traités et non traités

** Les échantillons en série ne sont pas inclus dans cette cohorte.

16. Caractéristiques de performance

Les caractéristiques de performance ont été évaluées pour le FRENDS PSA Plus comme suit :

1) Précision

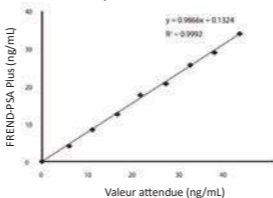
1a) Récupération

Des échantillons connus d'APS ont été ajoutés à un échantillon de sérum féminin (0.01 ng/mL). La concentration d'APS a été déterminée avant et après l'ajout d'APS exogène et le pourcentage de récupération a été calculé.

Concentration ajoutée (ng/mL)	Concentration observée (ng/mL)	Récupération (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Linéarité de la dilution :

Les échantillons provenant d'un pool à haute concentration (34 ng/mL d'APS total) ont été dilués avec un pool à faible concentration en suivant les instructions du document EP6-A du protocole CLSI. La corrélation avec la linéarité attendue a montré que $R^2 = 0.9992$.



Linéarité de dilution - FRENDA PSA Plus

Données de linéarité de dilution – FREND PSA Plus

N°	Vide	1	2	3	4	5	6	7	Haut
Dilution	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
TEST 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
TEST 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
TEST 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
TEST 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
TEST 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
TEST 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
MOYENNE (ng/mL)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.608	21.015	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV (%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Valeur attendue	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% de récupération		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1c) Analyse comparative :

Un groupe d'échantillons de sérum bien caractérisés, prélevés avec l'accord de l'IRB sur des sujets atteints d'un cancer de la prostate vérifié par pathologie et conservés à -70° C dans des conditions contrôlées, ont été analysés pour l'APS total. Les résultats du test FRENDA PSA Plus sur le système FRENDA™ (y) ont été comparés à ceux obtenus avec le test TOSOH ST AIA-PACK PA (x). Un total de 160 échantillons uniques a été analysé dans l'étude, cependant, seuls les échantillons dont les résultats de l'APS total se situaient dans la linéarité du FRENDA PSA Plus (jusqu'à 25.0 ng/mL ; (n=143)) ont été utilisés dans l'analyse comparative. Pendenza: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Pente: 0.9192 (95% IC : 0.8369 ; 1.0014)

Interception: -0.01179 (IC à 95 % : -0.2763 ; 0.2527)

Coefficient de corrélation (R) = 0.9671 (95% IC : 0.9545 ~ 0.9763)

Nombre d'échantillons = 143

Plage de valeurs FRENDA PSA Plus: 0.04 ~ 29.99 ng/mL

Plage de valeurs de ST AIA-PACK PA: 0.00 ~ 25.86 ng/mL

2) Précision

2a) Essais de précision sur un lot unique et un site unique

La précision a été déterminée comme décrit dans le protocole EP5-A du CLSI. Quatre échantillons cliniques couvrant l'ensemble de la plage de mesure ont été testés par réplicats de deux à deux moments distincts par jour pendant vingt jours en utilisant un seul lot de cartouche FREND PSA Plus. Les résultats montrent la répétabilité, entre les séries, entre les jours et avec les données de précision en laboratoire.

Echantillon	APS moyen (ng/mL)	Répétabilité		Entre les séries		Entre les jours		Intra laboratoire	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Tests de précision sur plusieurs lots et plusieurs sites

Trois lots différents de FREND PSA Plus ont été évalués sur trois sites géographiquement différents. Quatre réplicats de chacun des matériaux A, B et C et deux réplicats de QC 1, QC 2 et QC 3 ont été évalués dans chacun des deux essais effectués pendant cinq jours sur chaque site. Un total de 40 résultats sur chaque matériau a été généré sur chacun des trois sites, ce qui donne un grand total de 120 réplicats de chaque matériau. Les données ont été analysées en utilisant un format CLSI de EP5-A2 pour une analyse ANOVA. Les résultats d'instrument à instrument est identique à celui de site à site dans ce scénario. Comme on peut le voir dans le tableau ci-dessous, la plus grande source de variation est la cartouche, ce qui serait le résultat attendu. La cartouche FREND PSA Plus est une cartouche à usage unique qui contient à l'intérieur de la cartouche tous les réactifs nécessaires à la réalisation des réactions.

% CV par matériau						
Matériel						
Variation Soiree	MAT A (0.29 ng/mL)	MAT B (3.67 ng/mL)	MAT C (18.33 ng/mL)	QC 1 (0.30 ng/mL)	QC 2 (2.93 ng/mL)	QC 3 (20.25 ng/mL)
Site à site	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Jour au jour	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Lot à lot	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
Cartouche BITER	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Total	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Spécificité

Les substances suivantes ont été évaluées en vue d'une éventuelle réactivité croisée avec le FRENDS PSA Plus aux concentrations indiquées ci-dessous. Les tests ont été effectués selon les instructions recommandées par le protocole EP7-A du CLSI. Aucune réactivité croisée significative n'a été trouvée.

Spécificité de FRENDS PSA Plus

N°	Substrat	Concentration
1	PAP (Phosphatase Acide Prostatique)	10.0 ng/mL
2	Kallikrein	15.0 ng/mL

4) Sensibilité analytique

La limite de détection (LoD) du FRENDS PSA Plus a été déterminée en utilisant le protocole CLSI EP17-A. La sensibilité analytique du FRENDS PSA Plus a été déterminée comme étant de 0.03 ng/mL.

17. Interférence

L'interférence est définie, aux fins de cette étude, comme une récupération en dehors de 15% de la concentration moyenne connue de l'échantillon. En d'autres termes, une récupération de 85% à 115% de ce qui est attendu est considérée comme une performance acceptable.

1) Interférents endogènes

Ces études d'interférence sur des substances endogènes ont été réalisées en utilisant le FRENDS PSA Plus sur le système FRENDS™ selon les recommandations du protocole CLSI EP7

- L'hémoglobine ajoutée (jusqu'à 500 mg/dL) n'interfère pas avec le test. La récupération moyenne lors de l'ajout au sérum contenant de l'APS total à 1.0 et 4.0 ng/mL était de 97.25%.
- La bilirubine non conjuguée ajoutée (jusqu'à 20 mg/dL) n'interfère pas avec le test.
- La récupération moyenne lors de l'ajout au sérum contenant de l'APS total à 1.0 et 4.0 ng/mL était de 98.2%.
- L'ajout de gammaglobuline (protéines totales) jusqu'à 5.0 g/dL n'interfère pas avec le test. La récupération moyenne lors de l'ajout au sérum contenant de l'APS total à 1.0 et 4.0 ng/mL était de 106.3%.
- L'ajout de triglycérides jusqu'à 3 g/dL n'interfère pas avec ce test. La récupération moyenne lors de l'ajout au sérum contenant de l'APS total à 1.0 et 4.0 ng/mL était de 101.5%.

2) Interférents pharmaceutiques

Le tableau suivant présente les études d'interférence réalisées avec le système FRENDS PSA Plus sur le système FRENDS™ pour divers médicaments susceptibles d'être présents dans le sérum/plasma des hommes diagnostiqués avec un cancer de la prostate. Les concentrations des médicaments qui ont été ajoutés aux échantillons testés et aux contrôles à des concentrations de base de l'APS total de 1.0 ng/mL et 4.0 ng/mL sont indiquées ainsi que les % de récupération à l'extrême droite du graphique. Il est peu probable, puisque la méthode FRENDS PSA Plus utilise des anticorps monoclonaux, que des substances n'ayant pas une structure tertiaire similaire à celle de l'APS interfèrent. Les tests ont montré qu'il n'y avait en effet aucune interférence significative des médicaments testés susceptible d'affecter l'interprétation d'un résultat de l'APS total tel que testé sur le FRENDS PSA Plus.

