

## Progensa PCA3-analyse

Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk.

Kun for eksport til USA.

<b>Allmenn informasjon</b> .....	<b>2</b>
Beregnet bruk .....	2
Oppsummering og forklaring på testen .....	2
Prinsipper for prosedyren .....	2
<b>Reagenser og materialer som følger med</b> .....	<b>4</b>
<b>Materialer</b> .....	<b>8</b>
<b>Advarsler og forholdsregler</b> .....	<b>10</b>
<b>Krav til oppbevaring og håndtering</b> .....	<b>12</b>
<b>Opsamling, transport og oppbevaring av prøver</b> .....	<b>14</b>
<b>Testprosedyre</b> .....	<b>16</b>
Prosedyrenotater .....	22
<b>Kvalitetskontrollprosedyrer</b> .....	<b>25</b>
<b>Tolking av resultater</b> .....	<b>26</b>
<b>Begrensninger</b> .....	<b>31</b>
<b>Ytelseskarakteristikk</b> .....	<b>32</b>
<b>Bibliografi</b> .....	<b>38</b>

## Allmenn informasjon

### Beregnet bruk

Progensa PCA3-analysen er en *in vitro* nukleinsyreamplifikasjonstest (NAAT) som detekterer ribonukleinsyre (RNA) for prostatakraft-gen 3 (PCA3) i urinprøver fra menn i den hensikt å generere en PCA3-score. PCA3 Scoren er beregnet på å brukes sammen med standard-of-care diagnostiske algoritmer som et hjelpemiddel ved diagnostisering av prostatakraft.

### Oppsummering og forklaring på testen

Testing for prostataspesifikt antigen (PSA) i serum ved screening av prostatakraft har ført til biopsidiagnoser av mindre og tidligere udetekterte tumorer (1), og skaper dermed et nytt diagnostisk dilemma: Kun en liten andel menn med økt nivå av PSA i serum har detekterbar prostatakraft. Menn med minst en negativ biopsi har ofte vedvarende økning av PSA i serum, hovedsakelig som følge av forstørret prostata og godartet prostatahyperplasi (BPH). Likevel, en betydelig andel menn med svak økning av PSA i serum (2,5-4,0 µg/l) enten har eller vil utvikle klinisk signifikant prostatakraft (1). Mens biopsi forblir den gyldne standard for deteksjon av prostatakraft, er det behov for tester med større nøyaktighet og bedre spesifisitet som hjelpemiddel for å komme frem til avgjørelser om prostatabiopsi.

PCA3 (også kjent som "PCA3<sup>DD3</sup>" eller "DD3<sup>PCA3</sup>") er en ikke-kodet prostataspesifikk RNA som overuttrykkes i kreftceller i prostata, med en økning i medianverdi på 66 ganger sammenlignet med omkringliggende godartet vev (2). Til sammenligning er PSA-genuttrykket likt i kreftceller og godartede celler. PSA RNA-nivåer kan derfor brukes til å normalisere for mengden prostataspesifikk ribonukleinsyre (RNA) i molekyltestprøver. Gjennomførbarheten av kvantitativ PCA3-basert molekyltesting fra urinsedimenter (2) og fra ren urin (3) har blitt demonstrert.

Progensa PCA3-analysen bruker ren urin som er samlet etter en digital rektal eksplorasjon (DRE) bestående av tre strøk pr. lobe. DRE frigjør prostataceller via prostataens kanalsystem inn i urinveiene, hvor de kan samles i den første morgenurinen. Urinen behandles ved tilføring av urintransportmedium (UTM), som lyserer cellene og stabiliserer RNA. PCA3 og PSA RNA-er kvantifiseres, og PCA3-scoren bestemmes ut i fra forholdet PCA3/PSA RNA. I tillegg til å normalisere PCA3-signal, kan målinger av PSA RNA også brukes til å bekrefte at andelen prostataspesifikk RNA er tilstrekkelig til å generere et gyldig resultat. Høyere PCA3 Score korrelerer med høyere sannsynlighet for en positiv prostatabiopsi.

### Prinsipper for prosedyren

Progensa PCA3-analysen består av to kvantitative nukleinsyreamplifikasjonstester. Progensa PCA3-analysen kombinerer teknologiene target capture, transkripsjonsformidlet amplifikasjon (TMA) og hybridiseringsbeskyttelsesanalyse (HPA) for å henholdsvis strømlinjeforme behandlingen av urinprøver, amplifisere mål-RNA og detektere amplicon.

Når Progensa PCA3-analysen utføres i laboratoriet, isoleres mål-RNA-molekylene fra urinprøvene via target capture. Oligonukleotidene ("fangede oligonukleotider") som er komplementære til sekvensspesifikke områder av målene hybridiseres til målene i urinprøven. En separat fanget oligonukleotide brukes for hvert mål. Det hybridiserte målet fanges deretter på magnetiske mikropartikler som er separert fra urinprøven i et magnetisk felt. Trinnene for rengjøring anvendes til å fjerne fremmedlegemer fra reaksjonsrøret. Magnetisk separasjon og rengjøringstrinnene utføres med et target capture-system.

Målampifikasjon skjer via TMA, som er en transkripsjons-basert nukleinsyreampifikasjonsmetode som anvender to enzymer, Moloney murine leukemia virus (MMLV) revers transkriptas og T7 RNA polymerase. Et unikt sett med primere brukes for hvert mål. Revers transkriptas brukes til å generere en deoksyribonukleinsyre (DNA)-kopi (som inneholder en promotersekvens for T7 RNA polymerase) for målsekvensen. T7 RNA polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopimalen.

Detektering oppnås ved HPA med bruk av enkelttvinnede, kjemiluminescensmerkede nukleinsyreprober som er komplementære til amplikonet. Separate prober brukes for hvert målamplikon. De merkede nukleinsyreprobene hybridiserer spesifikt til amplikonet. Valgreagensen differensierer mellom hybridiserte og uhybridiserte prober ved å inaktivere etiketten på de uhybridiserte probene. Under detekteringstrinnet, måles det kjemiske luminescenssignalet som produseres av den hybridiserte proben i et luminometer og det rapporteres som relative lysenheter (RLU).

PCA3 og PSA RNA-er kvantifiseres i separate rør, og PCA3-scoren fastsettes. Kalibratorer som inneholder kjente mengder med PCA3 eller PSA RNA-transkripter er inkludert i hver analysekjøring og brukes til å generere en standardkurve. PCA3- og PSA-kontroller er også inkludert for å verifisere nøyaktigheten av resultatene som interpoleres fra standardkurven.

## Reagenser og materialer som følger med

**Merknad:** For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

Reagenser og materialer som følger med i Progensa PCA3/PSA-analysesettet for Progensa PCA3-analysen er listet opp nedenfor. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

### Progensa PCA3 analysesett, 2 x 100 reaksjoner, kat.nr. 302355 (8 bokser)

#### Progensa PCA3 100-reaksjonssett

Progensa PCA3-kjøleboks – oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

Symbol	Komponent	Mengde
A	<b>PCA3 amplifikasjonsreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i HEPES-bufret løsning som inneholder &lt; 10 % bulkingmiddel.</i>	1 ampulle
E	<b>PCA3/PSA Enzymreagens</b> <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES-bufret løsning som inneholder &lt; 10 % bulkingmiddel.</i>	1 ampulle
P	<b>PCA3 Probereagens</b> <i>Ikke infektiose kjemiluminescens-DNA-prober tørket i succinate-bufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % bulkingmiddel og &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 ampulle

Progensa PCA3 romtemperaturboks – oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

Symbol	Komponent	Mengde
AR	<b>PCA3 amplifikasjon-rekonstitusjonsløsning</b> <i>Vandig oppløsning som inneholder konserveringsmidler (&lt; 1 % parabener).</i>	1 x 9,3 ml
ER	<b>PCA3/PSA enzymrekonstitusjonsløsning</b> <i>HEPES-bufret oppløsning som inneholder et overflateaktivt middel (10 % Triton X-100) og 20 % glyserol.</i>	1 x 3,3 ml
PR	<b>PCA3/PSA fortynnet probeoppløsning</b> <i>Succinate-bufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 x 12,4 ml
S	<b>PCA3/PSA valgreagens</b> <i>Boratbufret løsning som inneholder et overflateaktivt middel (1 % Triton X-100).</i>	1 x 31 ml
TCR	<b>PCA3 Target Capture-reagens</b> <i>Ikke infektiose nukleinsyre i HEPES-bufret oppløsning som inneholder fast fase.</i>	1 x 22 ml
	<b>Forseglingkort</b>	1 pakke
	<b>Rekonstitusjonskrager</b>	1 pakke

Progensa PCA3 kalibrator- og kontrollsett – oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

<b>Symbol</b>	<b>Komponent</b>	<b>Mengde</b>
<b>CAL</b>	<b>PCA3-kalibrator 1</b> <i>Fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 x 2,0 ml
<b>CAL</b>	<b>PCA3-kalibratorer 2-5</b> <i>Ikke infektøs PCA3 nukleinsyre i fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	4 x 1,7 ml
<b>PC</b>	<b>PCA3 Positive kontroller</b> <i>Ikke infektøs PCA3 nukleinsyre i fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	2 x 1,7 ml
	<b>PCA3 konsentrasjonsinfoark</b>	1 ark

**Progensa PSA 100-reaksjonssett**

Progensa PSA kjøleboks – oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

<b>Symbol</b>	<b>Komponent</b>	<b>Mengde</b>
<b>A</b>	<b>PSA-amplifikasjonsreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i HEPES-bufret løsning som inneholder &lt; 10 % bulkingmiddel.</i>	1 ampulle
<b>E</b>	<b>PCA3/PSA Enzymreagens</b> <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES-bufret løsning som inneholder &lt; 10 % bulkingmiddel.</i>	1 ampulle
<b>P</b>	<b>PSA-probereagens</b> <i>Ikke infektøse kjemiluminescens-DNA-prober tørket i succinate-bufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % bulkingmiddel og &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 ampulle

Progensa PSA romtemperaturboks – oppbevares ved 15 °C til 30 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

Symbol	Komponent	Mengde
AR	<b>PSA amplifikasjon-rekonstitusjonsløsning</b> <i>Vandig oppløsning som inneholder konserveringsmidler (&lt; 1 % parabener).</i>	1 x 9,3 ml
ER	<b>PCA3/PSA enzymrekonstitusjonsløsning</b> <i>HEPES-bufret oppløsning som inneholder et overflateaktivt middel (10 % Triton X-100) og 20 % glyserol.</i>	1 x 3,3 ml
PR	<b>PCA3/PSA fortynnet probeoppløsning</b> <i>Succinate-bufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 x 12,4 ml
S	<b>PCA3/PSA valgreagens</b> <i>Boratbufret løsning som inneholder et overflateaktivt middel (1 % Triton X-100).</i>	1 x 31 ml
TCR	<b>PSA Target Capture-reagens</b> <i>Ikke infeksjøs nukleinsyre i HEPES-bufret oppløsning som inneholder fast fase.</i>	1 x 22 ml
	<b>Forseglingskort</b>	1 pakke
	<b>Rekonstitusjonskrager</b>	1 pakke

Progensa PSA kalibrator- og kontrollsett – oppbevares ved 2 °C til 8 °C etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

Symbol	Komponent	Mengde
CAL	<b>PSA-kalibrator 1</b> <i>Fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	1 x 2,0 ml
CAL	<b>PSA-kalibrator 2-5</b> <i>Ikke infeksjøs PSA nukleinsyre i fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	4 x 1,7 ml
PC	<b>PSA positive kontroller</b> <i>Ikke infeksjøs PSA nukleinsyre i fosfatbufret oppløsning som inneholder &lt; 5 % litium laurylsulfat.</i>	2 x 1,7 ml
	<b>PSA konsentrasjonsinfoark</b>	1 ark

**Aptima analysevæsker** – oppbevares ved 15 °C til 30 °C (2 bokser) etter mottak og frem til utløpsdatoen på etiketten

Symbol	Komponent	Mengde
W	<b>Vaskeløsning</b> <i>HEPES-bufret oppløsning som inneholder &lt; 2 % natrium dodekyl sulfat.</i>	1 x 402 ml
DF	<b>Buffer for deaktiveringsvæske</b> <i>Bikarbonatbufret oppløsning.</i>	1 x 402 ml
O	<b>Oljereagens</b> <i>Silikonolje.</i>	1 x 24,6 ml

**Merknad:** Alle materialene som følger med i Progensa PCA3-analysesettet, kan også kjøpes separat (se avsnittet Materialer for mer informasjon).

