

Progensa PCA3 Tests

Lietot *in vitro* diagnostikai.

Tikai eksportam no ASV.

Paredzamais pielietojums	1
Kopsavilkums un testa apraksts	1
Procedūras apraksts	1
Iekļautie reaģenti un materiāli.....	1
Materiāli.....	3
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	4
Uzglabāšanas un lietošanas prasības	5
Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana	5
Testa procedūra	6
Piezīmes procedūras veikšanai.....	9
Kvalitātes kontroles procedūras	11
Rezultātu interpretācija.....	11
Ierobežojumi.....	14
Veiktspējas raksturojums.....	15
Bibliogrāfija	20

Paredzamais pielietojums

Progensa PCA3 Tests ir *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests (NAAT), kurš nosaka Prostatas vēža (Cancer) Ģenam 3 (PCA3) ribonukleīnskābi (RNS) vīriešu urīna paraugos, lai veidotu PCA3 reitingu. PCA3 reitings ir paredzēts lietošanai kopā ar standarta uzraudzības diagnostikas algoritmiem kā palīg līdzeklis prostatas vēža diagnostikā.

Kopsavilkums un testa apraksts

Seruma izmantošana prostatai specifiska antigēna (PSA) testā prostatas vēža atklāšanai parādīja, ka biopsijas diagnoze uzrādīja mazākus, iepriekš nenosakāmus audzējus (1), tādējādi veidojot jaunu diagnostikas dilemmu: Tikai daļai vīriešu ar palielinātu seruma PSA līmeni ir nosakāms prostatas vēzis. Vīriešiem ar vismaz vienu negatīvu biopsiju bieži tika konstatēts pastāvīgi paaugstināts seruma PSA sakarā ar sākotnēji palielinātu prostatu un labdabīgu prostatas hiperplāziju (BPH). Tomēr, ievērojamam vīriešu daudzumam ar nelielu palielinātu seruma PSA (2.5-4.0 µg/L) ir vai attīstīsies klīniski nozīmīgs prostatas vēzis (1). Lai arī biopsija paliek zelta standarts prostatas vēža noteikšanai, ir nepieciešami precīzāki testi ar labāku selektivitāti, lai atvieglotu būtisku secinājumu veikšanu prostatas biopsijas rezultātu sakarā.

PCA3 (arī zināms kā "PCA3^{DD3m}" vai "DD3^{PCA3m}") ir nekodēta prostatai raksturīga RNS, kura ir lielā mērā ļoti izteikta prostatas vēža šūnās ar caurmērā 66-kārtīgu aktivāciju salīdzinot ar saistītajiem labdabīgajiem audiem (2). Pretēji tam, PSA gēna klātbūtne ir līdzīga vēža un labdabīgajās prostatas šūnās; tādējādi PSA RNS līmeņi var tikt lietoti, lai normalizētu prostatai raksturīgo ribonukleīnskābi (RNS) molekulāro testu paraugos. Tika parādīta realizācijas iespēja kvantitatīvajam uz PCA3 balstītajam molekulārajam testam no urīna nogulsniem (2) un pilnvērtīgam urīna (3).

Progensa PCA3 Testā tiek pielietots pilnvērtīgs urīns, kurš ir ievākts pēc digitālās rektālās izpētes (DRE) stimulējot ar glaudīšanu katru daivu trīs reizes. DRE atbrīvo prostatas šūnas caur prostatas kanālu sistēmu urīna traktā, kur tās var ievākt pirmajā urīna daudzumā. Urīns ir papildus apstrādāts pievienojot Urīna Transporta vidi (UTM), kura izraisa šūnu noārdīšanu un stabilizē RNS. Tiek noteikts PCA3 un PSA RNS daudzums, tad tiek noteikts PCA3 reitings balstoties uz PCA3/PSA RNS attiecību. Papildus, PCA3 signāla normalizācijai, PSA RNS mērījums tāpat kalpo kā apstiprinājums tam, ka prostatai raksturīgas RNS daudzums ir pietiekošs, lai veidotu derīgu rezultātu. Augstāki PCA3 reitingi ir saistīti ar augstāku iespējamību pozitīvai prostatas biopsijai.

Procedūras apraksts

Progensa PCA3 Tests sastāv no diviem kvantitatīviem nukleīnskābes amplifikācijas testiem. Progensa PCA3 Testā apvienotas mērķa satveršanas, transkripcijas amplifikācijas (TMA), un Hibridizācijas aizsardzības testa (HPA) tehnoloģijas, lai izveidotu urīna parauga apstrādes plūsmu, pastiprinātu mērķa RNS, un, attiecīgi, noteiktu amplikonu.

Veicot Progensa PCA3 Testu laboratorijā mērķa RNS molekulas tiek izolētas no urīna paraugiem ar mērķa satveršanu. Oligonukleotīdi ("satvertie oligonukleotīdi"), kuri atbilst sekvenču specifiskiem mērķu reģioniem tiek hibridizēti ar mērķiem urīna paraugos. Atsevišķi satveršanas oligonukleotīdi tiek lietoti katram mērķim. Pēc tam hibridizēto mērķi satver magnētiskās mikrodaļiņas, kuras tiek atdalītas no urīna parauga magnētiskajā laukā. Lai izvadītu liekās komponentes no reakcijas mēģenes, tiek izmantoti skalošanas cikli. Magnētiskā atdalīšana un skalošanas cikli tiek veikti ar mērķa satveršanas sistēmu.

Mērķa amplifikācija notiek ar TMA, kas ir uz transkripciju balstīta nukleīnskābes amplifikācijas metode, kurā tiek pielietoti divi enzīmi - Moloney peļu leikozes vīrusa (MMLV) apgriezta transkriptāze un T7 RNA polimerāze. Katram mērķim tiek lietots īpašs praimeru komplekts. Apgriezta transkriptāze tiek lietota, lai veidotu mērķa sekvenču dezoksiribonukleīnskābes (DNS) kopiju (kura satur stimulējošo sekveni T7 RNA polimerāzei). T7 RNA polimerāze veido daudzas RNS amplikona kopijas no DNS kopijas veidā.

Noteikšana tiek veikta ar HPA izmantojot viena vijuma hemiluminescenti iezīmētas nukleīnskābes zondes, kuras ir amplikona sastāvā. Katram mērķa amplikonam tiek lietotas atsevišķas zondes. Iezīmētās nukleīnskābes zondes izlases veidā hibridizē ar amplikonu. Izlases reaģents diferencē hibridizētas un nehibridizētas zondes deaktivējot iezīmes nehibridizētām zondēm. Noteikšanas stadijas laikā ar luminometru tiek izmērīts hemiluminescences signāls, ko veido hibridizēta zonde un tas ir izteikts relatīvajās gaismas vienībās (RLU).

PCA3 un PSA RNS daudzums tiek noteikts atsevišķās mēģenēs un tiek noteikts PCA3 reitings. Kalibratori, kuri satur zināmus PCA3 vai PSA RNS transkripta daudzumus tiek iekļauti katrā testa procesa veikšanas laikā un tiek izmantoti, lai veidotu standarta līkni. PCA3 un PSA kontroles arī ir iekļautas, lai apstiprinātu rezultātu precizitāti, kuri ir interpolēti no standarta līknes.

Iekļautie reaģenti un materiāli

Piezīme: informāciju par jebkādiem riska un piesardzības priekšrakstiem, kas var būt saistīti ar reaģentiem, skatīt Drošības datu lapu bibliotēkā (Safety Data Sheet Library) www.hologic.com/sds.

Reaģenti un iekļautie materiāli Progensa PCA3/PSA Testa komplektā Progensa PCA3 Testam ir minēti zemāk. Reaģentu apzīmējumu simboli ir norādīti atbilstoši reaģenta nosaukumam.

Progensa PCA3 Testa komplekts, 2 x 100 Reakcijas, kat. Nr. 302355 (8 kārbas)

Progensa PCA3 100 reakciju komplekts

Progensa PCA3 aukstuma kārba - uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām		
Simbols	Komponente	Daudzums
A	PCA3 Amplifikācijas Reaģents Neinfekciozas nukleīnskābes dehidrētas HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur <10% pildvielu.	1 pudelīte
E	PCA3/PSA Enzīmu Reaģents Apgrieztā transkriptāze un RNA polimerāze dehidrētas HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur <10% pildvielu.	1 pudelīte
P	PCA3 Zondes Reaģents Neinfekciozas hemiluminescentas DNS zondes dehidrētas ar sukcinātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% pildvielu un <5% litija laurilsulfāta.	1 pudelīte

Progensa PCA3 istabas temperatūras kārba – uzglabāt 15°C līdz 30°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
AR	PCA3 Amplifikācijas Rekonstitūcijas šķīdums Šķīdums uz ūdens bāzes ar konservantiem (<1% parabēnu).	1 X 9.3 mL
ER	PCA3/PSA Enzīmu Rekonstitūcijas šķīdums Ar HEPES buferēts šķīdums ar virsmas aktīvo vielu (10% Triton X-100) un 20% glicerola.	1 X 3.3 mL
PR	PCA3/PSA Zondes Rekonstitūcijas šķīdums Ar sukcinātu buferēts šķīdums, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.	1 X 12.4 mL
S	PCA3/PSA Izlases reaģents Ar borātu buferēts šķīdums ar virsmas aktīvo vielu (1% Triton X-100).	1 X 31 mL
TCR	PCA3 Mērķa satveršanas reaģents Neinfekcioza nukleīnskābe HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur cieta fāzi.	1 X 22 mL
	Noslēgšanas kartes	1 iepakojums
	Rekonstitūcijas aptveres	1 iepakojums

Progensa PCA3 kalibratora un kontroļu komplekts - uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
CAL	PCA3 kalibrators 1 Ar fosfātu buferēts šķīdums, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.	1 X 2.0 mL
CAL	PCA3 kalibratori 2-5 Neinfekcioza PCA3 nukleīnskābe ar fosfātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.	4 X 1.7 mL
PC	PCA3 Pozitīvās kontroles Neinfekcioza PCA3 nukleīnskābe ar fosfātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.	2 X 1.7 mL
	PCA3 koncentrācijas informācijas lapa	1 lapa

Progensa PSA 100 reakciju komplekts

Progensa PSA aukstuma kārba - uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
A	PSA Amplifikācijas Reaģents Neinfekciozas nukleīnskābes dehidrētas HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur <10% pildvielu.	1 pudelīte
E	PCA3/PSA Enzīmu Reaģents Apgrieztā transkriptāze un RNA polimerāze dehidrētas HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur <10% pildvielu.	1 pudelīte
P	PSA Zondes Reaģents Neinfekciozas hemiluminescentas DNS zondes dehidrētas ar sukcinātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% pildvielu un <5% litija laurilsulfāta.	1 pudelīte

Progensa PSA istabas temperatūras kārba – uzglabāt 15°C līdz 30°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
AR	PSA Amplifikācijas Rekonstitūcijas šķīdums Šķīdums uz ūdens bāzes ar konservantiem (<1% parabēnu).	1 X 9.3 mL
ER	PCA3/PSA Enzīmu Rekonstitūcijas šķīdums Ar HEPES buferēts šķīdums ar virsmas aktīvo vielu (10% Triton X-100) un 20% glicerola.	1 X 3.3 mL

PR	PCA3/PSA Zondes Rekonstitūcijas šķīdums <i>Ar sukcinātu buferēts šķīdums, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.</i>	1 X 12.4 mL
S	PCA3/PSA Izlases reaģents <i>Ar borātu buferēts šķīdums ar virsmas aktīvo vielu (1% Triton X-100).</i>	1 X 31 mL
TCR	PSA Mērķa satveršanas reaģents <i>Neinfekcioza nukleīnskābe HEPES buferētā šķīdumā, kurš satur cieto fāzi.</i>	1 X 22 mL
	Noslēgšanas kartes	1 iepakojums
	Rekonstitūcijas aptveres	1 iepakojums

Progensa PSA kalibratora un kontroļu komplekts - uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
CAL	PSA kalibrators 1 <i>Ar fosfātu buferēts šķīdums, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.</i>	1 X 2.0 mL
CAL	PSA kalibratori 2-5 <i>Neinfekcioza PSA nukleīnskābe ar fosfātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.</i>	4 X 1.7 mL
PC	PSA Pozitīvās kontroles <i>Neinfekcioza PSA nukleīnskābe ar fosfātu buferētā šķīdumā, kurš satur <5% litija laurilsulfāta.</i>	2 X 1.7 mL
	PSA koncentrācijas informācijas lapa	1 lapa

Aptima Testa šķīdumi – uzglabāt 15°C līdz 30°C temperatūrā (2 kārbas) līdz uz etiķetes norādītā derīguma termiņa beigām

Simbols	Komponente	Daudzums
W	Skalošanas šķīdums <i>Ar HEPES buferēts šķīdums ar <2% nātrija dodecila sulfāta.</i>	1 X 402 mL
DF	Buferis Deaktivācijas šķīdumam <i>Ar bikarbonātu buferēts šķīdums.</i>	1 X 402 mL
O	Eļļas reaģents <i>Silikona eļļa.</i>	1 X 24.6 mL

Piezīme: Visus Progensa PCA3 Testa komplektā iekļautos materiālus var iegādāties arī atsevišķi (detalizēti skatīt nodaļā Materiāli).

Materiāli

Piezīme: informāciju par jebkādiem riska un piesardzības priekšrakstiem, kas var būt saistīti ar reaģentiem, skatīt Drošības datu lapu bibliotēkā (Safety Data Sheet Library) www.hologic.com/sds.

Piezīme: Materiāliem, kurus piedāvā Hologic ir norādīti kataloga numuri.