Résultats de l'étude d'interférence pour FREND PSA Plus sur le système FREND™

N°	Substrat	Concentration	Récupération moyenne (%)
1	Flutamide	10 µg/mL	94.50%
2	Diéthyl stilbestrol (DES)	5 µg/mL	103.80%
3	Goséréline	40 ng/mL	103.20%
4	Tamsulosine	100 ng/mL	98.85%
5	Acétaminophène	250 ng/mL	100.45%
6	Acide acétylsalicylique	600 µg/mL	95.85%
7	Leuprolide	275 ng/mL	101.50%
8	Ibuprofène	500 µg/mL	102.25%
9	Finastéride	250 ng/mL	93.60%
10	Docétaxel	10 µg/mL	114.45%

18. Mesures en série et concordance avec le statut médical

L'indication d'utilisation de FREND PSA Plus étant que les résultats du test seront utilisés comme outil de gestion des soins pour les patients atteints de cancer de la prostate, il est impératif que les modifications du marqueur soient comparées aux modifications de l'état clinique pour déterminer l'efficacité du test. Par conséquent, dans le cadre d'une partie importante des études cliniques réalisées pour caractériser le FREND PSA Plus, des échantillons en série recueillis longitudinalement auprès de patients chez qui un cancer de la prostate a été précédemment diagnostiqué et qui ont été traités de diverses manières au cours de l'évolution clinique de leur maladie (notamment prostatectomie, graines radioactives, rayonnement externe, chimiothérapie, hormonothérapie seule ou en association) ont été testés pour l'APS total avec le FREND PSA Plus sur le système FREND™. Les mêmes échantillons ont également été mesurés pour l'APS total par une autre méthode autorisée par la FDA.

Pour chaque point à point d'une série d'échantillons, l'évolution de la concentration de l'APS total a été comparée à l'évolution de l'état clinique des patients, mesurée par d'autres tests de laboratoire, des entretiens avec les patients, des examens physiques et des examens d'imagerie de différents types, et enregistrée sur un formulaire de rapport clinique.

Ces changements dans la concentration du marqueur APS total ont été définis comme significatifs ou non en multipliant le CV global du test au milieu de la fourchette (tel que déterminé par l'étude sur l'imprécision du test) par un facteur de 2.5 pour définir un pourcentage de changement différent de ce qui serait attendu en raison de l'imprécision du test. Pour le test FRENDA PSA Plus, dont le CV global de milieu de gamme est de 8.5 %, la signification a été fixée à un changement supérieur à 20%. Toute augmentation de la valeur d'une période à l'autre qui ne dépassait pas 20% a été enregistrée comme une variation ≤ 20 %. Pour l'autre méthode approuvée par la FDA, la signification a été fixée à un changement > 8.5 %. Ce chiffre a été calculé en utilisant le CV global de milieu de gamme publié par cette méthode, soit $3.4 \% \times 2.5$.

Les impressions du médecin concernant l'état de la maladie du sujet à chaque prise de sang ont été enregistrées sur les CRF pour tous les échantillons d'APS en série. Les informations sur le statut lors d'une visite ont été comparées au statut lors de la visite suivante et un changement de statut a été déterminé pour la paire de visites. L'évolution de l'état clinique par rapport à l'impression du médecin a ensuite été comparée aux changements significatifs de la concentration d'APS de chaque échantillon, mesurée à la fois par le dispositif de test (FRENDA PSA Plus) et le dispositif prédictif (test approuvé par la FDA). Les résultats de ces comparaisons sont présentés ci-dessous où le statut clinique a été divisé en deux groupes : les paires de visites montrant une progression et celles ne montrant aucune progression de la maladie selon le statut de visite à visite.

1) Échantillons sans progression (concordance négative)

FRENDA PSA Plus	Autre test APS autorisé par la FDA		
	$\geq 8.5\%$	$< 8.5\%$	Total
$\geq 20\%$	31	15	46
$< 20\%$	15	67	82
Total	46	82	128
CN (FRENDA PSA Plus)	0.641		
CN (AIA-PACKPSA)	0.641		
Différent	0.000		

Il n'y a pas de différence dans la concordance négative (CN) entre les deux tests.

2) Échantillons avec progression (concordance positive)

FRIEND PSA Plus	Autre test APS autorisé par la FDA		
	≥ 8.5%	<8.5%	Total
≥ 20%	83	1	84
< 20%	5	19	24
Total	88	20	108
CP (FRIEND PSA Plus)	0.778		
CP (AIA-PACK PSA)	0.815		
Différent	0.037		

Un test de McNemar sur les données appariées du tableau ci-dessus donne une valeur p de 0.218. L'intervalle de confiance à 95% associé à la vraie différence est de - 0.0157 à 0.0551. Les deux estimateurs sont d'accord sur le fait : il n'y a pas de différences statistiquement significatives dans les Concordances Positives (CP) entre les deux tests.

Vous trouverez ci-dessous un tableau comparant les concordances du test du FRIEND PSA Plus et de l'autre test d'APS autorisé par la FDA. Sur la base des intervalles de confiance à 95%, il ne semble pas y avoir de différences entre les concordances pour le test FRIEND PSA Plus et l'autre test APS autorisé par la FDA.



















Concordance	FRIEND PSA Plus	IC à 95 %*	APS approuvé par la FDA	IC à 95 %*
Positif	77.8%	69.8 % à 85.3 %	81.5%	73.8 % à 88.7 %
Négatif	64.1%	55.1 % à 71.5 %	64.1%	55.1 % à 71.5 %
Total	70.3%	64.1 % à 76.9 %	72.0%	66.1 % à 77.5 %

* Les intervalles de confiance sont basés sur 10,000 rééchantillons des données des patients.

19. Références

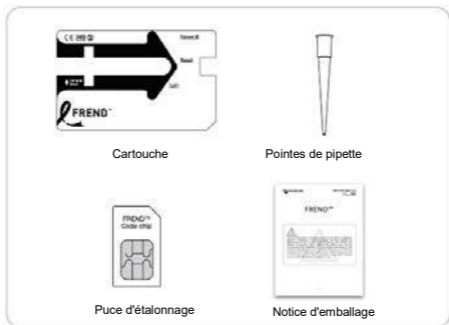
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471–2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203–1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol.13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press*.
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Glosario de Símbolos

	Attention, avertissement, Consultez les documents d'accompagnement
	Numéro de catalogue/Numéro de référence
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consulter les instructions d'utilisation Un indicateur d'instructions d'utilisation électronique (eIFU) - (adresse du site web) peut accompagner le symbole lorsqu'il est utilisé pour indiquer une instruction de consulter un eIFU.
	Numéro de lot
	Date limite d'utilisation AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM
	Fabricant
	Marquage CE avec numéro d'identification de l'organisme notifié
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limite de température
	Contient suffisamment pour <n> tests
	Ne pas réutiliser
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Uniquement sur ordonnance ATTENTION : La loi fédérale (américaine) restreint la vente de ce dispositif par un médecin ou sur ordonnance d'un médecin.
	Société américaine
	Identification du patient
	Résultat
 Sample Drop	Goutte d'échantillon
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne

UK Representative	Représentant autorisé au Royaume-Uni
CH REP	Représentant autorisé en Suisse
BRH	Représentant autorisé au Brésil

Contenu du kit



Révisé le 2023.02

FREND PSA Plus

Ensaio quantitativo rápido para Antígeno Específico da Próstata

REF

FRPS 025

IVDApenas para uso em diagnóstico *in vitro*

Cuidado!