## Materialer

**Merknad:** For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Merknad:** Materialer som er tilgjengelige fra Hologic, har oppførte katalognumre.

### Materialer som er nødvendige, men leveres separat

	<u>Kat. nr.</u>
Progensa PCA3 urinprøvetransportsett	302352
Leader HC+ luminometer	104747
Hologic Target Capture-system (TCS)	104555
Aptima Auto Detect-sett	301048
2 eppendorf Repeater Plus-pipetter	105725
Spisser for repeterende pipetter (2,5 ml, 5,0 ml, 25,0 ml)	—
Enten:	—
2 virvelblandere for flere rør	102160F
3 sirkulerende vannbad (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	104586F
3 avstandsstykker for vannbad	104627
ELLER	
2 SB100 tørrvarmebad/virvelblandere	105524F
Det kan være nødvendig med ekstra SB100 instrumenter, avhengig av påkrevet gjennomstrømming	
Mikropipette, 1.000 µl RAININ PR1000	901715
Spisser, 1.000 µl P1000	105049
Pipette, eppendorf 20 til 200 µl	105726
Spisser, pipett 20 til 200 µl	—
Blekemiddel 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning	—
Plastbeholder med stort lokk	—
Standard beholdere for urinprøvetaking, uten konserveringsmidler	—
Enheter med ti rør (TTU)	TU0022
Kassetter med ti spisser (TTC)	104578
SysCheck kalibreringsstandard	301078

### Valgfrie materialer

	<u>Kat.nr.</u>
Progensa PCA3 100-reaksjonssett	302354
Progensa PSA 100-reaksjonssett	302357
Progensa PCA3 kalibrator- og kontrollsett	302353



		<u>Kat.nr.</u>
Progensa PSA kalibrator- og kontrollsett		302356
Progensa PCA3/PSA ferdighetspaneler		302350
Progensa PCA3 Specimen Diluent Kit		302351
Aptima-analysevæskesett		302002C
Pipettespisser til engangsbruk med filter (1 ml)		10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4		900932
<i>PCA3 dekkplateenhet, DTS 800</i>	902021	—
<i>Reagensbeholder (40 ml kvart-modul)</i>	104765	
<i>Delt reagensbeholder (19 ml x 2 kvart-modul)</i>	901172	
Transportrør		302521
Gjennomtrengelige reservehetter		302520
Ugjennomtrengelige reservehetter		103036A

## Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk.
- B. Kun for eksport til USA.

### Laboratorierelatert

- C. Bruk bare levert eller spesifisert engangs laboratorievarer.
- D. Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangs puddefrie hansker, vernebriller og laboratoriefrakk ved håndtering av urinprøver og settreagenser. Vask hendene grundig etter håndtering av urinprøver og settreagenser.
- E. **Advarsel: Irritanter, korrosjonsmidler.** Påse at Auto Detect 1 og Auto Detect 2 ikke kommer i kontakt med hud, øyne og slimhinner. Hvis disse væskene kommer i kontakt med hud eller øyner, skal disse stedene vaskes med vann. Fortynn eventuelt væskesøl med vann før du tørker det opp.
- F. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal regelmessig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning (se *Prosedyrenotater*).
- G. Et separat område for etteramplifikasjon anbefales på det sterkeste for å minimalisere amplikonkontaminasjon i analysen. Dette dedikerte området må ikke ligge i nærheten av føramplifikasjonsområdet, hvor forberedelse av reagens, target capture og amplifikasjon utføres.
- H. For å hindre at laboratorieområder blir kontaminert med amplikon, skal laboratorieområdet arrangeres med en enveis arbeidsflyt fra reagensklargjøring til etteramplifikasjon. Prøver, utstyr og reagenser skal ikke legges tilbake på stedet der det forrige trinnet ble utført. Personellet skal ikke gå tilbake til de foregående arbeidsområdene uten passende kontaminasjonsvern.

### Prøverelatert

- I. Etter at urin er tilført, må væsknivået i urintransportrøret først være mellom de to svarte indikatorstrekene på røretiketten. Hvis ikke, skal prøven avvises.
- J. Oppretthold riktige oppbevaringsforhold under prøvetransport for å sikre prøvenes integritet. Prøvens stabilitet under andre transportforhold enn de som anbefales, er ikke vurdert.
- K. Utløpsdatoene på oppsamlingssettene gjelder oppsamlingsstedet og ikke testeinstusjonen. Prøver som tas når som helst før utløpsdatoen for prøvetakingssettet, og som transporteres og oppbevares i henhold til pakningsvedlegget, er gyldige for testing selv om utløpsdatoen for prøvetakingssettet har gått ut.
- L. Alle prøver skal oppbevares ved angitte temperaturer. Ytelsen til analysen kan bli påvirket hvis det brukes prøver som er oppbevart feil. Se *Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver* for spesifikke instruksjoner.
- M. Urinprøver kan være infeksjøs. Bruk universalforholdsregler ved utførelsen av denne analysen. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen.

Kun kvalifisert personale med tilstrekkelig kunnskap om bruken av Progensa PCA3-analysen og med tilstrekkelig opplæring i håndtering av infektiose materialer skal utføre denne prosedyren.

- N. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Urinprøver kan inneholde høye nivåer av RNA-mål. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukt materiale uten å føre det over åpne beholdere. Hvis hansker kommer i kontakt med en prøve, bytt hansker for å unngå kryss-kontaminering.

### Analyserelatert

- O. Ikke bruk settet etter utløpsdatoen.
- P. **For Progensa PCA3-analysesettet må du ikke bytte, blande eller kombinere PCA3-analysereagenser med forskjellige partinumre** (dvs. at for hver analytt må analysereagensene i kjøleboksen og romtemperaturboksen komme fra samme parti). Analysereagensene kan brukes med forskjellige partier av kalibrator- og kontrollsett. Aptima-analysevæskesett kan brukes om hverandre. PCA3- og PSA-reagenssett behøver ikke å samsvare.
- Q. Alle analysereagenser skal oppbevares ved angitte temperaturer. Ytelsen til analysen kan bli påvirket hvis det brukes analysereagenser som er oppbevart feil. Se *Krav til oppbevaring og håndtering* og *Prosedyrenotater* for spesifikke instruksjoner.
- R. For analysedeaktivering (se *Testprosedyre*) må minimum konsentrasjon av natriumhypokloritt i oppløsningen være 2,5 % (0,35 M) **etter** 1:1-fortynning med deaktiveringsbuffer. Natriumhypoklorittløsningen må derfor starte ved 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) for å oppnå den endelige konsentrasjonen som trengs for deaktivering.
- S. Spisser med vannavvisende pluggen må brukes. Minst to repeterende pipetter må dedikeres for bruk med denne analysen: én for bruk i føramplifikasjonstrinnene, og én for bruk i etteramplifikasjonstrinnene. Med mindre et TECAN Freedom EVO 100/4-instrument anvendes, må en mikropipett dedikeres for bruk under prøveoverføring. Alle pipetter må rengjøres regelmessig som beskrevet i *Prosedyrenotater*.
- T. Når det brukes repeterende pipetter til tilførsel av reagens, må det unngås at pipettespissen berører reaksjonsrøret for å hindre overføring fra det ene røret til det andre.
- U. Tilstrekkelig blanding er avgjørende for å oppnå nøyaktige analyseresultater. Se *Prosedyrenotater* for fullstendig informasjon.
- V. Separate vannbad må brukes i analysens trinn for føramplifikasjon, amplifikasjon og etteramplifikasjon.
- W. Noen reagenser i dette settet er merket med fare- og sikkerhetssymboler i henhold til det europeiske direktiv 1999/45/EC og skal håndteres i overensstemmelse med dette. Datablader for materialsikkerhet kan sees på [www.hologic.com](http://www.hologic.com) og de er tilgjengelige ved forespørsel.

## Krav til oppbevaring og håndtering

A. Kontakt Tabell 1 for informasjon om oppbevaring av reagens.

Tabell 1: Oppbevaring av reagens

Reagens/væske	Oppbevaring, uåpnet	Åpnet/rekonstituert Stabilitet (frem til utløpsdato)
Amplifikasjonsreagenser	2 °C til 8 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 2 °C til 8 °C*
Probereagenser	2 °C til 8 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 2 °C til 8 °C*
Enzymreagens	2 °C til 8 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 2 °C til 8 °C*
Target Capture-reagenser	15 °C til 30 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 15 °C til 30 °C
Fortynnet amplifikasjonsoppløsning	2 °C til 30 °C frem til utløpsdato	N/A (engangsbruk)
Fortynnet rekonstitusjonsløsning	2 °C til 30 °C frem til utløpsdato	N/A (engangsbruk)
Enzymrekonstitusjonsløsning	2 °C til 30 °C frem til utløpsdato	N/A (engangsbruk)
Valgreagens	2 °C til 30 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 15 °C til 30 °C
Kalibratører	2 °C til 8 °C frem til utløpsdato	I/A (engangskjøring)
Kontroller	2 °C til 8 °C frem til utløpsdato	I/A (engangskjøring)
Oljereagens	15 °C til 30 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 15 °C til 30 °C
Vaskeløsning	15 °C til 30 °C frem til utløpsdato	30 dager ved 15 °C til 30 °C
Buffer for deaktiveringsvæske	15 °C til 30 °C frem til utløpsdato	28 dager ved 15 °C til 30 °C

\*Kan brukes om igjen for andre analysekjøringer opp til 4 ganger, gitt at den totale tiden i romtemperatur ikke overskrider 24 timer.

- B. **Target Capture-reagens skal ikke oppbevares ved temperaturer lavere enn 15 °C.**
- C. Probereagensen og rekonstituert probereagens er lysfølsomme. Disse reagensene må beskyttes fra overdreven eksponering for lys under oppbevaring og forberedelse til bruk.
- D. **Reagenser skal ikke fryses.**
- E. Reagenser og væsker må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- F. ProgenSA PCA3 og PSA kalibratører og kontroller er ampuller beregnet på engangskjøring, og de må kastes etter bruk.
- G. Endringer i fysisk utseende for medfølgende reagens kan indikere ustabilitet eller forringelse av disse materialene. Kontakt teknisk support hos Hologic før bruk hvis endringer i fysisk utseende for reagensene observeres etter at de er resuspendert (f.eks., tydelige endringer i fargen på reagens eller uklarheter tyder på mikrobiell kontaminasjon).
- H. Kast rekonstituert reagens etter 30 dager eller etter utløpsdatoen, hva som måtte komme først.

