

## Δοκιμασία Progensa PCA3

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Μόνο για εξαγωγές στις Η.Π.Α.

<b>Γενικές πληροφορίες</b> .....	<b>2</b>
Χρήση για την οποία προορίζεται .....	2
Περίληψη και επεξήγηση του ελέγχου .....	2
Αρχές της διαδικασίας .....	2
<b>Αντιδραστήρια και υλικά που παρέχονται</b> .....	<b>4</b>
<b>Υλικά</b> .....	<b>8</b>
<b>Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις</b> .....	<b>10</b>
<b>Απαιτήσεις χειρισμού και αποθήκευσης</b> .....	<b>13</b>
<b>Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων</b> .....	<b>15</b>
<b>Διαδικασία δοκιμής</b> .....	<b>17</b>
Σημειώσεις επί της διαδικασίας .....	23
<b>Διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου</b> .....	<b>28</b>
<b>Ερμηνεία αποτελεσμάτων</b> .....	<b>29</b>
<b>Περιορισμοί</b> .....	<b>35</b>
<b>Χαρακτηριστικά απόδοσης</b> .....	<b>36</b>
<b>Βιβλιογραφία</b> .....	<b>42</b>

## Γενικές πληροφορίες

### Χρήση για την οποία προορίζεται

Η δοκιμασία Progensa PCA3 είναι μία *in vitro* εξέταση ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος (NAAT) που εντοπίζει το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) του γονιδίου 3 του καρκίνου του προστάτη (Prostate Cancer Gene 3, PCA3) σε δείγματα ούρων ανδρών, για να δημιουργήσει μια βαθμολογία PCA3. Η βαθμολογία PCA3 προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με τους διαγνωστικούς αλγορίθμους του προτύπου μέριμνας ως ένα βοήθημα για τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη.

### Περίληψη και επεξήγηση του ελέγχου

Η χρήση της εξέτασης του ειδικού προστατικού αντιγόνου στον ορό (prostate-specific antigen, PSA) για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του προστάτη οδήγησε στη διάγνωση μέσω βιοψίας μικρότερων όγκων που δεν μπορούσαν να ανιχνευτούν παλαιότερα (1), δημιουργώντας επομένως ένα νέο διαγνωστικό δίλημμα: Μόνον ένα τμήμα ανδρών με αυξημένα επίπεδα PSA του ορού πάσχει από ανιχνεύσιμο καρκίνο του προστάτη. Άνδρες με τουλάχιστον μία αρνητική βιοψία έχουν συχνά επίμονα αυξανόμενο PSA ορού, εξαιτίας κατά πρώτο λόγο του αυξημένου προστάτη και της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη (BPH). Κι όμως, ένα σημαντικό ποσοστό ανδρών με ελαφρώς αυξημένο PSA ορού (2,5-4,0 μg/L) είτε έχει, είτε θα αναπτύξει, κλινικά σημαντικό καρκίνο του προστάτη (1). Ενώ η βιοψία παραμένει το χρυσό πρότυπο για τον εντοπισμό του καρκίνου του προστάτη, χρειάζονται περισσότερο ακριβείς δοκιμές με μεγαλύτερη ειδικότητα για να συμβάλουν στη δρομολόγηση των αποφάσεων προς τη βιοψία του προστάτη.

Η PCA3 (γνωστή και ως «PCA3<sup>DD3</sup>» ή «DD3<sup>PCA3</sup>») είναι ένα μη κωδικοποιούν RNA που είναι ειδικό για τον προστάτη αποκλειστικά που υπερεκφράζεται ιδιαίτερος στα κύτταρα του καρκίνου του προστάτη, με διάμεση αύξηση 66πλάσια σε σύγκριση με παρακείμενο καλοήγη ιστό (2). Αντίθετα, η έκφραση του γονιδίου PSA είναι παρόμοια με εκείνη στα καρκινικά και στα καλοήγη κύτταρα του προστάτη. Επομένως, τα επίπεδα του RNA του PSA μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κανονικοποίηση της ποσότητας του ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA) που είναι ειδικό για τον προστάτη σε μοριακά δείγματα της δοκιμής. Έχει αποδειχτεί η σκοπιμότητα μίας ποσοτικής μοριακής εξέτασης που να βασίζεται στο PCA3 από ίζημα ούρων (2) και από ολικά ούρα (3).

Η Δοκιμασία Progensa PCA3 χρησιμοποιεί το σύνολο των ούρων που συλλέχθηκαν ακολουθώντας μία δακτυλική εξέταση του ορθού (DRE) που πραγματοποιείται με τρεις ψηλαφήσεις ανά λοβό. Η DRE απελευθερώνει κύτταρα προστάτη μέσω του συστήματος πόρων του προστάτη στο ουροποιητικό, από όπου μπορούν να συλλεχθούν με την πρώτη λήψη ούρων. Τα ούρα υφίστανται επεξεργασία με την προσθήκη ενός Μέσου Μεταφοράς Ούρων (UTM) το οποίο λύει τα κύτταρα και σταθεροποιεί το RNA. Τα RNA των PCA3 και PSA ποσοτικοποιούνται και η βαθμολογία PCA3 καθορίζεται με βάση τον λόγο RNA PCA3/PSA. Πέρα από την κανονικοποίηση του σήματος PCA3, η μέτρηση του RNA του PSA εξυπηρετεί επίσης στην επιβεβαίωση ότι η απόδοση του RNA που σχετίζεται με τον προστάτη επαρκεί για να παραχθεί ένα έγκυρο αποτέλεσμα. Υψηλότερες βαθμολογίες PCA3 συσχετίζονται με υψηλότερη πιθανότητα θετικής βιοψίας προστάτη.

### Αρχές της διαδικασίας

Η Δοκιμασία Progensa PCA3 αποτελείται από δύο ποσοτικούς ελέγχους ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος. Η Δοκιμασία Progensa PCA3 συνδυάζει τις τεχνολογίες σύλληψης στόχου,

ενίσχυσης με τη μεσολάβηση μεταγραφής (TMA), δοκιμασίας προστασίας υβριδοποίησης (HPA) για την απλοποίηση της επεξεργασίας δειγμάτων ούρων, την ενίσχυση του RNA-στόχου και τον εντοπισμό του αμπλικονίου, αντίστοιχα.

Όταν πραγματοποιείται η δοκιμασία Progensa PCA3 στο εργαστήριο, απομονώνονται τα μόρια του RNA-στόχου από τα δείγματα των ούρων μέσω της διαδικασίας σύλληψης στόχου. Τα ολιγονοικλεοτίδια («ολιγονοικλεοτίδια σύλληψης») που είναι συμπληρωματικά σε συγκεκριμένες περιοχές αλληλουχίας των στόχων είναι υβριδοποιημένα στους στόχους του δείγματος των ούρων. Για κάθε στόχο χρησιμοποιείται ένα ξεχωριστό ολιγονοικλεοτίδιο σύλληψης. Ο υβριδοποιημένος στόχος συλλαμβάνεται τότε σε μαγνητικά μικροσωματίδια που διαχωρίζονται από το δείγμα ούρων σε ένα μαγνητικό πεδίο. Τα βήματα πλύσης χρησιμοποιούνται για τη μετακίνηση εξωτερικών στοιχείων από το σωληνάριο αντίδρασης. Ο μαγνητικός διαχωρισμός και τα βήματα πλύσης πραγματοποιούνται με ένα σύστημα Target Capture.

Η στοχευμένη ενίσχυση πραγματοποιείται μέσω της TMA, η οποία είναι μία μέθοδος ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος με βάση τη μεταγραφή που χρησιμοποιεί δύο ένζυμα, την αντίστροφη μεταγραφάση και την πολυμεράση RNA T7 του ιού λευχαιμίας ποντικού Moloney (MMLV). Ένα μοναδικό σύνολο εκκινητών χρησιμοποιείται για κάθε στόχο. Η αντίστροφη μεταγραφάση χρησιμοποιείται για την παραγωγή αντιγράφου δεσοξυριβοζουκλεϊνικού οξέος (DNA) (που περιλαμβάνει μία αλληλουχία προαγωγού για την πολυμεράση T7 RNA) της αλληλουχίας στόχου. Η πολυμεράση T7 RNA παράγει πολλαπλά αντίγραφα του αμπλικονίου RNA από τη σειρά αντιγραφής του DNA.

Ο εντοπισμός επιτυγχάνεται μέσω της HPA χρησιμοποιώντας μονόκλωνους ανιχνευτές νουκλεϊκού οξέος με σήμανση χημειοφωταύγειας που είναι συμπληρωματικοί προς το αμπλικόνιο. Για κάθε αμπλικόνιο στόχου χρησιμοποιούνται ξεχωριστοί ανιχνευτές. Οι σεσημασμένοι ανιχνευτές νουκλεϊκού οξέος υβριδοποιούνται συγκεκριμένα για το αμπλικόνιο. Το αντιδραστήριο επιλογής διαφοροποιείται από τους υβριδοποιημένους και μη υβριδοποιημένους ανιχνευτές απενεργοποιώντας την ετικέτα στους μη υβριδοποιημένους ανιχνευτές. Κατά το βήμα του εντοπισμού, το σήμα χημειοφωταύγειας που παράγεται από τον υβριδοποιημένο ανιχνευτή μετράται σε ένα φωτόμετρο και αναφέρεται ως Σχετική Μονάδα Φωτός (RLU).

Ποσοτικοποιούνται τα RNA των PCA3 και PSA σε ξεχωριστά σωληνάκια και καθορίζεται η βαθμολογία PCA3. Σε κάθε εκτέλεση δοκιμασίας περιλαμβάνονται βαθμονομητές που περιέχουν γνωστές ποσότητες μεταγραφημάτων RNA των PCA3 ή PSA και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μίας τυπικής καμπύλης. Οι έλεγχοι PCA3 και PSA περιλαμβάνονται επίσης για την εξακρίβωση της ακρίβειας των αποτελεσμάτων που παρεμβάλλονται από την καμπύλη του υλικού βαθμονόμησης.

## Αντιδραστήρια και υλικά που παρέχονται

**Σημείωση:** Για πληροφορίες σχετικά με τυχόν δηλώσεις ασφάλειας και προφύλαξης που μπορεί να σχετίζονται με αντιδραστήρια, ανατρέξτε στη βιβλιοθήκη δελτίων δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheet Library) στη διαδικτυακή τοποθεσία [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

Τα αντιδραστήρια και τα υλικά που παρέχονται στο κιτ της δοκιμασίας Progensa PCA3/PSA για τη δοκιμασία Progensa PCA3 εμφανίζονται παρακάτω. Δίπλα στο όνομα του αντιδραστήριου εμφανίζονται επίσης τα Σύμβολα Αναγνώρισης Αντιδραστήριου.

**Κιτ δοκιμασίας Progensa PCA3, 2 x 100 αντιδράσεις, αρ. κατ. 302355 (8 κουτιά)**

### Progensa PCA3 100-Κιτ αντίδρασης

Καταψυχθέν κουτί Progensa PCA3 — Αποθήκευση στους 2 °C έως 8 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

Σύμβολο	Συστατικό	Ποσότητα
<b>A</b>	<b>Αντιδραστήριο ενίσχυσης PCA3</b> <i>Μη μολυντικά νουκλεϊκά οξέα αποξηραμένα στο ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;10%.</i>	1 φιαλίδιο
<b>E</b>	<b>Αντιδραστήριο Ενζύμου PCA3/PSA</b> <i>Αντίστροφη μεταγραφάση και πολυμεράση RNA αποξηραμένες στο ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;10%.</i>	1 φιαλίδιο
<b>P</b>	<b>Αντιδραστήριο ανιχνευτή PCA3</b> <i>Μη μολυσματικοί ανιχνευτές χημειοφωταύγειας DNA αποξηραμένοι στο ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρικού οξέος που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;5% και λαυροθειϊκό λίθιο &lt;5%.</i>	1 φιαλίδιο

Κουτί σε θερμοκρασία δωματίου Progensa PCA3 — Αποθήκευση στους 15 °C έως 30 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

Σύμβολο	Συστατικό	Ποσότητα
<b>AR</b>	<b>Διάλυμα ανασύστασης ενίσχυσης PCA3</b> <i>Υδατικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικά (&lt;1% παραβένες).</i>	1 x 9,3 mL
<b>ER</b>	<b>Διάλυμα ανασύστασης ενζύμου PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει επιφανειοδραστικό παράγοντα (10% Triton X-100) και 20% γλυκερόλη.</i>	1 x 3,3 mL
<b>PR</b>	<b>Διάλυμα ανιχνευτή ανασύστασης PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρικού οξέος που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	1 x 12,4 mL
<b>S</b>	<b>Αντιδραστήριο επιλογής PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα βορίου που περιέχει επιφανειοδραστικό παράγοντα (1% Triton X-100).</i>	1 x 31 mL

<b>TCR</b>	<b>Αντιδραστήριο PCA3 Target Capture</b> <i>Μη μολυσματικό νουκλεϊκό οξύ σε ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει στερεά φάση.</i>	1 x 22 mL
	<b>Κάρτα σφραγίσματος</b>	1 συσκευασία
	<b>Κολάρα ανασύστασης</b>	1 συσκευασία

Κιτ βαθμονομητή και μαρτύρων Progensa PCA3 — Αποθήκευση στους 2 °C έως 8 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

<b>Σύμβολο</b>	<b>Συστατικό</b>	<b>Ποσότητα</b>
<b>CAL</b>	<b>Βαθμονομητής PCA3 1</b> <i>Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	1 x 2,0 mL
<b>CAL</b>	<b>Βαθμονομητές PCA3 2-5</b> <i>Μη μολυντικό νουκλεϊκό οξύ PCA3 σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	4 x 1,7 mL
<b>PC</b>	<b>Θετικοί Μάρτυρες PCA3</b> <i>Μη μολυντικό νουκλεϊκό οξύ PCA3 σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	2 x 1,7 mL
	<b>Φύλλο πληροφοριών συγκέντρωσης PCA3</b>	1 φύλλο

**Progensa PSA 100-Κιτ αντίδρασης**

Καταψυχθέν κουτί Progensa PSA — Αποθήκευση στους 2 °C έως 8 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

<b>Σύμβολο</b>	<b>Συστατικό</b>	<b>Ποσότητα</b>
<b>A</b>	<b>Αντιδραστήριο ενίσχυσης PSA</b> <i>Μη μολυντικά νουκλεϊκά οξέα αποξηραμένα στο ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;10%.</i>	1 φιαλίδιο
<b>E</b>	<b>Αντιδραστήριο Ενζύμου PCA3/PSA</b> <i>Αντίστροφη μεταγραφάση και πολυμεράση RNA αποξηραμένες στο ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;10%.</i>	1 φιαλίδιο
<b>P</b>	<b>Αντιδραστήριο ανιχνευτή PSA</b> <i>Μη μολυσματικοί ανιχνευτές χημειοφωταύγειας DNA αποξηραμένοι στο ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρικού οξέος που περιέχει διογκωτικό παράγοντα &lt;5% και λαυροθειϊκό λίθιο &lt;5%.</i>	1 φιαλίδιο

Κουτί σε θερμοκρασία δωματίου Progensa PSA — Αποθήκευση στους 15 °C έως 30 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

Σύμβολο	Συστατικό	Ποσότητα
AR	<b>Διάλυμα ανασύστασης ενίσχυσης PSA</b> <i>Υδατικό διάλυμα που περιέχει συντηρητικά (&lt;1% παραβένες).</i>	1 x 9,3 mL
ER	<b>Διάλυμα ανασύστασης ενζύμου PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει επιφανειοδραστικό παράγοντα (10% Triton X-100) και 20% γλυκερόλη.</i>	1 x 3,3 mL
PR	<b>Διάλυμα ανιχνευτή ανασύστασης PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτρικού οξέος που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	1 x 12,4 mL
S	<b>Αντιδραστήριο επιλογής PCA3/PSA</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα βορίου που περιέχει επιφανειοδραστικό παράγοντα (1% Triton X-100).</i>	1 x 31 mL
TCR	<b>Αντιδραστήριο PSA Target Capture</b> <i>Μη μολυσματικό νουκλεϊκό οξύ σε ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει στέρεα φάση.</i>	1 x 22 mL
	<b>Κάρτα σφραγίσματος</b>	1 συσκευασία
	<b>Κολάρα ανασύστασης</b>	1 συσκευασία

Κιτ βαθμονομητή και μαρτύρων Progensa PSA — Αποθήκευση στους 2 °C έως 8 °C κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

Σύμβολο	Συστατικό	Ποσότητα
CAL	<b>Βαθμονομητής PSA 1</b> <i>Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	1 x 2,0 mL
CAL	<b>Βαθμονομητές PSA 2-5</b> <i>Μη μολυντικό νουκλεϊκό οξύ PSA σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	4 x 1,7 mL
PC	<b>Θετικοί μάρτυρες PSA</b> <i>Μη μολυντικό νουκλεϊκό οξύ PSA σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει &lt;5% λαυροθειϊκό λίθιο.</i>	2 x 1,7 mL
	<b>Φύλλο πληροφοριών συγκέντρωσης PSA</b>	1 φύλλο

**Υγρά δοκιμασίας Artima** — Αποθήκευση στους 15 °C έως 30 °C (2 κουτιά) κατά την παραλαβή μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα

<b>Σύμβολο</b>	<b>Συστατικό</b>	<b>Ποσότητα</b>
<b>W</b>	<b>Διάλυμα Πλύσης</b> <i>Ρυθμιστικό διάλυμα HEPES που περιέχει &lt;2% δωδεκυλοσουλφονικό νάτριο.</i>	1 x 402 mL
<b>DF</b>	<b>Ρυθμιστικό διάλυμα για το υγρό ενεργοποίησης</b> <i>Διττανθρακικό ρυθμιστικό διάλυμα.</i>	1 x 402 mL
<b>O</b>	<b>Αντιδραστήριο λαδιού</b> <i>Λάδι σιλικόνης.</i>	1 x 24,6 mL

**Σημείωση:** Μπορείτε επίσης να αγοράσετε όλα τα υλικά που περιλαμβάνονται στο κιτ της δοκιμασίας Progensa PCA3 ξεχωριστά (ανατρέξτε στην ενότητα Υλικά για λεπτομέρειες).