O uso deste dispositivo é restrito a, por ou mediante prescrição de um médico. Devido às diferenças na especificidade dos reagentes e nos métodos de ensaio, a concentração de PSA em uma determinada amostra pode variar de acordo com os dispositivos de diferentes fabricantes. Os valores obtidos com diferentes métodos de ensaio não podem ser usados de forma intercambiável. É obrigatório que os resultados relatados pelo laboratório ao médico incluam a identidade do ensaio utilizado. Se o método de ensaio para PSA for alterado durante o monitoramento de pacientes com níveis séricos de PSA, os valores basais para os pacientes que estão sendo monitorados em série devem ser confirmados por testes sequenciais adicionais.

1. Nome e Uso Pretendido

O FRENDA PSA Plus foi projetado APENAS PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO in vitro para a medição quantitativa do Antígeno Prostático Específico (PSA) total em soro humano, plasma heparinizado e plasma EDTA usando o sistema FRENDA™. Este aparelho é indicado para a utilização em medições em série de PSA total em soro, plasma heparinizado e plasma EDTA para ser utilizado como auxiliar no manejo de pacientes com câncer de próstata.

2. Resumo e Explicação do Teste

O antígeno prostático específico (PSA) é uma glicoproteína de cadeia simples com peso molecular de 34 kilodaltons.^{1,2,3} Como a protease de serina com atividade semelhante à quimotripsina, o PSA pertence à família das calicreínas. No sangue, o PSA existe na forma livre ou complexa com inibidores de protease, como a-1-antiquimotripsina (ACT). O PSA total representa a soma das formas livre e complexa.⁴ O PSA está associado exclusivamente aos tecidos prostáticos em estágios normais, inflamados ou cancerosos. O PSA elevado no soro ou plasma é encontrado em pacientes com câncer de próstata, hipertrofia prostática benigna ou tecidos inflamatórios. Estudos sobre uma variedade de métodos de PSA mostraram que o PSA pode ser útil como um indicador para o diagnóstico e tratamento do câncer de próstata.⁵

O PSA foi encontrado em tecido prostático normal, hiperplásico benigno e maligno, no carcinoma prostático metastático e também no líquido prostático e no líquido seminal.⁶ O PSA não é encontrado em nenhum outro tecido em homens e não é produzido por cânceres originados no pulmão, cólon, reto, estômago, pâncreas ou tireóide.⁷ Embora concentrações aumentadas de PSA sejam encontradas no soro de pacientes com hiperplasia benigna da próstata (HBP), prostatite e infecções e inflamação da próstata, elas também são encontradas em pacientes com câncer de próstata.^{8,9} A medição do PSA é uma ferramenta essencial na avaliação o estado da doença em pacientes com câncer de próstata quando as amostras em série são medidas ao longo do tempo.¹⁰ O valor clínico obtido pelo monitoramento das concentrações de tPSA em pacientes com câncer de próstata, independentemente do regime de tratamento, é bem conhecido.¹¹ Desde meados da década de 1980, tem havido um crescente corpo de literatura sobre a utilidade do antígeno prostático específico (PSA) tanto para o monitoramento quanto para a detecção do câncer de próstata (CaP).

3. Princípio do Ensaio

O FRENDA PSA Plus é um rápido imunoenensaio quantitativo do tipo "sanduíche" usando nanopartículas fluorescentes que mede a concentração de PSA total. 35 µL de soro ou plasma do paciente (somente heparina ou EDTA) são apresentados manualmente na entrada do cartucho de teste individual de unidade única, onde são misturados com nanopartículas fluorescentes conjugadas com anticorpos de PSA. As moléculas de PSA na amostra se ligam a anticorpos conjugados para formar complexos imunes que então se movem por ação capilar através do canal do cartucho de reagentes para a área de detecção. Quando a amostra atinge a zona de teste, ela hidrata os anticorpos anti-PSA de fase sólida secos. Os complexos imunes de partículas fluorescentes de PSA na amostra são capturados pelos anticorpos de captura para formar complexos imunes em forma de sanduíche. As nanopartículas fluorescentes residuais não ligadas ao PSA conjugadas com anticorpos de PSA passam pela zona de teste e se ligam aos antígenos de PSA na zona de referência. À medida que a amostra avança para o reservatório de resíduos, os componentes de ligação não específicos são lavados. A intensidade da fluorescência medida por uma fonte de luz (laser) é proporcional à quantidade de PSA total na amostra original. O resultado é calculado usando as informações armazenadas no chip de código do FRENDA PSA Plus específico do lote e, em seguida, é exibido na tela do sistema FRENDA™. Uma cópia impressa pode ser obtida, se desejado. Uma proporção calculada entre a zona de referência e a zona de teste corrige as variações de teste para teste.

A concentração total de PSA em uma amostra analisada com o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ correlaciona-se diretamente com a intensidade de fluorescência – quanto maior a concentração de tPSA, tanto maior a fluorescência. O FRENDA PSA Plus tem uma faixa de medição determinada como 0.05 ng/mL a 25.0 ng/mL.

O FRENDA PSA Plus usa cartuchos plásticos transparentes de uso único nos quais todos os reagentes necessários são armazenados dentro do próprio cartucho. Tudo o que é adicionado pelo usuário é uma amostra de teste de 35 µL. O cartucho é inserido no sistema FRENDA™ de uma forma prescrita, indicada com uma seta preta no cartucho. A reação é lida várias vezes à medida que a amostra se move por ação capilar através do cartucho. Este tipo de sistema de ensaio é por vezes referido como aquele que incorpora fluxo laminar.

4. Materiais Fornecidos (FREND PSA Plus) Número de catálogo: FRPS 025

Cartuchos do FREND PSA Plus	25
Ponta da pipeta (micro-pipetador fornecida)	30
Chip de código do FREND PSA Plus	1
Notice d'emballage FREND PSA Plus	1

Um cartucho contém:

Anti-PSA1 monoclonal	48 ± 9.6 ng
Anti-PSA2 monoclonal	144 ± 28.8 ng
Partícula fluorescente	2.4 ± 0.48 µg

5. Materiais necessários, mas não fornecidos

Os seguintes materiais não são fornecidos com o reagente, mas são necessários para realizar a análise do O antígeno prostático específico usando o FREND PSA Plus no sistema FREND™. Eles estão disponíveis separadamente do NanoEntek.

Materiais	Nº de Cat.
Sistema FREND™	F10

6. Avisos e Precauções

- Os cartuchos do FREND PSA Plus destinam-se apenas ao uso em diagnóstico *in vitro*.
- Os cartuchos do PSA Plus devem ser usados apenas no sistema FREND™.
- Permita que os cartuchos atinjam a temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos antes de usar.
- Evite a contaminação cruzada entre amostras usando uma nova ponta de pipeta para cada nova amostra.
- Evite alta umidade, luz solar direta ou calor na área usada para armazenamento dos cartuchos.
- Resultados imprecisos são possíveis se a amostra usada estiver contaminada de alguma forma.
- O uso de amostras contendo fibrina coagulada pode resultar em resultados errôneos.
- O carregamento excessivo ou insuficiente do cartucho com amostra pode resultar em resultados imprecisos.
- Os cartuchos não devem ser congelados.

- Amostras humanas não são usadas na preparação deste produto. No entanto, uma vez que as amostras humanas serão usadas para amostras e outros produtos de controle de qualidade no laboratório podem ser derivados de materiais humanos, por favor, use os procedimentos padrão de segurança do laboratório ao manusear todas as amostras e controles.
- Não use os cartuchos além da data de validade impressa na bolsa.
- Não use o cartucho se a bolsa estiver danificada ou se o lacre estiver rompido.
- Realize os testes conforme especificado no folheto da embalagem e no manual do usuário.
- Os cartuchos do PSA Plus são dispositivos descartáveis de uso único. Não os reutilize em nenhuma circunstância.
- Mantenha o cartucho selado na bolsa até que esteja pronto para uso.
- Use o cartucho imediatamente após abrir a bolsa.
- Use luvas descartáveis ao manusear os cartuchos e as amostras.
- Lave as mãos cuidadosamente e frequentemente após manusear os cartuchos de reagentes ou amostras.
- Apenas para uso profissional.

