

Progensa PCA3 Assay

Pentru utilizarea in diagnosticarea *in vitro*.
Numai pentru export S.U.A.

Informatii Generale	1
Reactivi si Materiale Furnizate	2
Materiale	3
Atentionari si Masuri de Precautie	3
Conditii de Pastrare si Manevrare	4
Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor.....	5
Procedura de Testare	6
Proceduri de Control de Calitate	12
Interpretarea Rezultatelor.....	12
Limitari	15
Caracteristici de Performanta	16
Bibliografie	20

Informatii Generale

Destinatia Utilizarii

Analiza Progensa PCA3 este un test de amplificare a acidului nucleic (NAAT) *in vitro* care detecteaza acidul ribonucleic al Cancerului de Prostata Gena 3 (PCA3 (ARN) in speciunile de urina barbatesti pentru a genera un Scor PCA3. Scorul PCA3 are drept scop utilizarea in corelatie cu algoritmele de diagnostic standardizate in vederea diagnosticarii cancerului de prostata.

Sumarul si Explicarea Testului

Utilizarea testului antigenului specific prostatei (PSA) din ser pentru screening-ul cancerului de prostata a avut drept rezultat diagnosticul biopsiei unor tumori (1) mai mici, nedetectate anterior, creand astfel o noua dilema in diagnostic: Numai o parte din barbati cu niveluri crescute de PSA in ser au cancer de prostata detectabil. Barbati cu cel putin o biopsie negativa au adesea un nivel permanent de PSA crescut in ser, in primul rand din cauza unor prostate marite si a hiperplaziilor prostatice benigne (BPH). Totusi, un numar semnificativ de barbati cu PSA usor crescut (2,5-4,0 µg/L) in ser, fie au deja, fie vor dezvolta cancer de prostata semnificativ din punct de vedere clinic (1). In timp ce biopsia ramane de referinta in detectarea cancerului de prostata, sunt necesare totusi teste mai exacte cu o mai mare specificitate pentru sprijinirea deciziilor de efectuarea a biosiei a prostatei.

PCA3 (cunoscut de asemenea sub denumirea "PCA3^{DD3}" sau "DD3^{PCA3}") este un ARN ne-codificat, specific prostatei, care este supra-reprezentat in celulele cancerului de prostata, cu un nivel median de 66 de ori mai mare decat cel din tesutul benign adiacent (2). In contrast, expresia genei PSA este similara in celulele benigne ale prostatei si in celulele canceroase; nivelurile ARN al PSA pot fi astfel utilizate pentru a normaliza cantitatea de acid ribonucleic specific prostatei (ARN) din probele de testare moleculare. A fost demonstrata posibilitatea de realizare a testarii moleculare cantitative pe baza PCA3 din sedimentele urinei (2) si din urina integrala (3).

In Analiza Progensa PCA3 se utilizeaza urina integrala recoltata dupa efectuarea unui tuseu rectal (DRE) constand in trei manopere de palpare per lob. DRE elibereaza celule ale prostatei prin sistemul de canale al prostatei in tractul urinar, unde celulele pot fi recoltate din prima urina. Urina este procesata prin adaugarea Mediului de Transport al Urinei (UTM), care lezeaza celulele si stabilizeaza ARN. ARN ai PCA3 si PSA sunt cuantificati, si Scorul PCA3 este determinat pe baza unui raport dintre ARN PCA3/PSA. In plus fata de normalizarea semnalului PCA3, masurarea ARN PSA confirma de asemenea existenta secventei ARN specific prostatei este suficienta

pentru a genera un rezultat valabil. Scorurile PCA3 mai ridicate sunt corelate cu probabilitatea mai mare a unei biopsii pozitive a prostatei.