- I. Rester fra åpne eller rekonstituerte reagenser kan brukes i etterfølgende analyser hvis de har vært korrekt oppbevart etter første bruk. Gjenværende reagens kan slås sammen med nyforberedt reagens eller andre gjenværende reagenser fra samme parti. **Ikke veksle, bland eller kombiner reagenser fra sett som har forskjellig partinumre** (se *Advarsler og forholdsregler*). Ingen komponenter fra den sammenslåtte reagensen kan overskride oppbevaringsgrensene for den åpne eller rekonstituerte reagensen. Påse at den sammenslåtte reagensen er godt blandet og at tilstrekkelig mengde er forberedt slik at det er nok reagens for en hel analysekjøring.

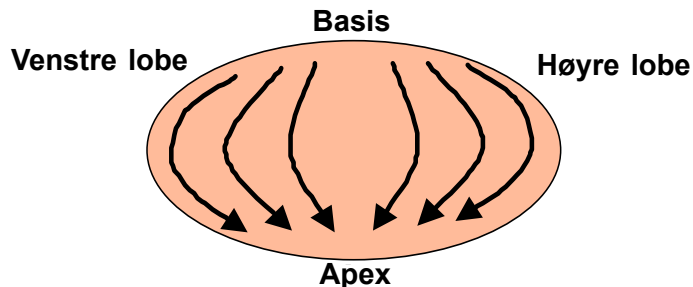
## Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver

Progensa PCA3-analysen er utviklet for å kvantifisere PCA3 og PSA RNA i morgenurin innsamlet etter DRE som består av tre strøk pr. lobe. Urinen behandles med Progensa PCA3 Urine Specimen Transport Kit. Stabiliteten for PCA3 og PSA RNA i urin og behandlet urin ble fastslått ved overvåking av RNA-kopinivåer i urinprøver innsamlet i henhold til instruksjonene nedenfor.

### A. Instruksjoner for prøvetaking og behandling av urin:

1. Det kan være nyttig å be pasienten drikke mye vann (omtrent 500 ml) for å sikre tilstrekkelig urin til prøvetaking.
2. Utfør en DRE som beskrevet nedenfor umiddelbart før prøvetaking av urin:

Legg press på prostata, tilstrekkelig til å klemme inn overflaten omtrent 1 cm, fra basis til apex og fra den laterale til den mediane linjen for hver lobe, som vist i Figur 1. Utfør nøyaktig tre strøk for hver lobe. Dette er ikke ment å være prostatamassasje.



Figur 1. Korrekt anvisning for påført prostatatrykk

3. Etter DRE, instruer pasienten om å avgi morgenurin (omtrent 20 til 30 ml av den initiale urinstrømmen) i en korrekt merket urininnsamlingskopp. Dette må være den første urinen som lates etter DRE. Bruk en innsamlingskopp som ikke inneholder konserveringsmidler. Hvis en pasient ikke kan stoppe urinstrømmen og avgir mer urin enn de nødvendige 20 til 30 ml, behold hele volumet. Hvis pasienten ikke kan avgi det nødvendige volumet med urin, er minst 2,5 ml nødvendig for å kjøre Progensa PCA3-analysen. Hvis ikke, skal prøven avvises.

**Merknad:** Svært høye urinvolumer kan redusere PCA3- og PSA-analyttkonsentrasjoner og kan i sjeldne tilfeller gjøre prøven ugyldig. Pasienten bør derfor unngå å fylle urinbegeret helt opp.

4. **Ubehandlete urinprøver, hvis de ikke skal behandles umiddelbart, må oppbevares ved 2 °C til 8 °C eller holdes på is. Den nedkjølte, ubearbeidede urinprøven må overføres til et transportrør for urinprøver innen 4 timer etter innsamling. Hvis ikke, må prøven avvises og en ny prøve tas. Ubearbeidede urinprøver skal ikke fryses.**
5. For å bearbeide urinprøver, sett på en tett kork, og vend urinprøvene 5 ganger for å resuspendere cellene. Fjern korken på transportrøret for urinprøver og overfør 2,5 ml av den innsamlede urinen til røret ved hjelp av den engangs overføringspipetten som følger med. Korrekt urinvolum er tilsatt når væsknivået er mellom de svarte fyllingslinjene på etiketten på transportrøret for urinprøver.
6. Sett korken tett på transportrøret igjen, og vend urinprøven 5 ganger for å blande. Dette er nå kjent som den behandlede urinprøven.

B. Transport og oppbevaring av prøver før testing:

1. Behandlede urinprøver må transporteres til laboratoriet i transportrøret for urinprøver. Prøver kan transporteres under omgivelsesforhold (uten temperaturkontroll) eller frosset. Transport må arrangeres for å sikre at prøvene mottas på teststedet innen 5 dager etter innsamling.

Ved mottak av forsendelsen skal laboratoriet kontrollere prøvetakingsdatoen på røret. Hvis prøvene ble transportert under omgivelsesforhold og mottas mer enn 5 dager etter prøvetaking, må prøven avvises og ny prøve rekvireres. Når laboratoriet mottar prøvene, kan de lagres ved 2 °C til 8 °C i opptil 14 dager før de må kasseres. Om lengre tid er nødvendig, kan du se Tabell 2 for tillatte oppbevaringstider ved forskjellige temperaturer.

Tabell 2: Varighet for lagring av behandlede urinprøver

Lagringstemperatur	Tid
Oppbevaring og transport av behandlet prøve:	Opp til 5 dager*
Etter mottak på teststedet:	
2 °C til 8 °C	Opp til 14 dager
-35 °C til -15 °C	Opp til 11 måneder**
Ved eller under -65 °C	Opp til 36 måneder**

\*Tillatt tid for transport under omgivelsesforhold eller frosset.

\*\*Tillat tid etter kjølelager.

2. Behandlede urinprøver kan utsettes for opptil 5 fryse-tine sykluser.

C. Prøvelagring etter testing:

1. Prøver som har blitt analysert må oppbevares stående i et stativ.
2. Hvis transportrørene for urinprøver ikke er dekket med et nytt lokk, må de dekkes med ny, ren plast- eller foliepakning.
3. Hvis analyserte prøver skal fryses eller transporteres, fjern gjennomtrengelige hetter og plasser nye ugjennomtrengelige hetter på transportrørene for urinprøver. Hvis prøver skal sendes til testing ved en annen fasilitet, skal anbefalte temperaturer opprettholdes. **Unngå sprut og krysskontaminasjon.**

**Merknad:** Prøver må forsendes i tråd med gjeldende nasjonale og internasjonale transportbestemmelser.

## Testprosedyre

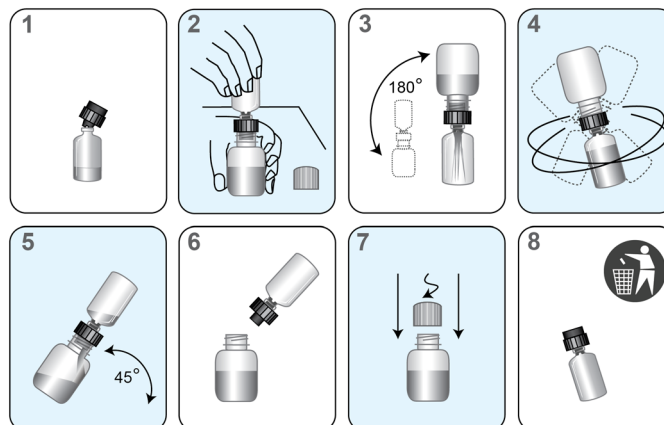
### A. Klargjøre arbeidsområdet

1. Juster et vannbad til  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  for føramplifikasjon, et andre vannbad til  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  for amplifikasjon og et tredje vannbad til  $62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  for etteramplifikasjon. Påse at vannbadene inneholder tilstrekkelig med vann (se *Prosedyrenotater*). Ved bruk av SB100 Dry Heat Bath/Vortexer, henvises det til *Brukerveiledningen for SB100 Dry Heat Bath/Vortexer for Progensa PCA3-analyse (Brukerveiledning for SB100)*.
2. Før analysen starter, skal arbeidsflatene og pipettene tørkes av med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene og pipettene i minst 1 minutt og skyll deretter med vann. Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn. Dekk til benkeflaten der reaksjonen skal utføres, med rent, plastforet, absorberende benkeovertrekk for laboratorier.
3. Legg et tilstrekkelig antall kassetter med ti spisser inn i Target Capture-systemet (TCS). Påse at TCS-vaskeflasken er fylt med vaskeløsning og at aspiratoren er koblet til vakuumpumpen. (Se *Brukerhåndboken for Target Capture-systemet (TCS)*).

### B. Reagensrekonstituering og forberedelse

Rekonstitusjon av reagens skal utføres før prøveoverføringen begynner.

1. For å rekonstituere amplifikasjon-, enzym- og probereagenser, blandes flaskene med lyofilisert reagens med rekonstitueringsløsningen. Hvis de har vært oppbevart nedkjølt, skal rekonstitueringsløsningene nå romtemperatur før de brukes.



**Figur 2. Rekonstitueringsprosessen**

- a. Sammenpass passende rekonstitueringsoppløsning med dens tørkede reagens. Verifiser at ampullene har samsvarende etikettfarger for å påse at de sammenpasses korrekt.
- b. Åpne ampullen med tørket reagens og sett enden med hakket på rekonstitusjonskragen fast inn i ampulleåpningen (Figur 2, trinn 1).
- c. Åpne den tilsvarende rekonstitusjonsløsningen og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate. Mens løsningsflasken holdes på benken, settes den andre enden på rekonstitusjonskragen fast inn i flaskeåpningen (Figur 2, trinn 2).



- d. Snu den monterte flasken og ampullen langsomt. La løsningen renne fra flasken og inn i glassampullen (Figur 2, trinn 3). Vent til den lyofiliserte reagensen går inn i oppløsningen, og bland forsiktig oppløsningen i glassampullen til en miks. Unngå skumdannelse mens flasken virvles (Figur 2, trinn 4).
  - e. Inverter enheten og sett i en 45° vinkel for å redusere skumdannelse (Figur 2, trinn 5). La all væske renne tilbake i plastflasken.
  - f. Ta av rekonstitusjonskragen og glassampullen (Figur 2, trinn 6).
  - g. Sett hetten tilbake på plastflasken (Figur 2, trinn 7). Skriv ned brukerens initialer og rekonstitusjonsdatoen på alle rekonstituerte reagensampuller. Påse å registrere analytten (PCA3 eller PSA) på probereagensampullene.
  - h. Kast rekonstitusjonskragen og glassampullen (Figur 2, trinn 8).
2. Tidligere rekonstituert probe-, amplifisering- og enzymreagenser må nå romtemperatur (15 °C til 30 °C) før analysen begynner. Se *Krav til oppbevaring og håndtering* for informasjon om sammenslått restreagens. Hvis den rekonstituerte amplifikasjonsreagensen inneholder utfellinger som ikke går tilbake til oppløsning ved romtemperatur, varm ved 62 °C ± 1 °C for 1 til 2 minutter i området for førampifikasjon. Hvis den rekonstituerte probereagensen inneholder utfellinger som ikke går tilbake til oppløsning ved romtemperatur, varm ved 62 °C ± 1 °C for 1 til 2 minutter i området for etterampifikasjon. Når disse varmetrinnene er utført, kan de rekonstituerte reagensene brukes selv om det finnes restutfellinger. Bland ampullene ved å vende dem forsiktig etter resuspensjon.