Nepieciešamie materiāli, kuri tiek piegādāti atsevišķi

	Kat. Nr.
Progensa PCA3 Urīna paraugu transporta komplekts	302352
Hologic Leader HC+ Luminometrs	104747
Hologic Target Capture System (TCS) mērķa satveršanas sistēma	104555
Aptima Auto Detect Komplekts	301048
2 eppendorf Repeater Plus pipetētāji	105725

dozētas pipetēšanas uzgaļi (2.5 mL, 5.0 mL, 25.0 mL)

Tāpat:

2 vairāku mēģeņu vorteks mikseri	102160F
3 Cirkulējoša ūdens peldes (62°C ± 1°C, 42°C ± 1°C, 62°C ± 1°C)	104586F
3 ieliktni ūdens peldēm	104627

Vai:

2 SB100 sausas karstās peldes/vorteks mikseri (var būt nepieciešamas papildus SB100 iekārtas atkarībā no darba apjoma)	105524F
--	---------

Mikropipetētājs, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Uzgaļi, 1000 µL P1000	105049
Pipetētājs, eppendorf 20 līdz 200 µL	105726
Uzgaļi, Pipete 20 līdz 200 µL	

Tīrīšanas līdzeklis (vismaz 5.25% līdz 7% vai 0.7 M līdz 1.0 M nātrija hipohlorīda šķīdums)

Plastikāta konteiners ar lielu atvērumu	
Standarta urīna savākšanas konteineri, bez konservantiem	
Desmit mēģeņu vienības (TTU)	TU0022
Desmit uzgaļu kasetes (TTC)	104578
SysCheck kalibrācijas standarts	301078

Papildus materiāli

	Kat. Nr.
Progensa PCA3 100 reakciju komplekts	302354
Progensa PSA 100 reakciju komplekts	302357
Progensa PCA3 kalibratoru un kontroļu komplekts	302353
Progensa PSA kalibratoru un kontroļu komplekts	302356
Progensa PCA3/PSA kvalifikācijas paneli	302350
Progensa PCA3 Paraugu atšķaidīšanas komplekts	302351
Aptima Testa šķīdumu komplekts	302002C

Vienreizējas lietošanas pipetes uzgali ar filtru (1 mL) 10612513(Tecan)	
TECAN Freedom EVO 100/4	900932
PCA3 nosedzošās plates mezgls, DTS 800	902021
Reaģentu rezervuārs (40 mL ceturtdaļu modulis)	104765
Dalītais reaģentu rezervuārs (19 mL x 2 ceturtdaļu modulis)	901172
Transporta mēģenes	302521
Aizvietošanas caurduramie vāciņi	302520
Aizvietošanas necaurduramie vāciņi	103036A

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- A. *In vitro* diagnostikai.
B. Tikai eksportam no ASV.

Attiecībā uz laboratoriju

- C. Lietot tikai komplektos minētos vai nozīmētos vienreizējos inventāru un materiālus.
- D. Jāņem vērā laboratorijas ikdienas piesardzības pasākumi. Darba zonā nav pieļaujama pārtikas un dzērienu lietošana, smēķēšana. Lietot vienreizējos bezpulvera cimdus, acu aizsardzības līdzekļus un laboratorijas aizsargapģērbus paraugu un komplekta reaģentu lietošanas laikā. Pēc saskares ar paraugiem un komplekta reaģentiem rūpīgi nomazgāt rokas.
- E. **Brīdinājums: Kairinošs un korozīvs:** Izvairīties no Auto Detect 1 un Auto Detect 2 kontakta ar ādu, acīm un glotlādām. Ja šie šķidrums nonāk kontaktā ar ādu vai acīm, skalot ar ūdeni. Ja veidojas šo šķidrumu nopilējumi, atšķaidīt tos ar ūdeni pirms nosusināšanas.
- F. Darba virsmas, pipetes un citu inventāru regulāri jādekontaminē ar 2.5% līdz 3.5% (0.35M līdz 0.5M) nātrija hipohlorīda šķīdumu (skatīt nodaļu Piezīmes procedūras veikšanai).
- G. Ļoti ieteicams izveidot atsevišķu zonu pēcamplifikācijas posmu veikšanai, lai samazinātu testa amplikonu piesārņojumu. Šai zonai vajadzētu būt atdalītai no pirmsamplifikācijas zonas, kur notiek reaģentu sagatavošanas, mērķa satveršanas un amplifikācijas stadijas.
- H. Lai pasargātu laboratorijas zonas no piesārņojuma ar amplikonu, laboratorijā jābūt organizētai vienvirziena darba plūsmai: no reaģentu sagatavošanas līdz pēcamplifikācijas procesam. Paraugi, iekārtas un reaģenti nedrīkst tikt atgriezti zonā, kurā tika veikts iepriekšējais testa posms. Personālam pieļaujams atgriezties iepriekšējo testa posmu darba zonās ievērojot atbilstošus piesārņojuma kontroles pasākumus.

Attiecībā uz paraugiem

- I. Pēc urīna pievienošanas šķidrums līmenim urīna transporta mēģenē jābūt starp divām melnajām indikatora līnijām uz mēģenes. Pretējā gadījumā paraugs jāuzskata par nederīgu.
- J. Parauga pārvietošanas laikā ir jāievēro atbilstoši parauga uzglabāšanas nosacījumi, lai nodrošinātu parauga atbilstību prasībām. Paraugu stabilitāte citos pārvietošanas apstākļos netika izvērtēta.
- K. Derīguma termiņi, kuri norādīti uz paraugu ievākšanas komplektiem attiecas uz paraugu ievākšanas vietu, nevis uz testa veikšanas vietu. Paraugi, kas tika ievākti laikā pirms parauga ievākšanas komplekta

derīguma termiņa notecēšanas ir derīgi arī tādā gadījumā, kad derīguma termiņš parauga ievākšanas mēģenei ir beidzies.

- L. Uzglabāt visus paraugus norādītajās temperatūrās. Testa veikspēju var ietekmēt neatbilstoša paraugu uzglabāšana. Skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana* detalizētiem norādījumiem.
- M. Urīna paraugi var būt infekciozi. Jāievēro vispārējie drošības pasākumi šī testa veikšanas laikā. Laboratorijas vadītājs ir atbildīgs par atbilstošu paraugu uzturēšanas un utilizācijas metožu noteikšanu. Progensa PCA3 Testa procedūras veikšana ir atļauta tikai personālam, kurš ir atbilstoši apmācīts darbam ar infekcioziem materiāliem.
- N. Izvairīties no savstarpēja piesārņojuma paraugu apstrādes laikā. Paraugi var saturēt paaugstinātus mērķa RNS daudzumus. Pārliecināties, ka paraugu konteineri nesaskaras savā starpā un izlietotie materiāli jāutilizē izvairoties no to pārnesšanas pāri atvērtajiem konteineriem. Jānomaina cimdi, ja tie nonāk saskarē ar paraugiem.

Attiecībā uz testu

- O. Nelietot šo komplektu pēc derīguma termiņa beigām.
- P. Strādājot ar Progensa PCA3 testa komplektu, nemainīt vietām, nesajaukt un neapvienot PCA3 testa reaģentus no komplektiem ar atšķirīgiem partiju numuriem (t.i., katram analītam, testa reaģentiem "izotermiskajā (aukstuma)" kastē un "istabas temperatūras" kastē jābūt vienādam partijas numuram). Testa reaģentus var izmantot ar atšķirīgiem kalibratoru un kontroļu komplektu partijas numuriem. Optima Testa Šķidrumu komplekti ir savstarpēji aizvietojami. PCA3 un PSA reaģentu komplektu numuriem nav jāsaskan savā starpā.
- Q. Uzglabāt visus paraugus norādītajās temperatūrās. Testa veikspēju var ietekmēt neatbilstoša paraugu uzglabāšana. Skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana* un *Piezīmes procedūras veikšanai* detalizētiem norādījumiem.
- R. Testa deaktivācijai (skatīt nodaļu *Testa procedūra*), minimālajai nātrija hipohlorīda šķīduma koncentrācijai jābūt 2.5% (0.35 M) **pēc** 1:1 atšķaidīšanai ar deaktivācijas buferi. Tādēļ sākotnējai nātrija hipohlorīda šķīduma koncentrācijai jābūt vismaz 5% līdz 7% (0.7 M līdz 1.0 M) nātrija hipohlorīda, lai iegūtu galīgo koncentrāciju, kura ir nepieciešama deaktivācijai.
- S. Jālieto uzgali ar hidrofobiem ieliktniem. Lietošanai ar šo testu ir nepieciešami vismaz divi speciāli šim testam paredzētie pipetētāji: viens lietošanai mērķa satveršanas un amplifikācijas procedūrām, otrs lietošanai pēcamplifikācijas procedūrām. Viens mikropipetētājs ir paredzēts tikai paraugu pārnesšanai, ja netiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta. Visi pipetētāji regulāri jātīra atbilstoši aprakstam nodaļā *Piezīmes procedūras veikšanai*.
- T. Izmantojot dozējošos pipetētājus reaģentu pievienošanai, nepieskarties mēģenei ar pipetes uzgali, lai izvairītos no pārnesšanas starp mēģenēm.
- U. Ir nepieciešama atbilstoša mikšēšana, lai iegūtu adekvātus testa rezultātus. Detalizētam aprakstam skatīt nodaļu *Piezīmes procedūras veikšanai*.
- V. Pirmsamplifikācijas, amplifikācijas un pēcamplifikācijas testa stadijām jāparedz atsevišķas ūdens peldes.
- W. Atsevišķi reaģenti šajā komplektā ir apzīmēti ar riska un drošības apzīmējumiem saskaņā ar Eiropas Savienības Direktīvu 1999/45/EC un ar tiem ir atbilstoši jārikojas. Materiālu Drošības datu lapas var apskatīt vietnē www.hologic.com un tās ir pieejamas pēc pieprasījuma.

Uzglabāšanas un lietošanas prasības

A. Skatīt Tabulā 1 informāciju par reaģentu uzglabāšanas laiku.

Tabula 1: Reaģentu uzglabāšana

Reaģents/ Šķidrums	Neatvērta iepakojuma uzglabāšana	Atvērta iepakojuma/Rekonstituēta reaģenta stabilitāte (līdz derīguma termiņa beigām)
Amplifikācijas reaģenti	2°C līdz 8°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 2°C līdz 8°C temperatūrā*
Zondes reaģenti	2°C līdz 8°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 2°C līdz 8°C temperatūrā*
Enzīmu reaģents	2°C līdz 8°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 2°C līdz 8°C temperatūrā*
Mērķa satveršanas reaģenti	15°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 15°C līdz 30°C temperatūrā
Amplifikācijas rekonstitūcijas šķidrums	2°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	N/A (vienreizējai lietošanai)
Zondes rekonstitūcijas šķidrums	2°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	N/A (vienreizējai lietošanai)
Enzīmu rekonstitūcijas šķidrums	2°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	N/A (vienreizējai lietošanai)
Izlasses reaģents	2°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 15°C līdz 30°C temperatūrā
Kalibratori	2°C līdz 8°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	N/A (vienreizējai izmantošanai)
Kontroles	2°C līdz 8°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	N/A (vienreizējai izmantošanai)
Eļļas reaģents	15°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 15°C līdz 30°C temperatūrā

Skalošanas šķidrums	15°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	30 dienas 15°C līdz 30°C temperatūrā
Bufēris deaktivācijas šķidrumam	15°C līdz 30°C temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām	28 dienas 15°C līdz 30°C temperatūrā

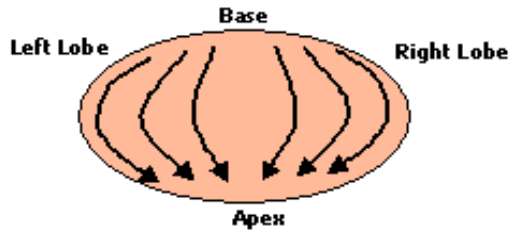
* var lietot vēlreiz citu testa procesu veikšanai līdz 4 reizēm, ņemot vērā, ka kopējais laiks istabas temperatūrā nav ilgāks par 24 stundām.

- B. Neuzglabāt Mērķa satveršanas reaģentu temperatūrās zem 15°C.**
- C. Zondes reaģents un rekonstituētais Zondes reaģents ir gaismas jutīgi. Šos reaģentus uzglabāt un sagatavot lietošanai tumšā vietā.
- D. Nesasaldēt reaģentus.**
- E. Nelietot reaģentus vai šķidrumus pēc derīguma termiņa notecēšanas.
- F. Progensa PCA3 un PSA Kalibratori un Kontroles ir vienreizējas lietošanas pudelītes un tās pēc lietošanas ir jāutilizē.
- G. Izmaiņas piegādāto reaģentu fizikālajos parametros, t.i., izskatā, var norādīt uz šo materiālu nestabilitāti vai bojājumiem. Ja izskata izmaiņas tiek novērotas pēc to rekonstitūcijas (piemēram, acīmredzamas krāsas izmaiņas vai duļķainums, kas norāda uz mikrobu piesārņojumu), sazināties ar Hologic Tehniskā atbalsta dienestu pirms to lietošanas.
- H. Utilizēt rekonstituētus reaģentus pēc 30 dienām vai pēc derīguma termiņa beigām, atkarībā no tā, kāds termiņš pienāk pirmais.
- I. Pāri palikušos vai rekonstituētus reaģentus var lietot turpmāko testu veikšanai, ja tie ir atbilstoši uzglabāti pēc pirmās lietošanas. Pāri palikušo reaģentu drīkst apvienot ar citu svaigi sagatavotu vai pāri palikušo reaģentu no tās pašas partijas. Nedrīkst savstarpēji mainīt, jautāt vai apvienot reaģentus no komplektiem ar dažādiem partiju numuriem (Brīdinājumi un piesardzības pasākumi). Apvienoto reaģentu komponentes nedrīkst pārsniegt atvērtu vai rekonstituētu reaģentu uzglabāšanas termiņus. Jāpārliecinās par apvienotu reaģentu sajaukšanos un pietiekoša daudzuma esamību, lai nodrošinātu nepieciešamo daudzumu testa veikšanai.

Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana

Progensa PCA3 Tests ir paredzēts noteikt PCA3 un PSA RNS daudzumu pirmajā urīnā, kurš ievākts pēc DRE ar trīskāršu katras daivas glaudīšanu. Urīns ir apstrādāts ar Progensa PCA3 Urīna paraugu transporta komplektu. PCA3 un PSA RNS stabilitāte urīnā un apstrādātā urīnā tika noteikta pārskatot RNS kopiju līmeņus urīna paraugos, kuri ir ievākti atbilstoši zemāk minētajiem norādījumiem.

- A. Norādījumi urīna paraugu ievākšanai un apstrādei:
1. Pacientam ir ieteicams patērēt lielu ūdens daudzumu (aptuveni 500 mL) lai nodrošinātu pietiekošu urīna daudzumu ievākšanai.
 2. Veikt DRE kā aprakstīts zemāk tieši pirms urīna parauga ievākšanas:
- Piespiest prostatu, pietiekoši, lai veiktu iedobumu aptuveni 1 cm dziļumā no virsotnes pamatnes un no malas uz vidu katrai daivai, kā parādīts Zīmējumā 1. **Veikt tieši trīs glaudošas kustības katrai daivai. Tā nav domāta kā prostatas masāža.**



Zīmējums 1: Pareizu kustību pielietojums prostatas saspiešanai

- Pēc DRE norīkot pacientu pirmā urīna daudzuma savākšanai (aptuveni 20 līdz 30 mL no pirmās urīna strūklas) atbilstoši marķētā urīna savākšanas traukā. Tam jābūt pirmajam urīna paraugam uzreiz pēc DRE. Lietot savākšanas trauku, kurā nav nekādu konservantu. Ja pacients nevar apturēt savu urīna plūsmu un dod vairāk, nekā nepieciešamie pirmie 20 līdz 30 mL, paturēt visu urīna daudzumu. Ja pacients nav spējīgs piedāvāt nepieciešamo urīna daudzumu, ir nepieciešami vismaz 2.5 mL, lai veiktu Progensa PCA3 Testu. Pretējā gadījumā paraugs ir jānoraida.

Piezīme: Ļoti augsti urīna tilpumi var pazemināt PCA3 un PSA analītu koncentrācijas un dažreiz var padarīt paraugu par nederīgu. Tādēļ pacientam ir jācenšas izvairīties no urīna savākšanas trauka piepildīšanas.

- Neapstrādātus urīna paraugus, ja tie nav nekavējoties apstrādāti, ir jāuztur temperatūrā 2°C līdz 8°C vai jātur uz ledus. Atdzesēts, neapstrādāts urīna paraugs jāpārnes urīna paraugu transporta mēģenē 4 stundu laikā pēc savākšanas. Pretējā gadījumā paraugs ir jānoraida un jāievāc jauns paraugs. Nesasaldēt neapstrādātus urīna paraugus.**
- Lai apstrādātu urīna paraugus, cieši noslēgt vāciņu un samaisīt apvēršot urīna paraugu 5 reizes, lai nodrošinātu šūnu suspensiju. Noņemt vāciņu no urīna parauga transporta mēģenes un pārnest 2.5 mL savāktā urīna mēģenē ar vienreizējas pārnesšanas pipetes palīdzību. Uz pareizu pievienotā urīna daudzumu norāda tā līmenis mēģenē, kas atrodas starp divām melnām līnijām uz urīna parauga transporta mēģenes etiķetes.
- Blīvi noslēgt urīna parauga transporta mēģenes vāciņu un samaisīt apvēršot urīna paraugu 5 reizes, lai nodrošinātu tā samaisīšanos. Tagad to var uzskatīt par apstrādātu urīna paraugu.

B. Paraugu transportēšana un uzglabāšana pirms testēšanas:

- Apstrādāti urīna paraugi jātransportē uz laboratoriju urīna parauga transporta mēģenē. Tos var pārvadāt normālos apkārtējās vides apstākļos (bez temperatūras kontroles) vai sasaldētus. Sūtīšanas grafikam jānodrošina paraugu saņemšanu testēšanas vietā 5 dienu laikā pēc savākšanas. Nekavējoties pēc paraugu sūtījuma saņemšanas laboratorijā ir jāpārbauda parauga ievākšanas mēģenes datums. Ja paraugi tika nosūtīti pie normāliem apkārtējās vides apstākļiem un saņemti vēlāk, nekā 5 dienu laikā pēc nosūtīšanas, paraugi ir jānoraida un jāveic pieprasījums ievākt citus paraugus. Laboratorijā paraugus var uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā līdz 14 dienām pirms utilizācijas, ja tas ir nepieciešams. Ja ir nepieciešami ilgāki uzglabāšanas laiki - skatīt Tabulu 2 pieļaujamiem uzglabāšanas laikiem dažādās temperatūrās.

Tabula 2: Apstrādātu urīna paraugu uzglabāšanas termiņi

Uzglabāšanas temperatūra	Laiks
Apstrādāta parauga uzglabāšana un nosūtīšana:	Līdz 5 dienām*
Pēc saņemšanas testa veikšanas vietā:	
2°C līdz 8°C temperatūrā	Līdz 14 dienām
-35°C līdz -15°C	Līdz 11 mēnešiem**
Pie -65°C vai zemākā temperatūrā	Līdz 36 mēnešiem**

*Pārsūtīšanai pieļaujama laiks normālā vides temperatūrā vai sasaldējot.

**Pieļaujama laiks pēc uzglabāšanas sasaldējot

- Apstrādāti urīna paraugi var tikt pakļauti līdz 5 sasaldēšanas-atkausēšanas cikliem.

C. Paraugu uzglabāšana pēc testēšanas:

- Paraugi pēc testēšanas ir jāuzglabā vertikālā stāvoklī turētājā.
- Urīna parauga transporta mēģenes, ja tās nav aizvāktas ar nebojātu vāciņu, ir jānosedz ar jaunu, tīru plastikāta vai folijas pārklāju.
- Ja paraugus pēc testēšanas ir jāsasaldē vai jāpārsūta, noņemt caurduramos vāciņus un aizvākot mēģenes ar jauniem, necaurduramiem vāciņiem urīna paraugu transporta mēģenēs. Ja paraugus ir nepieciešams pārsūtīt testēšanai citā testa vietā, ir jāievēro ieteikto temperatūru režīmu. **Izvairīties no izšļakstīšanās un savstarpējā piesārņojuma.**

Piezīme: Paraugu transportēšana ir jāveic saskaņā ar pastāvošajām valsts un starptautiskajām transportēšanas normām.

Testa procedūra

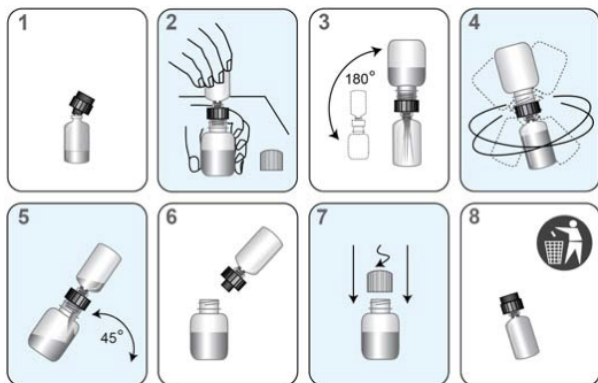
A. Darba zonas sagatavošana

- Iestādīt vienu ūdens peldi temperatūrā 62°C ± 1°C pirmsamplifikācijai, otru ūdens peldi temperatūrā 42°C ± 1°C amplifikācijai un trešo ūdens peldi temperatūrā 62°C ± 1°C pēc amplifikācijas stadijai. Jāpārlicinās, ka peldes satur pietiekošu ūdens daudzumu (skatīt *Piezīmes procedūras veikšanai*). Lietojot SB100 karstās vides vorteks tipa mikseri, skatīt *SB100 Pielietošanas dokumentāciju Progensa PCA3 Testam (SB100 pielietošanas instrukciju)*.
- Pirms testa uzsākšanas notīrīt darba virsmas un pipetētājus ar 2.5% līdz 3.5% (0.35M līdz 0.5M) nātrija hipohlorīda šķīdumu. Ļaut iedarboties nātrija hipohlorīda šķīdumam vismaz vienu minūti, tad noskalot. Nepieļaut nātrija hipohlorīda šķīduma izžūšanu. Pārsegt darba virsmu ar tīru absorbējošu laboratorijas darba virsmu pārklāju ar plastika pamatni.
- Izvietot atbilstošu Desmit uzgaļu kasešu (TTC) daudzumu Mērķa satveršanas Sistēmā (TCS). Pārlicināties, ka TCS skalošanas trauks ir piepildīts ar Skalošanas šķīdumu un aspirācijas vads ir pievienots vakuuma sūkņim. (Skatīt *Mērķa satveršanas Sistēmas Lietotāja rokasgrāmatu*.)

B. Reaģentu rekonstitūcija un sagatavošana

Reaģentu rekonstitūcija jāveic pirms paraugu pārnesšanas uzsākšanas.

- Lai rekonstituētu Enzīmu, Amplifikācijas, un Zondes reaģentus pievienot atbilstošo rekonstituēšanas šķīdumu liofilizētajam reaģentam. Ja Rekonstitūcijas šķīdumi ir atdzesēti, ļaut tiem pirms lietošanas sasniegt istabas temperatūru.



Zīmējums 2: Rekonstitūcijas Process

- Pievienot atbilstošo rekonstituēšanas šķīdumu liofilizētajam reaģentam. Etiķetes ir kodētas ar krāsām, lai nodrošinātu pareizu pievienošanu.
 - Atvērt liofilizētā reaģenta trauku un cieši ievadīt rekonstituēšanas pāreju profilēto galu trauka atvērumā (skatīt zīmējumu 2, poz. 1).
 - Atvērt atbilstošo rekonstitūcijas šķīduma pudeli un novietot vāciņu uz tīras, nosegtas darba virsmas. Rekonstitūcijas šķīduma pudelei atrodies uz darba virsmas, ievietot otru rekonstitūcijas pārejas galu pudeles atvērumā (skatīt zīmējumu 2, poz. 2).
 - Lēni apgriezt savienoto pudeli un trauku. Ļaut šķīdumam no pudeles iekļūt traukā (skatīt zīmējumu 2, poz. 3). Sagaidīt liofilizētā reaģenta izšķīšanu. Lēnām saskalot šķīdumu traukā. Izvairīties no putu veidošanās (skatīt zīmējumu 2, poz. 4).
 - Apgriezt savienoto pudeli un trauku vēlreiz, saverot 45° leņķī, lai mazinātu putu veidošanās iespējas (skatīt zīmējumu 2, poz. 5). Ļaut visam šķīdumam notecēt atpakaļ pudelē.
 - Noņem no pudeles rekonstitūcijas pāreju (skatīt zīmējumu 2, poz. 6).
 - Aizvākot plastikāta pudeli (skatīt zīmējumu 2, poz. 7). Uzrakstīt laboranta iniciāļus, rekonstitūcijas datumu un liofilizētā reaģenta partijas numuru visām rekonstituēto reaģentu pudelītēm. Pārlicināties par analizāta atzīmēšanu (PCA3 vai PSA) uz Zondes reaģenta pudelītēm.
 - Utilizēt rekonstitūcijas pāreju un stikla pudelīti (skatīt zīmējumu 2, poz. 8).
- Iepriekš rekonstituētiem Zondes, Amplifikācijas un Enzīmu reaģentiem jāiegūst istabas temperatūra (15°C līdz 30°C) pirms testa uzsākšanas. Skatīt nodaļu *Uzglabāšanas un lietošanas prasības* pāri palikušo reaģentu apvienošanas gadījumā. Ja rekonstituētais Amplifikācijas reaģents satur nogulsnes, kas nešķīst istabas temperatūrā, uzkarstēt to 62°C ± 1°C temperatūrā 1 līdz 2 minūtes pirmsamplifikācijas zonā. Ja rekonstituētais Zondes reaģents satur nogulsnes, kas nešķīst istabas temperatūrā, uzkarstēt to 62°C ± 1°C temperatūrā 1 līdz 2 minūtes pēc amplifikācijas zonā. Pēc uzkaršanās rekonstituētos reaģentus var izmantot pat tādā gadījumā, ja nogulsnes nav izšķīdušas. Pēc izšķīdināšanas miksēt lēni apgriežot.

C. Paliktņa sagatavošana

Dozējošai pipetēšanas iekārtai, kuru lieto mērķa satveršanai, paraugu pārnesšanai un amplifikācijai jābūt īpaši paredzētai šim nolūkam un konkrēto darbību veikšanai (Skatīt *Brīdinājumi un piesardzības pasākumi* papildus informācijai).

- Sagatavot vienu paliktņi PCA3 analizātam un otru paliktņi PSA analizātam.
Piezīme: Ja paraugu skaits ir neliels, abus analizātus var testēt vienā paliktņī. Ja tiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta, katram analizātam ir jāgatavo atsevišķs paliktņis. Vienlaicīgi nevar testēt vairāk, kā divus pilnus paliktņus (20 TTU vienības).
- Desmit mēģeņu vienību (TTU) statīvā ievietot pietiekošu TTU daudzumu kalibratoru, kontroļu un paraugu izvietojšanai katram analizātam.
- Apzīmēt TTU vienības ar paraugu identifikācijas zīmēm. Tabulā 3 apskatīta kalibratoru, kontroļu un paraugu pievienošana. PSA kalibratorus sākt jaunā TTU.