O PSA Plus foi projetado para que o “efeito gancho” de alta dose não seja um problema para a grande maioria das amostras. Amostras com concentrações de PSA entre 25 e 1,200 ng/mL terão leitura de > 25 ng/mL. O fenômeno do “efeito gancho” pode ocorrer apenas em concentrações de PSA de > 1,200 ng/mL.

7. Armazenamento e Estabilidade

Todos os materiais fechados são estáveis até a data de validade no rótulo quando armazenados na temperatura especificada. A estabilidade do cartucho foi demonstrada por vinte e quatro meses a partir da data de fabricação.

A data de validade está claramente indicada na caixa do produto e nos cartuchos.

Materiais	Nº de Cat
Temperatura da geladeira (2 ~ 8° C): cartuchos do PSA Plus	FRPS 025
Temperatura ambiente (18 ~ 25° C): Pontas de pipeta	Nenhum

8. Coleta e Manuseio de Amostras

Soro ou plasma (somente heparinizado ou K3-EDTA) é necessário para o ensaio. Plasma citrado NÃO DEVE SER USADO.

Não é necessária nenhuma preparação especial do paciente. Para usar o soro, uma amostra de sangue é coletada assepticamente sem aditivos por punção venosa. Depois de deixar a amostra coagular por 30 minutos em temperatura ambiente, o tubo de coleta deve ser centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm.

Para plasma heparinizado ou Ks-EDTA, uma amostra de sangue venoso é coletada assepticamente com o aditivo designado. O plasma deve ser separado dos eritrócitos o mais rápido possível.

Foi demonstrado que a manipulação prostática afeta os resultados do PSA, portanto, as amostras devem ser coletadas antes de qualquer procedimento prostático, como DRE, massagem prostática e TRUS.

As amostras podem ser armazenadas a $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ por até 6 horas antes da análise. Se a análise estiver programada para ser feita em algum momento posterior, a amostra deve ser armazenada congelada a -20°C ou menos para uso futuro. O estudo de estabilidade da amostra foi realizado a -20°C apenas por três semanas pelo fabricante, mas há muitas literaturas disponíveis mostrando que o PSA total mantido congelado é estável por 3 meses ou mais.^{16, 17, 18}

Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento devem ser evitados. Amostras de soro turvo ou amostras contendo material particulado, como coágulos ou filamentos de fibrina, devem ser centrifugadas antes de serem testadas. Antes do ensaio, leve lentamente as amostras congeladas à temperatura ambiente ($18 \sim 25^{\circ}\text{C}$) e misture delicadamente, mas completamente antes do teste.

9. Procedimento

1) Preparação de reagents

- **Cartuchos**

Não há necessidade de preparação de reagentes para medir tPSA usando o cartucho do FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™. No entanto, os cartuchos necessários para uma determinada execução devem ser removidos do refrigerador e deixados atingir a temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos antes de serem usados.

2) Calibração

Os calibradores usados durante o processo de fabricação do cartucho para criar as informações colocadas eletronicamente no chip de código do FRENDS PSA Plus são preparados gravimetricamente e comparados com os padrões de referência internacionais (WHO International Prostate Specific Antigen (90:10) código NIBSC: 96/670). No entanto, para o usuário final, não há necessidade de calibração como geralmente é realizada em outros equipamentos automatizados de laboratório. Todas as estatísticas e informações de calibração foram armazenadas eletronicamente no chip de código do FRENDS PSA Plus incluído em cada caixa do cartucho do FRENDS PSA Plus. O chip de código do FRENDS PSA Plus é específico para aquele lote fabricado do FRENDS PSA Plus.

A adequação das informações de calibração deve sempre ser verificada executando materiais de controle de qualidade externos suficientes como amostras para verificar se os resultados obtidos para tPSA no sistema FRENDS™ usando os cartuchos do FRENDS PSA Plus de um determinado lote atendem ao critério laboratorial de aceitabilidade.

• Instalação do chip de código FRENDS PSA Plus

Consulte o Manual do usuário do sistema FRENDS™ para obter instruções mais detalhadas sobre a instalação do chip de código. Instruções abreviadas seguem aqui:

- (1) Insira o cabo elétrico do Sistema FRENDS™ em uma tomada apropriada.
- (2) Insira o chip de código no slot de chip de código na parte traseira do sistema FRENDS™ seguindo as setas.
- (3) Pressione o botão 'Setup' na tela 'Principal'.
- (4) Pressione o botão 'Code chip' na tela 'Setup'.
- (5) As informações incorporadas no chip de código do FRENDS PSA Plus são salvas automaticamente no sistema FRENDS™.
- (6) Quando a instalação do chip de código estiver concluída, pressione o botão 'OK' para ir para a tela 'Setup'.
- (7) Pressione o botão 'Item' na tela 'Setup'.
- (8) Verifique o número de lote do cartucho FRENDS PSA Plus e a data de instalação do chip de código.
- (9) Pressione o botão 'Home' para ir para a tela 'Main' para começar a executar o controle de qualidade externo e as amostras do paciente.

3) Controle de Qualidade

- **Controles Disponíveis Comercialmente**

Estão disponíveis controles comercialmente disponíveis de vários fabricantes que contêm tPSA como analito medido. Recomenda-se que esses controles externos sejam executados pelo menos uma vez por dia quando o teste estiver programado para o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™. Um mínimo de pelo menos dois (2) níveis de controles, normal e anormal, deve ser usado. A política de cada laboratório ditará exatamente quais materiais de controle e números de lote devem ser executados, a frequência com que os controles devem ser testados, os critérios para aceitação dos resultados e as ações corretivas necessárias a serem tomadas se os resultados não atenderem aos critérios do laboratório.

Não teste amostras de pacientes no sistema FRENDA™ usando o FRENDA PSA Plus se os resultados do controle de qualidade não fornecerem os valores esperados. Consulte as políticas do seu laboratório sobre como determinar a aceitabilidade dos resultados do material de controle externo.

- **Procedimento de Controle de Qualidade**

Os materiais de controle de qualidade externos a serem testados usando o FRENDA PSA Plus são definidos pela política individual do laboratório. O procedimento de ensaio usado para obter resultados no material de controle de qualidade externo selecionado é idêntico ao usado ao testar amostras de pacientes e segue abaixo.

Se for usado material de controle de qualidade liofilizado, reconstitua de acordo com as instruções do fabricante e permita que o pellet se dissolva conforme estipulado até que o material se dissolva. Certifique-se de misturar suavemente, mas completamente antes de testar.

O material de controle refrigerado e/ou congelado deve ser tratado conforme descrito abaixo na preparação para o processamento da amostra. Todos os materiais devem estar à temperatura ambiente antes do uso.

4) Processamento de Amostras

- **Preparação**

Remova do refrigerador os cartuchos do FRENDA PSA Plus suficientes para testar o número de amostras de pacientes e os materiais de controle de qualidade externos necessários. Permita que os cartuchos atinjam a temperatura ambiente durante 15 a 30 minutos antes do início da sequência de teste.

Se forem utilizadas as amostras de pacientes refrigeradas, remova-as da geladeira e deixe-as atingir a temperatura ambiente antes do teste. Se forem utilizadas as amostras congeladas, certifique-se de que elas sejam removidas do freezer, descongeladas naturalmente e depois misturadas suavemente, mas completamente, antes do teste.