Principiile Procedurii

Analiza Progensa PCA3 consta in doua teste cantitative de amplificare a acidului nucleic. Progensa PCA3 Assay combina tehnologiile de captare a tinte, de Amplificare prin Intermediul Transcrierii (Transcription Mediated Amplification) (TMA), si Analiza pe Protectie a Hibridizarii (Hybridization Protection Assay) (HPA) pentru a simplifica operatiunile de procesare a specimenului de urina, de amplificare a ARN al tinte, si respectiv de detectie a ampliconului.

Cand Analiza Progensa PCA3 este efectuata in laborator, moleculele ARN al tinte sunt izolate de speciunile de urina prin captarea tinte. Oligonucleotidele ("oligonucleotidele de captare"), care sunt complementare cu regiuni ale tintelor specifice secventei, sunt hibridizate cu tinte din specimenul de urina. Oligonucleotide de captare diferite sunt utilizate pentru fiecare tinta. Tinta hibridizata este apoi capturata pe microparticule magnetice care sunt separate de specimenul de urina intr-un camp magnetic. Etapele de spalare sunt folosite pentru a indeparta componentele straine din tubul de reactie. Etapele de separare magnetica si de spalare sunt efectuate cu un sistem de captare a tinte.

Amplificarea tinte are loc prin TMA, care este o metoda pe baza de transcriere de amplificare a acidului nucleic, care utilizeaza doua enzime, transcriptaza inversa a virusului Moloney murine leukemia (MMLV) si polimeraza T7 ARN. Un set unic de primeri este utilizat pentru fiecare tinta. Transcriptaza inversa este utilizata pentru a genera o copie a acidului deoxiribonucleic (ADN) (continand o secventa ce sprijina polimeraza T7 ARN) al secventei tinte. Polimeraza T7 ARN produce copii multiple ale ampliconului ARN din sabilonul copiei ADN.

Detectia este realizata de HPA utilizand probe de acid nucleic simplu spiralat cu etichete chemiluminescente care sunt complementare ampliconului. Probe separate sunt utilizate pentru fiecare amplicon al tinte. Probele de acid nucleic etichetate hibridizeaza in mod specific cu ampliconul. Reactivul de Selectie face diferenta intre probele hibridizate si cele nehibridizate prin inactivarea etichetei de pe probele nehibridizate. In timpul etapei de detectie, semnalul chemiluminescent emis de proba hibridizata este masurat intr-un luminometru si este raportat ca Unitati de Lumina Relativa (RLU).

ARNs ai PCA3 si PSA sunt cuantificati in tuburi separate si este determinat Scorul PCA3. Calibratorii ce contin cantitati cunoscute de transcript ARN PCA3 sau PSA sunt inclusi in fiecare ciclu de rulare al analizei si utilizati pentru a genera o curba standard. Controalele PCA3 si PSA sunt de asemenea incluse pentru a verifica acuratetea rezultatelor interpretate fata de curba standard.

Reactivi si Materiale Furnizate

Notă: Pentru informații privind orice frază de pericol sau de precauție care ar putea fi asociată cu reactivii, consultați Safety Data Sheet Library (Biblioteca pentru fișe cu date de securitate) la adresa www.hologic.com/sds.

Reactivii si materialele furnizate in Kitul Progensa PCA3/PSA pentru Analiza Progensa PCA3 sunt prezentate in lista de mai jos. Simbolurile de Identificare a Reactivilor sunt de asemenea indicate langa numele reactivului.

Kitul Analizei Progensa PCA3, 2 x 100 Reactii, Nr. de Cat. 302355 (8 cutii)

Kitul de Reactie Progensa PCA3 100

Cutie Refrigerata Progensa PCA3– Dupa receptie, se va pastra la 2°C pana la 8°C pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
A	PCA3 Reactiv de Amplificare Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată HEPES continând <10% agent de expandare.	1 fiola
E	PCA3/PSA Reactivul Enzimei Transcriptaza inversa si polimeraza ARN uscata in solutie tamponata HEPES continand <10% agent de expandare.	1 fiola
P	PCA3 Reactivul Probei Probe ADN chemiluminescent neinfecțioși uscați în succinat soluție tamponată continând <5% agent de expandare și <5% litiu lauril sulfat.	1 fiola