### C. Sette opp stativ

Den repeterende pipetten som brukes ved target capture, prøveoverføringen og amplifikasjonen skal være dedikert til bruk kun i disse trinnene (se *Advarsler og forholdsregler*).

1. Sett opp et stativ for PCA3-analytten og et annet stativ for PSA-analytten.  
**Merknad:** Hvis antallet prøver er lavt nok, kan begge analyttene testes i et enkelt stativ. Dersom TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet brukes, må separate stativer brukes for hver analytt. Kun to fulle stativer (20 TTUer) kan testes samtidig.
2. Plasser tilstrekkelig med TTU-er i stativene for enhetene med ti rør (TTU) til å kunne romme kalibratorene, kontrollene og prøvene for hver analytt.
3. Merk TTUene med prøve/prøve-ID-ene. Tabell 3 beskriver tilføring av kalibratorer, kontroller og prøver. Start PSA-kalibratorer på en ny TTU.

**Merknad:** Kalibratorer skal kjøres i tre replikater og kontroller i to replikater, og de må kjøres på samme stativ som prøvene. Prøvene må kjøres i duplikat. Ikke la det være tomme reaksjonsrør mellom kalibratorer, kontroller og prøver. Hvis TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet brukes, se *Brukerveiledningen for TECAN Freedom EVO 100/4 for Progenssa PCA3-analyse (Brukerveiledning for TECAN Freedom EVO)* for ytterligere informasjon.

Tabell 3: Eksempel på oppsett av stativ

Stativ Posisjon	Prøve Beskrivelse	*Mål-PCA3-konsentrasjon (kopier/ml)	*Mål-PSA Konsentrasjon (kopier/ml)
1 til 3	Kalibrator 1	0	0
4 til 6	Kalibrator 2	250	7.500
7 til 9	Kalibrator 3	2.500	75.000
10 til 12	Kalibrator 4	25.000	750.000
13 til 15	Kalibrator 5	125.000	3.000.000
16 til 17	Kontroll A	1.250	37.500
18 til 19	Kontroll B	62.500	1.500.000
20 til n	Prøve	ukjent	ukjent

\*PCA3 og PSA positive kalibratører og kontroller er verditilvist, slik at faktiske kopier/ml-verdier for kalibrator 2 til 5 og kontroll A og B vil være noe forskjellig fra målkonsentrasjonene som er oppført i tabellen, og de vil variere fra parti til parti. Informasjonen om konsentrasjon står på et kort i pakken med kalibrator- og kontrollampuller, og brukes til kalibrering og fastsettelse av kjøringens gyldighet.

#### D. Verifisering av konsentrasjonsinformasjon

Verifiser med systemadministratoren for Progensa PCA3-analyseprogramvaren at konsentrasjonsinformasjonen for partiene med Progensa PCA3 og PSA kalibrator- og kontrollsett som testes har blitt lagt inn. Se *Hurtigguiden for Progensa PCA3-analyse (Hurtigguide)* eller *Veiledning for systemadministrator av Progensa PCA3-analyseprogramvare* for mer informasjon.

**Merknad: Før første bruk** må konsentrasjonsinformasjonen for hvert nye kalibrator- og kontrollsettparti legges inn. For etterfølgende kjøring som bruker kalibratører og kontroller fra samme sett er det ikke nødvendig med videre handlinger.

#### E. Oppsett av Worklist Editor

Generer en arbeidsliste for analysekjøring med bruk av Hologic Worklist Editor på en datamaskin i området for førampifikasjon. Se *Hurtigguiden* eller *Bruerveiledningen for Hologic Worklist Editor* for informasjon om bruk av Worklist Editor. Dersom TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet brukes, se også *Bruerveiledningen for TECAN Freedom EVO* for ytterligere instruksjoner.

#### F. Prøveforberedelse

1. La kalibratørene og kontrollene nå romtemperatur før testing. Bland ampullene ved forsiktig vending.
2. La testprøvene nå romtemperatur før testing. **Prøver må ikke virvles.** Testprøvene bør blandes ved leilighetsvis, forsiktig vending under oppvarmingsperioden. Se *Prosedyrenotater* for informasjon om utfelling som ikke løser seg opp i løsningen, samt håndtering av frosne prøver.

## G. Førampplifikasjon

Førampplifikasjonsmiljøet må være 15 °C til 30 °C. Kjør begge stativene parallelt. Hvis SB100 Dry Heat Bath/Vortexer brukes, se *Brukerveiledningen for SB100*. Dersom TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet brukes, se *Brukerveiledningen for TECAN Freedom EVO* for ytterligere instruksjoner.

1. Bland Target Capture-reagensen (TCR) godt ved virvling eller vending. Bruk repetisjonspipetten, og tilfør 100 µl med analyttspesifikk TCR til riktig reaksjonsrør.
2. Gjennomtreng lokket på kalibratorampullen med mikropipetten og tilfør 400 µl med kalibrator til det korrekte merkede reaksjonsrøret. Med bruk av den samme pipettspissen, trekker du ut replikattillegget fra ampullen via det gjennomtrengte lokket. Bruk nye pipettspisser for hver kalibratorampull. Gjenta prosedyren for tilføring av kontroller og prøver. Dekk til og lagre eventuelle prøverester og oppbevar ved eller under 8 °C (se *Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver* for mer informasjon) i tilfelle det blir nødvendig med omtesting.
3. Dekk til TTUene med forseglingskortet(ene) og rist stativet forsiktig for hånd. **Må ikke virvles.** Inkuber stativet ved 62 °C ± 1 °C i et vannbad i en periode på 30 ± 5 minutter.
4. Ta ut stativet fra vannbadet og tørk av bunnen på rørene på absorberende materiale.
5. Kontroller at forseglingskortene er godt festet. Hvis nødvendig, skift ut med nye forseglingskort og forsegl TTUene godt.
6. Virvle stativet i 60 sekunder på virvelblandere for flere rør (se *Prosedyrenotater*). Start virvlingen innen 2 minutter etter at stativet er tatt ut fra vannbadet.
7. Inkuber stativet ved romtemperatur i en periode på 30 ± 5 minutter, uten å ta av forseglingskortene.
8. Plasser stativet med Front-tab fremover på den magnetiske basen for TCS i en periode på 5 til 10 minutter. Fyll TTC-stativet med TTCer.
9. Prime pumpe slangene til dispenseringsstasjonen ved å pumpe vaskeløsning gjennom dispenseringsmanifolden. Pump nok væske gjennom systemet til det ikke er luftbobler i slangen og alle ti dysene leverer en jevn væskestrøm.
10. Slå på vakuumpumpen og koble aspirasjonsmanifolden fra den første koblingen mellom manifolden og væskelåsflasken. Påse at vakuummåleren oppfyller spesifikasjonene for lekkasjetesten. Det kan ta 15 sekunder å gjøre denne avlesingen. Koble manifolden til på nytt og sørg for at vakuummåleren oppfyller spesifikasjonene for vakuumnivået. La vakuumpumpen være påslått til alle target capture-trinnene er utført og aspirasjonsmanifolddrøret er tørt.  
Se arket med vakuumspekifikasjoner for Target Capture-systemet bak i *Brukerveiledningen for Target Capture-systemet* eller kontakt teknisk support hos Hologic for ytterligere informasjon.
11. Fest aspirasjonsmanifolden godt til første sett med spisser. Senk spissene ned i den første TTU-en inntil spissene kommer i kontakt med toppen av væsken. Oppretthold spisskontakten med toppen av væsken mens spissene beveges ned, inntil de kommer i kortvarig kontakt med bunnen av rørene. Bank spissene lett mot bunnen av rørene inntil all gjenværende væske er fjernet. Spissene skal ikke holdes i langvarig kontakt med bunnen av rørene eller bankes raskt, da det kan danne overflødig skum i vakuumfellen.

12. Når aspirasjonen er ferdig, settes spissene inn i den opprinnelige spisskassetten. Gjenta aspirasjonstrinnene for gjenværende TTU-er, og bruk en dedikert spiss for hvert reaksjonsrør.
13. Sett dispenseringsmanifolden over hver TTU og tilsett 1,0 ml vaskeløsning i hvert rør på TTU-en ved hjelp av dispenseringsstasjonspumpen.
14. Dekk til rørene med et forseglingskort og ta stativet ut av TCS. Virvle én gang på virvelblanderen for flere rør. Se *Prosedyrenotater* for mer informasjon.
15. Plasser stativet på den magnetiske basen for TCS i en periode på 5 til 10 minutter.
16. Aspirer all væske som i Trinn 11 og 12.
17. Når den siste aspirasjonen er ferdig, fjern stativet fra TCS-basen og kontroller rørene visuelt for å påse at all væske har blitt aspirert og alle rørene inneholder magnetiske partikkelpelletter. Hvis det finnes væske, settes stativet tilbake på TCS-basen i 2 minutter, og aspirasjonen gjentas for denne TTU-en med de samme spissene som ble brukt tidligere for hvert reaksjonsrør. Dersom NOE magnetisk partikkelpellet er synlig etter at aspirasjonen er fullført, kan røret godkjennes. Hvis pellet ikke er synlig, må prøven testes på nytt. Dersom den samme prøven ikke inneholder en magnetisk partikkelpellet ved dette trinnet i en etterfølgende kjøring, kan dette indikere et prøvespesifikt problem. I denne situasjonen anbefales ny prøvetaking av urin.

#### H. Amplifisering

**Merknad:** Tilførsel av enzym til et reaksjonsstativ (Trinn 6 og 7 nedenfor) må utføres i løpet av 90 sekunder eller raskere.

Utfør først Trinn 6 og 7 på ett stativ, og gjenta deretter trinnet for det neste stativet. Hvis SB100 Dry Heat Bath/Vortexer brukes, se *Brukerveiledningen for SB100*. Dersom TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet brukes, se *Brukerveiledningen for TECAN Freedom EVO* for ytterligere instruksjoner.

1. Bruk den repeterende pipetten og tilsett 75 µl rekonstituert analyttspesifikk amplifikasjonsreagens til hvert reaksjonsrør. Alle reaksjonsblandinger i stativet skal nå ha rød farge.
2. Bruk den repeterende pipetten og tilsett 200 µl oljereagens.
3. Dekk rørene med et forseglingskort og virvle på virvelblanderen for flere rør.
4. Inkuber stativet i vannbad for føramplifikasjon ved  $62\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  i en periode på  $10 \pm 5$  minutter.
5. Overfør stativet til et vannbad ved  $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  for en periode på  $5 \pm 2$  minutter.
6. Fjern forseglingskortet forsiktig mens stativet er i vannbadet. Bruk repetisjonspipettene og tilfør 25 µl med rekonstituert enzymreagens til hver av reaksjonsblandingene. Alle reaksjonsblandingene skal nå være oransje.
7. Rørene må umiddelbart dekkes med et nytt forseglingskort. Ta deretter stativet ut av vannbadet og bland reaksjonene raskt ved å forsiktig riste stativet for hånd.

**Merknad:** Tiden stativet er utenfor vannbadet må minimaliseres for å unngå at rørene nedkjøles.

8. Inkuber stativet ved  $42\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  i en periode på  $60 \pm 5$  minutter.

## I. Etteramplifikasjon

Den repeterende pipetten som brukes til hybridisering og valg, skal dedikeres for kun disse trinnene (se *Advarsler og forholdsregler*). Etteramplifikasjonsmiljøet, inkludert detektering, må være mellom 15 °C til 30 °C. Se *Brukerveiledningen for SB100* dersom SB100 Dry Heat Bath/Vortexer brukes.