## Υλικά

**Σημείωση:** Για πληροφορίες σχετικά με τυχόν δηλώσεις ασφάλειας και προφύλαξης που μπορεί να σχετίζονται με αντιδραστήρια, ανατρέξτε στη βιβλιοθήκη δελτίων δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheet Library) στη διαδικτυακή τοποθεσία [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Σημείωση:** Για τα υλικά που διατίθενται για το Hologic εμφανίζονται οι αριθμοί καταλόγου.

## Απαιτούμενα υλικά που διατίθενται ξεχωριστά

	<u>Αρ. κατ.</u>
Κιτ μεταφοράς δείγματος ούρων Progensa PCA3	302352
Φωτόμετρο Leader HC+	104747
Σύστημα Target Capture System (TCS) της Hologic	104555
Κιτ αυτόματης ανίχνευσης Aptima	301048
2 πιπέτες erpendorf Repeater Plus	105725
Ρύγχη επαναληπτικής πιπέτας (2,5 mL, 5,0 mL, 25,0 mL)	—
Είτε:	—
2 αναδευτήρες πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex	102160F
3 υδατόλουτρα κυκλοφορίας (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586F
3 διαχωριστικά υδατόλουτρων	104627
Ή	
2 λουτρά ξηρής θερμότητας/συσκευές ανάδευσης τύπου vortex SB100	105524F
Μπορεί να χρειαστούν επιπλέον όργανα SB100 ανάλογα με τον απαιτούμενο ρυθμό απόδοσης	
Μικροπιπέτα, 1.000 µL RAININ PR1000	901715
Ρύγχη, 1.000 µL P1000	105049
Πιπέτα, erpendorf 20 έως 200 µL	105726
Ρύγχη, πιπέτα 20 έως 200 µL	—
Λευκαντικό διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5% έως 7% (0,7 M έως 1,0 M)	—
Πλαστικό σκεύος με μεγάλο πώμα	—
Τυπικοί ουροσυλλέκτες, χωρίς συντηρητικά	—
Μονάδες δέκα σωληναρίων (TTU)	TU0022
Κασέτες δέκα ρυγχών (TTC)	104578
Πρότυπο βαθμονόμησης SysCheck	301078

## Προαιρετικά υλικά

	<u>Αρ. κατ.</u>
Progensa PCA3 100-Κιτ αντίδρασης	302354
Progensa PSA 100-Κιτ αντίδρασης	302357



	<u>Αρ. κατ.</u>
Κιτ βαθμονομητών και μαρτύρων Progensa PCA3	302353
Κιτ βαθμονομητών και μαρτύρων Progensa PSA	302356
Ειδικές ομάδες εξετάσεων Progensa PCA3/PSA	302350
Κιτ αραιωτικού δείγματος Progensa PCA3	302351
Κιτ υγρών δοκιμασίας Aptima	302002C
Αναλώσιμα ρύγχη πιπέτας με φίλτρο (1 mL)	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4	900932
<i>Διάταξη μεταλλικής πλάκας PCA3, DTS 800</i>	902021 —
<i>Δεξαμενή αντιδραστηρίου (υπομονάδα ενός τετάρτου 40 mL)</i>	104765
<i>Χωρισμένη δεξαμενή αντιδραστηρίου (υπομονάδα 19 mL x 2 τετάρτων)</i>	901172
Σωληνάρια μεταφοράς	302521
Πώματα αντικατάστασης που μπορούν να διατηρηθούν	302520
Πώματα αντικατάστασης που δεν μπορούν να διατηρηθούν	103036A

## Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- A. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- B. Μόνο για εξαγωγές στις Η.Π.Α.

### Σχετικά με το Εργαστήριο

- C. Χρησιμοποιείτε μόνο τα παρεχόμενα ή τα καθορισμένα σκεύη εργαστηρίου μίας χρήσης.
- D. Τηρείτε τις συνήθεις προφυλάξεις εργαστηρίου. Μην τρώτε, πίνετε ή καπνίζετε στους καθορισμένους χώρους εργασίας. Φοράτε γάντια μίας χρήσης χωρίς πούδρα, προστατευτικά ματιών και ρόμπες εργαστηρίου όταν χειρίζεστε δείγματα ούρων και αντιδραστήρια των κιτ. Πλένετε τα χέρια σας καλά μετά το χειρισμό δειγμάτων ούρων και αντιδραστηρίων των κιτ.
- E. **Προειδοποίηση: Παράγοντες ερεθισμού, Διαβρωτικά.** Αποφύγετε την επαφή των Auto Detect 1 και Auto Detect 2 με το δέρμα, τα μάτια και τους βλεννογόνους υμένες. Αν αυτά τα υγρά έρθουν σε επαφή με το δέρμα ή τα μάτια, πλύνετε την προσβεβλημένη περιοχή με νερό. Αν χυθούν αυτά τα υγρά, αραιώστε το υγρό που χύθηκε με νερό πριν το σκουπίσετε.
- F. Οι επιφάνειες εργασίας, οι πιπέτες και ο υπόλοιπος εξοπλισμός πρέπει να απολυμαίνεται τακτικά με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M) (βλ. *Σημειώσεις επί της διαδικασίας*).
- G. Συνιστάται ιδιαίτερος η χρήση μιας ξεχωριστής περιοχής μετά την ενίσχυση για να ελαχιστοποιηθεί η μόλυνση του αμπλικόνιου της δοκιμασίας. Αυτή η περιοχή αποκλειστικής χρήσης θα πρέπει να βρίσκεται μακριά από την περιοχή πριν την ενίσχυση, όπου πραγματοποιείται η προετοιμασία του αντιδραστηρίου, η σύλληψη στόχου και η ενίσχυση.
- H. Για να μην μολυνθούν οι περιοχές του εργαστηρίου από το αμπλικόνιο, η περιοχή του εργαστηρίου θα πρέπει να έχει διαρρύθμιση μονοκατευθυντικής ροής από την προετοιμασία αντιδραστηρίου μέχρι και μετά την ενίσχυση. Τα δείγματα, ο εξοπλισμός και τα αντιδραστήρια δεν θα πρέπει να επιστρέφεται στην περιοχή όπου πραγματοποιήθηκε το προηγούμενο βήμα. Το προσωπικό δεν θα πρέπει να επιστρέφει σε περιοχές προηγούμενης εργασίας χωρίς να ακολουθούν τις κατάλληλες οδηγίες ασφαλείας για τη μόλυνση.

### Σχετικά με το Δείγμα

- I. Αφού προστεθούν τα ούρα, το επίπεδο του υγρού στο σωληνάριο μεταφοράς δειγμάτων ούρων πρέπει αρχικά να πέσει ανάμεσα στις δύο μαύρες γραμμές ένδειξης στην ετικέτα του σωλήνα. Διαφορετικά, το δείγμα πρέπει να απορριφθεί.
- J. Διατηρείτε σωστές συνθήκες αποθήκευσης κατά την αποστολή των δειγμάτων ώστε να διασφαλιστεί η ακεραιότητα του δείγματος. Η σταθερότητα του δείγματος σε συνθήκες αποστολής διαφορετικές από αυτές που συνιστώνται δεν έχει αξιολογηθεί.
- K. Οι ημερομηνίες λήξης που εμφανίζονται στα κιτ συλλογής απευθύνονται στον χώρο συλλογής και όχι στον χώρο δοκιμής. Δείγματα που συλλέχθηκαν οποιαδήποτε στιγμή πριν από την ημερομηνία λήξης του κιτ συλλογής, και μεταφέρθηκαν και αποθηκεύτηκαν σύμφωνα με το ένθετο της συσκευασίας είναι έγκυρα για δοκιμή ακόμη κι αν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης στο σωληνάριο συλλογής.

- L. Αποθηκεύστε όλα τα δείγματα στις καθορισμένες θερμοκρασίες. Η πραγματοποίηση της δοκιμασίας μπορεί να επηρεαστεί από τη χρήση δειγμάτων που δεν αποθηκεύτηκαν σωστά. Ανατρέξτε στην ενότητα *Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων* για συγκεκριμένες οδηγίες.
- M. Τα δείγματα ούρων μπορεί να προκαλέσουν μόλυνση. Χρησιμοποιείτε τα Παγκόσμια Μέτρα Προφύλαξης όταν πραγματοποιείτε αυτή τη δοκιμασία. Ο διευθυντής του εργαστηρίου θα πρέπει να καθορίσει τις σωστές μεθόδους χειρισμού και απόρριψης. Μόνον προσωπικό που χαρακτηρίζεται ως επαρκές για τη χρήση της Δοκιμασίας Progensa PCA3 και που έχει λάβει την κατάλληλη εκπαίδευση για τον χειρισμό μολυσματικών υλικών θα πρέπει να πραγματοποιεί αυτή τη διαδικασία.
- N. Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση κατά τη διάρκεια των βημάτων χειρισμού των δειγμάτων. Τα δείγματα ούρων μπορεί να περιέχουν υψηλά επίπεδα-στόχου RNA. Βεβαιωθείτε ότι δείγματα δεν έρχονται σε επαφή μεταξύ τους και απορρίπτετε τα χρησιμοποιημένα υλικά χωρίς να περνούν πάνω από ανοιχτά δοχεία. Αν τα γάντια έρθουν σε επαφή με δείγμα, αλλάξτε γάντια ώστε να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση.

### Σχετικά με τη Δοκιμασία

- O. Μη χρησιμοποιείτε το kit αυτό μετά την ημερομηνία λήξης.
- P. **Για το kit δοκιμασίας Progensa PCA3, μην ανταλλάσετε, μην αναμειγνύετε και μη συνδυάζετε αντιδραστήρια δοκιμασίας PCA3 από kit με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας** (δηλ. για κάθε αναλύτη, τα αντιδραστήρια δοκιμασίας που περιέχονται στο κουτί με την ένδειξη «εντός ψυγείου» και αυτά που περιέχονται στο κουτί με την ένδειξη «θερμοκρασία δωματίου» πρέπει να ανήκουν στην ίδια παρτίδα). Τα αντιδραστήρια δοκιμασίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν με kit βαθμονομητών και μαρτύρων διαφορετικής παρτίδας. Τα kit υγρών δοκιμασίας Artima είναι εναλλάξιμα. Τα kit αντιδραστηρίων PCA3 και PSA δεν χρειάζεται να αντιστοιχούν μεταξύ τους.
- Q. Αποθηκεύστε όλα τα αντιδραστήρια της δοκιμασίας στις καθορισμένες θερμοκρασίες. Η πραγματοποίηση της δοκιμασίας μπορεί να επηρεαστεί από τη χρήση αντιδραστηρίων δοκιμασίας που δεν αποθηκεύτηκαν σωστά. Ανατρέξτε στις ενότητες *Απαιτήσεις χειρισμού και αποθήκευσης* και *Σημειώσεις επί της διαδικασίας* για συγκεκριμένες οδηγίες.
- R. Για την απενεργοποίηση της δοκιμασίας (ανατρέξτε στην ενότητα *Διαδικασία δοκιμής*), η ελάχιστη συγκέντρωση του διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου θα πρέπει να είναι 2,5% (0,35 M) **μετά** από αραίωση 1:1 με ρυθμιστικό διάλυμα απενεργοποίησης. Συνεπώς, το αρχικό διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου πρέπει να είναι 5% έως 7% (0,7 M έως 1,0 M) για να επιτευχθεί η τελική συγκέντρωση που απαιτείται για την απενεργοποίηση.
- S. Πρέπει να χρησιμοποιούνται ρύγχη με υδροφοβικά έμβολα. Για αυτή τη δοκιμασία θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τουλάχιστον δύο επαναληπτικές πιπέτες: μία για χρήση στα βήματα πριν την ενίσχυση και μία για χρήση στα βήματα μετά την ενίσχυση. Μία μικροπιπέτα θα πρέπει να χρησιμοποιείται στη μεταφορά δείγματος εκτός και αν χρησιμοποιείται κάποιο όργανο TECAN Freedom EVO 100/4. Όλες οι πιπέτες πρέπει να καθαρίζονται τακτικά, όπως περιγράφεται στην ενότητα *Σημειώσεις επί της διαδικασίας*.

- T. Όταν χρησιμοποιείτε επαναληπτικές πιπέτες για την προσθήκη αντιδραστηρίου, μην αγγίζετε το σωληνάριο αντίδρασης με το ρύγχος της πιπέτας για να μην γίνει μεταφορά από το ένα σωληνάριο στο άλλο.
- U. Είναι απαραίτητη η κατάλληλη ανάμειξη για να επιτευχθούν ακριβή αποτελέσματα δοκιμασίας. Για όλες τις λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην ενότητα *Σημειώσεις επί της διαδικασίας*.
- V. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ξεχωριστά υδατόλουτρα, για τα βήματα της δοκιμασίας πριν την ενίσχυση, ενίσχυση και μετά την ενίσχυση.
- W. Ορισμένα αντιδραστήρια αυτού του κιτ φέρουν τα σύμβολα κινδύνου και ασφάλειας σύμφωνα με Ευρωπαϊκή Οδηγία 1999/45/ΕΟΚ και θα πρέπει να χειρίζονται αναλόγως. Μπορείτε να δείτε τα Φύλλα Δεδομένων Ασφάλειας Υλικού στη σελίδα [www.hologic.com](http://www.hologic.com) και διατίθενται κατόπιν αιτήσεως.

## Απαιτήσεις χειρισμού και αποθήκευσης

A. Συμβουλευτείτε το Πίνακα 1 για πληροφορίες σχετικά με την αποθήκευση του αντιδραστηρίου.

Πίνακας 1: Αποθήκευση αντιδραστηρίου

Αντιδραστήριο/Υγρό	Αποθήκευση χωρίς να ανοιχτούν	Ανοιχτά/ανασυσταθέντα Σταθερότητα (μέχρι και την ημερομηνία λήξης)
Αντιδραστήρια Ενίσχυσης	2 °C έως 8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 2 °C έως 8 °C*
Αντιδραστήρια ανιχνευτών	2 °C έως 8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 2 °C έως 8 °C*
Αντιδραστήριο ενζύμου	2 °C έως 8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 2 °C έως 8 °C*
Αντιδραστήρια του Target Capture	15 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 15 °C έως 30 °C
Διάλυμα ανασύστασης ενίσχυσης	2 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	Δεν υφίσταται (μία χρήση)
Διάλυμα ανασύστασης ανιχνευτή	2 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	Δεν υφίσταται (μία χρήση)
Διάλυμα ανασύστασης ενζύμου	2 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	Δεν υφίσταται (μία χρήση)
Αντιδραστήριο επιλογής	2 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 15 °C έως 30 °C
Βαθμονομητές	2 °C έως 8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	Δεν υφίσταται (μία εκτέλεση)
Μάρτυρες	2 °C έως 8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	Δεν υφίσταται (μία εκτέλεση)
Αντιδραστήριο λαδιού	15 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 15 °C έως 30 °C
Διάλυμα Πλύσης	15 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	30 ημέρες σε 15 °C έως 30 °C
Ρυθμιστικό διάλυμα για το υγρό ενεργοποίησης	15 °C έως 30 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης	28 ημέρες σε 15 °C έως 30 °C

\* Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για άλλες εκτελέσεις της δοκιμασίας μέχρι και 4 φορές, υπό την προϋπόθεση ότι ο συνολικός χρόνος σε θερμοκρασία δωματίου δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες.

B. **Μην αποθηκεύετε το αντιδραστήριο Target Capture σε θερμοκρασίες κάτω των 15 °C.**

C. Το αντιδραστήριο ανιχνευτή και το ανασυσταθέν αντιδραστήριο ανιχνευτή είναι φωτοευαίσθητα. Προστατεύετε αυτά τα αντιδραστήρια από εκτεταμένη έκθεση στο φως κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της προετοιμασίας για χρήση.

D. **Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια.**

E. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια ή τα υγρά μετά την ημερομηνία λήξης.

F. Οι Βαθμονομητές και Μάρτυρες του Progensa PCA3 και PSA είναι φιαλίδια μίας εκτέλεσης και πρέπει να απορρίπτονται μετά τη χρήση τους.

G. Οι αλλαγές στην εμφάνιση του αντιδραστηρίου που περιλαμβάνεται στη συσκευασία μπορεί να υποδεικνύουν αστάθεια ή καταστροφή των υλικών αυτών. Εάν παρατηρηθούν αλλαγές στην εμφάνιση των αντιδραστηρίων μετά την επαναιώρησή τους (π.χ. εμφανείς αλλαγές στο χρώμα του αντιδραστηρίου ή θόλωμα που υποδεικνύει μόλυνση από μικρόβια), επικοινωνήστε με τη Τεχνική Υποστήριξη της Hologic πριν τα χρησιμοποιήσετε.

H. Πετάξτε το ανασυνδυασμένο αντιδραστήριο μετά από 30 ημέρες ή κατά την ημερομηνία λήξης του, όποιο επέλθει πρώτο.

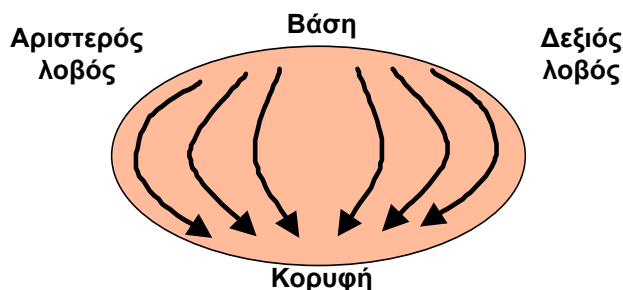
- I. Υπολειπόμενα ανοιγμένα ή ανασυσταθέντα αντιδραστήρια μπορεί να χρησιμοποιηθούν σε επακόλουθες δοκιμασίες, εάν αποθηκευτούν σωστά μετά την αρχική χρήση. Το υπολειπόμενο αντιδραστήριο μπορεί να συνδυαστεί σε μία δεξαμενή με αντιδραστήριο που προετοιμάστηκε πρόσφατα ή κάποιο άλλο υπολειπόμενο αντιδραστήριο της ίδιας παρτίδας. **Μην ανταλλάσσετε, αναμειγνύετε ή συνδυάζετε αντιδραστήρια από κιτ με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας** (βλ. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις). Κανένα συστατικό του αντιδραστηρίου που συνδυάστηκε σε δεξαμενή δεν μπορεί να υπερβαίνει τα όρια αποθήκευσης ανοιγμένου ή ανασυσταθέντος αντιδραστηρίου. Βεβαιωθείτε ότι το αντιδραστήριο που συνδυάστηκε σε μία δεξαμενή έχει αναμειχθεί πολύ και ότι έχει προετοιμαστεί επαρκής όγκος για να προσφέρεται αρκετό αντιδραστήριο για ολόκληρη την εκτέλεση της δοκιμασίας.

## Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων

Η Δοκιμασία Progensa PCA3 έχει σχεδιαστεί για την ποσοτικοποίηση του RNA των PCA3 και PSA για τα πρώτα ούρα μετά από μία DRE που αποτελείται από τρεις ψηλαφήσεις ανά λοβό. Τα ούρα υφίστανται επεξεργασία χρησιμοποιώντας το κιτ μεταφοράς δείγματος ούρων Progensa PCA3. Η σταθερότητα του RNA των PCA3 και PSA στα ούρα και τα επεξεργασμένα ούρα καθορίζεται από την παρακολούθηση των επιπέδων αντιγραφής RNA στα δείγματα ούρων που συλλέγονται σύμφωνα με τις παρακάτω οδηγίες.

A. Οδηγίες για τη συλλογή και την επεξεργασία του δείγματος ούρων:

1. Ίσως βοηθήσει να ζητήσετε από τον ασθενή να καταναλώσει μεγάλη ποσότητα νερού (περίπου 500 mL) ώστε να διασφαλίσετε επαρκή ούρα προς συλλογή.
2. Διεξάγετε DRE όπως περιγράφεται παρακάτω αμέσως πριν τη συλλογή των ούρων:  
Εφαρμόστε πίεση στον προστάτη, αρκετή ώστε να υποχωρήσει η επιφάνεια περίπου 1 cm, από τη βάση έως την κορυφή και από την πλευρική έως μέση γραμμή για κάθε λοβό, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1. Εκτελέστε ακριβώς τρεις ψηλαφήσεις για κάθε λοβό. Δεν πρόκειται για μάζαξη του προστάτη.



**Εικόνα 1. Σωστή Κατεύθυνση της Εφαρμοσμένης Πίεσης στον Προστάτη**

3. Μετά τη DRE, δώστε οδηγίες στον ασθενή να συλλέξει την πρώτη λήψη ούρων (περίπου 20 ως 30 mL της αρχικής ροής των ούρων) σε κατάλληλα σεσημασμένο ουροσυλλέκτη. Αυτό πρέπει να είναι το δείγμα της πρώτης κένωσης ούρων μετά τη DRE. Χρησιμοποιήστε ουροσυλλέκτη χωρίς συντηρητικά. Αν ο ασθενής δεν μπορεί να σταματήσει τη ροή των ούρων και παράσχει περισσότερα ούρα από τα απαιτούμενα πρώτα 20 ως 30 mL, κρατήστε όλη την ποσότητα. Αν ο ασθενής δεν μπορεί να παράσχει την επιθυμητή ποσότητα ούρων, απαιτούνται τουλάχιστον 2,5 mL για την εκτέλεση της Δοκιμασίας Progensa PCA3. Διαφορετικά, το δείγμα πρέπει να απορριφθεί.

**Σημείωση:** Οι πολύ υψηλοί όγκοι ούρων μπορούν να μειώσουν τις συγκεντρώσεις αναλύτων PCA3 και PSA, ενώ ενδέχεται να δημιουργήσουν σπάνια ένα άκυρο δείγμα. Συνεπώς, ο ασθενής θα πρέπει να προσπαθεί να αποφεύγει την υπερβολική πλήρωση του ουροσυλλέκτη.

4. Τα μη επεξεργασμένα δείγματα ούρων, αν δεν γίνει αμέσως η επεξεργασία τους, πρέπει να διατηρηθούν στους 2 °C ως 8 °C ή σε πάγο. Το ψυχρό, μη επεξεργασμένο δείγμα ούρων πρέπει να μεταφερθεί στο σωληνάριο μεταφοράς δείγματος ούρων εντός 4 ωρών από τη συλλογή. Σε διαφορετική περίπτωση, το δείγμα πρέπει να απορρίπτεται και να συλλέγεται νέο δείγμα. Μην παγώνετε τα μη επεξεργασμένα δείγματα ούρων.
5. Για να επεξεργαστείτε τα δείγματα ούρων, πωματίστε σφικτά και αναστρέψτε τα δείγματα ούρων 5 φορές για να επαναιωρήσετε τα κύτταρα. Αφαιρέστε το πώμα του

σωληναρίου μεταφοράς δείγματος ούρων και μεταφέρετε 2,5 mL των συλλεγμένων ούρων στο σωληνάριο χρησιμοποιώντας την πιπέτα μεταφοράς μίας χρήσης που παρέχεται. Έχει προστεθεί ο σωστός όγκος ούρων όταν το επίπεδο του υγρού βρίσκεται μεταξύ των μαύρων γραμμών πλήρωσης της ετικέτας του σωληναρίου μεταφοράς δείγματος ούρων.

6. Τοποθετήστε και πάλι σφικτά το πώμα του σωληναρίου μεταφοράς δείγματος ούρων και αναστρέψτε το δείγμα ούρων 5 φορές ώστε να αναμιχθεί. Τώρα αυτό αποτελεί το επεξεργασμένο δείγμα ούρων.

#### B. Μεταφορά και αποθήκευση δειγμάτων πριν τη δοκιμή:

1. Τα επεξεργασμένα δείγματα ούρων πρέπει να μεταφέρονται στο εργαστήριο στο σωληνάριο μεταφοράς δειγμάτων ούρων. Ενδέχεται να αποσταλούν υπό συνθήκες περιβάλλοντος (χωρίς έλεγχο θερμοκρασίας) ή κατεψυγμένα. Πρέπει να διευθετηθεί η αποστολή ώστε να διασφαλιστεί ότι η παραλαβή των δειγμάτων από το χώρο ελέγχου γίνεται εντός 5 ημερών από τη συλλογή.

Κατά την παραλαβή της αποστολής, το εργαστήριο θα πρέπει να επιβεβαιώνει την ημερομηνία συλλογής του δείγματος στο σωληνάριο. Εάν τα δείγματα αποστάλθηκαν υπό συνθήκες περιβάλλοντος και παραλαμβάνονται περισσότερες από 5 ημέρες μετά από τη συλλογή των δειγμάτων, το δείγμα πρέπει να απορρίπτεται και θα πρέπει να γίνεται αίτηση για νέο δείγμα. Το εργαστήριο μπορεί να αποθηκεύσει τα δείγματα στους 2 °C ως 8 °C για έως και 14 ημέρες πριν χρειαστεί να απορριφθούν. Εάν χρειάζονται μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, ανατρέξτε Πίνακας 2 για τους επιτρεπόμενους χρόνους φύλαξης σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

*Πίνακας 2: Χρόνοι αποθήκευσης επεξεργασμένων δειγμάτων ούρων*

Θερμοκρασία αποθήκευσης	Χρόνος
Αποθήκευση και αποστολή επεξεργασμένου δείγματος:	Έως 5 ημέρες*
Μετά την παραλαβή στο χώρο ελέγχου:	
2 °C ως 8 °C	Έως 14 ημέρες
-35 °C έως -15 °C	Έως 11 μήνες**
Στους -65 °C ή χαμηλότερα	Έως 36 μήνες**

\*Χρόνος που επιτρέπεται για αποστολή υπό συνθήκες περιβάλλοντος ή υπό συνθήκες κατάψυξης.

\*\* Χρόνος που επιτρέπεται μετά την αποθήκευση στο ψυγείο.

2. Τα επεξεργασμένα δείγματα ούρων μπορεί να υποβληθούν έως και σε 5 κύκλους ψύξης-απόψυξης.

#### C. Αποθήκευση δείγματος μετά από τη δοκιμή:

1. Δείγματα τα οποία έχουν υποστεί δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται κάθετα σε ένα στατήρα.
2. Τα σωληνάκια μεταφοράς δειγμάτων ούρων, εάν δεν επανέλθει το ενιαίο πώμα τους, θα πρέπει να καλυφθούν με ένα καθαρό πλαστικό ή αλουμινένιο προστατευτικό.
3. Εάν τα δείγματα που έχουν υποστεί δοκιμασία πρέπει να καταψυχθούν ή να αποσταλούν, αφαιρέστε το εισερχόμενο πώμα και τοποθετήστε νέα μη εισερχόμενα πώματα στα σωληνάκια μεταφοράς δειγμάτων ούρων. Εάν τα δείγματα πρέπει να αποσταλούν για δοκιμή σε κάποια άλλη εγκατάσταση πρέπει να διατηρούνται οι συνιστώμενες θερμοκρασίες. **Αποφύγετε τις πιπιλιές και τη διασταυρούμενη μόλυνση.**

**Σημείωση:** Τα δείγματα πρέπει να αποστέλλονται σύμφωνα με τους ισχύοντες εθνικούς και διεθνείς κανονισμούς μεταφορών.



## Διαδικασία δοκιμής

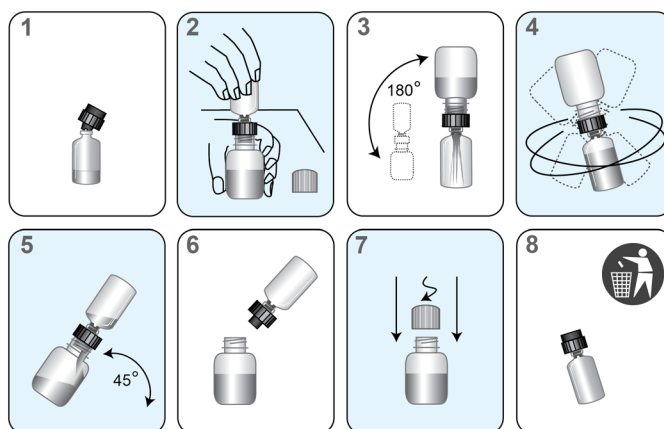
### A. Προετοιμασία χώρου εργασίας

1. Ρυθμίστε ένα υδατόλουτρο στους  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για πριν την ενίσχυση, ένα δεύτερο υδατόλουτρο  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για την ενίσχυση και ένα τρίτο υδατόλουτρο  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για μετά την ενίσχυση. Βεβαιωθείτε ότι τα υδατόλουτρα περιέχουν επαρκή ποσότητα νερού (ανατρέξτε στην ενότητα *Σημειώσεις επί της διαδικασίας*). Αν χρησιμοποιείτε το λουτρό ξηρής θερμότητας/συσκευή ανάδευσης τύπου vortex SB100, ανατρέξτε στο *Φύλλο εφαρμογής λουτρού ξηρής θερμότητας/συσκευής ανάδευσης τύπου vortex SB100 για τη δοκιμασία Progensa PCA3 (φύλλο εφαρμογής SB100)*.
2. Πριν ξεκινήσετε τη δοκιμασία, σκουπίστε τις επιφάνειες εργασίας και τις πιπέτες με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M). Αφήστε το διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου να έρθει σε επαφή με τις επιφάνειες και τις πιπέτες για τουλάχιστον 1 λεπτό, και έπειτα ξεπλύνετε με νερό. Μην αφήσετε το διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου να στεγνώσει. Καλύψτε την επιφάνεια του πάγκου στην οποία θα πραγματοποιηθεί η αντίδραση με καθαρά απορροφητικά καλύμματα πάγκου εργαστηρίου με πλαστική επικάλυψη.
3. Τοποθετήστε ικανό αριθμό από κασέτες δέκα ρυγχών στο σύστημα Target Capture (TCS). Βεβαιωθείτε ότι η φιάλη πλύσης TCS είναι γεμάτη με Διάλυμα Πλύσης και ότι η συσκευή αναρρόφησης είναι συνδεδεμένη με μία αντλία εν κενώ. (Ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο Χειριστή Συστήματος Target Capture*.)

### B. Ανασύσταση και προετοιμασία αντιδραστήριου

Η ανασύσταση του αντιδραστήριου θα πρέπει να πραγματοποιείται πριν ξεκινήσει η μεταφορά του δείγματος.

1. Για να ανασυσταθούν τα αντιδραστήρια ενίσχυσης, ενζύμων και ανιχνευτών, συνδυάστε τις φιάλες λυοφιλιμένου αντιδραστήριου με το διάλυμα ανασύστασης. Εάν καταψυχθεί, αφήστε τα διαλύματα ανασύστασης να φτάσουν τη θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.



**Εικόνα 2. Διαδικασία ανασύστασης**

- a. Αντιστοιχίστε το κατάλληλο διάλυμα ανασύστασης με το αποξηραμένο αντιδραστήριό του. Επιβεβαιώστε ότι τα φιαλίδια έχουν αντίστοιχα χρώματα σήμανσης για να εξασφαλίσετε ότι έχουν αντιστοιχιστεί σωστά.

- b. Ανοίξτε το φιαλίδιο με το αποξηραμένο αντιδραστήριο και εισάγετε σταθερά το άκρο με την εγκοπή του κολάρου ανασύστασης στο στόμιο του φιαλιδίου (Εικόνα 2, Βήμα 1).
  - c. Ανοίξτε το αντίστοιχο διάλυμα ανασύστασης και τοποθετήστε το πώμα σε μία καθαρή, καλυμμένη επιφάνεια εργασίας. Κρατώντας τη φιάλη του διαλύματος στον πάγκο, εισάγετε σταθερά το άλλο άκρο του κολάρου ανασύστασης στο στόμιο της φιάλης (Εικόνα 2, Βήμα 2).
  - d. Αναστρέψτε αργά τις συγκεντρωμένες φιάλες. Αφήστε το διάλυμα να αποστραγγιστεί από τη φιάλη στο γυάλινο φιαλίδιο (Εικόνα 2, Βήμα 3). Περιμένετε να μπει το λυοφιλιμένο αντιδραστήριο στο διάλυμα, κατόπιν περιστρέψτε απαλά το διάλυμα στο γυάλινο φιαλίδιο για να αναμιχθεί. Αποφύγετε τη δημιουργία αφρού κατά την περιστροφή της φιάλης (Εικόνα 2, Βήμα 4).
  - e. Αναστρέψτε τη διάταξη και δώστε κλίση σε γωνία 45° για να ελαχιστοποιηθεί η δημιουργία αφρού (Εικόνα 2, Βήμα 5). Αφήστε όλο το υγρό να αποστραγγιστεί στην πλαστική φιάλη.
  - f. Αφαιρέστε το κολάρο ανασύστασης και το γυάλινο φιαλίδιο (Εικόνα 2, Βήμα 6).
  - g. Επαναπωματίστε την πλαστική φιάλη (Εικόνα 2, βήμα 7). Καταγράψτε τα αρχικά του χειριστή και την ημερομηνία ανασύστασης σε όλα τα φιαλίδια ανασυσταθέντος αντιδραστήριου. Βεβαιωθείτε ότι έχετε καταγράψει τον αναλύτη (PCA3 ή PSA) στα φιαλίδια του αντιδραστήριου ανιχνευτή.
  - h. Αφαιρέστε το κολάρο ανασύστασης και το γυάλινο φιαλίδιο (Εικόνα 2, Βήμα 8).
2. Αντιδραστήρια ανιχνευτή, ενίσχυσης και ενζύμου που ανασυστάθηκαν προηγουμένως πρέπει να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (15 °C μέχρι 30 °C) πριν την έναρξη της δοκιμασίας. Ανατρέξτε στην ενότητα *Απαιτήσεις χειρισμού και αποθήκευσης* εάν έχουν συσσωρευτεί υπολειπόμενα αντιδραστήρια. Εάν το ανασυσταθέν αντιδραστήριο ενίσχυσης περιέχει ίζημα που δεν επιστρέφει το διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου, θερμάνετε στους 62 °C ± 1 °C για 1 με 2 λεπτά στην περιοχή πριν την ενίσχυση. Εάν το ανασυσταθέν αντιδραστήριο ανιχνευτή περιέχει ίζημα που δεν επιστρέφει το διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου, θερμάνετε στους 62 °C ± 1 °C για 1 με 2 λεπτά στην περιοχή μετά την ενίσχυση. Μετά από αυτά τα βήματα θέρμανσης τα ανασυσταθέντα αντιδραστήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμη και αν παραμένουν τα ιζήματα στο υπόλειμμα. Μετά από την επαναιώρηση, αναμίξτε τα φιαλίδια με ήπια αναστροφή.

### C. Εγκατάσταση Στατήρα

Η επαναληπτική πιπέτα που χρησιμοποιείται στη σύλληψη στόχου, τη μεταφορά δείγματος και την ενίσχυση θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον σε αυτά τα βήματα (βλ. *Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις*).

1. Εγκαταστήστε έναν στατήρα για τον αναλύτη PCA3 και έναν άλλο στατήρα για τον αναλύτη PSA.

**Σημείωση:** Εάν ο αριθμός των δειγμάτων είναι αρκετά χαμηλός, και οι δύο αναλύτες μπορεί να δοκιμαστούν σε ένα μόνον στατήρα. Εάν χρησιμοποιείτε το όργανο *TECAN Freedom EVO 100/4*, θα πρέπει να διατηρούνται ξεχωριστοί στατήρες για κάθε αναλύτη. Δεν μπορούν να δοκιμαστούν συγχρόνως περισσότεροι από δύο γεμάτοι στατήρες (20 TTU).

2. Στους στατήρες της μονάδας δέκα σωληναρίων (TTU), τοποθετήστε αρκετές TTU για να χωρέσουν τους βαθμονομητές, τους μάρτυρες και τα δείγματα για κάθε αναλύτη.

3. Ονομάστε τις TTU με τις ταυτότητες του δείγματος. Πίνακας 3 Στην ενότητα περιγράφεται η προσθήκη βαθμονομητών, μαρτύρων και δειγμάτων. Ξεκινήστε τους βαθμονομητές PSA σε μία νέα TTU.