Cutie la Temperatura Camerei Progensa PCA3 - Dupa receptie, se va pastra la 15°C pana la 30°C pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
AR	Soluție de Reconstituire pentru Amplificarea PCA3 Soluție apoasă continând conservanți (<1% parabenii).	1 X 9,3 mL
ER	Soluție de Reconstituire a Enzimei PCA3/PSA Soluție tamponată HEPES continând un surfactant (10% Triton X-100) și 20% glicerol.	1 X 3,3 mL
PR	Soluție de Reconstituire a Probei PCA3/PSA Succinat soluție tamponată continând <5% litiu lauril sulfat.	1 X 12,4 mL
S	Reactiv de Selectie PCA3/PSA Soluție tamponată borat continând surfactant (1% Triton X-100).	1 X 31 mL
TCR	Reactiv de Captare a Tintei PCA3 Acizi nucleici neinfecțioși în soluție tamponată HEPES continând fază solidă.	1 X 22 mL
	Cartele de Sigilare	1 pachet
	Capace de Reconstituire	1 pachet

Kit de Calibratori si Controale Progensa PCA3 - Dupa receptie, se va pastra la 2°C pana la 8°C pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
CAL	Calibrator 1 PCA3 Soluție tamponată fosfat continând <5% litiu lauril sulfat.	1 X 2,0 mL
CAL	Calibratori 2-5 PCA3 Acizi nucleici PCA3 neinfecțioși în soluție tamponată fosfat continând <5% litiu lauril sulfat.	4 X 1,7 mL

PC	Controale Pozitive PCA3 Acizi nucleici PCA3 neinfecțioși în soluție tamponată fosfat continând <5% litiu lauril sulfat.	2 X 1,7 mL
	Fisa de Informare cu privire la Concentratia PCA3	1 fisa

Kit de Reactie Progensa PSA 100

Cutie Refrigerata Progensa PSA - Dupa receptie, se va pastra la 2°C pana la 8°C pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
A	Reactiv de Amplificare PSA Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată HEPES continând <10% agent de expandare.	1 fiola
E	Reactivul Enzimei PCA3/PSA Transcriptaza inversa si Polimeraza ARN uscate in solutie tamponata HEPES continand <10% agent de expandare.	1 fiola
P	Reactivul Probei PSA Probe ADN neinfecțioase chemiluminescente uscate în succinat soluție tamponată continând <5% agent de expandare și <5% litiu lauril sulfat.	1 fiola

Cutie la Temperatura Camerei Progensa PSA - Pastrare la 15°C pana la 30°C

Simbol	Component	Cantitate
AR	Soluție de Reconstituire pentru Amplificarea PSA Soluție apoasă continând conservanți (<1% parabenii).	1 X 9,3 mL
ER	Soluție de Reconstituire a Enzimei PCA3/PSA Soluție tamponată HEPES continând un surfactant (10% Triton X-100) și 20% glicerol.	1 X 3,3 mL
PR	Soluție de Reconstituire a Probei PCA3/PSA Succinat soluție tamponată continând <5% litiu lauril sulfat.	1 X 12,4 mL
S	Reactiv de Selectie PCA3/PSA Soluție tamponată borat continând un surfactant (1% Triton X-100).	1 X 31 mL
TCR	Reactiv de Captare a Tintei PSA Target Acizi nucleici neinfecțioși în soluție tamponată HEPES continând fază solidă	1 X 22 mL
	Cartele de sigilare	1 pachet
	Capace de Reconstituire	1 pachet