Não são necessários outros reagentes ou preparações de amostras.

• Procedimento do Ensaio

- (1) Prepare o FRENDA PSA Plus e a amostra.
- (2) Registre o ID da amostra no cartucho na área designada.
- (3) Coloque a amostra (35 µL) na entrada de amostra do cartucho usando uma micropipeta calibrada com uma ponta de pipeta nova.
- (4) Pressione o botão 'Test' na tela 'Main' do Sistema FRENDA™.
- (5) A tela do sistema FRENDA™ move-se para a tela Patient ID automaticamente.
- (6) Digite a ID do paciente e pressione o botão 'Enter' para iniciar o teste.
- (7) Insira o cartucho no slot do cartucho usando as setas do cartucho como guia.

⚠ Cuidado: Verifique a direção do cartucho antes da inserção e certifique-se de que a inserção foi concluída.

- (8) Quando a reação no cartucho estiver completa em 3 minutos, o sistema FRENDA™ iniciará automaticamente o processo de leitura.
- (9) (Quando as medições estiverem concluídas, o cartucho será automaticamente expelido e os resultados exibidos.

⚠ Cuidado: Não desligue o sistema FRENDA™ enquanto um cartucho estiver na câmara de leitura. Isso pode causar um erro no sistema.

- (10) Se o sistema FRENDA™ estiver conectado à impressora opcional, pressione o botão 'Print' e os resultados serão impressos no papel da impressora.
- (11) Para obter instruções mais detalhadas, consulte o 'Manual do Usuário do Sistema FRENDA™'.




10. Observações de Procedimento

Se a concentração de antígeno prostático específico de uma amostra for superior ao limite de linearidade do ensaio de 25.0 ng/mL e for necessário um resultado definitivo, a amostra deve ser diluída com soro feminino que foi medido anteriormente no FRENDA PSA Plus e verificou-se que continha < 0.05 ng/mL de tPSA e, em seguida, foi reanalisado de acordo com o Procedimento de Ensaio. A diluição recomendada para amostras com resultado inicial de >25.0 ng/mL é 1:10 ou 1:50. É desejável diluir a amostra para que a leitura da amostra diluída fique entre 2 e 20 ng/mL. As diluições devem ser feitas manualmente e o resultado final na amostra diluída calculado manualmente multiplicando o resultado obtido na amostra diluída pelo fator de diluição.

11. Cálculo de Resultados

O sistema FRENDA™ executa todas as operações de manuseio de amostras e cartuchos automaticamente dentro do cartucho, uma vez que a amostra foi adicionada manualmente ao poço de amostra no cartucho e o cartucho colocado no sistema FRENDA™. A taxa de fluorescência produzida pela reação é lida em vários intervalos durante o processo de análise, as leituras em branco são subtraídas após o que a taxa líquida é automaticamente convertida em concentração total de antígeno prostático específico em ng/mL com base nas informações armazenadas no chip do código do PSA. Este resultado é então exibido na tela e na impressora opcional. Ele também é armazenado na memória do sistema FRENDA™

Exibições de tela para vários cenários de concentração

Resultado exibido	Descrição
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab' and 'Print'. Below them, a box contains the following text: 'Date/Time : 2012-1-13 10:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-01'. The main result is displayed as 'PSA < 0.05 ng/mL'.</p>	Concentração de PSA Inferior a 0.05 ng/mL
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab' and 'Print'. Below them, a box contains the following text: 'Date/Time : 2012-1-17 11:55 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T10'. The main result is displayed as 'PSA 9.73 ng/mL'.</p>	Concentração de PSA Não inferior a 0.05 ng/mL e não superior a 25.00 ng/mL
 <p>The screenshot shows a software interface with two buttons at the top: 'Lab' and 'Print'. Below them, a box contains the following text: 'Date/Time : 2012-1-18 11:30 AM', 'User ID : Nano', and 'Patient ID : T-04'. The main result is displayed as 'PSA > 25.00 ng/mL'.</p>	Concentração de PSA Superior a 25.00 ng/mL

12. Avaliação dos Resultados

1) Controle de qualidade

Para monitorar e avaliar a precisão do desempenho analítico, recomenda-se que as amostras de controle comercialmente disponíveis sejam analisadas diariamente.

As recomendações mínimas para a frequência de execução do material de controle externo são:

- Ao iniciar um novo lote de reagente, três níveis de controles são executados para validar a calibração.
- Os três níveis de controle também são repetidos quando determinados procedimentos de serviço são executados, como atualizações de software, trabalho mecânico no sistema óptico ou realocação do sistema.

Se algum valor de amostra de controle de qualidade externo estiver fora da faixa aceitável, será necessário investigar o problema antes de relatar os resultados do paciente para garantir que não haja um mau funcionamento do instrumento ou do software.

Cada laboratório opera sob um conjunto diferente de regulamentos. Cada laboratório deve seguir os procedimentos padronizados aceitáveis pelas agências reguladoras às quais o laboratório é responsável..

13. Limitações do Procedimento

Quando usado para fins de diagnóstico, os resultados obtidos deste ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados (por exemplo, sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas, histórico médico, terapia, etc.).

O sistema FREND™, emparelhado com um cartucho FREND PSA Plus, é programado para relatar 25.0 ng/mL como a concentração mais alta de PSA mensurável sem diluição. A concentração mensurável mais baixa é 0.05 ng/mL, o limite de sensibilidade do ensaio.

Anticorpos heterofílicos em uma amostra têm o potencial de causar interferência em sistemas de imunoensaio.^{12,13} Raramente, os níveis de PSA podem parecer elevados devido a anticorpos heterofílicos presentes no soro ou plasma do paciente ou à ligação inespecífica de proteínas. Se o nível de PSA for inconsistente com a evidência clínica, sugere-se um teste adicional de PSA para confirmar os resultados.

Embora a hemólise tenha um efeito insignificante no ensaio, as amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorreto de uma amostra antes do ensaio e os resultados devem ser interpretados com cautela.

A lipemia tem um efeito insignificante no ensaio, exceto no caso de lipemia grave, onde pode ocorrer interferência com o fluxo lateral da amostra no cartucho.

As amostras de pacientes que receberam preparações de anticorpos monoclonais de camundongo para diagnóstico ou terapia podem conter anticorpos humanos anti-camundongo (HAMA). Essas amostras podem apresentar valores de PSA falsamente elevados ou diminuídos.

Certos medicamentos podem interferir no desempenho do ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em relação ao quadro clínico do paciente.¹⁴

A concentração de tPSA em uma dada amostra determinada com ensaios de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade do reagente.¹⁵

Consulte as seções Coleta e Manuseio de Amostras, Advertências e Precauções, Armazenamento e Estabilidade e Observações do Procedimento neste folheto.

Os resultados clínicos devem ser interpretados em relação aos medicamentos administrados ao paciente.¹⁴

A capacidade do ensaio para detectar as formas livre e complexada de PSA total (PSA livre complexado com alfa-1-antitripsina) em uma base molar igual (equimolaridade) não foi estabelecida.

14. Valores Esperados

Como em todo teste de diagnóstico clínico, um intervalo de referência correspondente às características da população testada deve ser determinado por cada laboratório. O FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ deve ser usado em amostras de sangue seriadas para tratar pacientes com câncer de próstata.

O teste de indivíduos ambulatoriais do sexo masculino com cinquenta anos ou mais que se declararam saudáveis sem quaisquer doenças, enfermidades ou condições conhecidas foi realizado usando o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ e outro método de PSA disponível comercialmente. O intervalo de referência atualmente aceito para tPSA de até 4.0 ng/mL foi validado para ambos os sistemas.