Piezīme: Kalibratorus jātestē trijos replikātos un kontrolesdivos replikātos katru; tie ir jāizvieto tajā pašā paliktņī, kur atrodas paraugi. Paraugus jātestē 'in duplicate.' Neatstāt tukšas reakcijas mēģenes starp kalibratoriem, kontrolēm un paraugiem. Ja tiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta, skatīt *TECAN Freedom EVO 100/4 Pielietojuma lapa Progensa PCA3 Testam (TECAN Freedom EVO pielietojuma lapa)* papildus norādījumiem.

Tabula 3: Paraugu turētāja aizpildīšanai

Turētāja pozīcijas	Parauga apraksts	*Mērķa PCA3 koncentrācija (c/mL)	* Mērķa PSA koncentrācija (c/mL)
1 līdz 3	Kalibrators 1	0	0
4 līdz 6	Kalibrators 2	250	7,500
7 līdz 9	Kalibrators 3	2,500	75,000
10 līdz 12	Kalibrators 4	25,000	750,000
13 līdz 15	Kalibrators 5	125,000	3,000,000
16 līdz 17	Kontrole A	1,250	37,500
18 līdz 19	Kontrole B	62,500	1,500,000
20 līdz n	Paraugi	nav zināms	nav zināms

*PCA3 un PSA Pozitīvie kalibratori un kontroles ir ar fiksētām vērtībām, tādējādi esošās c/mL vērtības Kalibratoriem 2 līdz 5 un Kontrolēm A un B būs nedaudz atšķirīgas no mērķa koncentrācijām, kuras ir minētas tabulā un ir pakļautas variācijām dažādās partijās. Koncentrācijas informācija ir norādīta kartē, kura pievienota kalibratoru un kontroļu pudelīšu iepakojumam un tiek pielietota kalibrācijas un testa procesa atbilstības novērtējumam.

D. Koncentrācijas informācijas pārbaude

Ar Progensa PCA3 Testa datorprogrammas sistēmas administratoru ir jāpārbauda, ka ir ievadīti testu rezultāti par koncentrācijas informāciju Progensa PCA3 un PSA kalibratoru un kontroļu komplektu partijām. Papildus informācijai skatīt *Palīgīdzekļi Ātriem Risinājumiem Progensa PCA3 Testam (Palīgīdzekļi Ātriem Risinājumiem)* vai *Progensa PCA3 Testa datorprogrammas sistēmas administratora rokasgrāmatu*.

Piezīme: Koncentrācijas informācijas ievadīšana ir nepieciešama katrā kalibratoru un kontrolju komplekta partijai **pirms to pirmās reizes lietošanas**. Veicot nākamos testa procesus ar kalibratoriem un kontrolēm, kuru informācija jau ir ievadīta, nav nepieciešams veikt papildus darbības.

E. Darba lapas redaktora sagatavošana

Izveidot testa procesa darba lapu ar Hologic Darba lapas Redaktoru uz datora, kurš atrodas pirmsamplifikācijas zonā. Darba lapas Redaktora izmantošanai skatīt *Palīgļīdzekli Ātriem Risinājumiem* vai *Hologic Darba lapas redaktora Lietotāja rokasgrāmatu*. Ja tiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta, skatīt *TECAN Freedom EVO 100/4 pielietojuma lapa* papildus norādījumiem.

F. Paraugu sagatavošana

1. Ļaut kalibratoriem un kontrolēm sasniegt istabas temperatūru pirms testa veikšanas. Samaisīt pudelīšu saturu tās saudzīgi apvēršot.
2. Ļaut paraugiem sasniegt istabas temperatūru pirms testa veikšanas. **Neizmantojot mikšēšanas iekārtu**. Paraugus mikšēt saudzīgi apvēršot uzsildīšanas laikā. Informāciju par rīcību gadījumos, kad nogulsnes neizšķīst un par sasaldētu paraugu apstrādi skatīt nodaļā *Piezīmes procedūras veikšanai*.

G. Pirmsamplifikācijas posms

Pirmsamplifikācijas videi jābūt 15°C līdz 30°C temperatūrā. Abus paliktņus testēt vienlaicīgi. Ja tiek lietota SB100 karstā gaisa pelde/mikseris, skatīt *SB100 pielietojuma lapa*. Ja tiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta, skatīt *TECAN Freedom EVO pielietojuma lapa* papildus norādījumiem.

1. Rūpīgi mikšēt saskalojot vai apvēršot Mērķa satveršanas Reaģentu (TCR). Izmantojot dozētas pipetēšanas iekārtu pievienot 100 µL analizātam atbilstošā TCR attiecīgā reakcijas mēģenei.
2. Lietojot mikropipetēšanas iekārtu, caurdurt Kalibratora trauciņa aizvākojumu un pievienot 400 µL Kalibratora atbilstoši marķētajai reakcijas mēģenei. Izmantojot to pašu pipetes uzgali pievienot replikātus no trauciņa ar caurdurtu aizvākojumu. Katram Kalibratora trauciņam izmantot jaunus pipetēšanas uzgāļus. Noslēgt un novietot pāri palikušos paraugus, uzglabājot tos temperatūrā zem 8°C (skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana* papildus informācijai) gadījumam, ja ir nepieciešama atkārtota testēšana.
3. Noslēgt TTU vienības ar noseglati(-ēm) un paliktni nedaudz sakratīt ar roku. **Nemiksēt ar mikseri**. Inkubēt paliktni 62°C ± 1°C temperatūrā ūdens peldē 30 ± 5 minūtes.
4. Izņemt paliktni no ūdens peldes un nosusināt mēģeņu lejasdaļu, izmantojot mitrumu uzsūcošu materiālu.
5. Pārlicināties, ka noseplates ir cieši uzliktas. Ja nepieciešams, aizvietot ar jaunām noseplatēm un cieši noslēgt TTU vienības.
6. Miksēt paliktni ar mikseri 60 sekundes vairāku mēģeņu vorteks mikserī (skatīt nodaļu *Piezīmes procedūras veikšanai*). Uzsākt mikšēšanu 2 minūšu laikā pēc paliktņa izņemšanas no ūdens peldes.
7. Nenogremot noseplates inkubēt paliktni istabas temperatūrā 30 ± 5 minūtes.
8. Novietot turētāju ar marķēto priekšpusi uz priekšu uz TCS magnētiskās pamatnes laikam 5 līdz 10 minūtes. Piepildīt TTC turētāju ar TTC vienībām.
9. Sagatavot dozēšanas iekārtas šķidrums padeves līniju sūknējot Skalošanas šķidrumu cauri dozēšanas padeves vadam. Izsūknēt cauri sistēmai pietiekošu šķidrums daudzumu, lai caurulēs nebūtu gaisa burbuļi un visas desmit sprauslas nodrošinātu nepārtrauktu šķidrums plūsmu.

10. Ieslēgt vakumsūkni un atvienot aspirācijas vadu pirmā savienojuma vietā starp aspirācijas vadu un uzkrāšanas pudeli. Pārlicināties, ka vakuuma iekārta atbilst noplūdes novēršanas prasībām. Nolasījumam var būt nepieciešamas 15 sekundes. Pievienot aspirācijas vadu un pārlicināties, ka vakuuma iekārta nodrošina nepieciešamo vakuuma spiedienu līmeni. Vakuuma sūkni atstāt ieslēgtu līdz tiek paveiktas mērķa satveršanas procedūras.

Skatīt Mērķa satveršanas sistēmas lapu par sistēmas prasībām attiecībā uz vakuumu, kas atrodas *Mērķa satveršanas sistēmas Lietotāja rokasgrāmatas* beigās vai sazinieties ar Hologic Tehniskā atbalsta dienestu papildus informācijai.

11. Rūpīgi pievienot aspirācijas vadu pie uzgaļu pirmā komplekta. Nolaidiet uzgāļus pirmajā TTU vienībā, līdz uzgaļi saskaras ar šķidrums virsmu. Laižot uzgāļus zemāk, saglabājiet uzgaļu kontaktu ar šķidrums virsmu, līdz uzgaļi īslaicīgi saskaras ar mēģeņu dibenu. Uzmanīgi piesitiet ar uzgaļiem mēģeņu dibenam, līdz izdalās viss liekais šķidrums. Neturiet uzgāļus ilgstoši kontaktā ar mēģeņu dibeniem un piesišanu ar uzgaļiem neveiciet ātri, jo vakuuma sūkni šķidrums var saputoties.
12. Pēc aspirācijas pabeigšanas uzgāļus novietot to oriģinālajā TTC. Atkārtot aspirācijas procedūru atlikušajām TTU vienībām, lietojot jaunu uzgāli katram paraugam.
13. Izvietot dozēšanas vadu virs katras TTU vienības un, izmantojot dozēšanas iekārtas sūkni, ievadīt 1.0 mL Skalošanas šķidrums katrā TTU vienībā esošajā mēģenē.
14. Aizvākot mēģenes ar noseglati un noņemt paliktni no TCS magnētiskās pamatnes. Vienu reizi mikšēt paliktni ar daudzvietu vorteks tipa mikseri. Papildus informācijai skatīt nodaļu *Piezīmes procedūras veikšanai*.
15. Ievietot paliktni TCS magnētiskajā pamatnē uz 5 līdz 10 minūtēm.
16. Aspirēt visu šķidrums atbilstoši p.p. 11 un 12.
17. Pēc noslēguma aspirācijas izņemt paliktni no TCS magnētiskās pamatnes un vizuāli pārbaudīt mēģenes, lai pārlicinātos, ka viss šķidrums ir aspirēts un visās mēģenēs ir atrodams magnētisko daļiņu atliekas. Ja ir redzams šķidrums, novietot paliktni atpakaļ uz magnētiskās pamatnes uz 2 minūtēm un atkārtot aspirāciju, izmantojot tos pašus uzgāļus, kuri tika lietoti konkrētajiem TTU vienības paraugiem iepriekš. Ja KĀDAS magnētisko daļiņu atliekas ir redzamas pēc aspirācijas pabeigšanas, tad mēģene var tikt akceptēta. Ja atliekas nav redzamas, paraugs ir jātestē atkārtoti. Ja paraugs pēc atkārtotā testa nesatur magnētisko daļiņu atliekas, ir šaubas par parauga atbilstību prasībām. Šādā situācijā ir ieteicams ievākt jaunu paraugu.

H. Amplifikācija

Piezīme: Enzīma pievienošanai reakcijas mēģenei (skatīt 6. un 7. posmu zemāk) jāveic 90 sekunžu vai īsākā laikā.

Veikt posmus 6. un 7. vienam paliktņim pirms to veikšanas otram paliktņim. Ja tiek lietota SB100 karstā gaisa pelde/mikseris, skatīt *SB100 pielietojuma lapa*. Ja tiek lietota TECAN Freedom EVO 100/4 iekārta, skatīt *TECAN Freedom EVO pielietojuma lapa* papildus norādījumiem.

1. Lietojot dozētas pipetēšanas iekārtu, pievienot 75 µL rekonstituēta analizātam atbilstošā Amplifikācijas Reaģenta katrā reakcijas mēģenē. Visiem reakcijas maisījumiem paliktņi jāiekrāsojas sarkaniem.
2. Lietojot dozētas pipetēšanas iekārtu, pievienot 200 µL Eļļas reaģenta.
3. Nosegt mēģenes ar noseglati un mikšēt tās daudzvietu vorteks tipa mikserī.

4. Inkubēt paliktņi ūdens peldē 62°C ± 1°C temperatūrā 10 ± 5 minūtes.
 5. Pārnest paliktņi ūdens peldē, kuras temperatūra ir 42°C ± 1°C un inkubēt 5 ± 2 minūtes.
 6. Kamēr paliktņi atrodas ūdens peldē, uzmanīgi noņemt noseplastus un, lietojot dozētas pipetēšanas ierīci, pievienot 25 µL rekonstituēta Enzīmu reaģenta katrai reakcijas mēģenei. Visiem reakcijas maisījumiem paliktņi jāiekrāsojas oranžiem.
 7. Nekavējoties pārsegt mēģenes ar jaunu aizvākojumu, izņemt paliktņi no ūdens peldes un veikt mikšēšanu, uzmanīgi pakratot paliktņi rokās.
- Piezīme:** Samazināt paliktņa atrašanās laiku ārpus ūdens peldes, lai izvairītos no mēģeņu atdzišanas.
8. Inkubēt paliktņi 42°C ± 1°C temperatūrā 60 ± 5 minūtes.

I. Pēcampifikācijas posms

Dozētas pipetēšanas ierīci, kuru lieto hibridizācijas un izvēles stadijās, ir jālieto tikai šiem mērķiem. Skatīt nodaļu *Brīdinājumi un piesardzības pasākumi*. Pēcampifikācijas videi, ieskaitot noteikšanu, ir jābūt 15°C līdz 30°C temperatūrā. Lietojot SB100 karstās vides vorteks tipa mikseri, skatīt *SB100 Pielietošanas dokumentāciju*.