Kit de Calibratori si Controale Progensa PSA - Dupa receptie, se va pastra la 2°C pana la 8°C pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
CAL	Calibrator 1 PSA Soluție tamponată fosfat continând <5% litiu lauril sulfat.	1 X 2,0 mL
CAL	Calibratori 2-5 PSA Acizi PSA nucleici neinfecțioși în fosfat soluție tamponată continând <5% litiu lauril sulfat.	4 X 1,7 mL
PC	Controale Pozitive PSA Acizi nucleici PSA neinfecțioși în soluție tamponată fosfat continând <5% litiu lauril sulfat.	2 X 1,7 mL
	Fisa de Informare cu privire la Concentratia PSA	1 fisa

Lichide pentru Analiza Aptima - Dupa receptie, se vor pastra la 15°C pana la 30°C (2 cutii) pana la data de expirare inscrisa pe eticheta

Simbol	Component	Cantitate
W	Solutie de Spalare Solutie tamponata HEPES continand <2% sodiu dodecil sulfat.	1 X 402 mL
DF	Tampon pentru Lichidul de Dezactivare Solutie tamponata bicarbonat.	1 X 402 mL
O	Reactiv Ulei Ulei silicon.	1 X 24,6 mL

Nota. Toate materialele incluse in Kitul Analizei Progensa PCA3 pot fi achizitionate si separat (pentru detalii, consultati sectiunea *Materiale*).

Materiale

Notă: Pentru informații privind orice frază de pericol sau de precauție care ar putea fi asociată cu reactivii, consultați Safety Data Sheet Library (Biblioteca pentru fișe cu date de securitate) la adresa www.hologic.com/sds.

Nota. Materialele disponibile de la Gen-Probe au inscrise numere de catalog.

Materiale Necesare dar Disponibile Separat

	Cat. no.
Kit Progensa PCA3 de Transport al Specimenelor de Urina	302352
Luminometru Leader HC+	104747
Sistem GEN-PROBE de Captare a Tintei (TCS)	104555
Kit Aptima Auto Detect	301048
2 pipete eppendorf Repeater Plus multicanal	105725
Varfuri pentru pipeta multicanal (2,5 mL, 5,0 mL, 25,0 mL)	
Fie:	
2 agitatoare vortex multi-tub	102160F
3 Bai de apa circulanta (62°C ± 1°C, 42°C ± 1°C, 62°C ± 1°C)	104586F
3 Distantiere pentru baia de apa	104627
Fie:	
2 SB100 Bai cu Incalzire Uscata /Vortexers	105524F
Instrumente SB100 suplimentare pot fi necesare in functie de materialele utilizate)	
Micropipeta, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Varfuri, 1000 µL P1000	105049
Pipetor, eppendorf 20 pana la 200 µL	105726
Varfuri, Pipete 20 pana la 200 µL	
Solutie cu clor de la 5% pana la 7% (0,7 M pana la 1,0 M) solutie hipoclorit de sodiu	
Recipient din plastic cu capac de diametru mare	
Recipiente standard de recoltare a urinei , fara conservanti	

Unitati de cate Zece Tuburi (TTU)	TU0022
Casete cu cate Zece Varfuri (TTC)	104578
Standard de calibrare SysCheck	301078

Materiale Optionale

Kit de Reactie Progensa PCA3 100	302354
Kit de Reactie Progensa PSA 100	302357
Kit de Calibratori si Controale Progensa PCA3	302353
Kit de Calibratori si Controale Progensa PSA	302356
Paneluri Progensa PCA3/PSA pentru instruire	302350
Kit Progensa PCA3 pentru Diluarea Specimenelor	302351
Kit de Lichide pentru Analiza Aptima	302002C
Varfuri de unica folosinta cu filtru pentru pipete (1 mL)	10612513
	(Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4	900932
Placa Suport pentru PCA3, DTS 800	902021
Rezervor pentru reactivi (un sfert de modul de 40 mL)	104765
Split reagent reservoir (sfert de modul 19 mL x 2)	901172
Tuburi de transport	302521
Capace Inlocuitoare penetrabile	302520
Capace Inlocuitoare nepenetrabile	103036A

Atentionari si Masuri de Precautie

- A. Pentru utilizare in diagnosticarea in vitro.
- B. Numai pentru export S.U.A.