**Σημείωση:** Οι βαθμονομητές πρόκειται να εκτελεστούν σε τρία επαναληπτικά και οι μάρτυρες σε δύο επαναληπτικά ο καθένας και πρέπει να εκτελεστούν στον ίδιο στατήρα με τα δείγματα. Τα δείγματα θα πρέπει να εκτελεστούν εις διπλούν. Μην αφήνετε κενά σωληνάρια αντίδρασης ανάμεσα στους βαθμονομητές, τους μάρτυρες και τα δείγματα. Εάν χρησιμοποιείτε το όργανο *TECAN Freedom EVO 100/4*, Ανατρέξτε στο Φύλλο Εφαρμογής του *TECAN Freedom EVO 100/4* για τη Δοκιμασία *Progensa PCA3* (φύλλο εφαρμογής *TECAN Freedom EVO*) για περαιτέρω οδηγίες.

Πίνακας 3: Παράδειγμα Εγκατάστασης Στατήρα

Στατήρας Θέση	Δείγμα Περιγραφή	*Συγκέντρωση PCA3 στόχος (αντίγραφα/mL)	*Συγκέντρωση PSA στόχος (αντίγραφα/mL)
1 μέχρι 3	Βαθμονομητής 1	0	0
4 μέχρι 6	Βαθμονομητής 2	250	7.500
7 μέχρι 9	Βαθμονομητής 3	2.500	75.000
10 μέχρι 12	Βαθμονομητής 4	25.000	750.000
13 μέχρι 15	Βαθμονομητής 5	125.000	3.000.000
16 μέχρι 17	Μάρτυρας A	1.250	37.500
18 μέχρι 19	Μάρτυρας B	62.500	1.500.000
20 μέχρι n	Δείγμα	άγνωστη	άγνωστη

\*Δίνεται τιμή στους θετικούς βαθμονομητές και μάρτυρες των PCA3 και PSA, ούτως ώστε οι πραγματικές τιμές αντιγράφων/mL για τους βαθμονομητές 2 έως 5 και τους μάρτυρες A και B να είναι ελαφρώς διαφορετικές από τις συγκεντρώσεις-στόχους που αναφέρονται στον πίνακα και θα διαφέρουν από παρτίδα σε παρτίδα. Οι πληροφορίες συγκέντρωσης παρέχονται σε μία κάρτα στις συσκευασίες των φιαλιδίων βαθμονομητή και μάρτυρα και χρησιμοποιούνται για τη βαθμονόμηση και για τον καθορισμό μίας εκτέλεσης ως έγκυρη.

D. Επιβεβαίωση Πληροφοριών Συγκέντρωσης

Επιβεβαιώστε με τον διαχειριστή του συστήματος Λογισμικού της Δοκιμασίας *Progensa PCA3* ότι έχουν εισαχθεί οι πληροφορίες για τις παρτίδες των ελεγμένων Κιτ Βαθμονομητών και Μαρτύρων των *Progensa PCA3* και *PSA*. Για περαιτέρω πληροφορίες, ανατρέξτε στον *Οδηγό Γρήγορης Αναφοράς για τη Δοκιμασία Progensa PCA3* (*Οδηγός Γρήγορης Αναφοράς*) ή στο *Εγχειρίδιο διαχειριστή συστήματος λογισμικού Δοκιμασίας Progensa PCA3*.

**Σημείωση:** Οι πληροφορίες συγκέντρωσης πρέπει να εισάγονται **πριν την πρώτη χρήση** κάθε νέας παρτίδας κιτ βαθμονομητών και μαρτύρων. Οι επακόλουθες εκτελέσεις που χρησιμοποιούν βαθμονομητές και μάρτυρες από την ίδια παρτίδα του κιτ δεν χρειάζονται περαιτέρω ενέργεια.

E. Εγκατάσταση Worklist Editor

Παράγετε μία λίστα εργασίας εκτέλεσης της δοκιμασίας χρησιμοποιώντας το *Hologic Worklist Editor* σε έναν υπολογιστή που βρίσκεται στην περιοχή πριν την ενίσχυση. Για χρήση του *Worklist Editor*, ανατρέξτε στον *Οδηγό γρήγορης αναφοράς* ή το *Εγχειρίδιο Χειριστή για το Worklist Editor* της *Hologic*. Εάν χρησιμοποιείτε το όργανο *TECAN Freedom EVO 100/4*, ανατρέξτε επίσης στο *φύλλο εφαρμογής του TECAN Freedom EVO* για περαιτέρω οδηγίες.

## F. Παρασκευάσμα δείγματος

1. Αφήστε τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την εξέταση. Αναμίξτε τα φιαλίδια με ήπια αναστροφή.
2. Αφήστε τα δείγματα να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την εξέταση. **Μην στροβιλίζετε τα δείγματα.** Τα δείγματα πρέπει να αναμιγνύονται με περιστασιακή, ήπια αναστροφή κατά τη διάρκεια της περιόδου θέρμανσης. Βλέπε *Σημειώσεις επί της διαδικασίας* για πληροφορίες σχετικά με ίζημα που δεν εισέρχεται στο διάλυμα και το χειρισμό κατεψυγμένων δειγμάτων.

## G. Πριν την ενίσχυση

Το περιβάλλον πριν την ενίσχυση πρέπει να είναι στους 15 °C με 30 °C. Εκτελέστε και τους δύο στατήρες εν παραλλήλω. Εάν χρησιμοποιείτε το λουτρό ξηρής θερμότητας/ συσκευή ανάδευσης τύπου vortex SB100, ανατρέξτε στο *φύλλο εφαρμογής SB100*. Εάν χρησιμοποιείτε το όργανο TECAN Freedom EVO 100/4, ανατρέξτε στο *φύλλο εφαρμογής του TECAN Freedom EVO* για περαιτέρω οδηγίες.

1. Αναμείξτε καλά περιστρέφοντας ή ανατρέποντας το Αντιδραστήριο Target Capture (TCR). Χρησιμοποιώντας την επαναληπτική πιπέτα, προσθέστε 100 μL της TCR στα συγκεκριμένα αντιδραστήρια για τον αναλύτη στο κατάλληλο σωληνάριο αντίδρασης.
2. Τρυπήστε το πώμα του φιαλιδίου του Βαθμονομητή με τη μικροπιπέτα και προσθέστε 400 μL του βαθμονομητή στο σωληνάριο αντίδρασης που φέρει την κατάλληλη ετικέτα. Χρησιμοποιώντας το ίδιο ρύγχος πιπέτας, αποσύρετε τις προσθήκες επαναληπτικού από το φιαλίδιο διαμέσου του τρυπημένου πώματος. Χρησιμοποιήστε νέα ρύγχη πιπέτας για κάθε φιαλίδιο βαθμονομητή. Επαναλάβετε για την προσθήκη μαρτύρων και δειγμάτων. Καλύψτε και φυλάξτε τυχόν υπολειπόμενο δείγμα και αποθηκεύστε στους 8 °C ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία (ανατρέξτε στην ενότητα *Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων* για περισσότερες πληροφορίες) σε περίπτωση που η επανάληψη της εξέτασης είναι απαραίτητη.
3. Καλύψτε τις TTU με την (τις) κάρτα(ες) σφραγίσματος και ανακινήστε τον στατήρα απαλά με το χέρι. **Μην στροβιλίζετε.** Επωάστε τον στατήρα στους 62 °C ± 1 °C σε υδατόλουτρο για 30 ± 5 λεπτά.
4. Αφαιρέστε τον στατήρα από το υδατόλουτρο και σκουπίστε τους πάτους των σωληναρίων με ένα απορροφητικό υλικό.
5. Βεβαιωθείτε ότι οι κάρτες σφραγίσματος είναι στερεωμένες καλά. Εάν χρειαστεί, αντικαταστήστε με νέες κάρτες σφραγίσματος και σφραγίστε σφικτά τις TTU.
6. Στροβιλίστε τον στατήρα για 60 δευτερόλεπτα στον αναδευτήρα πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex (ανατρέξτε στην ενότητα *Σημειώσεις επί της διαδικασίας*). Αρχίστε τον στροβιλισμό μέσα σε 2 λεπτά από την αφαίρεση του στατήρα από το υδατόλουτρο.
7. Χωρίς να αφαιρέσετε τις κάρτες σφραγίσματος, επωάστε τον στατήρα σε θερμοκρασία δωματίου για 30 ± 5 λεπτά.
8. Τοποθετήστε τον στατήρα με την καρτέλα Μπροστά στη μαγνητική βάση του TCS για 5 ως 10 λεπτά. Φορτώστε τον στατήρα TTC με τις TTC.
9. Πληρώστε τις γραμμές της αντλίας του σταθμού διανομής αντλώντας Διάλυμα Πλύσης μέσω της πολλαπλής διανομής. Αντλήστε αρκετό υγρό μέσω του συστήματος ούτως ώστε να μην υπάρχουν φυσαλίδες αέρα στη γραμμή και τα δέκα ακροφύσια προσφέρουν σταθερή ροή του υγρού.
10. Ενεργοποιήστε την αντλία κενού και αποσυνδέστε την πολλαπλή αναρρόφησης στον πρώτο σύνδεσμο μεταξύ της πολλαπλής αναρρόφησης και της φιάλης διαχωρισμού.

Βεβαιωθείτε ότι ο μετρητής κενού πληροί τις προδιαγραφές της δοκιμής διαρροής. Μπορεί να χρειαστούν 15 δευτερόλεπτα ώστε να επιτευχθεί αυτή η μέτρηση. Επανασυνδέστε την πολλαπλή και διασφαλίστε ότι ο μετρητής κενού πληροί τις προδιαγραφές στάθμης κενού. Αφήστε ενεργοποιημένη την αντλία κενού μέχρι να ολοκληρωθούν όλα τα βήματα σύλληψης στόχου και να στεγνώσουν εντελώς οι σωληνώσεις πολλαπλής αναρρόφησης.

Ανατρέξτε στο Φύλλο Προδιαγραφών της Αντλίας εν Κενώ του Συστήματος Target Capture που βρίσκεται στο πίσω μέρος του *Εγχειριδίου Χειριστή του Συστήματος Target Capture* ή επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Hologic για περαιτέρω πληροφορίες.

11. Συνδέστε σταθερά την πολλαπλή αναρρόφησης στο πρώτο σετ ρυγχών. Χαμηλώστε τα ρύγχη μέσα στην πρώτη TTU μέχρι να ακουμπήσουν τα ρύγχη την επιφάνεια του υγρού. Διατηρήστε την επαφή των ρυγχών με την επιφάνεια του υγρού καθώς τα ρύγχη μετακινούνται προς τα κάτω έως ότου ακουμπήσουν για λίγο τον πυθμένα των σωληναρίων. Χτυπήστε ελαφρά τα ρύγχη στον πυθμένα των σωληναρίων μέχρι να απομακρυνθεί όλο το υπολειπόμενο υγρό. Μην κρατήσετε τα ρύγχη σε παρατεταμένη επαφή με τον πυθμένα των σωληναρίων και μην τα χτυπήσετε γρήγορα γιατί μπορεί να δημιουργηθεί υπερβολικός αφρός στην παγίδα κενού.
12. Αφού ολοκληρωθεί η αναρρόφηση, εξάγετε τα ρύγχη στην αρχική τους κασέτα ρυγχών. Επαναλάβετε τα βήματα της αναρρόφησης για τις υπολειπόμενες TTU, χρησιμοποιώντας έναν ρύγχο αποκλειστικά για κάθε σωληνάριο αντίδρασης.
13. Τοποθετήστε την πολλαπλή διανομής επάνω από κάθε TTU και χρησιμοποιώντας την αντλία του σταθμού διανομής μεταφέρετε Διάλυμα Πλύσης 1,0 mL σε κάθε σωληνάριο της TTU.
14. Καλύψτε τα σωληνάρια με μία κάρτα σφραγίσματος και αφαιρέστε τον στατήρα από το TCS. Στροβιλίστε μία φορά στον αναδευτήρα πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex. Ανατρέξτε στην ενότητα *Σημειώσεις επί της διαδικασίας* για περισσότερες πληροφορίες.
15. Τοποθετήστε τον στατήρα στη μαγνητική βάση του (TCS) για 5 ως 10 λεπτά.
16. Αναρροφήστε όλα τα υγρά όπως στα Βήματα 11 και 12.
17. Μετά από την τελική αναρρόφηση, αφαιρέστε τον στατήρα από τη βάση TCS και επιθεωρήστε οπτικά τα σωληνάρια για να βεβαιωθείτε ότι έχει αναρροφηθεί όλο το υγρό και όλα τα σωληνάρια περιέχουν μαγνητικά σωματίδια. Εάν δείτε υγρό, τοποθετήστε τον στατήρα ξανά στη βάση TCS για 2 λεπτά και επαναλάβετε την αναρρόφηση για αυτή τη TTU χρησιμοποιώντας τα ίδια ρύγχη που χρησιμοποιούνταν πριν για κάθε σωληνάριο αντίδρασης. Εάν δείτε ΚΑΠΟΙΟ μαγνητικό σωματίδιο αφού ολοκληρωθεί η αναρρόφηση, μπορεί να γίνει δεκτό το σωληνάριο. Εάν δεν δείτε καθόλου σωματίδια, το δείγμα θα πρέπει να υποστεί ξανά δοκιμή. Εάν το ίδιο το δείγμα δεν περιέχει μαγνητικά σωματίδια σε αυτό το βήμα σε επόμενη εκτέλεση, μπορεί να αποτελεί ένδειξη ενός προβλήματος σχετικού με το δείγμα. Συνιστάται η επανάληψη της συλλογής του δείγματος ούρων σε αυτή την κατάσταση.

#### H. Ενίσχυση

**Σημείωση:** Η προσθήκη ενζύμου σε έναν στατήρα αντίδρασης (Βήματα 6 και 7 παρακάτω) πρέπει να πραγματοποιηθεί σε 90 δευτερόλεπτα ή λιγότερο.

Πραγματοποιήστε τα Βήματα 6 και 7 στον ένα στατήρα πριν τα επαναλάβετε στο δεύτερο στατήρα. Εάν χρησιμοποιείτε το λουτρό ξηρής θερμότητας/συσκευή ανάδευσης τύπου vortex SB100, ανατρέξτε στο *φύλλο εφαρμογής SB100*. Εάν χρησιμοποιείτε το όργανο

TECAN Freedom EVO 100/4, ανατρέξτε στο φύλλο εφαρμογής του *TECAN Freedom EVO* για περαιτέρω οδηγίες.

1. Χρησιμοποιώντας την επαναληπτική πιπέτα, προσθέστε 75 μL του ανασυσταθέντος αντιδραστήριου ενίσχυσης συγκεκριμένου αναλύτη σε κάθε σωληνάριο αντίδρασης. Όλα τα μείγματα αντίδρασης στον στατήρα θα πρέπει τώρα να είναι κόκκινα.
2. Χρησιμοποιώντας επαναληπτικές πιπέτες, προσθέστε 200 μL Αντιδραστήριου Λαδιού.
3. Καλύψτε τα σωληνάκια με μία κάρτα σφραγίσματος και στροβιλίστε στον αναδευτήρα πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex.
4. Επωάστε τον στατήρα στο υδατόλουτρο πριν την ενίσχυση στους  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για  $10 \pm 5$  λεπτά.
5. Μεταφέρετε τον στατήρα σε υδατόλουτρο στους  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για  $5 \pm 2$  λεπτά.
6. Με τον στατήρα στο υδατόλουτρο, αφαιρέστε προσεκτικά την κάρτα σφραγίσματος και χρησιμοποιώντας την επαναληπτική πιπέτα, προσθέστε 25 μL από το ανασυσταθέν αντιδραστήριο ενζύμου των μειγμάτων αντίδρασης. Όλες οι αντιδράσεις θα πρέπει να είναι τώρα πορτοκαλί.
7. Καλύψτε αμέσως τα σωληνάκια με μία καινούργια κάρτα σφραγίσματος, αφαιρέστε τη από το υδατόλουτρο και αναμείξτε γρήγορα τις αντιδράσεις κουνώντας απαλά τον στατήρα με το χέρι.

**Σημείωση:** Ελαχιστοποιήστε τον χρόνο που ο στατήρας είναι έξω από το υδατόλουτρο για να μην κρυώσουν τα σωληνάκια.

8. Επωάστε τον στατήρα στους  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για  $60 \pm 5$  λεπτά.

#### I. Μετά την ενίσχυση

Η επαναληπτική πιπέτα που χρησιμοποιείται στην υβριδοποίηση και την επιλογή θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον για αυτά τα βήματα (ανατρέξτε στην ενότητα *Προεidoποιήσεις και προφυλάξεις*). Το περιβάλλον μετά την ενίσχυση, συμπεριλαμβανομένου του εντοπισμού, πρέπει να είναι στους  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  με  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Εάν χρησιμοποιείτε το λουτρό ξηρής θερμότητας/συσκευή ανάδευσης τύπου vortex SB100, ανατρέξτε στο φύλλο εφαρμογής *SB100*.

#### 1. Υβριδοποίηση

- a. Αφαιρέστε τον στατήρα από το υδατόλουτρο πριν την ενίσχυση και μεταφέρετέ το στην περιοχή μετά την ενίσχυση. Προσθέστε 100 μL του ανασυσταθέντος αντιδραστήριου ανιχνευτή συγκεκριμένου αναλύτη χρησιμοποιώντας την επαναληπτική πιπέτα. Όλα τα μείγματα αντίδρασης θα πρέπει να είναι τώρα κίτρινα.
- b. Καλύψτε τα σωληνάκια με μία κάρτα σφραγίσματος και στροβιλίστε στον αναδευτήρα πολλαπλών σωληνώσεων τύπου vortex για 10 δευτερόλεπτα ή μέχρι να είναι ομοιόμορφο το χρώμα.
- c. Επωάστε τον στατήρα σε υδατόλουτρο  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για  $20 \pm 5$  λεπτά.
- d. Αφαιρέστε τον στατήρα από το υδατόλουτρο και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου για  $5 \pm 1$  λεπτά.