## 1. Hybridisering

- a. Ta ut stativet fra vannbadet for før-amplifikasjon og overfør stativet til området for etteramplifikasjon. Tilfør 100 µl rekonstituert analyttspesifikk probereagens, med bruk av repetisjonspipetten. Alle reaksjonsblandinger skal nå være gule.
- b. Dekk rørene med et forseglingskort og virvle i 10 sekunder, eller frem til fargen er enhetlig, på virvelblander for flere rør.
- c. Inkuber stativet ved 62 °C ± 1 °C i et vannbad i en periode på 20 ± 5 minutter.
- d. Ta ut stativet fra vannbadet og inkuber ved romtemperatur i en periode på 5 ± 1 minutter.

## 2. Valg

- a. Bruk den repeterende pipetten og tilsett 250 µl valgreagens i hvert rør. Alle reaksjonsblandinger skal nå være rosa.
- b. Dekk rørene med et forseglingskort og virvle i 10 sekunder, eller frem til fargen er enhetlig, og inkuber stativet i et vannbad ved 62 °C ± 1 °C i en periode på 10 ± 1 minutter.
- c. Ta ut stativet fra vannbadet. Inkuber stativet ved romtemperatur i en periode på 15 ± 3 minutter.

## J. Deteksjon

For bruk av Leader HC+ Luminometer, se *Brukerveiledningen for Leader HC+ Luminometer*. For bruk av Progensa PCA3-analyseprogramvare, se *Hurtigguiden* eller *Veiledningen for systemadministrator og Brukerveiledningen for Progensa PCA3-analyseprogramvare*.

1. Klargjør Leader HC+ luminometeret ved å sette en tom TTU i kassettposisjon nr. 1 og utføre WASH (vaske)-protokollen én gang.
2. Påse at det er tilstrekkelige mengder Auto Detect 1 og 2 til å fullføre reaksjonene.
3. Plasser TTUene i luminometeret med bruk av luminometerets diagram som en veiledning. Hvis begge analytter testes (kjøring med fortløpende analyser), plasser alle PCA3 TTUene først, umiddelbart etterfulgt av alle PSA TTUene.
4. Logg på datamaskinen. Klikk på **NEW RUN** (ny kjøring) og velg riktig analyseprotokoll og konsentrasjoner. Klikk på **NEXT** (neste) og start kjøringen.

**Merknad:** Kjøringen må fullføres innen 2 timer før slutten på 62 °C-valgtrinnsinkubasjonen.

5. Tilbered deaktiveringsvæske ved å blande like deler 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning og buffer for deaktiveringsvæske i en plastbeholder med stor hette. Sett på etikett og noter utløpsdatoen på plastbeholderen. Deaktiveringsvæsken er stabil i 4 uker i romtemperatur.
6. For kjøring med fortløpende analyser vil analyseprogramvaren generere to kjørerapporter, en rådatarapport og en forholdstillrapport, når kjøringen er ferdig (se *Kvalitetskontrollprosedyrer* og *Tolking av resultater*).

7. Ta ut de brukte TTU-ene fra luminometeret når kjøringen er ferdig, og plasser TTU-ene i beholderen med deaktiveringsvæsken. La TTU-ene bli i beholderen i minst 15 minutter før de kasseres. Riktig håndterings- og avhendingsmetoder skal opprettes av laboratorielederen.

## Prosedyrenotater

### A. Prøveforberedelse

1. Hvis prøver inneholder suspenderte utfellinger, varm opp til 37 °C i 5 minutter etterfulgt av forsiktig vending. Hvis utfellingen ikke går tilbake til løsningen, må du påse at utfellingen ikke forhindrer levering av prøven.
2. Frosne prøver må tines ved romtemperatur (15 °C til 30 °C, du kan bruke vannbad) med leilighetsvis vending under tiningen for å forhindre dannelse av en uoppløselig plugg. Bland prøvene ved forsiktig vending straks isen på innsiden av ampullen har tint nok til å løsne og bevege seg fritt. Fortsett oppvarmingen til prøven er fullstendig tint og bland igjen ampullene ved forsiktig vending.
  - a. Hvis det dannes en plugg og prøver skal pipetteres med TECAN Freedom EVO 100/4-instrumentet, fryses prøvene igjen og tineinstruksjonene gjentas mens du påser at det ikke dannes plugg. Hvis det er umulig å unngå pluggen, må prøven pipetteres for hånd.
  - b. Hvis en plugg dannes og prøver må pipetteres for hånd med en mikropipette, er det ikke nødvendig å gjøre noe mer enn å sikre at pluggen ikke hindrer levering av prøve.

### B. Pipettering av kontroll, kalibrator og prøve

1. Kalibrator-, kontroll- eller prøvevolumet som tilføres TTUen skal være 400 µl. For å oppnå riktig volumoverføring, anbefales det å kontrollere volumet som pipetteres inn i TTUen visuelt. Riktig volum er nødvendig for å få nøyaktige resultater.
2. Kontroller at pipettspissen er korrekt plassert på pipetten og kontroller at voluminnstillingen er korrekt. Det anbefales å visuelt kontrollere voluminnstillingen ved slutten av hver TTU (hvert 10 rør). Slipp sprøytespissen sakte ved jevn hastighet når prøven trekkes ut. Dette for å unngå generering av skum og bobler.

### C. Reagenser

1. Den fortynnede probeopløsningen kan utskilles under oppbevaring. Varm oppløsningen ved 62 °C ± 1 °C i en periode på 1 til 2 minutter. Etter dette oppvarmingstrinnet kan proberekonstitusjonsløsningen brukes selv om det finnes rester av utfellinger. Etter resuspensjon blandes ampullen ved å vende den forsiktig.
2. Ved pipettering av andre reagenser enn enzymreagens, forsøk å innrette mot siden av bunnen på reaksjonsrøret (hvor bunnkurvene opp møter sidene). Innrett rett mot midten av reagensrøret ved pipettering av enzymreagens. Bekreft visuelt at reagensene dispenseres korrekt (ingen stor mengde med reagens på sidene av rørene, samt korrekt fargeendring).

## D. Temperatur

1. Target capture-, amplifiserings-, hybridiserings- og valgtrinnene er alle temperaturavhengige. Det er derfor absolutt nødvendig at vannbadene opprettholdes innen de angitte temperaturområdene.
2. Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

## E. Tid

Target capture-, amplifiserings-, hybridiserings- og valgreaksjonene er alle tidsavhengige. Overhold de spesifikke tidsperiodene i *Testprosedyre*.

## F. Virvling

Korrekt virvling er meget viktig for å oppnå vellykket ytelse for Progensa PCA3-analysen. For virvling av reaksjonsblandinger, still hastigheten for virvelblanderen for flere rør på den laveste innstillingen, fest stativet og slå på strømmen. Øk hastigheten sakte, frem til væsken når halvveis opp i røret. Virvle i 10 sekunder, som er den angitte tidsperioden, eller frem til fargen er helhetlig. Sett hastigheten til den laveste innstillingen før du slår av virvelblanderen for flere rør og tar ut stativet. Reaksjonsblandingene må ikke komme i kontakt med forseglingskortene.

## G. Vannbad

1. Vannivået i vannbadene må holde en dybde på 3,8 til 5,0 cm (1,5 til 2,0 tommer), som målt fra støttebrettet av metall (nederst på vannbadet) og opp til vannoverflaten. Dette vil sørge for korrekt varmeoverføring.
2. For å unngå kryss-kontaminasjon, må vannbadene dedikeres til et spesifikt analysetrinn.

## H. Dekontaminering

## 1. Flater og pipetter

Laboratoriets benkeflater og pipetter må dekontamineres regelmessig med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen komme i kontakt med flatene i minst ett minutt og skyll deretter med vann. **Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn.** Klorinløsninger kan korrodere utstyr og metall. Korrodering av utstyret kan unngås med grundig skylling med vann.

## 2. TCS aspirasjonsmanifold

Hver gang etter bruk:

- a. Flytt dispenser manifolden slik at den ikke er i veien.
- b. Plasser en ny TTC i TTC-stativet. Sett på vakuumpumpen. Fest aspirasjons manifolden til spissene i TTC. Aspirer all gjenværende vaskeløsning i dispenserstasjonens primingsbeholder.
- c. Tilfør minst 100 ml med 0,5 % til 0,7 % (0,07 M til 0,1 M), eller om ønsket 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M), natriumhypoklorittløsning i primerbeholderen. Aspirer hele løsningen gjennom aspirasjons manifolden.
- d. Hell minst 100 ml med avionisert vann inn i primerbeholderen. Aspirer alt vannet gjennom aspirasjons manifolden.
- e. Støt ut spissene til sine opprinnelige TTC.
- f. La vakuumpumpen stå på til manifoldrøret er tørt for å forhindre tilbakestrømming (omtrent 3 minutter).
- g. Rengjør overflatene på aspirasjons manifolden som beskrevet i *TCS-enhet*.

## 3. TCS-avfallsbeholder

Rengjør avfallsflasken minst en gang i uken eller når avfallsflasken er 25 % full, det som kommer først.

- a. Slå av vakuumpumpen og la vakuumtrykket utjevnes.
- b. Løsne hurtigfrakoblingene mellom avfallsflasken og overstrømsflasken og avfallsflasken og aspirasjonsmanifold.
- c. Fjern avfallsflasken fra vakuumbeholderen.
- d. Fjern lokket og tilfør forsiktig 400 ml med 5 % til 7 % (0,7 M to 1,0 M) natriumhypoklorittløsning i avfallsflasken på 4 l.

**Merknad:** Dette kan gjøres i en avtrekkshette for å unngå at dampene slippes ut i laboratoriet.

- e. Sett lokket på avfallsflasken og virvle innholdet forsiktig til det er fullstendig blandet.
- f. La avfallsflasken hvile i minst 15 minutter og avhend så innholdet (avfall).
- g. Skyll avfallsflasken med vann for å fjerne alt gjenværende, innvendig avfall.
- h. Sett lokk på den tomme avfallsflasken og plasser den i vakuumbeholderen. Fest hurtigfrakoblingen på TCS-enheten. Pass på å kaste begge hanskene.

## 4. TCS-enhet

Tørk av overflatene på TCS-enheten, aspirasjonsmanifolden og vaskebufferejektorspissene med papirhåndklær fuktet med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. Utfør vannrens etter natriumhypokloritt-trinnet, og tørk deretter overflatene fullstendig med papirtørklær.

## 5. Stativer

Senk stativene ned i 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning og påse at de er dekket med løsningen. La stativene ligge i bløt i 10 minutter. Lengre eksponering vil skade stativene. Skyll stativene godt med vann og tørk deretter godt med papirhåndklær.

## I. Analysekontaminasjon

1. Tilførsel av kontaminerte materialer kan forekomme dersom ikke tilstrekkelig forsiktighet utvises under analyseprosedyren.
2. TTU-ene må dekontamineres i deaktiveringsvæske som beskrevet i *Testprosedyre*. TTU-ene skal ikke brukes på nytt.
3. Utfør regelmessig dekontaminasjon av utstyr og arbeidsflater, som beskrevet ovenfor i *Dekontaminering*.
4. Som i alle reagenssystemer, kan for mye pulver på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Operatørene anbefales å bruke puddefrie hansker.



## Kvalitetskontrollprosedyrer

### A. Kjøringens gyldighet

1. Kalibratorer og kontroller må kjøres med alle analyser, og på samme stativ som testprøvene. Følgende kriterier må overholdes for at en kjøring skal kunne betraktes som gyldig:

Gjennomsnittlig RLU for kalibrator 2 > RLU-grenseverdi

Der RLU-grenseverdien = Gjennomsnittlig RLU for kalibrator 1  
+ 1,645 standardavvik for kalibrator 1 RLU-replikater  
+ 1,645 standardavvik for kalibrator 2 RLU-replikater.