Atentionari pentru Laborator

- C. Utilizati numai articolele de laborator de unica folosinta furnizate sau mentionate.
- D. Respectati masurile de precautie de laborator obisnuite. Nu mancati, nu beti si nu fumati in zonele destinate lucrului. Purtati manusi de unica folosinta fara pudra, ochelari de protectie, si halate de laborator atunci cand manipulati speciamele de urina si reactivii din kit. Spalati-va temeinic pe maini dupa manipularea speciamele de urina si a reactivilor din kit.
- E. **Atentionare: Substa Iritante si Corozive:** Evitati contactul lichidelor Auto Detect 1 si Auto Detect 2 cu pielea, ochii si membranele mucoase. In cazul in care aceste lichide intra in contact cu pielea sau ochii, spalati cu apa zona afectata. In cazul in care aceste lichide se varsa, diluati substanta varsata cu apa inainte de a o sterge.
- F. Suprafetele de lucru, pipetele, si alte echipamente trebuie decontaminate in mod regulat cu hipoclorit de sodiu solutie de 2,5% pana la 3,5% (0,35M pana la 0,5M) (a se vedea sectiunea Note Procedurale).
- G. Se recomanda existenta unei zone separate pentru post-amplificare pentru a minimiza riscul de contaminare cu amplicon in timpul analizei. Aceasta zona trebuie sa fie la distanta de zona de pre-amplificare, unde se desfasoara pregatirea reactivilor, captarea tintei, si amplificarea.
- H. Pentru a ajuta in prevenirea contaminarii cu amplicon a zonelor din laborator, spatiul laboratorului trebuie amenajat astfel incat sa existe un flux de lucru unidirectional de la prepararea reactivului pana la post-amplificare. Speciamele, echipamentele, si reactivii

nu trebuie readusi in zona in care s-a efectuat o etapa anterioara. Personalul din laborator nu trebuie sa treaca inapoi in zonele de lucru anterioare fara a respecta masuri adecvate de precautie impotriva contaminarii.

Atentionari cu privire la Specimene

- I. Dupa adaugarea urinei, nivelul de lichid din tubul de transport al speci­menelor de urina trebuie sa se inscrie intre cele doua linii negre indicatoare de pe eticheta tubului. In caz contrar, speci­menul trebuie refuzat.
- J. Respectati conditiile corespunzatoare de pastrare in timpul transportului speci­menelor pentru a asigura integritatea acestora. Nu a fost evaluata stabilitatea speci­menelor in cazul transportului in conditii diferite de cele recomandate.
- K. Datele de expirare inscrise pe kiturile de recoltare se refera la locul recoltarii si nu la unitatea de testare. Speci­menele recoltate in orice moment inaintea datei de expirare a kitului de recoltare, care sunt transportate si pastrate in conformitate cu specificatiile din insertul tehnic, sunt valabile pentru testare chiar daca data de expirare a tubului de recoltare a trecut.
- L. Pastrati toate speci­menele la temperaturile specificate. Performanta analizei poate fi influentata de utilizarea speci­menelor pastrate in mod necorespunzator. Pentru instructiuni specifice, consultati Recoltarea, Transportul si Pastrarea Speci­menelor.
- M. Speci­menele de urina pot fi infectioase. Respectati Masurile de Precautie Universale atunci cand efectuati aceasta analiza. Metodele adecvate de manipulare si indepartare a produselor trebuie stabilite de catre directorul laboratorului. Numai personalul calificat in utilizarea Analizei Progensa PCA3 si instruit in mod adecvat cu privire la manipularea materialelor infectioase ar trebui sa efectueze aceasta procedura.
- N. Evitati contaminarea incrucisata in timpul etapelor de manipulare a speci­menului. Speci­menele de urina pot contine niveluri crescute de ARN al tinte. Asigurati-va de faptul ca recipientele cu speci­mene nu intra in contact unele cu altele, si indepartati materialele folosite fara a le trece peste recipientii neacoperiti. Schimbati-va manusile daca acestea intra in contact cu speci­menele, pentru a evita contaminarea incrucisata.