1. Hibridizācija

- a. Izņemt paliktņi no pirmsampifikācijas ūdens peldes un pārnest pēcampifikācijas zonā. Izmantojot dozētas pipetēšanas ierīci pievienot 100 µL analizētam atbilstoša rekonstituēta Zondes reaģenta katrā reakcijas mēģenē. Visiem reakcijas maisījumiem paliktņi jāiekrāsojas dzelteniem.
- b. Nosegt mēģenes ar noseplastu un mikšēt tās daudzvietu vorteks tipa mikserī 10 sekundes vai līdz brīdim, kad tās iegūst viendabīgu iekrāsojumu.
- c. Inkubēt paliktņi ūdens peldē 62°C ± 1°C temperatūrā 20 ± 5 minūtes.
- d. Izņemt paliktņi no ūdens peldes un Inkubēt to istabas temperatūrā 5 ± 1 minūtes.

2. Izlase

- a. Lietojot dozētas pipetēšanas iekārtu, pievienot 250 µL Izlases reaģenta katrā reakcijas mēģenē. Visiem reakcijas maisījumiem paliktņi jāiekrāsojas rozā.
- b. Nosegt mēģenes ar vāku un mikšēt tās 10 sekundes vai līdz tās iegūst vienādu iekrāsojumu; inkubēt paliktņi ūdens peldē 62°C ± 1°C temperatūrā 10 ± 1 minūtes.
- c. Izņemt paliktņi no ūdens peldes. Inkubēt to istabas temperatūrā 15 ± 3 minūtes.

J. Noteikšana

Luminometra Leader HC+ lietošanas pamācības ir atrodamas *Leader HC+ Luminometra Lietotāja Rokasgrāmatā*. Informācijai par Progensa PCA3 Testa datorprogrammas lietošanu skatīt *Palīgldzekli Ātriem Risinājumiem* vai *Progensa PCA3 Testa datorprogrammas sistēmas administratora rokasgrāmatu un Lietotāja rokasgrāmatu*.

1. Sagatavot Leader HC+ Luminometru ievietojot vienu tukšu TTU vienību kasetes pozīcijā Nr.1 un vienu reizi izpildīt skalošanas (WASH) protokolu.
2. Pārliecināties par nepieciešamo testa veikšanai Auto Detect 1 un 2 tilpumu apjomu.
3. Ievietot TTU vienības luminometrā izmantojot shēmu luminometrā kā paraugu. Ja tiek testēti abi analizāti (testējot vienu pret otru), ievietot vispirms visas PCA3 TTU vienības, nekavējoties pēc tam- visas PSA TTU vienības.

4. Veikt reģistrēšanos datorsistēmā. Izvēlēties **NEW RUN** un izvēlēties atbilstošu testa protokolu un koncentrācijas. Izvēlēties **NEXT** lai uzsāktu procedūru.

Piezīme: Procedūra jāveic 2 stundu laikā pēc 62°C temperatūrā noritošā izvēles procesa inkubācijas beigām.

5. Sagatavot deaktivācijas šķīdumu, sajaucot vienādus tilpumus 5% līdz 7% (0.7 M līdz 1.0 M) nātrija hipohlorīda šķīduma un Buferi deaktivācijas šķīdumam plastikāta konteinerā. Uz konteineru izdarīt atzīmi par saturu un derīguma termiņa beigām. Šis buferētais nātrija hipohlorīda deaktivācijas šķīdums ir stabils 4 nedēļas istabas temperatūrā.
6. Pēc testa procedūras pabeigšanas testa programnodrošinājums veido divas procedūras atskaites, Sākotnējo procedūras atskaiti (Raw Run Report) un Attiecību atskaiti (Ratio Report), ja testi tiek veikti vienlaicīgi viens pret otru (skatīt nodaļas *Kvalitātes kontroles procedūras* un *Rezultātu interpretācija*).
7. Pēc testa procedūras pabeigšanas izņemt izmantotās TTU vienības no luminometra un ievietot TTU vienības konteinerā ar Deaktivācijas šķīdumu. TTU vienības noturēt iegremdētā stāvoklī 15 minūtes pirms to izmēšanas. Jāievēro atbilstošās rīcības un utilizācijas metodes, kuras nosaka laboratorijas vadītājs.

Piezīmes procedūras veikšanai

A. Paraugu sagatavošana

1. Paraugus, kuri satur nešķīstošas nogulsnes, saudzīgi apgriezot karsēt 37°C temperatūrā līdz 5 minūtēm. Ja karsēšanas rezultātā nogulsnes nav izšķīdušas, nodrošināt, lai nogulsnes neaizkavē parauga plūsmu.
2. Saldētos paraugus atkausēt istabas temperatūrā (15°C līdz 30°C temperatūrā, drīkst izmantot arī ūdens peldi) apgrozot, lai paātrinātu nešķīstošā sablīvējuma atkušanu. Kad ledus pudelītēs ir kļuvis iirdens un brīvi pārvietojas, pudelīšu saturu uzmanīgi sajaukt apgriezot. Turpināt sildīšanu līdz paraugs ir pilnībā atkusis, tad vēlreiz sajaukt pudelīšu saturu tās uzmanīgi apgriezot.
 - a. Ja neizšķīdušās vielas veidojumi un paraugi ir jāpipetē ar TECAN Freedom EVO 100/4 iekārtu, atkausēt paraugu, atkārtot atkausēšanas instrukciju un nodrošināt, lai nebūtu sablīvējušos veidojumu. Ja sablīvējumus neizdodas likvidēt, paraugs jāpipetē manuāli.
 - b. Ja neizšķīdušais veidojums un paraugi tiek manuāli pipetēti ar mikropipetētāju, nav nepieciešamas nekādas papildus darbības, tikai jāpārliecinās, ka sablīvējums netraucē parauga plūsmu.

B. Kontroles, kalibrators un paraugu pipetēšana

1. Kalibrators, kontroles vai parauga tilpumam, kurus pievieno TTU jābūt 400 µL tilpumā. Lai nodrošinātu nepieciešamā tilpuma pārņemšanu, ir ieteicama TTU ievietotā vizuāla pipetētā tilpuma apjoma kontrole. Atbilstošs tilpuma apjoms nodrošina precīzu rezultātu iegūšanu.
2. Pārliecināties, ka pipetes uzgalis ir pareizi uzlikts pipetēšanas iekārtai un pārliecināties, ka ir iestādīts nepieciešamais dozācijas apjoms. Ir ieteicams vizuāli pārbaudīt tilpuma apjomu katrai TTU (katrām 10 mēģenēm). Pipetes sviru atlaist lēni un vienmērīgi, lai izvairītos no putu un gaisa pūslīšu veidošanās.

C. Reaģenti

1. Zondes Rekonstitūcijas šķīdums var veidot nogulsnes uzglabāšanas laikā. Uzsildīt šķīdumu 62°C ± 1°C temperatūrā 1 līdz 2 minūtes. Pēc šādas uzsildīšanas Zondes Rekonstitūcijas šķīdumu var lietot pat tādā gadījumā, ja ir novērojamas nogulsņu

atliekas. Pēc izšķīdināšanas miksēt trauciņu, to uzmanīgi apvēršot.

2. Pipetējot reaģentus, izņemot Enzīmu, pipetēšanu veikt mērķējot apgabalā starp reakcijas mēģenes apakšdaļas izliekuma robežu ar cilindrisko pipetes daļu. Pipetējot Enzīmu Reaģentu mērķēt pipeti tieši reakcijas mēģenes centrā. Vizuāli pārliecināties par reaģentu atbilstošu pievienošanu (lai pārāk liels reaģentu daudzums nenonāk uz mēģenes sienām un krāsu izmaiņas noris atbilstoši).

D. Temperatūra

1. Mērķa satveršanas, amplifikācijas, hibridizācijas un izlases posmu veiksmīga norise ir atkarīga no temperatūras. Tādēļ obligāti jāievēro ūdens pelžu uzturēšana tām noteiktajos temperatūru intervālos.
2. Istabas temperatūra ir noteikta kā diapazons starp 15°C un 30°C temperatūrām.

E. Laiks

Mērķa satveršanas, amplifikācijas, hibridizācijas un izlases posmu veiksmīga norise ir atkarīga no norises ilguma. Skatīt norādes par atbilstošajiem posmu laikiem nodaļā *Testa procedūra*.

F. Miksēšana

Progensa PCA3 Testa veiksmīgai norisei ir nepieciešama atbilstoša miksēšana. Reakcijām ar miksēšanu uzstādīt vairāku mēģeņu vorteks miksera ātrumu uz zemāko, nostiprināt turētāju un ieslēgt barošanu. Lēnām palielināt ātrumu līdz šķidruma līmenis paceļas līdz mēģenes vidusdaļai. Miksēt 10 sekundes, norādīto laiku, vai līdz iekrāsājums kļūst vienmērīgs. Samazināt ātrumu līdz zemākajam pirms vairāku mēģeņu vorteks miksera izslēgšanas un turētāja izņemšanas. Reakcijas maisījumi nekad nedrīkst saskarties ar nosedzošo vāku.

G. Ūdens peldes

1. Ūdens līmenim ūdens peldēs jābūt 3.8 cm līdz 5 cm (1.5 collas līdz 2.0 collas) augstumā attiecībā pret atbalsta plakni (vai ūdens peldes pamatni). Tas nodrošina nepieciešamo siltuma daudzumu.
2. Lai izvairītos no savstarpējā piesārņojuma, ūdens peldes jāparedz konkrētu testa procedūru veikšanai.

H. Dekontaminācija

1. Virsmas un pipetētāji

Laboratorijas darba virsmas un pipetētāji jādekontaminē regulāri ar 2.5% līdz 3.5% (0.35M līdz 0.5M) nātrija hipohlorīda šķīdumu. Ļaut iedarboties nātrija hipohlorīda šķīdumam vismaz vienu minūti, tad noskalot. **Nepieļaut nātrija hipohlorīda šķīduma izžūšanu.** Hloru saturoši šķīdumi var ķīmiski iedarboties uz inventāru un metālu. Rūpīgi noskalot dezinficēto inventāru, lai izvairītos no iedarbības.

2. TCS Aspirācijas ierīce

Pēc katras lietošanas:

- a. Novirzīt dozēšanas vadu.
- b. Ievietot jaunu TTC turētājā. Ieslēgt vakuuma sūkni. Pievienot aspirācijas ierīci TTC uzgaļiem. Aspirēt visu dozēšanas priekškamerā atlikušo mazgāšanas šķīdumu.
- c. Ieliet vismaz 100 mL 0.5% līdz 0.7% (0.07 M līdz 0.1 M), vai, ja tas tiek uzskatīts par labāku, 2.5% līdz 3.5% (0.35 M līdz 0.5 M), nātrija hipohlorīda šķīdumu dozēšanas priekškamerā. Aspirēt visu šķīdumu ar aspirācijas ierīci.
- d. Ieliet vismaz 100 mL dejonizēta ūdens dozēšanas priekškamerā. Aspirēt visu ūdeni ar aspirācijas ierīci.

- e. Noņemt uzgaļus ievietojot tos oriģinālajā TTC.

- f. Atstāt vakuuma sūkni darbojoties līdz aspiratora mēģenes ir sausas, tādējādi novēršot šķidruma pretplūsmu (apmēram 3 minūtes).

- g. Dekontaminēt aspirācijas ierīci kā aprakstīts nodaļā *TCS iekārta*.

3. TCS Atkritumu konteiners

Iztukšot atkritumu pudeli vienu reizi nedēļā vai tad, kad atkritumu apjoms sasniedz 25% no pudeles tilpuma.

- a. Izslēgt vakuuma sūkni un ļaut vakuuma spiedienam izlīdzināties.

- b. Atvienot ātri atvienojamos savienojumus starp atkritumu pudeli un pārplūdes pudeli, un starp atkritumu pudeli un aspirācijas vadu.

- c. Atvienot atkritumu pudeli no vakuuma sifona kameras.

- d. Noņemt atkritumu pudeles vāku un uzmanīgi pievienot 400 mL 5% līdz 7% (0.7M līdz 1.0M) nātrija hipohlorīda šķīduma uz 4 L.

Piezīme: Šo procedūru drīkst veikt izmantojot skābju tvaiku neitralizācijas ierīci, lai izvairītos no skābju tvaiku izgarojumiem laboratorijā.

- e. Aizvērt atkritumu pudeli un uzmanīgi samaisīt tās saturu līdz tas ir pilnīgi sajaucies.

- f. Nogaidīt 15 minūtes un tad utilizēt pudeles saturu (atkritumus).

- g. Izskalot atkritumu pudeli ar ūdeni, lai atbrīvotos no iekšpusē atlikušajiem atkritumiem.

- h. Aizvērt tukšo atkritumu pudeli un pievienot to vakuuma sifona kamerai. Pievienot ātri atvienojamo savienojumu TCS vienībai. Rūpīgi utilizēt abus cimdus.

4. TCS iekārta

Noslaucīt TCS iekārtas, aspirācijas vada un skalošanas bufera izvadīšanas mezgla uzgaļus ar papīra dvieļiem, kuri samitrināti ar 2.5% līdz 3.5% (0.35M līdz 0.5M) nātrija hipohlorīda šķīdumu. Ievērot nātrija hipohlorīda šķīduma lietošanas etapu norādījumus noskalošanai ar ūdeni. Pilnībā nožāvēt virsmas ar papīra dvieļiem.

5. Turētāji

Iegremdēt turētājus 2.5% līdz 3.5% (0.35M līdz 0.5M) nātrija hipohlorīda šķīdumā tā, lai tie būtu pilnīgi pārklāti ar šķīdumu. Turētājus noturēt iegremdētā stāvoklī 10 minūtes. Ilgāka noturēšana var izraisīt turētāju bojājumus. Rūpīgi noskalot turētājus ar ūdeni un pilnībā nožāvēt virsmas ar papīra dvieļiem.