#### 2. Επιλογή

- a. Χρησιμοποιώντας την επαναληπτική πιπέτα, προσθέστε 250 μL αντιδραστήριο επιλογής σε κάθε σωληνάριο. Όλες οι αντιδράσεις θα πρέπει να είναι τώρα ροζ.
- b. Καλύψτε τα σωληνάκια με μία κάρτα σφραγίσματος, στροβιλίστε για 10 δευτερόλεπτα ή μέχρι να είναι ομοιόμορφο το χρώμα και επωάστε τον στατήρα σε ένα υδατόλουτρο  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για  $10 \pm 1$  λεπτά.

- c. Αφαιρέστε τον στατήρα από το υδατόλουτρο. Επωάστε τον στατήρα σε θερμοκρασία δωματίου για  $15 \pm 3$  λεπτά.

#### J. Ανίχνευση

Σχετικά με τη χρήση του Φωτόμετρου Leader HC+ ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο Χειριστή του Φωτόμετρου Leader HC+*. Για χρήση του Λογισμικού Δοκιμασίας Progensa PCA3, ανατρέξτε στον *Οδηγό γρήγορης αναφοράς* ή το *Εγχειρίδιο Διαχειριστή* ή το *Εγχειρίδιο Χειριστή του συστήματος λογισμικού Δοκιμασίας Progensa PCA3*.

1. Προετοιμάστε το Φωτόμετρο Leader HC+ τοποθετώντας μία κενή TTU στη θέση 1 της κασέτας και πραγματοποιήστε μία φορά το πρωτόκολλο ΠΛΥΣΗΣ.
2. Βεβαιωθείτε ότι υπάρχουν επαρκείς όγκοι του Auto Detect 1 και 2 για να ολοκληρώσετε τις αντιδράσεις.
3. Φορτώστε τις TTU στο φωτόμετρο χρησιμοποιώντας ως οδηγό το διάγραμμα στο φωτόμετρο. Εάν δοκιμάζετε και τους δύο αναλύτες (εκτέλεση διαδοχικής δοκιμασίας), φορτώστε πρώτα όλες τις TTU PCA3, τις οποίες ακολουθούν αμέσως όλες οι TTU PSA.
4. Συνδεθείτε στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Κάντε κλικ στο **NEW RUN** (ΝΕΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗ) και επιλέξτε το κατάλληλο πρωτόκολλο και τις συγκεντρώσεις της δοκιμασίας. Κάντε κλικ στο **NEXT** (ΕΠΟΜΕΝΟ) για να ξεκινήσει η εκτέλεση.

**Σημείωση:** Η εκτέλεση πρέπει να ολοκληρωθεί εντός 2 ωρών από το τέλος της επώασης του βήματος επιλογής 62 °C.

5. Προετοιμάστε υγρό απενεργοποίησης αναμιγνύοντας ίσους όγκους διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου 5% έως 7% (0,7 M έως 1,0 M) και ρυθμιστικού διαλύματος για το υγρό απενεργοποίησης σε ένα πλαστικό σκεύος με μεγάλο πώμα. Ονομάστε και γράψτε την ημερομηνία λήξης στο πλαστικό σκεύος. Το υγρό απενεργοποίησης είναι σταθερό για 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Όταν ολοκληρωθεί η εκτέλεση, το λογισμικό της δοκιμασίας θα παράγει δύο εκθέσεις εκτέλεσης, μία Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης και μία Έκθεση Λόγου, εάν οι εκτελέσεις είναι διαδοχικές (βλ. *Διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου και Ερμηνεία αποτελεσμάτων*).
7. Όταν ολοκληρωθεί η εκτέλεση, αφαιρέστε τις χρησιμοποιημένες TTU από το φωτόμετρο και τοποθετήστε τις TTU στο σκεύος με το ρυθμιστικό διάλυμα του υγρού απενεργοποίησης. Αφήστε τις TTU να κάψουν στο σκεύος για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν τις πετάξετε. Ο διευθυντής του εργαστηρίου θα πρέπει να καθορίσει τις σωστές μεθόδους χειρισμού και απόρριψης.

### Σημειώσεις επί της διαδικασίας

#### A. Παρασκευάσμα δείγματος

1. Αν τα δείγματα περιέχουν αιωρούμενα ιζήματα, θερμάνετε στους 37 °C έως και 5 λεπτά και στη συνέχεια αναστρέψτε ηπίως. Στην περίπτωση που το ίζημα δεν ενωθεί ξανά με το διάλυμα, βεβαιωθείτε ότι το ίζημα δεν εμποδίζει την χορήγηση του δείγματος.
2. Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να αποψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου (15 °C ως 30 °C, μπορεί να χρησιμοποιηθεί υδατόλουτρο) με περιστασιακή αναστροφή στη διάρκεια της απόψυξης για να αποφευχθεί ο σχηματισμός αδιάλυτης πλάκας. Αναμίξτε τα φιαλίδια με ήπια αναστροφή μόλις ο πάγος εντός του φιαλιδίου έχει αποψυχθεί επαρκώς ώστε να χαλαρώσει και να μπορεί να κινηθεί ελεύθερα. Συνεχίστε να θερμαίνετε μέχρι να αποψυχθεί εντελώς το δείγμα και αναμίξτε και πάλι τα φιαλίδια με ήπια αναστροφή.

- a. Αν σχηματιστεί πλάκα και τα δείγματα πρόκειται να αναρροφηθούν με πιπέτα με το όργανο TECAN Freedom EVO 100/4, ψύξτε και πάλι το δείγμα, επαναλάβετε τις οδηγίες απόψυξης και βεβαιωθείτε ότι δεν σχηματίζεται πλάκα. Αν δεν μπορείτε να εξαλείψετε την πλάκα, το δείγμα πρέπει να αναρροφηθεί με πιπέτα διά χειρός.
  - b. Αν σχηματιστεί πλάκα και τα δείγματα πρόκειται να υποβληθούν σε αναρρόφηση με μικροπιπέτα διά χειρός, δεν χρειάζονται περαιτέρω ενέργειες αλλά βεβαιωθείτε ότι η πλάκα δεν εμποδίζει την χορήγηση του δείγματος.
- B. Μεταφορά του Μάρτυρα, του Βαθμονομητή και του Δείγματος μέσω πιπετών
1. Ο όγκος του βαθμονομητή, του μάρτυρα ή του δείγματος που προστίθεται στην TTU θα πρέπει να είναι 400  $\mu$ L. Συνιστάται η οπτική επιθεώρηση του όγκου που μεταφέρεται μέσω πιπετών στην TTU για να εξασφαλιστεί η σωστή μεταφορά του όγκου. Ο σωστός όγκος χρειάζεται για να παραχθούν ακριβή αποτελέσματα.
  2. Βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της πιπέτας είναι σωστά τοποθετημένος στην πιπέτα και ελέγξτε εάν η ρύθμιση του όγκου είναι σωστή. Συνιστάται ο οπτικός έλεγχος της ρύθμισης του όγκου στο τέλος κάθε TTU (ανά 10 σωληνάρια). Απελευθερώστε το έμβολο της πιπέτας σταθερά όταν τραβάτε το δείγμα για να αποφευχθεί η παραγωγή αφρού και φυσαλίδων.
- C. Αντιδραστήρια
1. Το διάλυμα ανασύστασης ανιχνευτή μπορεί να ιζηματοποιηθεί κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Θερμάνετε το διάλυμα στους  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  για 1 με 2 λεπτά. Μετά από αυτά τα βήματα θέρμανσης το διάλυμα ανασύστασης ανιχνευτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμη και αν παραμένουν τα ιζήματα στο υπόλειμμα. Μετά από την επαναϊώρηση, αναμίξτε το φιαλίδιο με ήπια αναστροφή.
  2. Όταν μεταφέρετε μέσω πιπετών αντιδραστήρια διαφορετικά από τα αντιδραστήρια Ενζύμου, στοχεύετε ελαφρώς στα πλαϊνά του κάτω μέρους του σωληναρίου αντίδρασης (όπου ο πάτος δημιουργεί καμπύλη προς τα πάνω για να συναντηθούν τα πλαϊνά). Όταν μεταφέρετε αντιδραστήριο ενζύμου μέσω πιπετών, στοχεύετε απευθείας στο κέντρο του σωληναρίου αντίδρασης. Βεβαιώστε οπτικά ότι τα αντιδραστήρια απορρίπτονται σωστά (καθόλου περιττή ποσότητα αντιδραστηρίου στα πλαϊνά των σωληναρίων και σωστή αλλαγή χρώματος).
- D. Θερμοκρασία
1. Τα βήματα σύλληψης στόχου, ενίσχυσης, υβριδοποίησης και επιλογής εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Επομένως, είναι απαραίτητο τα υδατόλουτρα να διατηρούνται εντός του συγκεκριμένου εύρους θερμοκρασίας τους.
  2. Η θερμοκρασία δωματίου ορίζεται στους  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  με  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- E. Χρόνος
- Οι αντιδράσεις σύλληψης στόχου, ενίσχυσης, υβριδοποίησης και επιλογής εξαρτώνται από το χρόνο. Τηρήστε τους συγκεκριμένους χρόνους που αναφέρονται στην ενότητα *Διαδικασία δοκιμής*.
- F. Στροβιλισμός
- Ο σωστός στροβιλισμός είναι σημαντικός για την επιτυχή πραγματοποίηση της Δοκιμασίας Progensa PCA3. Για τον στροβιλισμό αντιδράσεων, ορίστε την ταχύτητα του αναδευτήρα πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex στη χαμηλότερη ρύθμιση, ασφαλίστε τον στατήρα σας και ενεργοποιήστε. Αυξήστε αργά την ταχύτητα μέχρι να φτάσει το υγρό στο μισό της διαδρομής μέχρι το σωληνάριο. Στροβιλίστε για 10 δευτερόλεπτα, τον



υποδειχθέντα χρόνο ή μέχρι να γίνει ομοιόμορφο το χρώμα. Γυρίστε την ταχύτητα στη χαμηλότερη ρύθμιση πριν απενεργοποιήσετε τον αναδευτήρα πολλαπλών σωληναρίων τύπου vortex και αφαιρέσετε τον στατήρα. Τα μείγματα αντίδρασης δεν θα πρέπει να αγγίζουν ποτέ τις κάρτες σφραγίσματος.

#### G. Υδατόλουτρα

1. Η στάθμη του νερού στα υδατόλουτρα πρέπει να διατηρείται σε βάθος 3,8 έως 5,0 cm (1,5 έως 2,0 ίντσες) από τον μεταλλικό δίσκο υποστήριξης (στο κάτω μέρος του υδατόλουτρου) μέχρι την επιφάνεια του νερού. Έτσι θα εξασφαλιστεί η κατάλληλη μεταφορά θερμότητας.
2. Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, τα υδατόλουτρα πρέπει να είναι αφιερωμένα σε ένα συγκεκριμένο βήμα δοκιμασίας.

#### H. Απολύμανση

##### 1. Επιφάνειες και Πιπέτες

Οι επιφάνειες του πάγκου του εργαστηρίου και οι πιπέτες πρέπει να απολυμαίνονται τακτικά με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M). Αφήστε το διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου να έρθει σε επαφή με τις επιφάνειες για τουλάχιστον 1 λεπτό, και έπειτα ξεπλύνετε με νερό. **Μην αφήσετε το διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου να στεγνώσει.** Τα διαλύματα χλωρίνης μπορεί να σκουριάσουν τον εξοπλισμό και τα μέταλλα. Ξεπλύνετε καλά τον εξοπλισμό με νερό για να αποφύγετε το σκούριασμα.

##### 2. Πολλαπλή αναρρόφησης TCS

Μετά από κάθε χρήση:

- a. Μετακινήστε την πολλαπλή διανομής ώστε να μην εμποδίζει.
- b. Τοποθετήστε ένα νέο TTC στο στατήρα TTC. Ενεργοποιήστε την αντλία κενού. Προσαρτήστε την πολλαπλή αναρρόφησης στα ρύγχη στο TTC. Αναρροφήστε τυχόν Διάλυμα έκπλυσης που παραμένει στο θύλακα πλήρωσης του σταθμού διανομής.
- c. Χύστε τουλάχιστον 100 mL διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου 0,5% ως 0,7% (0,07 M ως 0,1 M), ή αν προτιμάται 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M), στο θύλακα πλήρωσης. Αναρροφήστε όλο το διάλυμα μέσω της πολλαπλής αναρρόφησης.
- d. Χύστε τουλάχιστον 100 mL απιονισμένου νερού στο θύλακα πλήρωσης. Αναρροφήστε όλο το νερό μέσω της πολλαπλής αναρρόφησης.
- e. Εκβάλλετε τα ρύγχη στο αρχικό τους TTC.
- f. Αφήστε ενεργοποιημένη την αντλία κενού μέχρι να στεγνώσουν οι σωληνώσεις της πολλαπλής ώστε να εμποδίσετε την ανάδρομη ροή (περίπου 3 λεπτά).
- g. Απολυμάνετε τις επιφάνειες της πολλαπλής αναρρόφησης όπως περιγράφεται στην ενότητα *Μονάδα TCS*.

##### 3. Σκεύος απορριμμάτων TCS

Καθαρίστε τη φιάλη αποβλήτων τουλάχιστον μια φορά την εβδομάδα ή όταν η φιάλη αποβλήτων είναι γεμάτη κατά 25%, όποιο από τα δύο προκύψει πρώτο.

- a. Απενεργοποιήστε την αντλία κενού και επιτρέψτε να ισοσταθμιστεί η πίεση κενού.

- b. Απελευθερώστε τα εξαρτήματα ταχείας αποσύνδεσης μεταξύ της φιάλης αποβλήτων και της φιάλης υπερχειλίσης, και της φιάλης αποβλήτων και της πολλαπλής αναρρόφησης.
- c. Αφαιρέστε τη φιάλη αποβλήτων από το περίβλημα διαχωρισμού κενού.
- d. Αφαιρέστε το πώμα και προσθέστε προσεκτικά 400 mL διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου 5% ως 7% (0,7 M ως 1,0 M) στη φιάλη αποβλήτων των 4 L.

**Σημείωση:** Αυτό μπορεί να γίνει σε μια χοάνη ατμών ώστε να αποφευχθεί η απελευθέρωση ατμών μέσα στο εργαστήριο.

- e. Πωματίστε τη φιάλη αποβλήτων και περιδινήστε ήπια το περιεχόμενο μέχρι να αναμιχθεί εντελώς.
- f. Αφήστε τη φιάλη αποβλήτων εν ηρεμία για τουλάχιστον 15 λεπτά και εν συνεχεία απορρίψτε το περιεχόμενο (απόβλητα).
- g. Ξεπλύνετε τη φιάλη αποβλήτων με νερό για να αφαιρέσετε τυχόν απόβλητα που παραμένουν στο εσωτερικό.
- h. Πωματίστε την άδεια φιάλη αποβλήτων και τοποθετήστε την στο περίβλημα διαχωρισμού κενού. Προσαρτήστε τα εξαρτήματα ταχείας αποσύνδεσης στη μονάδα TCS. Απορρίψτε προσεκτικά και τα δύο γάντια.

#### 4. Μονάδα TCS

Σκουπίστε τις επιφάνειες της μονάδας TCS, της πολλαπλής αναρρόφησης, και την επιφάνεια των ρυγχών της συσκευής εκτόξευσης ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης με χαρτοπετσέτες εμποτισμένες με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M). Ακολουθήστε το βήμα διαλύματος υποχλωριώδους νατρίου με έκπλυση νερού και στη συνέχεια στεγνώστε εντελώς τις επιφάνειες με χαρτοπετσέτες.

#### 5. Στατήρες

Βυθίστε τους στατήρες σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 2,5% ως 3,5% (0,35 M ως 0,5 M), εξασφαλίζοντας ότι καλύπτονται από το διάλυμα. Κρατήστε τους στατήρες βυθισμένους για 10 λεπτά. Μεγαλύτερη έκθεση θα προκαλέσει ζημία στους στατήρες. Ξεπλύνετε καλά τους στατήρες με νερό και κατόπιν στεγνώστε τους εντελώς με χαρτοπετσέτες.

**I. Μόλυνση Δοκιμασίας**

1. Μπορεί να εισέλθουν μολυσματικά υλικά εάν δεν ληφθεί επαρκής μέριμνα κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας.
2. Οι TTU πρέπει να απολυμαίνονται με υγρό απενεργοποίησης, όπως περιγράφεται στην ενότητα *Διαδικασία δοκιμής*. Μην χρησιμοποιείτε ξανά τις TTU.
3. Πραγματοποιείτε τακτική απολύμανση του εξοπλισμού και των επιφανειών εργασίας όπως περιγράφεται παραπάνω στην ενότητα *Απολύμανση*.
4. Όπως σε οποιοδήποτε σύστημα αντιδραστηρίου, η υπερβολική πούδρα σε ορισμένα γάντια μπορεί να προκαλέσει τη μόλυνση των ανοιγμένων σωληναρίων. Συνιστάται οι χειριστές να χρησιμοποιούν γάντια χωρίς πούδρα.

## Διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου

### A. Εγκυρότητα Εκτέλεσης

1. Οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες πρέπει να εκτελούνται με όλες τις δοκιμασίες και στον ίδιο στατήρα με τα δείγματα δοκιμής. Πρέπει να πληρούνται τα παρακάτω κριτήρια για να θεωρείται έγκυρη μία εκτέλεση:

Μέση RLU του Βαθμονομητή 2 > της τιμής αποκοπής (cutoff) RLU

Όπου RLU αποκοπής (cutoff) = Μέση RLU του βαθμονομητή 1

+ 1,645 τυπικές αποκλίσεις των επαναληπτικών RLU του βαθμονομητή 1

+ 1,645 τυπικές αποκλίσεις των επαναληπτικών RLU του βαθμονομητή 2.