Como é verdade para todos os métodos de PSA, nenhum resultado de tPSA pode ser interpretado como definitivo para a presença ou ausência de câncer de próstata. Pacientes com níveis de PSA dentro do intervalo de referência encontrado em indivíduos aparentemente saudáveis podem ter câncer de próstata; pacientes com níveis superiores aos do intervalo de referência podem estar livres de câncer de próstata. Os resultados do FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ devem ser interpretados à luz de outros achados clínicos e procedimentos de diagnóstico, como DRE, vários estudos de imagem, etc., uma vez que certos tratamentos podem fazer com que os valores de PSA diminuam em virtude do tratamento enquanto o câncer ainda está progredindo.

15. Intervalos de Referência

O intervalo dado aqui foi determinado em amostras de soro de 196 indivíduos do sexo masculino aparentemente saudáveis com idade entre 50 ~ 71 anos.

Categoria	Homens
Número de Amostras (n)	196
Intervalo de referência	0~4.0 ng/mL

Neste estudo, mais de 99% dos indivíduos saudáveis apresentaram concentrações séricas de PSA menores ou iguais a 4.0 ng/mL pelo FRENDS PSA Plus tanto no sistema FRENDS™ quanto em outro ensaio fluorescente de tPSA disponível comercialmente. Os resultados deste estudo são mostrados abaixo:

Categoria	Outros PSA aprovados pela FDA	PSA Plus no FRENDS™
Número de Amostras (n)	196	196
Média (x)	0.71 ng/mL	0.83 ng/mL
SD	0.38 ng/mL	0.43 ng/mL
Faixa de valores	0.00~2.03 ng/mL	0.02~2.69 ng/mL
Mediana	0.66 ng/mL	0.77 ng/mL

Valores Esperados para o Manejo de Pacientes com Câncer de Próstata

Distribuição de Concentrações de Soro FRENDA PSA Plus Saudáveis, Benignos e Vários Estados de Doenças Malignas

	N	0~4.0 ng/mL	4.1~10.0 ng/mL	10.1~20.0 ng/mL	20.1~40.0 ng/mL	>40.0 ng/mL
Indivíduos saudáveis	196					
Homens e 50 anos	196	100%	0%	0%	0%	0%
Doença Benigna/Cond*	410					
Próstata benigna	104	56.73%	25.96%	11.54%	3.85%	1.92%
Diabetes	97	95.88%	3.09%	1.03%	0.00%	0.00%
HTN/Doença cardíaca	102	95.10%	4.90%	0.00%	0.00%	0.00%
GI benigno	107	94.4%	4.67%	0.00%	0.93%	0.00%
Doenças malignas*	302					
Câncer de próstata**	85	31.76%	44.71%	15.29%	2.35%	5.88%
Pontuação de Gleason 5-6	43	41.86%	51.16%	4.65%	2.38%	0.00%
Pontuação de Gleason 7	31	29.03%	41.94%	22.58%	0.00%	6.45%
Pontuação de Gleason 8-9	11	0.00%	27.27%	36.36%	9.09%	27.27%
Câncer de pulmão/fígado	52	98.08%	0.00%	1.92%	0.00%	0.00%
GB, Gástrico-pancreático	31	93.55%	6.45%	0.00%	0.00%	0.00%
Câncer colorretal	89	93.26%	6.74%	0.00%	0.00%	0.00%
Outros cânceres	45	97.78%	2.22%	0.00%	0.00%	0.00%
TOTAL de indivíduos	908					

* Indivíduos tratados e não tratados

** Amostras seriadas não estão incluídas nesta coorte.

16. Características de Desempenho

As características de desempenho foram avaliadas para o FREND PSA Plus da seguinte forma:

1) Precisão

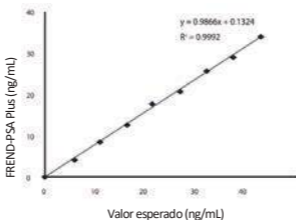
1a) Recuperação

Amostras conhecidas de PSA foram adicionadas a uma amostra de soro feminino (0.01 ng/mL). A concentração de PSA foi determinada antes e após a adição do PSA exógeno e a porcentagem de recuperação foi calculada.

Concentração adicionada (ng/mL)	Concentração observada (ng/mL)	Recuperação (%)
1.08	1.06	98.3
	1.09	100.7
	1.04	96.7
4.34	4.42	101.8
	4.35	100.3
	4.27	98.4
12.81	13.58	106.0
	12.04	94.0
	11.82	92.3
25.53	24.26	95.0
	24.67	96.6
	26.90	105.4

1b) Linearidade de diluição:

As amostras de um conjunto de alta concentração (34 ng/mL de tPSA) foram diluídas com um conjunto de baixa concentração seguindo o as instruções no documento EP6-A do protocolo CLSI. A correlação com a linearidade esperada mostrou $R^2 = 0.9992$.



Linearidade de diluição - FREN PSA Plus

Dados de Linearidade de Diluição - FREN PSA Plus

Nº	Vazio	1	2	3	4	5	6	7	Alto
Diluição	0.000	0.125	0.250	0.375	0.500	0.625	0.750	0.875	1.000
TESTE 1	0.00	4.63	8.85	13.30	18.34	21.44	23.78	28.04	39.98
TESTE 2	0.00	4.65	8.65	12.33	16.89	22.49	25.42	34.33	35.22
TESTE 3	0.10	4.08	9.24	12.71	18.22	19.39	27.13	27.12	31.74
TESTE 4	0.00	4.27	8.18	13.91	16.07	19.32	26.88	29.51	27.43
TESTE 5	0.00	4.59	8.67	12.61	17.56	20.67	24.91	27.36	28.32
TESTE 6	0.10	4.26	7.74	11.58	18.57	22.78	25.93	26.38	40.09
MÉDIA (ng/mL)	0.033	4.413	8.555	12.740	17.608	21.015	25.675	28.790	33.797
SD		0.241	0.526	0.802	0.972	1.490	1.255	2.913	5.561
CV(%)		5.5	6.1	6.3	5.5	7.1	4.9	10.1	16.5
Valor esperado	0.0	4.3	8.0	12.8	17.0	21.3	25.5	29.8	34.0
% Recuperação		103.8	106.9	99.9	103.6	98.9	100.7	96.8	99.4

1c) Análise comparativa:

Um grupo de amostras de soro bem caracterizadas coletadas com supervisão de IRB de indivíduos com câncer de próstata verificado por patologia e armazenadas a -70°C sob condições monitoradas foram analisadas para PSA total. Os resultados do FRENDS PSA Plus no sistema FRENDS™ (y) foram comparados aos obtidos usando o ensaio TO SOH ST AIA-PACK PA (x). Um total de 160 amostras únicas foram analisadas no estudo, no entanto, apenas as amostras com resultados de tPSA dentro da linearidade do FRENDS PSA Plus (até 25,0 ng/mL; (n=143)) foram usadas na análise comparativa.

Slope: 0.9192 (95% CI: 0.8369; 1.0014)

Intercept: -0.01179 (95% CI: -0.2763; 0.2527)

Correlation Coefficient (R) = 0.9671 (95% CI: 0.9545 ~ 0.9763)

Number of Samples = 143

Range of FRENDS PSA Plus values: 0.04 ~ 29.99 ng/mL

Range of ST AIA-PACK PA values: 0.00 ~ 25.86 ng/mL

2) Precisão

2a) Testes de precisão em lote único e local único

A precisão foi determinada conforme descrito no protocolo CLSI EP5-A. Quatro amostras clínicas em toda a faixa de medição foram testadas em réplicas de duas em duas vezes separadas por dia durante vinte dias usando um único lote de cartucho FRENDS PSA Plus. Os resultados seguem mostrando repetibilidade, entre-ensaios, entre dias e com dados de precisão em laboratório.