I. Testa piesārņojums

1. Piesārņojošo materiālu parādīšanās var notikt, ja testa protokola laikā netiek ievērota atbilstoša rūpība.
2. TTU jādekontaminē Deaktivācijas šķīdumā, kā aprakstīts sadaļā *Testa procedūra*. Nelietot TTU vienības atkārtoti.
3. Veikt regulāru inventāru un darba virsmu dekontamināciju kā minēts nodaļā *Dekontaminācija*.
4. Tāpat kā citās reaģentu sistēmās, pārmērīgs cimdu pulvera daudzums var būt par iemeslu atvērtu mēģeņu piesārņojumam. Ir ieteicams izmantot bezpulvera cimdus.

Kvalitātes kontroles procedūras

A. Testa procedūras atbilstības novērtējums

1. Kalibratoru un kontroļu testēšanas procedūra jāveic kopā ar paraugu testiem un tas jādara izmantojot tos pašus turētājus, kas tiek izmantoti paraugiem. Lai testa procedūru atzītu par atbilstošu, ir jāsasniedz sekojoši kritēriji:

Vidējais RLU Kalibratoram 2 > RLU Robežvērtība,

kur RLU Robežvērtība = Vidējais RLU Kalibratoram 1
+ 1.645 standarta novirzes Kalibrators 1 RLU replikātiem
+ 1.645 standarta novirzes Kalibrators 2 RLU replikātiem.

Vidējā interpolētā Kalibrators 5 precizitāte = $100 \pm 30\%$

Vidējā interpolētā Kontroles A precizitāte = $100 \pm 60\%$

Vidējā interpolētā Kontroles B precizitāte = $100 \pm 35\%$

2. PCA3 datorprogramma automātiski novērtē rezultātus attiecībā pret augstākminētajiem kritērijiem un izsniedz procedūras statusa atskaiti (Run Status) PASS, ja tests atbilst kritērijiem, vai arī FAIL, ja testa procedūra neatbilst kritērijiem.
3. Ja procedūras statusa atskaite ir FAIL, visi testa rezultāti šajā testa procesā ir uzskatāmi par nederīgiem attiecībā uz analizātiem un tie nav iekļaujami galīgajā atskaitē.
4. Ja testa process nav derīgs, tas ir jāatkārto ar tiem pašiem analizātiem (skatīt nodaļu *Rezultātu interpretācija*). Ja testa process ir derīgs ar citiem analizātiem, šos testa rezultātus var izmantot datu analizē ar atkārtotu un derīgu pirmā analizāta testa procesu.

B. Paraugu atbilstības novērtējums

Atbilstoša testa procesa laikā atsevišķu paraugu rezultāts var parādīties kā INVALID (neatbilstošs) un tas tiek uzrādīts pirmreizējā procesa atskaitē (Raw Run Report) (skatīt nodaļu *Rezultātu interpretācija*). Lai arī parauga atsevišķie replikāti var būt atbilstoši, paraugs būs neatbilstošs, ja interpolētā c/mL atšķirība starp replikātiem pārsniedz 600%. Šī analizāta parauga testēšana jāveic atkārtoti.

Rezultātu interpretācija

A. Atskaišu veidi

1. Pirmreizējā procesa atskaite (Raw Run Report)

Pirmreizējā procesa atskaite sniedz informāciju par procesa atbilstību (PASS vai FAIL; skatīt nodaļu *Kvalitātes kontroles procedūras*) un atsevišķām reakcijas mēģenēm, kuras tika testētas ar Progensa PCA3 Testu. Ja tests nav atbilstošs (FAIL), visas mēģenes šajā testā tiek apzīmētas kā neatbilstošas. Tomēr atsevišķas mēģenes var izrādīties neatbilstošas atbilstošā testa procesā (PASS). Paralēliem testiem (piemēram, vienā testa procesā testējot PCA3 un PSA analīti), viens analīta process var būt neatbilstošs, turpretī otrs- atbilstošs.

Izņēmumu kopsavilkums tiek norādīts Pirmreizējās procesa atskaites beigās. Paralēliem testiem, kur abu analītu testa procesi ir atbilstoši, paraugiem, kuri ir minēti Izņēmumu kopsavilkumā var būt nepieciešama viena analīta atkārtota testēšana. Lai gan PCA3 reitinga rezultāts var būt minēts Izņēmumu kopsavilkumā, šāds rezultāts nav uzskatāms par pilnvērtīgu līdz tiek veikta manuāla salīdzināšana un rezultāts ir iekļauts Attiecību atskaitē. Ja tika testēts tikai viens analīts, vai arī viens analīta testa process nav atbilstošs, visi testētie paraugi tiks iekļauti Izņēmumu kopsavilkumā.

2. Attiecību atskaite

Testa datorprogramma automātiski veido Attiecību atskaiti paralēlajiem testa procesiem tajā gadījumā, ja abi analīti ir derīgi. Datorprogramma aprēķina un uzrāda PCA3 reitingu paraugiem Attiecību atskaitē. Paraugiem, kuri ir uzdoti Attiecību atskaitē, nav nepieciešama papildus testēšana, vai arī abi analīti jātestē vēlreiz. Paraugi, kuri nav uzdoti Attiecību atskaitē, ir uzdoti Izņēmumu kopsavilkuma daļā Pirmreizējā procesa atskaitē.

Attiecību atskaite var tikt izveidota arī pēc manuālas salīdzināšanas (papildus informācijai skatīt nodaļu *Manuāla salīdzināšana*).

3. Kvalitātes kontroles atskaite

Kvalitātes kontroles atskaite uzdod testa procesa atbilstības kritērijus, norādītās un interpolētās koncentrācijas, kā arī kalibratoru un kontroļu rezultātus. Atskaite uzdod arī parametrus, kuri nosaka loģistiskās četru parametru devas rezultātu kalibrācijas līkne (3). Papildus informācijai skatīt *Progensa PCA3 Testa datorprogrammas lietotāja rokasgrāmatu*.

B. Salīdzināšana

1. Automātiskā salīdzināšana

Paralēlajos testa procesos, kad abu analītu procesi ir atbilstoši, datorprogramma automātiski salīdzina atsevišķus PCA3 un PSA analītu rezultātus paraugiem un nosaka PCA3 reitingu (ja to var aprēķināt). Rezultāti ir uzdoti Attiecību atskaitē vai Izņēmumu kopsavilkuma daļā Pirmreizējā procesa atskaitē.

2. Manuāla salīdzināšana

Testējot PCA3 un PSA analīti dažādos testa procesos datorprogramma nespēj automātiski noteikt PCA3 Reitingu. Analīta rezultātu manuāla salīdzināšana ir nepieciešama, lai noteiktu PCA3 Reitingu vai PCA3 Reitinga diapazonu (skatīt *Patīglīdzekli Ātriem Risinājumiem* vai *Progensa PCA3 Testa datorprogrammas lietotāja rokasgrāmatu*). Manuāla salīdzināšana var būt nepieciešama rezultātiem, kuri ir norādīti Izņēmumu

kopsavilkuma daļā Pirmreizējā procesa atskaitē. Pēc manuālās salīdzināšanas PCA3 Reiting(-i) saskaņotam paraugam(-iem) tiks norādīts jaunā Attiecību atskaitē.

C. Atskaišu interpretācija

1. PCA3 Reiting

Piezīme: Par rezultatīviem ir uzskatāmi tikai tie PCA3 Reitingi un PCA3 reitingi, kuri ir minēti Attiecību atskaitē. Rezultātiem, kuri parādās Izņēmumu kopsavilkumā, var būt nepieciešamas papildus darbības un tos nevar uzskatīt par izziņojamiem.

PCA3 Reiting tiek aprēķināts kā attiecība PCA3 RNS kopijām pret PSA RNS kopijām reizinot ar 1000. PCA3 reitingi var tikt aprēķināti tikai izmantojot rezultātus, kuri ir iegūti no atbilstošiem testa procesiem un paraugiem. Neatbilstoši testa procesi un neatbilstoši paraugi jātestē atkārtoti (papildus informācijai skatīt nodaļu *Atkārtota testēšana*).

Ja izziņotais PCA3 Reiting ir zem robežvērtības, rezultāts ir jāinterpretē kā NEGATĪVS. Ja PCA3 Reiting ir virs vai vienāds ar robežvērtību, rezultāts ir jāinterpretē kā POZITĪVS. Laboratorijas vadītājam ir jānosaka robežvērtība (papildus informācijai skatīt nodaļu *Veiktspējas raksturojums*).

Pie noteiktiem apstākļiem tiek nodrošināts PCA3 Reitingu diapazons (>[Aprēķinātais PCA3 reiting] vai <[Aprēķinātais PCA3 reiting]). Ja <[Aprēķinātais PCA3 reiting] ir zem robežvērtības, rezultāts ir jāinterpretē kā NEGATĪVS. Ja >[Aprēķinātais PCA3 reiting] ir virs robežvērtības, rezultāts ir jāinterpretē kā POZITĪVS. Ja ir nepieciešama skaitliskā vērtība, ar paraugu atšķaidīšanu un atkārtotu testēšanu var veidot PCA3 Reitingu, nevis PCA3 Reitingu diapazonu (papildus informācijai skatīt *Atkārtota testēšana - Atšķaidīšana paraugiem ar koncentrāciju virs noteikšanas diapazona*).

2. Statusa un analīzes kodu interpretācija

Statusa aile abās atskaitēs- Pirmreizējā procesa atskaitē un Attiecību atskaitē informācija ir norādīta "s:a" formātā. Testa procesam atbilstoši statusa kodi ("s") ir norādīti pirms (pa kreisi) un analītam atbilstoši statusa kodi ("a") ir norādīti aiz (pa labi) ailē. Analītam atbilstoši kodi PCA3 rezultātiem ir norādīti ar maziem burtiem un lieliem burtiem PSA rezultātiem. Katra atskaite satur statusa aprakstus un analīzes kodus, kuri parādās atskaitē. Piemēram, kodi var norādīt, ja parauga vai replikāta rezultāts ir derīgs vai ārpus diapazona. Pilnam iespējamā statusa sarakstam, analīžu kodiem un papildus informācijai skatīt *Palīgtirdzekli Ātriem Risinājumiem* vai *Progensa PCA3 Testa datorprogrammas lietotāja rokasgrāmatu*.

Ja PCA3 Reiting ir uzrādīts Attiecību atskaitē un PCA3 vai PSA Statusa ailēs neparādās statusa vai analīzes kodi, tas norāda uz to, ka abi testam pakļautie analīti ir atbilstoši un to rezultāti ir diapazonā. Parauga rezultāts ir iekļaujams atskaitē un nav nepieciešamas papildus darbības.

Ja statusa vai analīzes kods parādās Izņēmumu kopsavilkuma daļā Attiecību atskaitē, var būt nepieciešama atkārtota testēšana (skatīt nodaļu *Rezultātu interpretācija Izņēmumu kopsavilkumā* un *Rezultātu interpretācija Attiecību atskaitē*). Ja analīta rezultāti nāk no dažādiem testa procesiem un tiem ir analīzes kods(-i), lai noteiktu nepieciešamību pēc papildus darbībām, ir jāatrod kombinācija abiem analītiem Tabulā 4 vai Tabulā 5.

Piezīme: Statusa vai analīzes koda esamība nenozīmē, ka atkārtota testēšana ir pašsaprotama.

3. Rezultātu interpretācija Izņēmumu kopsavilkumā

Izņēmumu kopsavilkumā nedrīkst būt norādīti jebkādi izņēmumi. Šādos gadījumos nav nepieciešamas papildus darbības.

Ja Izņēmumu kopsavilkumā ir norādīts paraugs(-i) paralēlajam testa procesam gadījumos, kad abi analītu testa procesi ir atbilstoši, skatīt Tabulu 4 norādījumiem.

Atsevišķu analītu testa procesiem skatīt nodaļu *Statusa un analīzes kodu interpretācija*. Paralēlajiem testa procesiem, kuros viens no analītu testa procesiem nav atbilstošs atkārtoti jātestē neatbilstošais process (papildus informācijai skatīt nodaļu *Atkārtota testēšana*), un apstrādāt rezultātus tā, it kā tika veikts individuāls analīta testa process. Šajā gadījumā būs nepieciešama manuālā salīdzināšana.

Paraugs var būt apzīmēts kā nederīgs, lai gan atsevišķas mēģenes (replikāti) var būt apzīmēti kā derīgi. Replikātu kombinētais rezultāts nosaka parauga derīgumu un lielas atšķirības starp replikātiem var izraisīt parauga atzīšanu par nederīgu (papildus informācijai skatīt nodaļu *Kvalitātes kontroles procedūra*).

Tabula 4: Progensa PCA3 Testa Izņēmumu kopsavilkuma nosacījumi

PCA3 Rezultāts (Analīzes kods*)	PSA Rezultāts (Analīzes kods*)	Uzdotais PCA3 Reitings	Testēt vēl?	Rīcība/Komentārs
Iekļaujas diapazonā (koda nav)	Nederīgs** (A, B, E, H, vai I)	--	Jā	Atkārtoti testēt PSA (skatīt nodaļu <i>Atkārtota testēšana</i>) un salīdzināt rezultātus manuāli.
Zem diapazona (g)	Nederīgs (A, B, E, H, vai I)	--	Jā	Atkārtoti testēt PSA (skatīt nodaļu <i>Atkārtota testēšana</i>) un salīdzināt rezultātus manuāli.
Nederīgs (a, b, e, h, vai i)	Diapazonā (koda nav)	--	Jā	Atkārtoti testēt PCA3 (skatīt nodaļu <i>Atkārtota testēšana</i>) un salīdzināt rezultātus manuāli.
Diapazonā (koda nav)	Virs diapazona (F)	<[Aprēķinātais PCA3 Reitings]**	Izvēle	1. Salīdzināt manuāli, lai iegūtu <[Aprēķinātais PCA3 Reitings] VAI 2. Atšķaidīt paraugu tam paredzētajā atšķaidītājā (skatīt nodaļu <i>Atšķaidīšana paraugiem ar koncentrāciju virs noteikšanas diapazona</i>), atkārtoti testēt PSA un salīdzināt rezultātus manuāli, ja ir nepieciešams PCA3 Reitings.
Virs diapazona (f)	Diapazonā (koda nav)	>[Aprēķinātais PCA3 Reitings]	Izvēle	1. Salīdzināt manuāli, lai iegūtu >[Aprēķinātais PCA3 Reitings] VAI 2. Atšķaidīt paraugu tam paredzētajā atšķaidītājā, atkārtoti testēt PCA3, un salīdzināt rezultātus manuāli, ja ir nepieciešams PCA3 Reitings.
Zem diapazona (g)	Diapazonā (koda nav)	<[Aprēķinātais PCA3 Reitings]	Nē	Salīdzināt manuāli, lai iegūtu <[Aprēķinātais PCA3 Reitings].
Zem diapazona (g)	Virs diapazona (F)	<[Aprēķinātais PCA3 Reitings]	Nē	Salīdzināt manuāli, lai iegūtu <[Aprēķinātais PCA3 Reitings].