Gjennomsnittlig interpolert kalibrator 5 gjenoppretting =  $100 \pm 30 \%$

Gjennomsnittlig interpolert kontroll A gjenoppretting =  $100 \pm 60 \%$

Gjennomsnittlig interpolert kontroll B gjenoppretting =  $100 \pm 35 \%$

2. PCA3-programvaren evaluerer automatisk resultatene opp mot kriteriene ovenfor og rapporterer kjørestatusen som PASS (bestått) hvis gyldighetskriteriene er overholdt. Kjørestatusen FAIL (ikke bestått) rapporteres dersom gyldighetskriteriene ikke overholdes.
3. Dersom kjørestatusen er FAIL (ikke bestått), vil alle testresultatene i den samme kjøringen være ugyldige for den analytten og de må ikke rapporteres.
4. Hvis en kjøring er ugyldig, må kjøringen gjentas for den analytten (se *Tolking av resultater*). Dersom kjøringen er gyldig for den andre analytten, kan disse resultatene brukes i en dataanalyse sammen med den gjentatte, gyldige kjøringen for den første analytten.

### B. Prøvens gyldighet

Innen en gyldig kjøring kan individuelle prøveresultater indikeres som INVALID (ugyldig) i rådatarapporten (se *Tolking av resultater*). Selv om individuelle replikater for en prøve kan være gyldige, vil en prøve ugyldiggjøres dersom den interpolerte kopier/ml-forskjellen mellom replikatene er høyere enn 600 %. Testing av prøven for den analytten må gjentas.

## Tolking av resultater

### A. Rapporttyper

#### 1. Rådatarapport

Rådatarapporten inneholder informasjon om kjøringens gyldighet (PASS (bestått) eller FAIL (ikke bestått); se *Kvalitetskontrollprosedyrer*) samt informasjon om de individuelle reaksjonsrørene som testes med Progensa PCA3-analysen. Hvis en kjøring er ugyldig (FAIL (ikke bestått)), vil alle rørene i den kjøringen merkes som ugyldige. Individuelle rør kan imidlertid anses som ugyldige innen en gyldig kjøring (PASS (bestått)). For kjøring med fortløpende analyser (dvs. PCA3- og PSA-analytter testes i den samme analysekjøringen), kan en analyttkjøring være ugyldig mens den andre analyttkjøringen er gyldig.

Sammendraget over unntak finnes på slutten av rådatarapporten. Når begge analyttkjøringene er gyldige for kjøring med fortløpende analyser, kan det være at prøvene som er oppført i sammendraget over unntak krever omtesting av en analytt. Selv om en PCA3 Score er listet opp i sammendraget over unntak, er ikke dette resultatet ansett som rapporterbart før manuell matching er utført og resultatene listes opp i en forholdstallsrapport. Hvis kun en analytt ble testet eller hvis en analyttkjøring er ugyldig, vil alle prøvene som er testet listes opp i sammendraget over unntak.

#### 2. Forholdstallsrapport

Analyseprogramvaren genererer automatisk en forholdstallsrapport for en kjøring med fortløpende analyser hvor begge analyttkjøringene er gyldige. Programmet beregner og lister opp PCA3 Scoren for prøvene i forholdstallsrapporten. Prøver som er listet opp i forholdstallsrapporten krever enten ikke ytterligere testing eller begge analyttene må testes på nytt. Prøver som ikke er oppført i forholdstallsrapporten finnes i avsnittet sammendrag over unntak i rådatarapporten.

En forholdstallsrapport kan også genereres etter manuell matching (se *Manuell Matching* for mer informasjon).

#### 3. Kvalitetskontrollrapport

Kvalitetskontrollrapporten lister opp gyldighetskriterier for analysekjøring, tildelte og interpolerte konsentrasjoner og gjenoppretting av kalibratorer og kontroller. Rapporten fører også opp parametrene som definerer kalibreringskurven med fire parametre for doserespons (3). Se *Bruerveiledningene for Progensa PCA3-analyseprogramvare* for ytterligere informasjon.

### B. Matching

#### 1. Automatisk matching

I kjøring med fortløpende analyser hvor begge analyttkjøringene er gyldige, matcher programmet automatisk de individuelle PCA3- og PSA-analyttresultatene for prøvene, og PCA3 Scoren fastsettes (hvis mulig å beregne). Resultatene listes opp i forholdstallsrapporten eller i sammendraget over unntak i rådatarapporten.

#### 2. Manuell Matching

Når PCA3- og PSA-analytter testes i forskjellige kjøring, kan ikke programmet automatisk bestemme PCA3 Scoren. Manuell matching av analyttresultatene er nødvendig for å fastsette området for PCA3 Scoren eller PCA3 Scoren (se *Hurtigguiden* eller *Bruerveiledningen for Progensa PCA3-analyseprogramvare*). Manuell matching kan også være nødvendig for resultater som er listet opp i

sammendraget over unntak i rådatarapporten. Når manuell matching er utført, vil PCA3 Scorene for de matchede prøvene føres opp i en ny forholdstallsrapport.

## C. Tolke rapporter

### 1. PCA3 Score

**Merknad:** *Kun områdene for PCA3 Score og PCA3 Score som er oppført i forholdstallsrapporten er rapporterbare. Resultater som vises i sammendraget over unntak kan kreve videre handlinger og er ikke rapporterbare.*

PCA3-scoren beregnes som forholdstallet mellom PCA3 RNA-kopier og PSA RNA-kopier, multiplisert med 1.000. PCA3-scoring kan kun beregnes med resultater fra gyldige kjøring og prøver. Ugyldige kjøring og ugyldige prøver må testes på nytt for den analytten (se *Omtesting* for mer informasjon).

Dersom den rapporterte PCA3 Scoren er under grenseverdien, skal resultatet tolkes som NEGATIVT. Hvis PCA3 Scoren er over eller lik grenseverdien, skal resultatet tolkes som POSITIVT. Grenseverdien fastsettes av laboratorielederen (se *Ytelseskaraktistikker* for mer informasjon).

I noen tilfeller fremskaffes et PCA3-scoreområde ( $>[\text{Beregnet PCA3-score}]$  eller  $<[\text{Beregnet score}]$ ). Dersom  $<[\text{Beregnet PCA3-score}]$  er under grenseverdien, skal resultatet tolkes som NEGATIVT. Dersom  $>[\text{Beregnet PCA3-score}]$  er over grenseverdien, skal resultatet tolkes som POSITIVT. Dersom en tallverdi er nødvendig, kan prøvefortynning og omtesting generere en PCA3-score i stedet for et PCA3-scoreområde (se *Omtesting - Fortynning av prøver som er utenfor området, høy*).

### 2. Tolke status- og analysekoder

Statuskolonnen i både rådatarapporten og forholdstallsrapporten lister opp informasjon i formatet "s:a". Kjørespesifikke statuskoder ("s") listes opp før (til venstre for) kolonnen, og analyttspesifikke analysekoder ("a") listes opp etter (til høyre for) kolonnen. Analyttspesifikke koder listes opp i små bokstaver for PCA3-resultater og store bokstaver for PSA-resultatene. Hver rapport inneholder beskrivelser av status- og analysekodene som vises i rapporten. Koder kan for eksempel indikere om et prøve- eller replikatresultat er gyldig eller utenfor området. Se *Hurtigguiden* eller *Brukerveiledningen for Progensa PCA3-analyseprogramvare* for en fullstendig oppføring av status- og analysekodere samt ytterligere informasjon.

Hvis en PCA3-score rapporteres i forholdstallsrapporten og ingen status- eller analysekoder vises i kolonnene for PCA3- eller PSA-status, betyr det at begge analytter ble testet som gyldige og "innenfor området". Prøveresultatet kan rapporteres, og ingen videre handling er nødvendig.

Dersom en status- eller analysekode vises i sammendraget over unntak i forholdstallsrapporten, kan det være nødvendig med omtesting (se *Tolke resultatene i sammendraget over unntak* og *Tolke resultater i forholdstallsrapporten*). Hvis analytresultater kommer fra separate kjøring og har en eller flere analysekoder, finner du kombinasjonen for begge analyttene i Tabell 4 eller Tabell 5 for å avgjøre om videre handling er nødvendig.

**Merknad:** *Eksistensen av en status- eller analysekode betyr ikke automatisk at det er nødvendig med omtesting.*

## 3. Tolke resultatene i sammendraget over unntak

I sammendraget over unntak kan det være at ingen unntak listes opp. I disse tilfellene er det ikke nødvendig med videre handlinger.

Se Tabell 4 for instruksjoner dersom sammendraget over unntak lister opp prøver for kjøring med fortløpende analyser hvor begge analyttkjøringene er gyldige.

Se *Tolke status- og analysekoder* for informasjon om individuelle analyttkjøring. I kjøring med fortløpende analyser hvor én analyttkjøring er ugyldig, må den ugyldige kjøringen testes på nytt (se *Omtesting* for mer informasjon) og resultatene behandles som om individuelle analyttkjøring har blitt utført. Det vil være nødvendig med manuell matching.

En prøve kan merkes som ugyldig selv om de individuelle rørene (replikatene) merkes som gyldige. Det er det kombinerte resultatet av replikatene som bestemmer prøvens gyldighet, og store forskjeller mellom replikater vil ugyldiggjøre en prøve (se *Kvalitetskontrollprosedyrer* for mer informasjon).

Tabell 4: Progensa PCA3-analyse, status for sammendrag over unntak

PCA3-resultat (Analysekode*)	PSA-resultat (Analysekode*)	Oppført PCA3 Score	Videre testing?	Handling/kommentar
Innen område (ingen kode)	Ugyldig** (A, B, E, H eller I)	--	Ja	Test PSA på nytt (se <i>Omtesting</i> ) og manuell matching av resultater.
Utenfor område, lav (g)	Ugyldig (A, B, E, H eller I)	--	Ja	Test PSA på nytt (se <i>Omtesting</i> ) og manuell matching av resultater.
Ugyldig (a, b, e, h eller i)	Innen område (ingen kode)	--	Ja	Omtest av PCA3 (se <i>Omtesting</i> ) og manuell matching av resultater.
Innen område (ingen kode)	Utenfor område, høy (F)	<[Beregnet PCA3- Score]**	Valgfritt	1. Match manuelt for å få <[Beregnet PCA3-Score] ELLER 2. Fortynn prøven i prøvefortynningsmiddel (se <i>Fortynning av prøver som er utenfor området, høy</i> ), test PSA på nytt og match resultatene manuelt hvis en PCA3-Score trengs.
Utenfor område, høy (f)	Innen område (ingen kode)	>[Beregnet PCA3-Score]	Valgfritt	1. Match manuelt for å få >[Beregnet PCA3-Score] ELLER 2. Bland ut prøven i prøvefortynner, foreta omtest av PCA3 og match resultatene manuelt hvis en PCA3 Score er påkrevet.
Utenfor område, lav (g)	Innen område (ingen kode)	<[Beregnet PCA3-Score]	Nei	Match manuelt for å få <[Beregnet PCA3- Score].
Utenfor område, lav (g)	Utenfor område, høy (F)	<[Beregnet PCA3-Score]	Nei	Match manuelt for å få <[Beregnet PCA3- Score].

\*Se *Brukerhåndboken for Progensa PCA3 analyseprogramvare* for en fullstendig liste over analysekodene.