Amostra	Média de PSA (ng/mL)	Repetibilidade		Entre-ensaios		Entre dias		Dentro do laboratório	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
1	0.098	0.013	12.80	0.005	5.5	0.004	3.7	0.014	14.4
2	4.321	0.248	5.7	0.054	1.2	0.089	2.1	0.269	6.2
3	12.735	0.636	5.0	0.405	3.2	0.102	0.8	0.761	6.0
4	25.462	1.278	5.0	0.668	2.6	0.321	1.3	1.477	5.8

2b) Teste de precisão em vários lotes e vários locais

Três lotes diferentes do FRENDS PSA Plus foram avaliados em três locais geograficamente diversos. Quatro réplicas de cada Material A, Material B e Material C e duas réplicas de QC 1, QC 2 e QC 3 foram avaliadas em cada

um dos dois ensaios realizados por cinco dias em cada local. Um total de 40 resultados em cada material foram gerados em cada um dos três locais, produzindo um total geral de 120 réplicas de cada material. Os dados foram analisados usando um formato CLSI de EP5-A2 para uma análise ANOVA. "Instrumento a Instrumento" é o mesmo que "Site a Site" neste cenário. Como pode ser visto na tabela abaixo, a maior fonte de variação é o cartucho que seria o resultado esperado. O cartucho do FRENDA PSA Plus é um cartucho de uso único que contém todos os reagentes dentro do cartucho necessários para suportar as reações.

%CV por material						
Material						
Origem da variação	MAT A (0.29 ng/mL)	MAT B (3.67 ng/mL)	MAT C (18.33 ng/mL)	QC 1 (0.30 ng/mL)	QC 2 (2.93 ng/mL)	QC 3 (20.25 ng/mL)
Site a Site	3.50%	1.57%	1.67%	3.47%	1.61%	2.06%
Dia a dia	0.00%	0.99%	1.21%	0.00%	0.00%	0.00%
Lote a Lote	9.12%	3.16%	7.01%	6.08%	4.30%	6.00%
Entre cartuchos	18.45%	6.81%	7.94%	20.03%	6.17%	7.49%
Total	20.87%	7.74%	10.79%	21.22%	7.69%	9.81%

3) Especificidade

As seguintes substâncias foram avaliadas quanto à potencial reatividade cruzada com o FRENDA PSA Plus nas concentrações indicadas abaixo. O teste foi feito de acordo com as instruções recomendadas pelo protocolo EP7-A do CLSI. Nenhuma reatividade cruzada significativa foi encontrada.

Especificidade do FRENDA PSA Plus

Nº	Substrato	Concentração
1	PAP (Fosfatase ácida prostática)	10.0 ng/mL
2	Kallikrein	15.0 ng/mL

4) Sensibilidade analítica

O limite de detecção (LoD) para o FRENDA PSA Plus foi determinado usando o protocolo CLSI EP17-A. A sensibilidade analítica do FRENDA PSA Plus foi determinada em 0.03 ng/mL.

17. Interferência

Esses estudos de interferência em substâncias endógenas foram realizados usando o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ de acordo com as recomendações do protocolo CLSI EP7-A:

1) Interferências endógenas

Esses estudos de interferência em substâncias endógenas foram realizados usando o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ de acordo com as recomendações do protocolo CLSI EP7-A:

- A hemoglobina adicionada (até 500 mg/dL) não interfere no ensaio. A recuperação média quando adicionado ao soro contendo tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL foi de 97.25%.
- A adição de bilirrubina não conjugada (até 20 mg/dL) não interfere no ensaio.
- A recuperação média quando adicionado ao soro contendo tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL foi de 98.2%.
- A adição de gamaglobulina (Proteína Total) até 5.0 g/dL não interfere no ensaio. A recuperação média quando adicionado ao soro contendo tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL foi de 106.3%.
- Triglicérides adicionados até 3 g/dL não interferem com este ensaio. A recuperação média quando adicionado ao soro contendo tPSA a 1.0 e 4.0 ng/mL foi de 101.5%.

2) Interferências Farmacêuticas

O gráfico a seguir mostra os estudos de interferência realizados usando o FRENDA PSA Plus no sistema FRENDA™ para vários medicamentos que podem ser encontrados no soro/plasma de homens diagnosticados com câncer de próstata. As concentrações das drogas que foram adicionadas às amostras de teste e controles em concentrações básicas de tPSA de 1.0 ng/mL e 4.0 ng/mL são mostradas como são a % de recuperação no lado direito do gráfico. É improvável, uma vez que o método FRENDA PSA Plus usa anticorpos monoclonais, que qualquer substância sem uma estrutura terciária semelhante ao PSA possa interferir. Os testes mostraram que, de fato, não houve interferência significativa dos medicamentos testados que afetariam a interpretação de um resultado de tPSA conforme testado no FRENDA PSA Plus.

Resultados do estudo de interferência para FRENDS PSA Plus no sistema FRENDS™

Nº	Substrato	Concentração	Recuperação Média %
1	Flutamida	10 µg/mL	94.50%
2	Dietil-estilbestrol (DES)	5 µg/mL	103.80%
3	Goserelina	40 ng/mL	103.20%
4	Tamsulosina	100 ng/mL	98.85%
5	Acetaminofeno	250 ng/mL	100.45%
6	Ácido acetilsalicílico	600 µg/mL	95.85%
7	Leuprolida	275 ng/mL	101.50%
8	Ibuprofeno	500 µg/mL	102.25%
9	Finasterida	250 ng/mL	93.60%
10	Docetaxel	10 µg/mL	114.45%

18. Medições em série e concordância com o estado medico

Uma vez que a Indicação de Uso do FRENDS PSA Plus é que os resultados do ensaio serão usados como uma ferramenta no tratamento de pacientes com câncer de próstata, é imperativo que as alterações no marcador sejam comparadas com as alterações do estado clínico para determinar a eficácia do teste. Portanto, como parte importante dos estudos clínicos realizados para caracterizar o FRENDS PSA Plus, amostras seriadas coletadas longitudinalmente de pacientes previamente diagnosticados com câncer de próstata e tratados de várias maneiras ao longo do curso clínico de sua doença (incluindo prostatectomia, sementes radioativas, radiação de feixe externo, quimioterapia, terapia hormonal isoladamente ou em combinação) foram testados para tPSA com o FRENDS PSA Plus no sistema FRENDS™. As mesmas amostras também foram medidas para tPSA por outro método aprovado pela FDA.

Para cada "ponto a ponto" em uma série de amostras, a mudança na

concentração de tPSA foi comparada com a mudança no estado clínico dos pacientes, conforme medido por outros exames laboratoriais, entrevistas com pacientes, exames físicos e estudos de imagem de vários tipos e registrados em um Formulário de Relatório Clínico.

Essas alterações na concentração do marcador tPSA foram definidas como significativas ou não multiplicando o CV geral do ensaio na faixa intermediária (conforme determinado pelo estudo de imprecisão do teste) por um fator de 2.5 para definir uma alteração percentual diferente do que seria esperado porque de imprecisão do ensaio. Para o ensaio FRENDA PSA Plus com um CV geral médio de 8.5%, a significância foi definida como uma alteração superior a 20%. Qualquer aumento no valor de um período de tempo para o próximo que não excedeu 20% foi registrado como $\leq 20\%$ de alteração. Para o outro método aprovado pela FDA, a significância foi definida como uma alteração $> 8.5\%$. Isso foi calculado usando o CV geral de médio alcance publicado desse método de $3.4\% \times 2.5$.