Μέση παρεμβαλλόμενη ανάκτηση Βαθμονομητή 5 = 100 ± 30%

Μέση παρεμβαλλόμενη ανάκτηση Μάρτυρα A = 100 ± 60%

Μέση παρεμβαλλόμενη ανάκτηση Μάρτυρα B = 100 ± 35%

2. Το λογισμικό PCA3 αξιολογεί αυτόματα τα αποτελέσματα έναντι των παραπάνω κριτηρίων και θα αναφέρει την Κατάσταση Εκτέλεσης ως PASS (ΕΠΙΤΥΧΙΑ) εάν πληρούνται τα κριτήρια εγκυρότητας και FAIL (ΑΠΟΤΥΧΙΑ) εάν δεν πληρούνται τα κριτήρια εγκυρότητας.
3. Εάν η Κατάσταση Εκτέλεσης είναι ΑΠΟΤΥΧΙΑ, όλα τα αποτελέσματα δοκιμής στην ίδια εκτέλεση δεν είναι έγκυρα για αυτό τον αναλύτη και δεν θα πρέπει να αναφέρονται.
4. Εάν μία εκτέλεση δεν είναι έγκυρη, πρέπει να επαναληφθεί η εκτέλεση για τον αναλύτη αυτό (ανατρέξτε στην ενότητα *Ερμηνεία αποτελεσμάτων*). Εάν η εκτέλεση είναι έγκυρη για τον άλλο αναλύτη, τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανάλυση με την επαναληπτική, έγκυρη εκτέλεση του πρώτου αναλύτη.

### B. Εγκυρότητα Δείγματος

Σε μία έγκυρη εκτέλεση, μεμονωμένα αποτελέσματα δείγματος μπορεί να θεωρούνται INVALID (ΜΗ ΕΓΚΥΡΑ) και θα υποδεικνύονται στην Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης (ανατρέξτε στην ενότητα *Ερμηνεία αποτελεσμάτων*). Παρόλο που τα μεμονωμένα επαναληπτικά για ένα δείγμα μπορεί να είναι έγκυρα, ένα δείγμα μπορεί να ακυρωθεί εάν η παρεμβαλλόμενη διαφορά c/mL ανάμεσα στα επαναληπτικά ξεπερνά το 600%. Πρέπει να επαναληφθεί η δοκιμή του δείγματος για τον αναλύτη αυτό.

## Ερμηνεία αποτελεσμάτων

### A. Τύποι Εκθέσεων

#### 1. Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης

Η Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης παρέχει πληροφορίες σχετικά με την εγκυρότητα της εκτέλεσης (ΕΠΙΤΥΧΙΑ ή ΑΠΟΤΥΧΙΑ, ανατρέξτε στην ενότητα *Διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου*) και για τα μεμονωμένα σωληνάρια αντίδρασης που εξετάζονται με τη δοκιμασία Progensa PCA3. Εάν μία εκτέλεση δεν είναι έγκυρη (ΑΠΟΤΥΧΙΑ), όλα τα σωληνάρια της εκτέλεσης αυτής θα χαρακτηριστούν μη έγκυρα. Ωστόσο, τα μεμονωμένα σωληνάρια μπορεί να θεωρούνται μη έγκυρα με μία έγκυρη εκτέλεση (ΕΠΙΤΥΧΙΑ). Για εκτελέσεις διαδοχικής δοκιμασίας (π.χ. και οι δύο αναλύτες PCA3 και PSA δοκιμάζονται στην ίδια εκτέλεση δοκιμασίας), η μία εκτέλεση αναλύτη μπορεί να είναι μη έγκυρη ενώ η εκτέλεση για τον άλλο αναλύτη να είναι έγκυρη.

Στο τέλος της Έκθεσης Αρχικής Εκτέλεσης βρίσκεται η Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων. Για εκτελέσεις διαδοχικής δοκιμασίας στις οποίες και οι δύο εκτελέσεις αναλύτη είναι έγκυρες, μπορεί να χρειαστεί η επανάληψη της δοκιμασίας ενός αναλύτη για τα δείγματα που αναφέρονται στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων. Παρόλο που κάποιο αποτέλεσμα της βαθμολογίας PCA3 μπορεί να αναφέρεται στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων, το αποτέλεσμα αυτό δεν θεωρείται ότι μπορεί να καταχωρηθεί στην έκθεση μέχρι να πραγματοποιηθεί χειροκίνητη αντιστοίχιση και το αποτέλεσμα να καταχωρείται σε μία Έκθεση Λόγου. Εάν υπέστη δοκιμασία μόνον ένας αναλύτης ή εάν η εκτέλεση ενός αναλύτη δεν είναι έγκυρη, όλα τα δείγματα που υπέστησαν δοκιμασία θα καταχωρηθούν στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων.

#### 2. Έκθεση Λόγου

Το λογισμικό δοκιμασίας παράγει αυτόματα μία Έκθεση Λόγου για μία εκτέλεση διαδοχικής δοκιμασίας στην οποία είναι έγκυρες και οι δύο εκτελέσεις αναλύτη. Το λογισμικό υπολογίζει και καταχωρεί τη βαθμολογία PCA3 των δειγμάτων στην Έκθεση Λόγου. Τα δείγματα που καταχωρούνται στην Έκθεση Λόγου, είτε δεν απαιτούν περαιτέρω δοκιμασία είτε πρέπει να γίνει επανάληψη της δοκιμασίας και για τους δύο αναλύτες. Τα δείγματα που δεν είναι καταχωρημένα στην Έκθεση Λόγου θα βρίσκονται στην ενότητα Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης της Συνοπτικής Έκθεσης Εξαιρέσεων.

Μετά από τη μη αυτόματη αντιστοίχιση μπορεί επίσης να παραχθεί μία Έκθεση Λόγου (ανατρέξτε στην ενότητα *Χειροκίνητη Αντιστοίχιση* για περισσότερες πληροφορίες).

#### 3. Έκθεση QC

Η Έκθεση QC εμφανίζει τα κριτήρια εγκυρότητας της εκτέλεσης της δοκιμασίας, τις εκχωρηθείσες και παρεμβαλλόμενες συγκεντρώσεις και τις ανακτήσεις βαθμονομητών και μαρτύρων. Στην έκθεση εμφανίζονται επίσης οι παράμετροι που καθορίζουν την οργανωτική καμπύλη βαθμονόμησης της αντίδρασης στη δόση με τέσσερις παραμέτρους (3). Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο *Εγχειρίδιο χρήση λογισμικού της Δοκιμασίας Progensa PCA3*.

### B. Αντιστοίχιση

#### 1. Αυτόματη Αντιστοίχιση

Σε εκτελέσεις διαδοχικής δοκιμασίας όπου και οι δύο εκτελέσεις αναλύτη είναι έγκυρες, το λογισμικό αντιστοιχεί αυτόματα τα μεμονωμένα αποτελέσματα αναλύτη PCA3 και PSA στα δείγματα και καθορίζει τη βαθμολογία PCA3 (εάν μπορεί να

υπολογιστεί). Τα αποτελέσματα είναι καταχωρημένα στην Έκθεση Λόγου ή στην Έκθεση Αρχικής Εκτέλεσης της Συνοπτικής Έκθεσης Εξαιρέσεων.

## 2. Χειροκίνητη Αντιστοίχιση

Όταν δοκιμάζονται οι αναλύτες PCA3 και PSA σε διαφορετικές εκτελέσεις, το λογισμικό δεν μπορεί να καθορίσει αυτόματα τη βαθμολογία PCA3. Η χειροκίνητη αντιστοίχιση των αποτελεσμάτων του αναλύτη είναι απαραίτητη για τον καθορισμό της βαθμολογίας PCA3 ή του εύρους της βαθμολογίας PCA3 (ανατρέξτε στον *Οδηγό Γρήγορης Αναφοράς* ή το *Εγχειρίδιο χρήση Λογισμικού της Δοκιμασίας Progensa PCA3*). Μπορεί να απαιτείται, επίσης, χειροκίνητη αντιστοίχιση για αποτελέσματα που αναφέρονται στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων της Έκθεσης Αρχικής Εκτέλεσης της. Μετά από τη χειροκίνητη αντιστοίχιση, θα καταγράφονται οι βαθμολογίες PCA3 για τα/το αντιστοιχισθέν(τα) δείγμα(τα) σε μία νέα Έκθεση Λόγου.

## C. Εκθέσεις Ερμηνείας

### 1. Βαθμολογία PCA3

**Σημείωση: Μπορούν να αναφερθούν στην έκθεση μόνον η βαθμολογία PCA3 και το εύρος τιμών της βαθμολογίας PCA3 που εμφανίζονται στην Έκθεση Λόγου. Τα αποτελέσματα που εμφανίζονται στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων μπορεί να χρειάζονται περαιτέρω δράση και δεν μπορούν να αναφερθούν στις εκθέσεις.**

Η βαθμολογία PCA3 υπολογίζεται ως ο λόγος των αντιγράφων RNA του PCA3 προς τα αντίγραφα RNA του PSA, επί 1.000. Οι βαθμολογίες PCA3 μπορούν να υπολογιστούν χρησιμοποιώντας μόνον αποτελέσματα από έγκυρες εκτελέσεις και δείγματα. Μη έγκυρες εκτελέσεις και μη έγκυρα δείγματα πρέπει να επανεξεταστούν για τον αναλύτη αυτό (ανατρέξτε στην ενότητα *Επανεξέταση* για περισσότερες πληροφορίες).

Εάν η βαθμολογία PCA3 που αναφέρεται είναι χαμηλότερη από την τιμή αποκοπής (cutoff), το αποτέλεσμα θα πρέπει να ερμηνεύεται ως ΑΡΝΗΤΙΚΟ. Εάν η βαθμολογία PCA3 που αναφέρεται είναι υψηλότερη από ή ίση με την τιμή αποκοπής (cutoff), το αποτέλεσμα θα πρέπει να ερμηνεύεται ως ΘΕΤΙΚΟ. Ο διευθυντής του εργαστηρίου θα καθορίσει την τιμή αποκοπής (cutoff) (ανατρέξτε στην ενότητα *Χαρακτηριστικά απόδοσης* για περισσότερες πληροφορίες).

Υπό ορισμένες συνθήκες, προσφέρεται το εύρος βαθμολογίας PCA3 ( $>[\text{Calculated PCA3 Score}]$  (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) ή  $<[\text{Calculated Score}]$  (Υπολογισμένη βαθμολογία)). Εάν η  $<[\text{Calculated PCA3 Score}]$  (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) είναι χαμηλότερη από την τιμή αποκοπής (cutoff), το αποτέλεσμα θα πρέπει να ερμηνεύεται ως ΑΡΝΗΤΙΚΟ. Εάν το  $>[\text{Calculated PCA3 Score}]$  (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) είναι υψηλότερη από την τιμή αποκοπής (cutoff), το αποτέλεσμα θα πρέπει να ερμηνεύεται ως ΘΕΤΙΚΟ. Εάν χρειάζεται μία αριθμητική τιμή, η αραίωση του δείγματος και η επανάληψη της εξέτασης μπορεί να δημιουργήσουν μία βαθμολογία PCA3 αντί για το εύρος βαθμολογίας PCA3 (ανατρέξτε στις ενότητες *Επανεξέταση - Αραίωση Δειγμάτων Υψηλότερων από το Εύρος*).

### 2. Ερμηνεία Κωδικών Κατάστασης και Ανάλυσης

Στη στήλη Status (Κατάσταση) μίας Έκθεσης Αρχικής Εκτέλεσης και μίας Έκθεσης Λόγου εμφανίζονται οι πληροφορίες με τη μορφή «s:a». Οι κωδικοί κατάστασης για συγκεκριμένη εκτέλεση («s») εμφανίζονται πριν (στα αριστερά) την άνω και κάτω τελεία και οι κωδικοί ανάλυσης για συγκεκριμένο αναλύτη («a») εμφανίζονται μετά (στα δεξιά) την άνω και κάτω τελεία. Οι κωδικοί για συγκεκριμένο αναλύτη εμφανίζονται με πεζά γράμματα για τα αποτελέσματα του PCA3 και με κεφαλαία για τα αποτελέσματα του PSA. Κάθε έκθεση περιλαμβάνει περιγραφές των κωδικών

κατάστασης και ανάλυσης που εμφανίζονται στην έκθεση. Για παράδειγμα, οι κωδικοί μπορεί να υποδεικνύουν εάν ένα αποτέλεσμα δείγματος ή επαναληπτικού είναι έγκυρο ή εκτός εύρους. Ανατρέξτε στον *Οδηγό Γρήγορης Αναφοράς* ή στο *Εγχειρίδιο Χρήστη Λογισμικού Δοκιμασίας Progensa PCA3* για μία πλήρη καταχώρηση των κωδικών κατάστασης και ανάλυσης και για περισσότερες λεπτομέρειες.

Εάν αναφέρεται μια βαθμολογία PCA3 στην έκθεση λόγου και δεν εμφανίζονται κωδικοί κατάστασης ή ανάλυσης στις στήλες Κατάσταση PCA3 (PCA3 Status) ή PSA (PSA Status), υποδεικνύει ότι και οι δύο αναλύτες που υποβλήθηκαν σε δοκιμή είναι έγκυροι και «εντός εύρους». Το αποτέλεσμα του δείγματος μπορεί να αναφερθεί στις εκθέσεις και δεν χρειάζονται περαιτέρω ενέργειες.

Εάν εμφανίζεται ένας κωδικός κατάστασης ή ανάλυσης στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων ή στην Έκθεση Λόγου, η επανάληψη της εξέτασης μπορεί να είναι απαραίτητη (ανατρέξτε στις ενότητες *Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων* και *Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων στην Έκθεση Λόγου*). Εάν τα αποτελέσματα του αναλύτη προέρχονται από ξεχωριστές εκτελέσεις και έχουν έναν κωδικό(κούς) ανάλυσης, βρείτε τον συνδυασμό και για τους δύο αναλύτες στον Πίνακα 4 ή Πίνακα 5 για να καθοριστεί εάν είναι απαραίτητη η ανάληψη περαιτέρω δράσης.

**Σημείωση:** Η παρουσία ενός κωδικού κατάστασης ή ανάλυσης δεν σημαίνει αυτόματα ότι χρειάζεται επανάληψη της δοκιμής.

### 3. Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων

Στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων μπορεί να μην εμφανίζονται κάποιες εξαιρέσεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις δεν χρειάζεται να κάνετε κάτι άλλο.

Εάν στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων εμφανίζεται ένα δείγμα(τα) για διαδοχικές εκτελέσεις, όπου οι εκτελέσεις και για τους δύο αναλύτες είναι έγκυρες, ανατρέξτε στην ενότητα Πίνακα 4 για οδηγίες.

Για μεμονωμένες εκτελέσεις αναλύτη, ανατρέξτε στην ενότητα *Ερμηνεία Κωδικών Κατάστασης και Ανάλυσης*. Σε διαδοχικές εκτελέσεις δοκιμασίας στις οποίες η εκτέλεση για έναν αναλύτη δεν είναι έγκυρη, επαναλάβετε τη δοκιμή για τη μη έγκυρη εξέταση (ανατρέξτε στην ενότητα *Επανεξέταση* για περισσότερες πληροφορίες) και αντιμετωπίστε τα αποτελέσματα σαν να είχαν γίνει μεμονωμένες εκτελέσεις αναλύτη. Θα χρειαστεί η χειροκίνητη αντιστοίχιση.

Ένα δείγμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως μη έγκυρο παρόλο που τα μεμονωμένα σωληνάρια (επαναληπτικά) μπορεί να χαρακτηριστούν ως έγκυρα. Η εγκυρότητα του δείγματος καθορίζεται από το συνδυασμένο αποτέλεσμα των επαναλήψεων και μια μεγάλη διαφορά ανάμεσα στις επαναληπτικές εξετάσεις θα ακυρώσει ένα δείγμα (ανατρέξτε στην ενότητα *Διαδικασίες Ποιοτικού Ελέγχου* για περισσότερες πληροφορίες).

Πίνακας 4: Συνθήκες Συνοπτικής Έκθεσης Εξαιρέσεων της Δοκιμασίας Progensa PCA3

Αποτέλεσμα PCA3 (Κωδικός ανάλυσης*)	Αποτέλεσμα PSA (Κωδικός ανάλυσης*)	Καταχωρημένο Βαθμολογία PCA3	Περαιτέρω δοκιμή;	Ενέργεια/Σχόλιο
Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	Μη έγκυρος** (A, B, E, H ή I)	--	Ναι	Επανεξετάστε το PSA (ανατρέξτε στην ενότητα <i>Επανεξέταση</i> ) και αντιστοιχίστε μη αυτόματα τα αποτελέσματα.
Εκτός εύρους, χαμηλό (g)	Μη έγκυρο (A, B, E, H ή I)	--	Ναι	Επανεξετάστε το PSA (ανατρέξτε στην ενότητα <i>Επανεξέταση</i> ) και αντιστοιχίστε μη αυτόματα τα αποτελέσματα.
Μη έγκυρο (a, b, e, h ή i)	Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	--	Ναι	Επανεξετάστε τον PCA3 (βλ. <i>Επανεξέταση</i> ) και αντιστοιχίστε μη αυτόματα τα αποτελέσματα.
Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	Εκτός εύρους, υψηλό (F)	<[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3)***	Προαιρετικό	1. Αντιστοιχίστε μη αυτόματα για να λάβετε το <[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) Ή 2. Αραιώστε το δείγμα σε ένα αραιωτικό δείγματος (ανατρέξτε στην ενότητα <i>Αραίωση Δειγμάτων Υψηλότερων από το Εύρος</i> ), επανεξετάστε το PSA και αντιστοιχίστε μη αυτόματα τα αποτελέσματα εάν απαιτείται μία βαθμολογία PCA3.
Εκτός εύρους, υψηλό (f)	Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	>[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3)	Προαιρετικό	1. Αντιστοιχίστε μη αυτόματα για να λάβετε το >[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) Ή 2. Αραιώστε το δείγμα σε ένα αραιωτικό δείγματος, επανεξετάστε τον PCA3 και αντιστοιχίστε χειροκίνητα τα αποτελέσματα εάν χρειάζεται μία βαθμολογία PCA3.
Εκτός εύρους, χαμηλό (g)	Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	<[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3)	Όχι	Αντιστοιχίστε μη αυτόματα για να λάβετε το <[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3).
Εκτός εύρους, χαμηλό (g)	Εκτός εύρους, υψηλό (F)	<[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3)	Όχι	Αντιστοιχίστε μη αυτόματα για να λάβετε το <[Calculated PCA3 Score] (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3).