*Pilns analīzes kodu saraksts ir sniegts *Progensa PCA3 Testa Programnodrošinājuma Lietotāja Rokasgrāmatā*.

**Attiecas tikai uz nederīgiem paraugiem derīgā testa procesā.

***Ārpus diapazona esošajām vērtībām Aprēķinātais PCA3 Reitings ir aprēķināts izmantojot kopiju līmeni tuvākajam pozitīvajam kalibratoram.

4. Rezultātu interpretācija Attiecību atskaitē

Ja paraugs ir minēts Attiecību atskaitē ar PCA3 Reitingu, rezultāts jāiekļauj PCA3 Reitinga atskaitē un nav nepieciešamas turpmākās papildus darbības. Ja PCA3 Reitings nav minēts, t.i. izteikts kā "--" PCA3 Reitinga ailē, norādījumiem skatīt Tabulu 5.

Tabula 5: Progensa PCA3 Testa Attiecību atskaites nosacījumi

PCA3 Rezultāts (Analīzes kods*)	PSA Rezultāts (Analīzes kods*)	Uzdotais PCA3 Reitings	Testēt vēl?	Rīcība/Komentārs
Diapazonā (koda nav)	Diapazonā (koda nav)	PCA3 Reitings	Nē	Nav nepieciešama turpmākā rīcība; rezultāts ir iekļaujams atskaitē.
Nederīgs** (a, b, e, h, vai i)	Nederīgs (A, B, E, H, vai I)	--	Jā	Atkārtoti testēt abus analītus (skatīt nodaļu <i>Atkārtota testēšana</i>)
Nederīgs (a, b, e, h, vai i)	Virs diapazona (F)	--	Jā	Atšķaidīt paraugu tam paredzētajā atšķaidītājā (skatīt nodaļu <i>Atšķaidīšana paraugiem ar koncentrāciju virs noteikšanas diapazona</i>), atkārtoti testēt abus analītus.
Virs diapazona (f)	Nederīgs (A, B, E, H, vai I)	--	Jā	Atšķaidīt paraugu tam paredzētajā atšķaidītājā, atkārtoti testēt abus analītus.
Virs diapazona (f)	Virs diapazona (F)	--	Jā	Atšķaidīt paraugu tam paredzētajā atšķaidītājā, atkārtoti testēt abus analītus.
Nederīgs (a, b, e, h, vai i)	Zem diapazona (G)	--	Nē	Paraugā nepietiek RNS precīzam testam. Jāievāc jauns paraugs no pacienta.
Diapazonā (koda nav)	Zem diapazona (G)	--	Nē	Paraugā nepietiek RNS precīzam testam. Jāievāc jauns paraugs no pacienta.

Virš diapazona (f)	Zem diapazona (G)	--	Nē	Paraugā nepietiek RNS precīzam testam. Jāievāc jauns paraugs no pacienta.
Zem diapazona (g)	Zem diapazona (G)	--	Nē	Paraugā nepietiek RNS precīzam testam. Jāievāc jauns paraugs no pacienta.

* Pilns analīzes kodu saraksts ir sniegts *Progensa PCA3 Testa Programmnodrošinājuma Lietotāja Rokasgrāmatā*.

** Attiecas tikai uz nederīgiem paraugiem derīgā testa procesā. Ja paraugi ir nederīgi testa procesa nederīguma rezultātā, rezultāti tiks uzrādīti Izņēmumu kopsavilkumā (papildus informācijai skatīt nodaļu *Rezultātu interpretācija Izņēmumu kopsavilkumā*).

D. Atkārtota testēšana

1. Norādījumi atkārtotai testēšanai

- Lai arī tas nav obligāts nosacījums, ka abiem analītiem jābūt testētiem vienā testa procesā, tomēr **abiem analītu rezultātiem jābūt no vienas parauga pudelītes, lai PCA3 Reitings tiktu iekļauts atskaitē**.
- Visi nederīgie testa procesi ir jāatkārto un visi nederīgie paraugi no derīgiem testa procesiem ir jātestē atkārtoti.
- Atkārtoti testēt paraugu(-s), izmantojot jaunu kalibratoru un kontroļu komplektu.
- Ir nepieciešams ievērot pāri palikušo paraugu uzglabāšanas atbilstošus apstākļus pirms atkārtotas testēšanas (papildus informācijai skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana*).
- Var būt nepieciešama manuālā salīdzināšana PCA3 un PSA analītiem, lai noteiktu PCA3 Reitingu (papildus informācijai skatīt nodaļu *Manuālā salīdzināšana*).

2. Atšķaidīšana paraugiem ar koncentrāciju virs noteikšanas diapazona

- Ja parauga koncentrācija ekstrapolējas virs Kalibratora 5 derīgā testa procesā, rezultāts ir "virš diapazona" un rezultāts būs apzīmēts ar "f" vai "F" analīzes kodu testa procesa atskaitē(-s). Koncentrācija būs izteikta kā >[Kalibratora 5 koncentrācija].
- Apgriezt apstrādātu urīna paraugu, lai to samaisītu pirms parauga atšķaidīšanas. Ir ieteicama, tomēr nav obligāta atšķaidīšana attiecībā 1:10 ar Progensa PCA3 Paraugu Atšķaidīšanas komplektu. Atbilstošā pudelītē pievienot 1800 µL atšķaidītāja un 200 µL parauga; aizvākot mēģeni un apgriezt piecas reizes, lai panāktu pilnīgu sajaukšanos. Darba lapā norādītais Atšķaidījuma faktors būs "10". Ja ir atkārtoti jātestē abi analīti, dubultot tilpumus (lietot 3600 µL paraugu atšķaidītāja un 400 µL parauga). Skatīt Progensa PCA3 Paraugu Atšķaidīšanas komplekta anotāciju. Veikt atšķaidītā parauga testēšanu.
- Ja pēc atkārtotas testēšanas parauga rezultāts atkal ir virs diapazona, ir jāveic papildus atšķaidīšana, līdz paraugs var būt interpolēts kalibratoru diapazonā. Ir pieļaujama turpmāka atšķaidīšana sākotnējai koncentrācijai 1:10, ņemot vērā, ka sākotnējais atšķaidījums 1:10 tika uzglabāts atbilstoši (papildus informācijai skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana*).

Ierobežojumi

- Progensa PCA3 Testu nevar izmantot pacientiem, kuri ir pakļauti tādu medikamentu iedarbībai, kuri ietekmē seruma PSA līmeņus, tādiem kā finasterīds (Proscar, Propecia), dutasterīds (Avodart) un anti-androgēnu terapijai (Lupron). Šo medikamentu ietekme uz PCA3 gēnu vēl nav izvērtēta.
- Atsevišķas terapeitiskās un diagnostikas procedūras, tādas kā prostatas ektomija, radiācija, prostatas biopsija un citas, var ietekmēt prostatas izdalījumu dzīvotspēju, kā rezultātā tiek ietekmēts PCA3 Reitings. Šo procedūru ietekme uz testa veikspēju vēl nav izvērtēta. Paraugi PCA3 testēšanai jāievāc, ja ārstējošais personāls ir pārliecināts par prostatas izdalījumu atjaunošanos.
- Šis tests ir jāveic personālam, kurš ir apmācīts procedūras veikšanai. Norādījumu, kuri uzdoti šajā anotācijā, neievērošana var izraisīt kļūdainus rezultātus.
- Katrai laboratorijai neatkarīgi ir jāapstiprina LIS pārvešanas process.
- Adekvāti rezultāti ir atkarīgi no atbilstošas urīna paraugu ievākšanas. Ir nepieciešama atbilstoša klīniskā personāla apmācība atbilstoši urīna paraugu ievākšanai, jo transporta sistēma, kura tiek izmantota šim testam nepieļauj urīna parauga atbilstības mikroskopisku izvērtēšanu. Papildus informācijai skatīt nodaļu *Paraugu ievākšana, transportēšana un uzglabāšana*. Detalizētai informācijai skatīt anotāciju Progensa PCA3 Urīna paraugu transportēšanas komplektā.
- Rezultāti Progensa PCA3 Testam jāinterpretē kopā ar citiem ārstējošam personālam pieejamajiem laboratorijas un klīniskajiem datiem. (Testa rezultātus var ietekmēt neatbilstoša paraugu ievākšana, tehniskās kļūdas vai paraugu sajaukšanās.)

Veiktspējas raksturojums

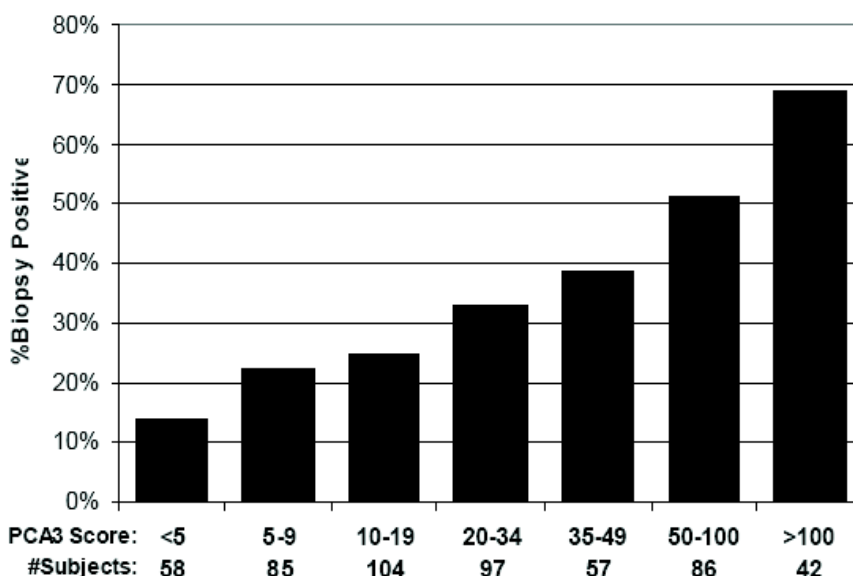
A. Klīniskie rezultāti

1. Diagnostiskā jutība un specifitāte

Veiktspējas raksturojums Progensa PCA3 Testam tika noteikts, izmantojot paraugus no pētījumā iesaistītajiem subjektiem četros ģeogrāfiski atdalītos Ziemeļamerikas apgabalos. Subjektu populācija sastāvēja no 529 vīriešiem, kuriem tika nozīmēta prostatas biopsija. Subjektu demogrāfiskie parametri ir minēti zemāk:

- a. Vidējais vecums ± SD = 64 ± 8 gadi (mediāna 63, diapazons 32 līdz 89)
- b. Vidējais seruma PSA līmenis = 7.9 ± 21.9 µg/L (5.6, 0.3 līdz 484)
- c. Vidējais prostatas tilpums (noteikts ar rektālās ultrasonogrāfijas metodi) = 44 ± 25 cc (39, 5 līdz 225)
- d. 34% (180/529) biopsijas rezultāti ir pozitīvi uz prostatas vēzi

Zīmējums 3 parāda sakarību starp PCA3 Reitingu un pozitīvas biopsijas iespēju. Palielinoties PCA3 Reitingam, palielinās uz vēzi pozitīvu biopsijas rezultātu parādīšanās subjektiem.



Zīmējums 3. Sakarība starp PCA3 Reitingu un Pozitīvas biopsijas iespēju

Tika veikta uztvērēja darba raksturlienes (ROC) analīze, pielietojot prostatas biopsiju kā bāzes metodi, saskaņā ar CLSI GP10-A (1995) (3). Progensa PCA3 Testam apgabals zem līknes (AUC) bija 0.685 (95% ticamības intervāls = 0.637 līdz 0.733). Tabula 6 parāda diagnostisko jutību un specifitāti dažādām PCA3 Reitinga robežvērtībām. Katrai laboratorija jānosaka robežvērtības diagnostiskai jutībai vai specifitātei (skatīt nodaļu *Rezultātu interpretācija*).