\*\*Gjelder kun for ugyldige prøver i en gyldig kjøring.

\*\*\*For verdier utenfor området beregnes den beregnede PCA3-Scoren ut fra kopinivået for den nærmeste positive kalibratoren.

4. Tolke resultater i forholdstallsrapporten

Hvis en prøve er oppført i forholdstallsrapporten med en PCA3 Score, er resultatet en rapporterbar PCA3 Score og videre handlinger er ikke nødvendig. Dersom ingen PCA3-score er oppført, uttrykt som "--" i kolonnen for PCA3-score, skal du se Tabell 5 for instruksjoner.

Tabell 5: Progensa PCA3-analyse, status for forholdstallsrapport

PCA3-resultat (Analysekode*)	PSA-resultat (Analysekode*)	Oppført PCA3 Score	Videre testing?	Handling/kommentar
Innen område (ingen kode)	Innen område (ingen kode)	PCA3 Score	Nei	Ingen videre handling. Resultatet kan rapporteres.
Ugyldig** (a, b, e, h eller i)	Ugyldig (A, B, E, H eller I)	--	Ja	Utfør omtest av begge analyttene (se <i>Omtesting</i> ).
Ugyldig (a, b, e, h eller i)	Utenfor område, høy (F)	--	Ja	Fortynn prøven i prøvefortynningsmiddel (se <i>Fortynning av prøver som er utenfor området, høy</i> ), og utfør omtest av begge analyttene.
Utenfor område, høy (f)	Ugyldig (A, B, E, H eller I)	--	Ja	Bland ut prøven i prøvefortynner, og foreta omtest av begge analyttene.
Utenfor område, høy (f)	Utenfor område, høy (F)	--	Ja	Bland ut prøven i prøvefortynner, og foreta omtest av begge analyttene.
Ugyldig (a, b, e, h eller i)	Utenfor område, lav (G)	--	Nei	Prøven har utilstrekkelig RNA for nøyaktig analyse. En ny prøve må tas fra pasienten.
Innen område (ingen kode)	Utenfor område, lav (G)	--	Nei	Prøven har utilstrekkelig RNA for nøyaktig analyse. En ny prøve må tas fra pasienten.
Utenfor område, høy (f)	Utenfor område, lav (G)	--	Nei	Prøven har utilstrekkelig RNA for nøyaktig analyse. En ny prøve må tas fra pasienten.
Utenfor område, lav (g)	Utenfor område, lav (G)	--	Nei	Prøven har utilstrekkelig RNA for nøyaktig analyse. En ny prøve må tas fra pasienten.

\*Se Brukerhåndboken for Progensa PCA3 analyseprogramvare for en fullstendig liste over analysekodene.

\*\*Gjelder kun for ugyldige prøver i en gyldig kjøring. Dersom prøvene var ugyldige fordi kjøringen var ugyldig, føres resultatene opp i sammendraget over unntak (se *Tolke resultatene i sammendraget over unntak* for mer informasjon).

## D. Omtesting

## 1. Retningslinjer for omtesting

- a. Selv om det ikke er en absolutt nødvendighet at begge analyttene testes i den sammen kjøringen, **må begge analyttrésultatene komme fra den samme prøveampullen for en rapporterbar PCA3 Score.**
- b. Alle ugyldige kjøringar må gjentas og alle ugyldige prøver fra gyldige kjøringar må testes på nytt.
- c. Foreta omtest av prøver med bruk av et nytt sett med kalibratorer og kontroller.
- d. Det er svært viktig at restprøven oppbevares korrekt før omtesting (se *Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver* for mer informasjon).
- e. Det kan være nødvendig å foreta en manuell match av PCA3- og PSA-analytter for å bestemme PCA3-scoren (se *Manuell Matching* for mer informasjon).

## 2. Fortynning av prøver som er utenfor området, høy

- a. Hvis en prøvekonsentrasjon ekstrapolerer over kalibrator 5 i en gyldig kjøring, er resultatet "utenfor område, høy" og resultatet vil merkes med analysekode "f" eller "F" i kjørerapporten(e). Konsentrasjonen vil uttrykkes som >[Kalibrator 5 konsentrasjon].
- b. Vend den behandlede urinprøven for å blande den før prøven fortynnes. En anbefalt, men ikke påkrevd, fortynning er 1:10 med bruk av Progensa PCA3 Specimen Diluent Kit. Tilsett 1.800 µl prøvefortynningsmiddel og 200 µl prøve i egnet ampulle, sett hette på røret og vend om fem ganger for å blande helt. Fortynningsforholdet vil være "10" i arbeidslisten for kjøring. Hvis begge analyttene skal testes på nytt, fordobler du volumene (bruk 3.600 µl prøvefortynner og 400 µl prøve). Se pakningsvedlegget for Progensa PCA3 Specimen Diluent Kit. Test den fortynnede prøven med analysen.
- c. Dersom prøveresultatet ved omtesting fortsatt er utenfor område, høy, fortynner du videre frem til prøveresultatet interpoleres innen området for kalibratorene som er påkrevet. Ytterligere fortynning av den innledende 1:10-fortynningen er tillatt, så lenge den innledende 1:10-fortynningen ble korrekt oppbevart (se *Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver* for mer informasjon).

## Begrensninger

- A. Progensa PCA3-analysen skal ikke brukes for pasienter som tar medisiner som er kjent for å påvirke nivåene av PSA i serum, som for eksempel finasterid (Proscar, Propecia), dutasterid (Avodart) og antiandrogen behandling (Lupron). Effekten av disse medikamentene på PCA3-genuttrykk er fremdeles ikke vurdert.
- B. Visse terapeutiske og diagnostiske prosedyrer, som for eksempel prostataektomi, stråling, prostatabiopsi og andre, kan påvirke viabiliteten for prostatavev og deretter innvirke på PCA3 Scoren. Effekten disse prosedyrene har på analyseytelsen er fremdeles ikke vurdert. Prøver for PCA3-testing skal samles når klinikeren mener at prostatavevet er gjenopprettet.
- C. Bruken av Progensa PCA3-analysen er begrenset til personell som har fått opplæring i prosedyren. Dersom instruksjonene i dette pakningsvedlegget ikke følges, kan det føre til feil resultater.
- D. Hvert laboratorium skal selv validere en LIS-overføringsprosess.
- E. Pålitelige resultater er avhengig av adekvat urinprøvetaking. Siden transportsystemet som brukes for denne Progensa PCA3-analysen ikke tillater mikroskopisk vurdering av urinprøvenes nøyaktighet, skal klinikere ha opplæring i riktige teknikker for urinprøvetaking. Se *Oppsamling, transport og oppbevaring av prøver*. Se pakningsvedlegget som følger med Progensa PCA3 Urine Specimen Transport Kit for detaljert informasjon.
- F. Resultatene fra Progensa PCA3-analysen skal tolkes i samhold med andre laboratoriedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikeren. (Testresultatene kan påvirkes av feil prøvetaking, teknisk feil eller forveksling av prøver.)

## Ytelseskarakteristikk

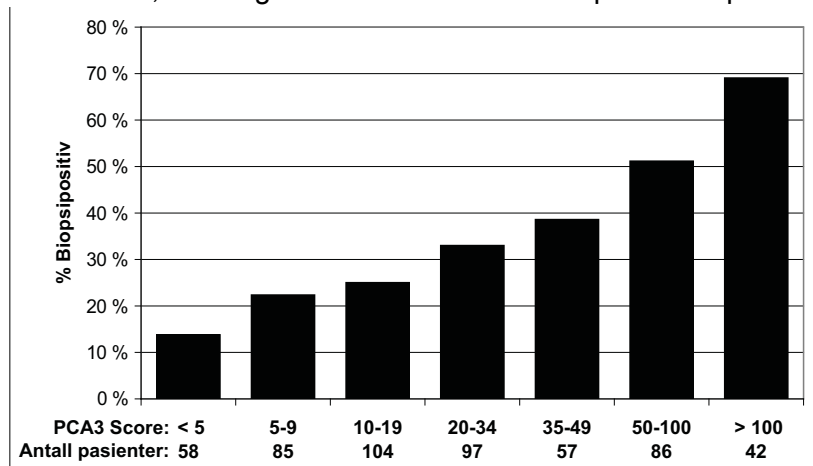
### A. Kliniske resultater

#### 1. Diagnostisk følsomhet og spesifisitet

Ytelseegenskapene for Progensa PCA3-analysen ble påvist med bruk av prøver fra pasienter påmeldt ved fire forskjellige geografiske kliniske institusjoner i Nord-Amerika. Pasientpopulasjonen bestod av 529 menn som var oppført for prostatabiopsi. Pasientenes demografiske informasjon vises nedenfor:

- Gjennomsnittsalder  $\pm$  SD =  $64 \pm 8$  år (median 63, spredning 32 til 89)
- Gjennomsnittlig nivå av PSA i serum =  $7,9 \pm 21,9$   $\mu\text{g/l}$  (5,6, 0,3 til 484)
- Gjennomsnittlig prostatavolum (fastsettes ved transrektal ultralyd) =  $44 \pm 25$  cc (39, 5 til 225)
- 34 % (180/529) biopsi-positive for prostatakreft

Figur 3 viser korrelasjonen av PCA3 Score med sannsynligheten for positiv biopsi. Etterhvert som PCA3 Scoren økte, økte også forekomsten av kreft-positiv biopsi hos pasientene.



**Figur 3. Korrelasjon av PCA3 Score med sannsynligheten for positiv biopsi**

ROC (Receiver operating characteristic)-analyser ble utført, med prostatabiopsi som referansemetoden, i henhold til CLSI GP10-A (1995) (4). For Progensa PCA3-analysen, var området under kurven (AUC) 0,685 (95 % konfidensintervall = 0,637 til 0,733). Tabell 6 viser diagnostisk følsomhet og spesifisitet ved forskjellige grenseverdier for PCA3 Score. Hvert laboratorium skal etablere en grenseverdi for diagnostisk følsomhet og spesifisitet (se *Talking av resultater*).

**Tabell 6: Progensa PCA3-analyse, diagnostisk følsomhet og spesifisitet ved forskjellige grenseverdier for PCA3 Score**

Grenseverdi for PCA3 Score	5	10	15	25	35	50	95
<b>Sensitivitet</b>	96 %	85 %	77 %	63 %	53 %	41 %	17 %
<b>Spesifisitet</b>	14 %	33 %	47 %	61 %	74 %	84 %	95 %



## 2. Prøvestabilitetsstudier

- a. Stabilitet i ren urin: Morgenurin ble samlet fra 10 pasienter og oppbevart ved 2 °C til 8 °C eller ved 30 °C før behandling ved tilføring av urintransportmedium (UTM). Ved 2 °C til 8 °C ble det i visse prøver observert signifikant nedbryting av PCA3 og PSA RNA etter 4 timer. Ren urin må derfor behandles innen 4 timer. Ved 30 °C, ble signifikant nedbryting påvist før det var gått 1 time. Ren urin må derfor alltid nedkjøles eller fryses før behandling.
- b. Stabilitet i behandlet urin: Tolv prøver ble inkubert ved 4 °C eller 30 °C i en periode på opp til 38 dager. Ved 4 °C var PCA3 og PSA RNA stabil i 21 dager; ved 30 °C, 5 dager. Prøver som ble oppbevart ved -20 °C og -70 °C har demonstrert PCA3 og PSA RNA-stabilitet i opp til 90 dager.
- c. Fryse-tine stabilitet: Prøver ble vekslet mellom 37 °C og -70 °C 6 ganger. Ingen reduksjon ble observert i PCA3 eller PSA RNA-kopinivåene.