\*Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήση λογισμικού της δοκιμασίας Progensa PCA3 για πλήρη παράθεση των κωδικών ανάλυσης.

\*\*Εφαρμόζεται μόνον σε μη έγκυρα δείγματα σε μία έγκυρη εκτέλεση.

\*\*\*Για τιμές εκτός εύρους, το Calculated PCA3 Score (Υπολογισμένη βαθμολογία PCA3) υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το επίπεδο αντιγραφής για τον πιο κοντινό θετικό βαθμονομητή.



4. Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων στην Έκθεση Λόγου

Εάν ένα δείγμα εμφανίζεται στην Έκθεση Λόγου με μία βαθμολογία PCA3, το αποτέλεσμα είναι μία βαθμολογία PCA3 που μπορεί να αναφερθεί και δεν χρειάζεται να προβείτε σε κάποια άλλη ενέργεια. Εάν δεν εμφανίζεται κάποια βαθμολογία PCA3, το οποίο εκφράζεται με τη μορφή «--» στη στήλη PCA3 Score (Βαθμολογία PCA3), ανατρέξτε στην ενότητα Πίνακας 5 για οδηγίες.

Πίνακας 5: Συνθήκες Έκθεσης Λόγου της Δοκιμασίας Progensa PCA3

Αποτέλεσμα PCA3 (Κωδικός ανάλυσης*)	Αποτέλεσμα PSA (Κωδικός ανάλυσης*)	Καταχωρημένο Βαθμολογία PCA3	Περαιτέρω δοκιμή;	Ενέργεια/Σχόλιο
Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	Βαθμολογία PCA3	Όχι	Καμία περαιτέρω ενέργεια. Το αποτέλεσμα μπορεί να αναφερθεί.
Μη έγκυρος** (a, b, e, h ή i)	Μη έγκυρο (A, B, E, H ή I)	--	Ναι	Επανεξετάστε και για τους δύο αναλύτες (ανατρέξτε στην ενότητα <i>Επανεξέταση</i> ).
Μη έγκυρο (a, b, e, h ή i)	Εκτός εύρους, υψηλό (F)	--	Ναι	Αραιώστε το δείγμα σε ένα αραιωτικό δείγματος (βλ. <i>Αραίωση Δειγμάτων Υψηλότερων από το Εύρος</i> ), επανεξετάστε και τους δύο αναλύτες.
Εκτός εύρους, υψηλό (f)	Μη έγκυρο (A, B, E, H ή I)	--	Ναι	Αραιώστε το δείγμα σε ένα αραιωτικό δείγματος, επανεξετάστε και τους δύο αναλύτες.
Εκτός εύρους, υψηλό (f)	Εκτός εύρους, υψηλό (F)	--	Ναι	Αραιώστε το δείγμα σε ένα αραιωτικό δείγματος, επανεξετάστε και τους δύο αναλύτες.
Μη έγκυρο (a, b, e, h ή i)	Εκτός εύρους, χαμηλό (G)	--	Όχι	Το δείγμα έχει ανεπαρκές RNA για να γίνει ακριβής ανάλυση. Πρέπει να συλλεχθεί ένα νέο δείγμα από τον ασθενή.
Εντός εύρους (χωρίς κωδικό)	Εκτός εύρους, χαμηλό (G)	--	Όχι	Το δείγμα έχει ανεπαρκές RNA για να γίνει ακριβής ανάλυση. Πρέπει να συλλεχθεί ένα νέο δείγμα από τον ασθενή.
Εκτός εύρους, υψηλό (f)	Εκτός εύρους, χαμηλό (G)	--	Όχι	Το δείγμα έχει ανεπαρκές RNA για να γίνει ακριβής ανάλυση. Πρέπει να συλλεχθεί ένα νέο δείγμα από τον ασθενή.
Εκτός εύρους, χαμηλό (g)	Εκτός εύρους, χαμηλό (G)	--	Όχι	Το δείγμα έχει ανεπαρκές RNA για να γίνει ακριβής ανάλυση. Πρέπει να συλλεχθεί ένα νέο δείγμα από τον ασθενή.

\*Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήση λογισμικού της δοκιμασίας Progensa PCA3 για πλήρη παράθεση των κωδικών ανάλυσης.

\*\*Εφαρμόζεται μόνον σε μη έγκυρα δείγματα σε μία έγκυρη εκτέλεση. Εάν τα δείγματα δεν ήταν έγκυρα γιατί η εκτέλεση δεν ήταν έγκυρη, τα αποτελέσματα θα εμφανίζονται στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων (ανατρέξτε στην ενότητα *Ερμηνεία των Αποτελεσμάτων στη Συνοπτική Έκθεση Εξαιρέσεων* για περισσότερες πληροφορίες).

## D. Επανεξέταση

## 1. Οδηγίες για την Επανεξέταση

- a. Παρόλο που δεν είναι επιβεβλημένο να εξεταστούν και οι δύο αναλύτες στην ίδια εκτέλεση, **τα αποτελέσματα και για τους δύο αναλύτες πρέπει να προέρχονται από το ίδιο φιαλίδιο δείγματος για μία βαθμολογία PCA3 που μπορεί να αναφερθεί.**
- b. Όλες οι μη έγκυρες εκτελέσεις πρέπει να επαναλαμβάνονται και όλα τα μη έγκυρα δείγματα από έγκυρες εκτελέσεις πρέπει να επανεξετάζονται.
- c. Επανεξετάστε τα δείγμα(τα) χρησιμοποιώντας ένα νέο σύνολο βαθμονομητών και μαρτύρων.
- d. Είναι απαραίτητη η σωστή αποθήκευση του υπολειπόμενου δείγματος πριν την επανεξέταση (ανατρέξτε στην ενότητα *Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων* για περισσότερες πληροφορίες).
- e. Μπορεί να χρειαστεί η μη αυτόματη αντιστοίχιση των αναλυτών PCA3 και PSA για να καθοριστεί η βαθμολογία PCA3 (ανατρέξτε στην ενότητα *Χειροκίνητη Αντιστοίχιση* για περισσότερες πληροφορίες).

## 2. Αραίωση Δειγμάτων Υψηλότερων από το Εύρος

- a. Εάν η συγκέντρωση ενός δείγματος επεκτείνεται πέρα από τον Βαθμονομητή 5 σε μία έγκυρη εκτέλεση, το αποτέλεσμα είναι «υψηλότερο από το εύρος» και το αποτέλεσμα θα ονομασθεί στις εκθέσεις εκτέλεσης με έναν κωδικό ανάλυσης «f» ή «F». Η συγκέντρωση θα εκφράζεται ως >[Συγκέντρωση Βαθμονομητή 5].
- b. Αναστρέψτε το επεξεργασμένο δείγμα ούρων για να το αναμίξετε πριν την αραίωση του δείγματος. Η συνιστώμενη, αν και όχι απαιτούμενη, αραίωση είναι 1:10 με χρήση του κιτ αραιωτικού δείγματος Progensa PCA3. Σε ένα κατάλληλο φιαλίδιο, προσθέστε 1.800 µL αραιωτικού δείγματος και 200 µL δείγματος. Πωματίστε το σωληνάριο και αναστρέψτε πέντε φορές ώστε να αναμιχθεί εντελώς. Στη λίστα εργασίας της εκτέλεσης, ο συντελεστής αραίωσης θα είναι «10». Αν πρόκειται να γίνει επανεξέταση και των δύο αναλυτών, διπλασιάστε τις ποσότητες (χρησιμοποιήστε 3.600 µL αραιωτικό δείγματος και 400 µL δείγμα). Ανατρέξτε στο ένθετο της συσκευασίας του κιτ αραιωτικού δείγματος Progensa PCA3. Ελέγξτε το αραιωμένο δείγμα με τη δοκιμασία.
- c. Εάν, κατά την επανεξέταση, το αποτέλεσμα του δείγματος είναι πάλι υψηλότερο από το εύρος, απαιτείται περαιτέρω αραίωση μέχρι το αποτέλεσμα του δείγματος να εμπίπτει εντός του εύρους των βαθμονομητών. Επιτρέπεται η περαιτέρω αραίωση της αρχικής αραίωσης 1:10, υπό την προϋπόθεση ότι η αρχική αραίωση 1:10 αποθηκεύτηκε σωστά (ανατρέξτε στην ενότητα *Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων* για περισσότερες πληροφορίες).

## Περιορισμοί

- A. Η Δοκιμασία Progensa PCA3 δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για ασθενείς που λαμβάνουν φάρμακα τα οποία είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τα επίπεδα PSA του ορού όπως η φιναστερίδη (Proscar, Propecia), η δουταστερίδη (Avodart) και η θεραπεία με αντι-ανδρογόνα (Lupron). Η επίδραση αυτών των φαρμάκων στην έκφραση του γονιδίου PCA3 δεν έχει αξιολογηθεί ακόμα.
- B. Ορισμένες θεραπευτικές και διαγνωστικές διαδικασίες όπως ή προστατεκτομή, η ακτινοβολήση, η βιοψία προστάτη και άλλες μπορεί να επηρεάσουν τη βιωσιμότητα του προστατικού ιστού και επομένως να επηρεάσουν τη βαθμολογία PCA3. Η επίδραση αυτών των διαδικασιών στην πραγματοποίηση της δοκιμασίας δεν έχει αξιολογηθεί ακόμα. Τα δείγματα για τη δοκιμή PCA3 θα πρέπει να συλλέγονται όταν ο γιατρός πιστεύει ότι έχει αναρρώσει ο προστατικός ιστός.
- C. Η χρήση της δοκιμασίας Progensa PCA3 περιορίζεται στο προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί για αυτή τη διαδικασία. Αδυναμία να τηρηθούν οι οδηγίες που δίδονται σε αυτό το ένθετο μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- D. Κάθε εργαστήριο πρέπει να επικυρώνει ανεξάρτητα μία διαδικασία μεταφοράς του LIS.
- E. Τα αξιόπιστα αποτελέσματα εξαρτώνται από την κατάλληλη συλλογή δείγματος ούρων. Επειδή το σύστημα μεταφοράς που χρησιμοποιείται για τη δοκιμασία Progensa PCA3 δεν επιτρέπει τη μικροσκοπική αξιολόγηση της καταλληλότητας του δείγματος ούρων, είναι απαραίτητη η εκπαίδευση των γιατρών στις τεχνικές συλλογής δείγματος ούρων. Βλ. *Συλλογή, Μεταφορά και Αποθήκευση Δειγμάτων*. Για λεπτομερείς πληροφορίες, ανατρέξτε στο ένθετο της συσκευασίας που παρέχεται στο κιτ μεταφοράς δείγματος ούρων Progensa PCA3.
- F. Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη δοκιμασία Progensa PCA3 πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα που είναι διαθέσιμα στον ιατρό. (Τα αποτελέσματα της δοκιμής μπορεί να επηρεαστούν από την ακατάλληλη συλλογή δείγματος, ένα τεχνικό σφάλμα ή την ανάμειξη του δείγματος).

## Χαρακτηριστικά απόδοσης

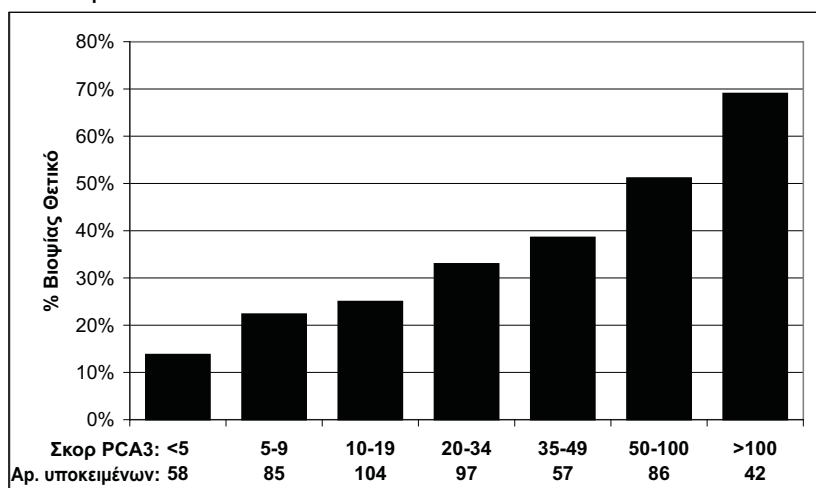
### A. Κλινικά Αποτελέσματα

#### 1. Διαγνωστική Ευαισθησία και Ειδικότητα

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης της Δοκιμασίας Progensa PCA3 καθορίστηκαν χρησιμοποιώντας δείγματα από υποκείμενα που συμμετείχαν στη μελέτη σε τέσσερις κλινικούς χώρους σε γεωγραφικά διαφορετικά σημεία της Βόρειας Αμερικής. Ο πληθυσμός των υποκειμένων αποτελείται από 529 άνδρες που είχαν προγραμματιστεί για βιοψία στον προστάτη. Τα δημογραφικά στοιχεία των υποκειμένων εμφανίζονται παρακάτω:

- Μέσος όρος Ηλικίας  $\pm$  SD =  $64 \pm 8$  ετών (διάμεση ηλικία 63, εύρος από 32 με 89)
- Μέσο επίπεδο PSA ορού =  $7,9 \pm 21,9$   $\mu\text{g/L}$  (5,6, 0,3 μέχρι 484)
- Μέσος όγκος προστάτη (καθορίζεται από ένα διορθικό υπερηχογράφημα) =  $44 \pm 25$  κ.εκ. (39, 5 με 225)
- 34% (180/529) θετικοί στη βιοψία για καρκίνο του προστάτη

Στην Εικόνα 3 εμφανίζεται ο συσχετισμός μίας βαθμολογίας PCA3 με την πιθανότητα θετικής βιοψίας. Όσο αυξάνεται η βαθμολογία PCA3, αυξάνεται και η εμφάνιση βιοψιών θετικών για καρκίνο στα υποκείμενα.



**Εικόνα 3. Συσχετισμός ενός PCA3 Score με την Πιθανότητα Θετικής Βιοψίας**

Πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των Χαρακτηριστικών λειτουργίας του δέκτη (ROC) χρησιμοποιώντας τη βιοψία προστάτη ως μέθοδο αναφοράς σύμφωνα με το CLSI GP10-A (1995) (4). Για τη Δοκιμασία Progensa PCA3, η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) ήταν 0,685 (95% διάστημα εμπιστοσύνης = 0,637 με 0,733). Στον Πίνακα 6 εμφανίζεται η διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα σε διαφορετικές τιμές αποκοπής (cutoff) για τη βαθμολογία PCA3. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίζει τις τιμές αποκοπής (cutoff) για τη διαγνωστική ευαισθησία ή την ειδικότητα (ανατρέξτε στην ενότητα *Ερμηνεία αποτελεσμάτων*).

**Πίνακας 6: Ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας Progensa PCA3 σε διαφορετικές τιμές αποκοπής (cutoff) βαθμολογίας PCA3**

Τιμή αποκοπής (cutoff) βαθμολογίας PCA3	5	10	15	25	35	50	95
<b>Ευαισθησία</b>	96%	85%	77%	63%	53%	41%	17%
<b>Ειδικότητα</b>	14%	33%	47%	61%	74%	84%	95%

## 2. Μελέτες Σταθερότητας Δείγματος

- a. Σταθερότητα στο σύνολο των ούρων: Συλλέχθηκαν από 10 υποκείμενα την πρώτη λήψη ούρων και αποθηκεύτηκαν στους 2 °C με 8 °C ή στους 30 °C πριν την επεξεργασία τους με την προσθήκη Μέσου Μεταφοράς Ούρων (UTM). Στους 2 °C με 8 °C, παρατηρήθηκε σημαντική υποβάθμιση του RNA των PCA3 και PSA, σε ορισμένα δείγματα, μετά από 4 ώρες. Επομένως, το σύνολο των ούρων πρέπει να υποστεί επεξεργασία εντός 4 ωρών. Στους 30 °C, παρατηρήθηκε σημαντική υποβάθμιση σε λιγότερο από 1 ώρα. Επομένως, το σύνολο των ούρων πρέπει πάντα να καταψύχεται ή να φυλάσσεται σε πάγο πριν την επεξεργασία του.
- b. Σταθερότητα σε επεξεργασμένα ούρα: Δώδεκα δείγματα επωάστηκαν στους 4 °C ή 30 °C για 38 ημέρες. Στους 4 °C, το RNA των PCA3 και το PSA ήταν σταθερά για 21 ημέρες, στους 30 °C για 5 ημέρες. Δείγματα που αποθηκεύτηκαν στους -20 °C και τους -70 °C έχουν επιδείξει σταθερότητα του RNA των PCA3 και PSA για έως και 90 ημέρες.
- c. Σταθερότητα ψύξης-απόψυξης: δείγματα που έκαναν 6 φορές τον κύκλο από τους 37 °C και τους -70 °C. Δεν παρατηρήθηκε καμία μείωση στα επίπεδα αντιγραφής του RNA των PCA3 και PSA.

## B. Αποτελέσματα Ανάλυσης

### 1. Ευαισθησία Ανάλυσης

Για την αξιολόγηση της ευαισθησίας της δοκιμασίας χρησιμοποιήθηκε ένας αναλυτικός πίνακας ευαισθησίας που αποτελείται από αραιωμένο *in vitro* μεταγράφημα RNA. Ένας χειριστής ήλεγξε τον πίνακα σε δώδεκα εκτελέσεις πέντε επαναληπτικών χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια από μία μόνο παρτίδα. Το όριο εντοπισμού και το όριο ποσοτικοποίησης υπολογίστηκαν σύμφωνα με το CLSI EP17-A (2004) (5). Το όριο εντοπισμού του αναλύτη PCA3 ήταν 80 c/mL, για τον αναλύτη PSA ήταν 1.438 c/mL. Το όριο ποσοτικοποίησης και για τους δύο αναλύτες ήταν ο Βαθμονομητής 2.