As impressões do médico sobre o estado da doença do indivíduo em cada coleta de sangue foram registradas em CRFs para todas as amostras de PSA em série. As informações de status em uma visita foram comparadas com o status na próxima e uma mudança no status foi determinada para o par de visitas. A mudança no estado clínico da impressão do médico foi então comparada a mudanças significativas na concentração de PSA de cada amostra medida pelo dispositivo de teste (FRENDA PSA Plus) e pelo dispositivo predicado (ensaio aprovado pela FDA). Os resultados dessas comparações são mostrados abaixo onde o estado clínico foi dividido em dois grupos: os pares de visitas que mostram progressão e aqueles que não apresentam progressão da doença por estado de visita a visita.

1) Amostras sem progressão (concordância negativa)

FRENDA PSA Plus	Outro ensaio de PSA aprovado pela FDA		
	$\geq 8.5\%$	$< 8.5\%$	Total
$\geq 20\%$	31	15	46
$< 20\%$	15	67	82
Total	46	82	128
NC (FRENDA PSA Plus)	0.641		
NC (AIA-PACK PSA)	0.641		
Diferente	0.000		

Não há diferença na Concordância Negativa (NC) entre os dois ensaios.

2) Amostras com Progressão (Concordância Positiva)

	Outro ensaio de PSA aprovado pela FDA		
FREND PSA Plus	≥ 8.5%	<8.5%	Total
≥20%	83	1	84
<20%	5	19	24
Total	88	20	108
PC (FREND PSA Plus)	0.778		
PC (AIA-PACK PSA)	0.815		
Diferente	0.037		

Um teste de McNemar dos dados emparelhados na tabela acima produz um valor p de 0.218. O intervalo de confiança de 95% associado para a verdadeira diferença é – 0.0157 a 0.0551. Ambos os estimadores concordam: não há diferenças estatisticamente significativas nas Concordâncias Positivas (PC) entre os dois ensaios.

Abaixo está um gráfico comparando as concordâncias do ensaio FREND. PSA Plus e o outro ensaio de PSA aprovado pela FDA. Com base nos intervalos de confiança de 95%, parece não haver diferenças entre as concordâncias para o ensaio FREND PSA Plus e o outro ensaio de PSA aprovado pela FDA.











	FREND PSA Plus	95% CI*	PSA aprovado pela FDA	95% CI*
Positiva	77.8%	69.8% a 85.3%	81.5%	73.8% a 88.7%
Negativa	64.1%	55.1% a 71.5%	64.1%	55.1% a 71.5%
Total	70.3%	64.1% a 76.9%	72.0%	66.1% a 77.5%

* Os intervalos de confiança são baseados em 10.000 reamostras dos dados do paciente.

19. Referências

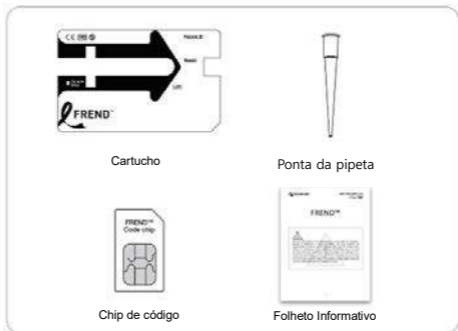
- 1) De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schröder FH, Alexander FE, Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrollment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *International Journal Cancer*, 2002; 98:268-73.
- 2) Wan-Ming Zhang, Patrik Finne, Jari Leinonen et al., Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and α 2-macroglobulin, *Clinical Chemistry*, 1998, 44:12, 2471-2479.
- 3) David L. Woodrum et al., Analytical performance of the Tandem-R free PSA immunoassay measuring free prostate-specific antigen. *Clinical Chemistry*, 1997, 43:7, 1203-1208.
- 4) Yun Sik Kwak, M.D., Appropriate use of Prostate-Specific Antigen in Diagnosing Carcinoma of the Prostate. *Journal Korean Geriatrics Society*, 2009, Vol. 13, Mar, pp. 12-17.
- 5) Chen Z, Prestigiacomo A, et al., Purification and characterization of prostate-specific antigen(PSA) complexed to alpha 1-antichymotrypsin: potential reference material for international standardization of PSA immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1995, 41(9):1273-82.
- 6) Wang, M.C., et al, 1981, Prostatic Antigen: A New Potential Marker for Prostatic Cancer. *Prostate* 2:89.
- 7) Frankel, A.G., et al, 1982, Monoclonal Antibodies to a Human Prostate Antigen. *Cancer Res.* 42:3714
- 8) Papsidero, L.D., et al, 1980, A Prostate Antigen in Sera of Prostatic Cancer Patients. *Cancer Res.* 40:2428.
- 9) Kuriyama, M., et al, 1980, Quantitation of Prostate-Specific Antigen in Serum by a Sensitive Enzyme Immunoassay. *Cancer Res.* 40:4658.
- 10) Killian, C.S., 1985, Prognostic Importance of Prostate-Specific Antigen for Monitoring Patients with Stages B2 to D1 Prostate Cancer. *Cancer Res.* 45:886.
- 11) Kuriyama, M., et al, 1982, Multiple Marker Evaluation in Human Prostate Cancer with the Use of Tissue-Specific Antigens. *J. Nat. Canc.* 68:99.
- 12) Nahm MH and Goffman JW. Heteroantibody: Phantom of the Immunoassay. *Clinical Chemistry*, 1990, 36:829.
- 13) Boscato LM., Stuart MC., Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassay Compared. *Clinical Chemistry*, 1988, 33:1916-20.
- 14) Young, D., 1990, Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 3rd Edition, Washington, DC, *American Association for Clinical Chemistry Press.*
- 15) Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, et al., Human Anti-Murine Immunoassays, *Clinical Chemistry*, 1997, 1916-20.
- 16) Chemistry Analyte Stability Chart, Barnes Jewish Hospital, Apr 1999, Revised on Jul 2011.
- 17) Melissa Tanner, Neil Kent, Brian Smith, Stephen Fletcher and Michelle Lewer, Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation, *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, 45, 375-379.
- 18) G. Rajani Kumari and T. Malati, Stability of total and free prostate specific antigen in serum samples at different storage conditions, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, 19(2), 10-13.

Glossário de Símbolos

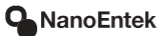
	Cuidado, aviso, Consultar os documentos de acompanhamento
REF	Número de catálogo/Número de referência
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consultar as instruções de uso Um indicador de instruções eletrônicas de uso (eIFU) (endereço do website) pode acompanhar o símbolo quando usado para indicar uma instrução para consultar um eIFU.
LOT	Número do lote/Número do batch
	Usado por AAAA-MM-DD ou AAAA-MM
	Fabricante
	Marca CE com número de identificação do organismo notificado
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limitação de temperatura
	Contém suficiente para < n > testes
	Não reutilizar
	Não usar se a embalagem estiver danificada
Rx Only	Apenas para uso sob receita médica CUIDADO: A lei federal (EUA) restringe a venda deste dispositivo a médicos ou mediante prescrição médica.
US Corporation	Corporação dos EUA
Patient ID	ID do paciente
Result	Resultado
 Sample Drop	Gota de amostra
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia

UK Representative	Representante autorizado no Reino Unido
CH REP	Representante autorizado na Suíça
BRH	Representante autorizado no Brasil

Conteúdo do Kit



Revisado em 2023.02



NanoEntek

e-mail : ivdst@nanoentek.com

website : www.nanoentek.com



NanoEntek, Inc.

851-14, Seohae-ro, Paltan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, 18531, Korea

Tel: +82-2-6220-7940 / Fax: +82-2-6220-7999

US Corporation

NanoEntek America, inc.

220 Bear Hill Road, Suite 102, Waltham, MA 02451, USA

Tel: +1-781-472-2558 /Fax: +1-781-790-5649

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7, 66386 St. Ingbert, Germany