Tabula 6: Progensa PCA3 Testa Diagnostiskā jutība un specifitāte dažādām PCA3 Reitinga robežvērtībām

PCA3 Reitinga robežvērtības	5	10	15	25	35	50	95
Jutīgums	96%	85%	77%	63%	53%	41%	17%
Specifitāte	14%	33%	47%	61%	74%	84%	95%

2. Paraugu stabilitātes pētījumi

- a. Stabilitāte pilnvērtīgam urīnam: Pirmais urīns tika ievākts no 10 subjektiem un uzglabāts 2°C līdz 8°C temperatūrā vai 30°C temperatūrā pirms apstrādes, pievienojot urīna transporta vidi (UTM). Dažiem paraugiem 2°C līdz 8°C temperatūrā tika novērota ievērojama PCA3 un PSA mRNS degradācija pēc 4 stundām. Tādējādi pilnvērtīgs urīns jāapstrādā 4 stundu laikā. 30°C temperatūrā tika novērota ievērojama degradācija mazāk, nekā 1 stundas laikā. Tādēļ pilnvērtīgs urīns ir vienmēr jāatdzesē vai jātur uz ledu pirms apstrādes.
- b. Stabilitāte apstrādātam urīnam: Divpadsmit paraugi tika inkubēti 4°C vai 30°C temperatūrā laikā līdz 38 dienām. 4°C temperatūrā PCA3 un PSA RNS bija stabilas 21 dienu; 30°C temperatūrā 5 dienas. Paraugi, kuri tika uzglabāti -20°C un -70°C temperatūrā uzrādīja PCA3 un PSA RNS stabilitāti līdz 90 dienām.

- c. Sasaldēšanas-atlaidināšanas stabilitāte: Paraugi tika cikliski sasaldēti un atlaidināti 37°C un -70°C temperatūru intervālā 6 reizes. Netika novērots samazinājums PCA3 vai PSA RNS kopiju līmeņos.

B. Analītiskie rezultāti

1. Analītiskā jutība

Analītiskās jutības panelis tika sastādīts no atšķaidītiem *in vitro* RNS transkriptiem un tika izmantots testa jutības noteikšanai. Viens operators testēja paneli divpadsmit testa procesos pieciem replikātiem, izmantojot vienu reaģentu partiju. Noteikšanas robeža un kvantitātes robeža tika aprēķināta saskaņā ar CLSI EP17-A (2004) (5). Noteikšanas robežas PCA3 analītam bija 80 c/mL un PSA analītam bija 1,438 c/mL. Kvantitātes robeža abiem analītiem bija Kalibrators 2.

2. Analītiskā specifitāte

- a. Nesašķeltais transkripts: Progensa PCA3 Tests ir domāts tikai prostatas vēzim raksturīgā ekzona 3-ekzona 4 nesašķeltas PCA3 RNS noteikšanai (2). Tests nenoteica 1 miljonu c/mL nesašķeltas PCA3 RNS ievērojami virs fona līmeņa.
- b. PCA3 RNS prostatas specifitāte urīnā: Paraugi no subjektiem pēc radikālas prostatas ektomijas (n = 97) tika testēti ar Progensa PCA3 Testu un PCA3 RNS līmeņi tika salīdzināti ar paraugiem no subjektiem pirms biopsijas (n = 464). PCA3 RNS c/mL mediāna bija zem testa noteikšanas robežas paraugiem no subjektiem pēc prostatas ektomijas, turpat PCA3 RNS c/mL mediāna paraugiem no subjektiem pirms biopsijas bija 7,243 c/mL; šie dati apstiprina, ka PCA3 RNS urīnā ir no prostatas.
- c. Audu specifitāte: Pilna RNS tika izvilka no audiem diviem unikāliem vīriešu donoriem un iedalīta pēc audu veida, pievienota paraugu atšķaidītājam (10 ng uz reakciju), un testēti ar Progensa PCA3 Testu. Prostatas audi bija vienīgais veids starp tiem, kas minēti Tabulā 7, kuram tika noteikts līmenis virs PCA3 RNS noteikšanas robežas.

Tabula 7: Vīriešu audu veidi, kuri tika testēti uz PCA3 RNS

Audu veids	
Cista (normāla)	Nieres
Cista (tumors)	Penis
Kaulu smadzenes	Prostata
Sēklas kanāls	Sēklas pūslītis
Epididīmiss	Sēklinieks

- d. Interferējošas vielas: Vielas, kuras minētas Tabulā 8 tika pievienotas alikvotām no apvienotiem apstrādātiem vīriešu urīna paraugiem. Paraugi tika testēti ar Progensa PCA3 Testu saskaņā ar CLSI EP7-A2 (2005) (6). Pie minētajām koncentrācijām netika novērota interference ar testu.

Tabula 8: Uz interferenci ar Progensa PCA3 Testu pārbaudītās vielas

Terapeitiskie aģenti		Terapeitiskie aģenti, turpinājums	
Vielā	Testa koncentrācija	Vielā	Testa koncentrācija
Acetaminofēns/Kodeīns	5.34 µmol/L	Uroksatrāls	30 mg/L
Atorvastatīns	25 mg/L	Doksazosīns	1.33 µmol/L
Lisinopriils	0.74 µmol/L	Terazosīns	7.8 µmol/L
Amlodipīns	245 µmol/L	Finasterīds	15 mg/L
Atenolols	37.6 µmol/L	Tamsulozīns	1.2 µg/L
Sulfasalazīns	754 µmol/L	Metformīns	310 µmol/L
Esomeprazols	120 mg/L	Sildenafilis	12.9 pmol/L
Allopurinols	294 µmol/L	Serenoa palma	1600 mg/L
Difenhidramīns	19.6 µmol/L	Selēnijs	0.275 mg/L

Acetaminofēns	1324 µmol/L		
Acetilsalicilskābe	3.62 mmol/L	Urīna sastāvdaļas	
Ibuprofēns	2425 µmol/L	Vielā	Testa koncentrācija
Furosemīds	181 µmol/L	Urīnskābe	1.4 mmol/L
Ciprofloksacīns	30.2 µmol/L	Hemoglobīns	2 g/L
Levakvīns	48.6 µmol/L	Baltās asins šūnas	4.56 x 10 ⁷ šūnas/L
Doksiciklīns	67.5 µmol/L	Sarkanās asins šūnas	3.06 x 10 ⁷ šūnas/L
Fluoksetīna hidrohlorīds	11.2 µmol/L	Albumīns	50 g/L
Flutamīds	1500 mg/L	Bilirubīns (nekonjugēts)	342 g/L
Dutasterīds	1.5 mg/L	IgG	60 g/L

3. Precizitāte

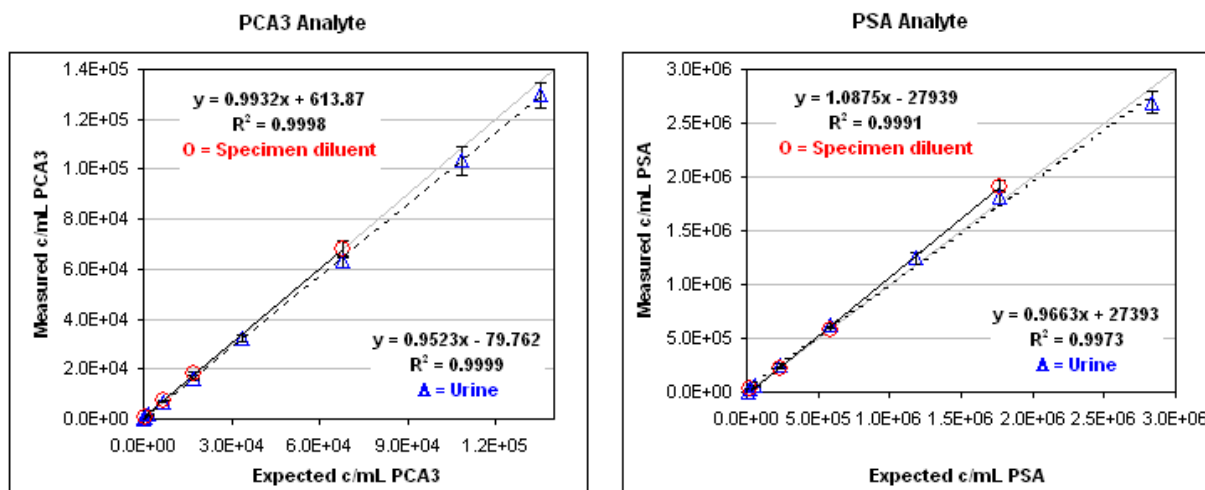
Progensa PCA3 Testa precizitāte tika izvērtēta saskaņā ar CLSI EP15-A2 (2005) (9). PCA3 un PSA RNS transkripti tika kvantitatīvi noteikti spektrofotometrijas metodi UV un redzamajā spektra daļā, pievienoti apstrādātam normālam sieviešu urīnam (kurā nav nosakāma PCA3 vai PSA RNS), un koncentrācijas mērītas Progensa PCA3 Testā. Procentuālai (%) daudzums tika aprēķināts kā attiecība izmērītajam c/mL pret pievienoto c/mL un reizināta ar 100.

Tabula 9: Kopiju daudzums Progensa PCA3 Testā

Analīts	Zināmā koncentrācija, c/mL	Izmērītā koncentrācija, c/mL	% daudzums
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. Linearitāte un diapazons

Progensa PCA3 Testa lineārais diapazons tika noteikts saskaņā ar CLSI EP6-A (2003) (4) balstoties uz lineārās regresijas analīzi (mazākie kvadrāti). Atšķaidījumu sēriju divi komplekti tika sagatavoti no paraugiem, kuri satur augstas PCA3 un PSA RNS koncentrācijas. Viens komplekts tika izšķaidināts apstrādātā sieviešu urīnā un viens komplekts tika atšķaidīts paraugu atšķaidītājā. Atšķaidījumi pārklāj visu testa diapazonu starp zemāko un augstāko pozitīvo kalibratoru katram analītam. Abiem PCA3 un PSA analītiem testā izmērītie rezultāti uzrādīja tieši proporcionālu sakarību starp testētajiem atšķaidījumiem un atskaitē iekļautajiem analīta c/mL. Netika novērots nozīmīgs atšķaidītāja sastāvdaļu ietekmes efekts. Skatīt Zīmējumu 4.



Zīmējums 4. Progensa PCA3 Testa linearitāte PCA3 un PSA Analītiem

5. Precizitāte

Progensa PCA3 Testa precizitāte tika noteikta saskaņā ar CLSI EP5-A2 (2004) (9). Atkārtojamība ir precizitāte noteiktajos apstākļos ar vismazākajām variācijām un reproducējamība ir precizitāte noteiktajos apstākļos ar vislielākajām variācijām.

Atkārtojamības noteikšanai tika sagatavots atšķaidītu *in vitro* RNS transkripta 3 komponentu testa panelis. Viens operators vienā testēšanas vietā testēja paneli 20 testa procesos 5 replikātiem 20 dienu laikā izmantojot vienu kalibratoru un kontroļu partiju, reaģentu partiju un iekārtu kompleksu. Tabula 10 parāda atkārtojamības precizitāti Progensa PCA3 Testam dažādos testa koncentrācijas līmeņos.

Tabula 10: Progensa PCA3 Testa atkārtojamība

Analīts	Paneļa komponente	Vidēji c/mL	Atkārtojamības SD	Atkārtojamības 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%

Reproducējamības noteikšanai tika sagatavots apvienotu paraugu 8 komponentu testa panelis (1 līdz 3) un atšķaidīts *in vitro* RNS transkripts (4 līdz 8). Trīs operatori testēja paneli 18 testa procesos 3 dienu laikā, izmantojot vienu kalibratoru un kontroļu partiju, 3 reaģentu partijas un 3 iekārtu kompleksus. Tabulās 11 un 12 apkopota precizitāte kopā, testa procesā, starp testa procesiem, operatoriem, iekārtām un partijām Progensa PCA3 Testam analītam c/mL un PCA3 Reitingam.

Dilstošā secībā variācijas procesa ietvaros, starp operatoriem un starp procesiem uzrādīja lielāko ietekmi uz kopējo testa variabilitāti. Reaģentu partiju un iekārtu ietekme uz testa variācijām uzrādīja vismazāko ietekmi. Šie rezultāti parāda, ka Progensa PCA3 tests ir reproducējams un variāciju sākotnējam avotam ir gadījuma kļūdas raksturs (procesa ietvaros).

Tabula 11: Progensa PCA3 Testa reproducējamība: kopijas(c)/mL analīze

Analīts	Paneļa komponente	n	Izmērītais c/mL	Kopā CV	Starp procesiem CV	Procesa ietvaros CV	CV, Starp operatoriem	CV, Starp iekārtām	CV, Starp partijām
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%

Tabula 12: Progensa PCA3 Testa reproducējamība: PCA3 Reitinga analīze

Paneļa komponente*	n	Vidējais reitings	Kopā CV	Procesa ietvaros CV	Starp procesiem CV	CV, Starp operatoriem	CV, Starp iekārtām	CV, Starp partijām
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%

*Paneļa komponentes 4 līdz 6 saturēja tikai PCA3 vai PSA RNS transkriptu, tādēļ netika iekļauta analizē.

Bibliogrāfija

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^{PCA3}-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 USA

Klientu atbalsts: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Tehniskā palīdzība: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Lai saņemtu sīkāku kontaktinformāciju, apmeklējiet www.hologic.com.



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Progensa, un SB100 ir Hologic, Inc. un/vai to meitasuzņēmumu preču zīmes un/vai reģistrētas preču zīmes Amerikas Savienotajās Valstīs un/vai citās valstīs.

eppendorf (stilizēts) un REPEATER ir Eppendorf AG preču zīmes.

RAININ ir Rainin Instrument, LLC zīmols.

TECAN un FREEDOM EVO ir Tecan Group AG zīmoli.

Visas citas preču zīmes, kas var būt pieminētas šajā iepakojuma lapīnā, ir to attiecīgo īpašnieka īpašums.

Uz šo izstrādājumu var attiekties viens vai vairāki ASV patenti, kas atrodami vietnē www.hologic.com/patents.

©2006-2018 Hologic, Inc. Visas tiesības aizsargātas.

501377LV Rev. 003

2018-03