### 2. Ειδικότητα Ανάλυσης

- a. Μη ματισμένο μεταγράφημα: Η δοκιμασία Progensa PCA3 σχεδιάστηκε για να εντοπίζει μόνον το ματισμένο στο εξόνιο 3-εξόνιο 4 του RNA του PCA3 που είναι ειδικό για τον καρκίνο του προστάτη (2). Η δοκιμασία δεν εντόπισε 1 εκατομμύριο c/mL μη ματισμένου RNA του PCA3 σημαντικά πάνω από το υπόβαθρο.
- b. Η ειδικότητα του RNA του PCA3 στα ούρα για τον προστάτη: Τα δείγματα από υποκείμενα μετά από ριζική προστατεκτομή (n = 97) εξετάστηκαν με τη δοκιμασία Progensa PCA3 και συγκρίθηκαν τα επίπεδα RNA του PCA3 με αυτά των υποκειμένων πριν τη βιοψία (n = 464). Το διάμεσο c/mL του RNA του PCA3 ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης της δοκιμασίας για δείγματα από υποκείμενα μετά από προστατεκτομή, ενώ το διάμεσο c/mL του RNA του PCA3 για δείγματα υποκειμένων πριν από τη βιοψία ήταν 7.243 c/mL. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνουν ότι το RNA του PCA3 στα ούρα οφείλεται στον προστάτη.
- c. Ειδικότητα ιστού: Το συνολικό RNA εξήχθη από τους ιστούς δύο μοναδικών αρρένων δοτών ανά τύπο ιστού, προστέθηκε σε αραιωτικό δείγματος (10 ng ανά αντίδραση) και ελέγχθηκε με τη Δοκιμασία Progensa PCA3. Ο ιστός του προστάτη ήταν ο μόνος τύπος που ανιχνεύτηκε πάνω από το όριο ανίχνευσης του RNA του PCA3 από τους τύπους των ιστών που εμφανίζονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Τύποι ανδρικών ιστών που ελέγχθηκαν για RNA του PCA3

Τύπος Ιστού	
Ουροδόχος κύστη (Κανονικός)	Νεφρό
Ουροδόχος κύστη (Όγκος)	Πέος
Μυελός των οστών	Προστάτης
Σπερματικός πόρος	Σπερματοδόχος κύστη
Επιδιδυμίδα	Όρχις

- d. Παρεμποδίζουσες ουσίες: Οι ουσίες που αναφέρονται στον Πίνακα 8 προστέθηκαν σε κλάσματα δεξαμενής επεξεργασμένων ανδρικών ούρων. Τα δείγματα εξετάστηκαν με τη δοκιμασία Progensa PCA3 σύμφωνα με το CLSI EP7-A2 (2005) (6). Στις συγκεντρώσεις που αναφέρονται, δεν παρατηρήθηκε καμία παρεμβολή στη δοκιμασία.

Πίνακας 8: Ηλεγμένες Ουσίες για Παρεμβολή στη Δοκιμασία Progensa PCA3

Θεραπευτικοί παράγοντες		Θεραπευτικοί παράγοντες, συνέχεια	
Ουσία	Συγκέντρωση Δοκιμής	Ουσία	Συγκέντρωση Δοκιμής
Ακεταμινοφαίνη/Κωδεΐνη	5,34 $\mu\text{mol/L}$	Uroxatral	30 mg/L
Ατορβαστατίνη	25 mg/L	Δοξαζοσίνη	1,33 $\mu\text{mol/L}$
Λισινοπρίλη	0,74 $\mu\text{mol/L}$	Τεραζοσίνη	7,8 $\mu\text{mol/L}$
Αμλοδιπίνη	245 $\mu\text{mol/L}$	Φιναστερίδη	15 mg/L
Ατενολόλη	37,6 $\mu\text{mol/L}$	Ταμσουλοσίνη	1,2 $\mu\text{g/L}$
Σουλφασαλαζίνη	754 $\mu\text{mol/L}$	Μετφορμίνη	310 $\mu\text{mol/L}$
Εσομεπραζόλη	120 mg/L	Σιλδεναφίλη	12,9 $\mu\text{mol/L}$
Αλλοπουρινόλη	294 $\mu\text{mol/L}$	Saw Palmetto	1.600 mg/L
Δυφαινυδραμίνη	19,6 $\mu\text{mol/L}$	Σελήνιο	0,275 mg/L
Ακεταμινοφαίνη	1.324 $\mu\text{mol/L}$		
Ακετυλοσαλικυλικό οξύ	3,62 mmol/L		
		Στοιχεία Ούρων	
		Ουσία	Συγκέντρωση Δοκιμής
		Ουρικό οξύ	1,4 mmol/L
		Αιμοσφαιρίνη	2 g/L
		Λευκά αιμοσφαίρια	$4,56 \times 10^7$ κύτταρα/L
		Ερυθρά αιμοσφαίρια	$3,06 \times 10^7$ κύτταρα/L
		Αλβουμίνη	50 g/L
		Χολερυθρίνη (ασύζευκτη)	342 g/L
		IgG	60 g/L

### 3. Ορθότητα

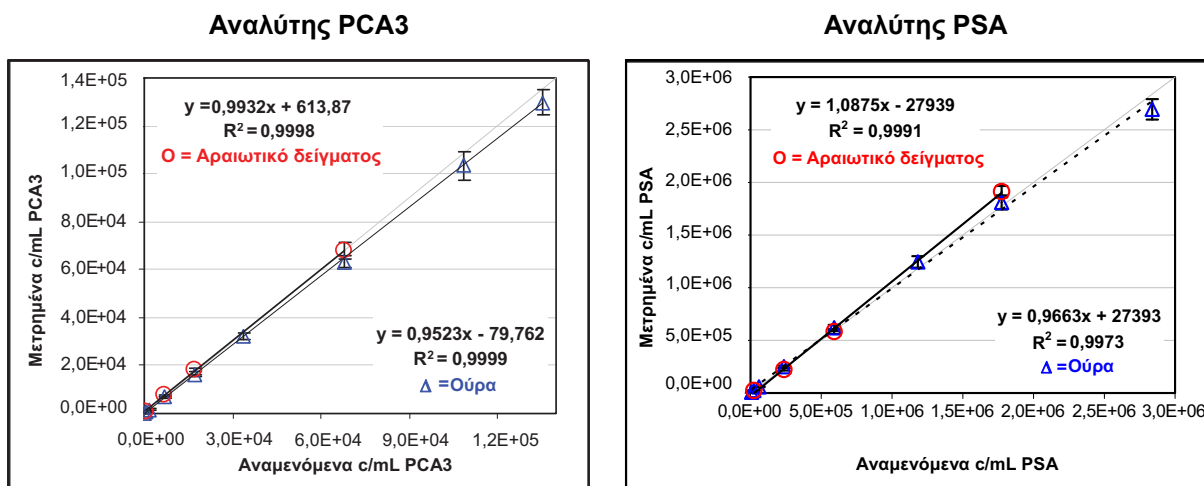
Η ακρίβεια της δοκιμασίας Progensa PCA3 αξιολογήθηκε σύμφωνα με το CLSI EP15-A2 (2005) (7). Τα μεταγραφήματα RNA των PCA3 και PSA ποσοτικοποιήθηκαν με φασματοφωτομετρία UV-vis, προστέθηκαν σε επεξεργασμένα φυσιολογικά γυναικεία ούρα (δεν ανιχνεύεται RNA των PCA3 ή PSA) και μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις στη δοκιμασία Progensa PCA3. Το ποσοστό (%) ανάκτησης υπολογίστηκε ως ο λόγος του μετρηθέντος c/mL προς το προστεθέν c/mL επί 100.

Πίνακας 9: Ανάκτηση αντιγράφου της Δοκιμασίας Progensa PCA3

Αναλύτης	Γνωστή συγκέντρωση, c/mL	Μετρηθείσα Συγκέντρωση, c/mL	% Ανάκτησης
PCA3	750	808	108%
	7.500	7.618	102%
	18.750	18.722	100%
	75.000	70.287	94%
PSA	20.000	23.684	118%
	250.000	278.373	111%
	500.000	599.941	120%
	1.750.000	1.960.775	112%

4. Γραμμικότητα και Εύρος

Το γραμμικό εύρος της δοκιμασίας Progensa PCA3 καθορίστηκε σύμφωνα με το CLSI EP6-A (2003) (8) με βάση τη γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (ελάχιστα τετράγωνα). Προετοιμάστηκαν δύο ομάδες από σειρές αραιώσεων για δείγματα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις RNA των PCA3 και PSA. Το ένα σύνολο αραιώθηκε σε επεξεργασμένα γυναικεία ούρα και το άλλο αραιώθηκε σε αραιωτικό δείγματος. Οι αραιώσεις διήρκησαν για ολόκληρο το εύρος της δοκιμασίας ανάμεσα στο χαμηλότερο και υψηλότερο θετικό βαθμονομητή για κάθε αναλύτη. Για τους δύο αναλύτες PCA3 και PSA, τα αποτελέσματα που μετρήθηκαν από τη δοκιμασία έδειξαν μία άμεση αναλογική σχέση ανάμεσα στις αραιώσεις που δοκιμάστηκαν και στο c/mL αναλύτη που αναφέρεται. Δεν υπήρχε κάποιο σημαντικό αποτέλεσμα στον πίνακα του αραιωτικού. Βλ. Εικόνα 4.



Εικόνα 4. Γραμμικότητα της δοκιμασίας Progensa PCA3 για τους αναλύτες PCA3 και PSA

## 5. Ακρίβεια

Η ακρίβεια της δοκιμασίας Progensa PCA3 αξιολογήθηκε σύμφωνα με το CLSI EP5-A2 (2004) (9). Η επαναληψιμότητα είναι η ακρίβεια σε συνθήκες ελάχιστης ποικιλότητας και η αναπαραγωγικότητα είναι η ακρίβεια σε συνθήκες μέγιστης ποικιλότητας.

Για την επαναληψιμότητα, προετοιμάστηκε μια 3μελής ομάδα εξετάσεων που αποτελείται από αραιωμένο *in vitro* μεταγράφημα RNA. Ένας χειριστής κάποιας εγκατάστασης δοκίμασε τον πίνακα σε 20 εκτελέσεις των 5 επαναληπτικών σε 20 ημέρες χρησιμοποιώντας μία μόνο παρτίδα βαθμονομητών και μαρτύρων, μία παρτίδα αντιδραστηρίων και τον εξοπλισμό. Στον Πίνακα 10 εμφανίζεται η ακρίβεια επαναληψιμότητας της Δοκιμασίας Progensa PCA3 σε διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης της δοκιμής.

Πίνακας 10: Επαναληψιμότητα Δοκιμασίας Progensa PCA3

Αναλύτης	Μέλος Πίνακα	Μέση c/mL	Επαναληψιμότητα SD	Επαναληψιμότητα CV
PCA3	1	1.228	145	12%
	2	12.020	809	7%
	3	61.108	2.489	4%
PSA	1	48.091	3.715	8%
	2	484.457	41.026	8%
	3	2.001.430	131.554	7%

Για την αναπαραγωγικότητα, προετοιμάστηκε μία 8ελής ομάδα εξετάσεων που αποτελείται από δείγματα σε δεξαμενή (1 έως 3) και αραιωμένο *in vitro* μεταγράφημα RNA (4 έως 8). Τρεις χειριστές δοκίμασαν τον πίνακα σε 18 εκτελέσεις μέσα σε 3 ημέρες χρησιμοποιώντας μία μόνο παρτίδα βαθμονομητών και μαρτύρων, 3 παρτίδες αντιδραστηρίων και 3 φορές τον εξοπλισμό. Στους Πίνακες 11 και 12 συνοψίζεται η συνολική ακρίβεια, η ακρίβεια εντός σειράς αναλύσεων, η ακρίβεια μεταξύ εκτελέσεων, η ακρίβεια του χειριστή, η ακρίβεια του εξοπλισμού και η ακρίβεια της παρτίδας της δοκιμασίας Progensa PCA3 για το c/mL του αναλύτη και για τη βαθμολογία PCA3.

Η ποικιλότητα κατά τη διάρκεια της εκτέλεσης, μεταξύ των χειριστών και μεταξύ των εκτελέσεων ήταν σε φθίνουσα σειρά αυτές που συνέβαλαν περισσότερο στη συνολική ποικιλότητα της δοκιμασίας. Η παρτίδα του αντιδραστηρίου και ο εξοπλισμός εμφάνισαν τη μικρότερη συμβολή στη συνολική ποικιλότητα της δοκιμασίας. Αυτά τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η δοκιμασία Progensa PCA3 πραγματοποιείται αναπαραγωγίμως και ότι η βασική πηγή της ποικιλότητας είναι το τυχαίο σφάλμα (εντός σειράς αναλύσεων).



Πίνακας 11: Αναπαραγωγικότητα Δοκιμασίας ProgenSA PCA3: Ανάλυση Αντίγραφα/mL

Αναλύτης	Μέλος Πίνακα	n	Μετρηθείσα c/mL	Συνολικός CV	CV κατά τη διάρκεια της εκτέλεσής	CV, μεταξύ των εκτελέσεων	CV, μεταξύ των χειριστών	CV, μεταξύ των εξοπλισμών	CV, μεταξύ των παρτίδων
PCA3	1	36	248	27%	24%	7%	15%	11%	0%
	2	36	7.021	11%	6%	9%	9%	0%	0%
	3	36	31.469	8%	6%	5%	9%	0%	4%
	4	36	1.469	15%	13%	7%	6%	0%	1%
	5	36	14.844	7%	5%	2%	6%	0%	4%
	6	36	72.372	7%	4%	6%	0%	1%	0%
	7	36	430	26%	26%	0%	11%	0%	1%
	8	36	62.274	13%	8%	8%	3%	0%	5%
PSA	1	34	52.739	9%	6%	6%	7%	4%	2%
	2	34	218.789	10%	6%	7%	7%	4%	0%
	3	32	1.073.920	11%	4%	6%	9%	8%	0%
	4	34	37.185	9%	5%	7%	3%	0%	1%
	5	32	386.504	10%	4%	8%	6%	3%	4%
	6	34	1.518.748	12%	5%	8%	4%	3%	7%
	7	32	11.007	14%	8%	9%	0%	6%	0%
	8	34	1.694.404	11%	7%	7%	0%	1%	6%

Πίνακας 12: Αναπαραγωγικότητα Δοκιμασίας ProgenSA PCA3: Ανάλυση βαθμολογίας PCA3

Μέλος Μέλους*	n	Μέση βαθμολογία	Συνολικός CV	CV κατά τη διάρκεια της εκτέλεσής	CV, μεταξύ των εκτελέσεων	CV, μεταξύ των χειριστών	CV, μεταξύ των εξοπλισμών	CV, μεταξύ των παρτίδων
1	34	5	27%	26%	5%	23%	8%	0%
2	34	32	14%	9%	10%	12%	0%	2%
3	32	30	12%	7%	5%	17%	7%	6%
7	32	39	28%	24%	2%	8%	11%	7%
8	34	37	21%	14%	12%	0%	0%	9%

\*Τα μέλη 4 με 6 της ομάδας περιέχουν μόνον μεταγράφημα RNA PCA3 ή PSA και επομένως δεν συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την ανάλυση.

## Βιβλιογραφία

1. **Bussemakers, M.J.G., A. Van Bokhoven, G.W. Verhaegh, F.P. Smit, H.F.M. Karthaus, J.A. Schalken, F.M.J. Debruyne, N. Ru, and W.B. Isaacs.** 1999. DD3: A New Prostate-Specific Gene, Highly Overexpressed in Prostate Cancer. *Cancer Res.* **59**:5975-5979.
2. **Hessels, D., J.Mt. Klein Gunnewiek, I. van Oort, H.F.M. Karthaus, G.J.L. van Leenders, B. van Balken, L.A. Kiemeneij, J.A. Witjes, and J.A. Schalken.** 2003. DD3<sup>PCA3</sup>-based Molecular Urine Analysis for the Diagnosis of Prostate Cancer. *European Urology.* **44**:8-16.
3. **Groskopf J., S.M. Aubin, I.L. Deras, A. Blase, S. Bodrug, C. Clark, S. Brentano, J. Mathis, J. Pham, T. Meyer, M. Cass, P. Hodge, M.L. Macairan, L.S. Marks, and H. Rittenhouse.** 2006. Aptima PCA3 Molecular Urine Test: Development of a Method to Aid in the Diagnosis of Prostate Cancer. *Clin Chem.* **52**:1089-95.
4. **CLSI.** 1995. CLSI document GP10-A, Assessment of the Clinical Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic (ROC) Plots. CLSI, Wayne, PA.
5. **CLSI.** 2004. CLSI document EP17-A, Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation. CLSI, Wayne, PA.
6. **CLSI.** 2005. CLSI document EP7-A2, Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI, Wayne, PA.
7. **CLSI.** 2005. CLSI document EP15-A2, User Verification of Performance for Precision and Trueness. CLSI, Wayne, PA.
8. **CLSI.** 2003. CLSI document EP6-A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach. CLSI, Wayne, PA.
9. **CLSI.** 2004. CLSI document EP5-A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. CLSI, Wayne, PA.



Hologic, Inc.  
10210 Genetic Center Drive  
San Diego, CA 92121 Η.Π.Α.

Υποστήριξη πελατών: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

Τεχνική Υποστήριξη: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Για περισσότερες πληροφορίες επικοινωνίας, επισκεφθείτε τη διαδικτυακή τοποθεσία [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Hologic N.V.**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Οι λέξεις Hologic, Aptima, DTS, Leader, Progensa, και SB100 αποτελούν εμπορικά σήματα ή/και εμπορικά σήματα κατατεθέντα της εταιρείας Hologic, Inc. ή/και των θυγατρικών της στις Ηνωμένες Πολιτείες ή/και σε άλλες χώρες.

Το erpendorf (μορφοποιημένο) και το REPEATER είναι εμπορικά σήματα της Erpendorf AG.

Το RAININ είναι εμπορικό σήμα της Rainin Instrument, LLC.

Τα TECAN και FREEDOM EVO είναι εμπορικές ονομασίες της Tecan Group AG.

Οποιαδήποτε άλλα εμπορικά σήματα που μπορεί να παρουσιάζονται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

Το παρόν προϊόν ενδέχεται να καλύπτεται από ένα ή περισσότερα διπλώματα ευρεσιτεχνίας στις Η.Π.Α. τα οποία μπορείτε να βρείτε στη διεύθυνση [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2006 – 2018 Hologic, Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

501377EL Αναθ. 003

2018-03