## B. Analytiske resultater

### 1. Analytisk sensitivitet

Et analytisk følsomhetspanel som bestod av fortyntet *in vitro* RNA-transkript ble brukt til å evaluere analysefølsomheten. En operatør testet panelet i tolv kjøringar for fem replikater, med bruk av et enkelt reagensparti. Detekteringsgrensen og den kvantitative grensen ble beregnet i henhold til CLSI EP17-A (2004) (5).

Detekteringsgrensen var 80 kopier/ml for PCA3-analytten, og 1.438 kopier/ml for PSA-analytten. Den kvantitative grensen for begge analyttene var kalibrator 2.

### 2. Analytisk spesifisitet

- a. Usplittet transkript: ProgenSA PCA3-analysen ble utviklet for å detektere kun prostatakrefstpesifikk exon 3-exon 4-splittet PCA3 RNA (2). Analysen detekterte ikke 1 million kopier/ml usplittet PCA3 RNA signifikant over bakgrunnen.
- b. Prostataspesifisitet for PCA3 RNA i urin: Prøver fra pasienter etter radikal prostatektomi (n = 97) ble testet med ProgenSA PCA3-analysen, og PCA3 RNA-nivåer ble sammenlignet med nivåene fra pasienter før biopsi (n = 464). Median PCA3 RNA kopier/ml var under analysens detekteringsgrense for prøver fra pasienter etter prostatektomi, mens median PCA3 RNA kopier/ml for prøver fra pasienter før biopsi var 7.243 kopier/ml. Disse dataene bekrefter at PCA3 RNA i urin er fra prostata.
- c. Vevsspesifisitet: Total RNA ble ekstrahert fra vev fra to unike mannlige donorer pr. vevstype, tilført prøvefortynner (10 ng pr. reaksjon) og testet med ProgenSA PCA3-analysen. Prostatavev var den eneste typen som ble detektert over PCA3 RNA-grensen for deteksjon av vevstypene oppført i Tabell 7.

Tabell 7: Vevstyper fra menn som er testet for PCA3 RNA

Vevstype	
Blære (normal)	Nyre
Blære (tumor)	Penis
Benmarg	Prostata
Sædleder	Sædblære
Bitestikler	Testikler

- d. Interferensstoffer: Stoffene som er oppført i Tabell 8 ble tilført alikvoter av sammenslått behandlet urin fra menn. Prøvene ble testet med Progensa PCA3-analysen i henhold til CLSI EP7-A2 (2005) (6). Ved konsentrasjonene som er oppført, ble det ikke påvist analyseinterferens.

Tabell 8: Stoffer som er testet for interferens med Progensa PCA3-analyse

Terapeutiske midler		Terapeutiske midler, fortsettelse	
Stoff	Testkonsentrasjon	Stoff	Testkonsentrasjon
Acetaminofen/Codein	5,34 µmol/l	Uroxatral	30 mg/l
Atorvastatin	25 mg/l	Doksazosin	1,33 µmol/l
Lisinopril	0,74 µmol/l	Terazosin	7,8 µmol/l
Amlodipin	245 µmol/l	Finasterid	15 mg/l
Atenolol	37,6 µmol/l	Tamsulosin	1,2 µg/l
Sulfasalazin	754 µmol/l	Metformin	310 µmol/l
Esomeprazol	120 mg/l	Sildenafil	12,9 pmol/l
Allopurinol	294 µmol/l	Saw palmetto	1.600 mg/l
Diphenhydramine	19,6 µmol/l	Selenium	0,275 mg/l
Acetaminofen	1.324 µmol/l		
Acetylsalisylsyre	3,62 mmol/l	Urinkonstituent	
Ibuprofen	2.425 µmol/l	Stoff	Testkonsentrasjon
Furosemid	181 µmol/l	Urinsyre	1,4 mmol/l
Ciprofloxacine	30,2 µmol/l	Hemoglobin	2 g/l
Levaquin	48,6 µmol/l	Hvite blodceller	4,56 x 10 <sup>7</sup> celler/l
Doxycyclin	67,5 µmol/l	Røde blodceller	3,06 x 10 <sup>7</sup> celler/l
Fluoksetin hydroklorid	11,2 µmol/l	Albumin	50 g/l
Flutamid	1.500 mg/l	Bilirubin (ikke konjugert)	342 g/l
Dutasterid	1,5 mg/l	IgG	60 g/l

### 3. Nøyaktighet

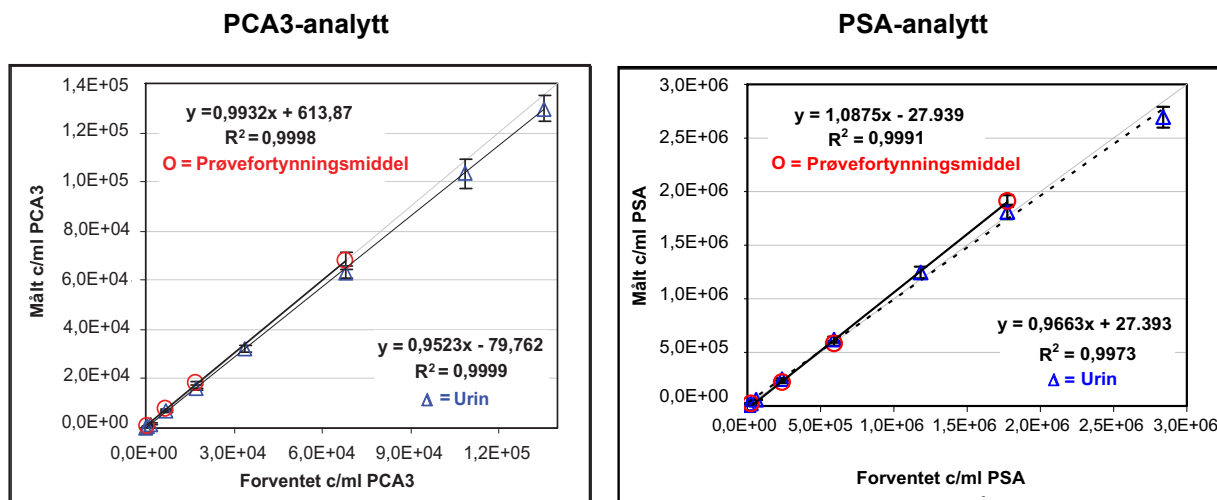
Nøyaktigheten av Progensa PCA3-analysen ble vurdert i henhold til CLSI EP15-A2 (2005) (7). PCA3 og PSA RNA-transkripter ble kvantifisert ved UV-vis spektrofotometri og tilført behandlet normal urin fra kvinner (ingen detekterbar PCA3 eller PSA RNA), og konsentrasjoner ble målt i Progensa PCA3-analysen. Prosentandelen (%) gjenoppretting ble beregnet som et forholdstall av målt av kopier/ml til tilført kopier/ml, multiplisert med 100.

Tabell 9: Gjenopprettingskopi for Progensa PCA3-analysen

Analytt	Kjent konsentrasjon, kopier/ml	Målt konsentrasjon, kopier/ml	% Gjenoppretting
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. Linearitet og område

Det lineære området for Progensa PCA3-analysen ble fastsatt i henhold til CLSI EP6-A (2003) (8), basert på lineære regresjonsanalyser (minste kvadrat). To sett med fortynningsserier ble forberedt fra prøver som inneholdt høye konsentrasjoner med PCA3 og PSA RNA. Et sett ble fortynnet i behandlet urin fra kvinner og et sett ble fortynnet i prøvfortynning. Fortynninger strakk seg over hele analyseområdet mellom de laveste og høyeste kalibratorene for hver analytt. For både PCA3- og PSA-analytter, viste analysemålte resultater en direkte proporsjonell sammenheng mellom fortynningene som ble testet og rapportert analytt kopier/ml. Det ble ikke påvist noen signifikant matriseeffekt for fortynning. Se Figur 4.



Figur 4. Progensa PCA3-analyse, lineæritet for PCA3- og PSA-analytter

## 5. Presisjon

Progensa PCA3-analysepresisjonen ble vurdert i henhold til CLSI EP5-A2 (2004) (9). Repeterbarhet er presisjon under forhold med minimum variabilitet og reproduserbarhet er presisjon under forhold med maksimal variabilitet.

For repeterbarhet ble det tilberedt et 3-medlems testpanel som bestod av fortyntet *in vitro* RNA-transkript. En operatør på et sted testet panelet i 20 kjøring med 5 replikater over 20 dager, med bruk av et enkelt kalibrator- og kontrollparti, reagensparti samt utstyrsett. Tabell 10 viser repeterbarhetspresisjonen for Progensa PCA3-analysen på forskjellige testkonsentrasjonsnivåer.

Tabell 10: Progensa PCA3-analyse, repeterbarhet

Analytt	Panel Element	Gjennomsnittlig kopier/ml	Repeterbarhet SD	Repeterbarhet 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 %

For reproduserbarhet ble det tilberedt et 8-medlems testpanel bestående av sammenslåtte prøver (1 til 3) og fortyntet *in vitro* RNA-transkript (4 til 8). Tre operatører testet panelet i 18 kjøring over 3 dager, med bruk av et enkelt kalibrator- og kontrollparti, 3 reagenspartier og tre utstyrsett. Tabeller 11 og 12 oppsummerer presisjonen totalt, innenfor en kjøring og mellom kjøring, operatører, utstyr og parti for Progensa PCA3-analysen for analytt-kopier/ml og for PCA3-score.

Variabiliteten innenfor en kjøring, mellom operatører og mellom kjøring var, i synkende rekkefølge, de største medvirkende faktorene til analysens totale avvik. Reagensparti og utstyr viste liten innvirkning på det totale avviket for analysen. Disse resultatene demonstrerte at Progensa PCA3-analysen gir reproduserbarhet, og primærkilden til variasjon er tilfeldige feil (innenfor en kjøring).

Tabell 11: Progensa PCA3-analyse, reproduserbarhet: Kopi/ml analyse

Analytt	Panel Element	n	Målt kopier/ml	Total CV	CV, Innenfor en kjøring	CV, mellom kjøring	CV, mellom operatører	CV, mellom utstyr	CV, mellom partier
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 %

Tabell 12: Progensa PCA3-analyse, reproduserbarhet: PCA3 Scoreanalyse

Panel Medlem*	n	Gjennomsnittlig score	Total CV	CV, Innenfor en kjøring	CV, mellom kjøring	CV, mellom operatører	CV, mellom utstyr	CV, mellom partier
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 %

\*Panelmedlem 4 til 6 inneholdt kun PCA3 eller PSA RNA-transkript og ble derfor ikke inkludert i denne analysen.

## Bibliografi

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 USA

Kundestøtte: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)  
customersupport@hologic.com

Teknisk support: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Du finner flere kontaktopplysninger på [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Emergo Europe**  
Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague  
The Netherlands

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Progensa, og SB100 er varemerker og/eller registrerte varemerker som tilhører Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaper i USA og/eller andre land.  
eppendorf (stilisert) og REPEATER er varemerker for Eppendorf AG.  
RAININ er et varemerke for Rainin Instrument, LLC.  
TECAN og FREEDOM EVO er varemerker for Tecan Group AG.

Alle andre varemerker som kan finnes i dette pakningsvedlegget, eies av sine respektive eiere.

©2006 – 2017 Hologic, Inc. Med enerett.

501377NO Rev. 002

2017-03