Atentionari cu privire la Analiza

- O. Nu utilizati kitul dupa data de expirare a acestuia.
- P. **Pentru Kit-ul de testare Progensa PCA3, nu schimbați între ei, nu amestecați și nu combinați reactivii de test PCA3 din loturi cu numere diferite** (adică, pentru fiecare analit, reactivii de test din cutia „refrigerată” și din cea „la temperatura camerei” trebuie să provină din același lot). Reactivii de test pot fi utilizați împreună cu calibratori și kit-uri de control din diferite loturi . Kit-urile Aptima Assay Fluids sunt interșanjabile. Kit-urile de reactivi PCA3 și PSA nu trebuie să fie din același lot.
- Q. Pastrati toti reactivii analizei la temperaturile specificate. Performanta analizei poate fi influentata de utilizarea reactivilor analizei pastrati in mod necorespunzator. Pentru instructiuni specifice, consultati sectiunile *Conditii de Pastrare si Manipulare si Note Procedurale*.
- R. Pentru dezactivarea analizei (a se vedea Procedura de Testare), concentratia minima de solutie de hipoclorit de sodiu trebuie sa fie de 2,5% (0,35 M) dupa diluarea 1:1 cu tampon de dezactivare. Astfel, solutia de hipoclorit de sodiu initiala trebuie sa fie de 5% pana la 7% (0,7 M pana la 1,0 M) pentru a atinge concentratia finala necesara dezactivarii.

- S. Trebuie sa utilizati varfuri cu filtru hidrofob. Un numar de minim doua pipete multicanal trebuie alocate in utilizarea acestei analize: una pentru utilizarea in etapele de pre-amplificare si una pentru utilizarea in cadrul etapelor post-amplificare. O micropipeta trebuie alocata utilizarii in transferul speci­menului, cu exceptia cazului in care se foloseste un instrument TECAN Freedom EVO 100/4. Toate dispozitivele de pipetare trebuie curatate cu regularitate conform celor descrise in sectiunea *Note Procedurale*.
- T. Cand folositi pipete multicanal pentru adaugarea reactivului, nu atingeti tubul de reactie cu varful pipetei pentru a preveni contaminarea de la un tub la altul.
- U. Omogenizarea corespunzatoare este necesara pentru a obtine rezultatele exacte ale testului. Pentru detalii complete, consultati sectiunea *Note Procedurale*.
- V. Bai de apa separate trebuie alocate pentru etapele de pre-amplificare, amplificare, si post-amplificare ale analizei.
- W. Unii reactivi ai acestui kit au inscrise pe etichete simbolurile de risc si siguranta conform Directivei Europene 1999/45/EC si trebuie manipulasi in consecinta. Fisele Datelor de Securitate ale Materialelor pot fi vizualizate pe www.gen-probe.com si sunt disponibile la cerere.

Conditii de Pastrare si Manevrare

- A. Pentru informatii cu privire la pastrarea reactivilor, consultati sectiunea *Pastrarea Reactivilor*.

Tabelul 1: Pastrarea Reactivilor

Reactiv/Lichid	Pastrarea in cazul nedesiglarilor	Stabilitatea (pana la data de expirare) in cazul Desiglarilor/Reconstituirii
Reactivii de Amplificare	2°C pana la 8°C pana la data de expirare	30 de zile la 2°C pana la 8°C*
Reactivii Probei	2°C pana la 8°C pana la data de expirare	30 de zile la 2°C pana la 8°C*
Reactivul Enzimei	2°C pana la 8°C pana la data de expirare	30 de zile la 2°C pana la 8°C*
Reactivii de Captare a Tinte	15°C pana la 30°C pana la data de expirare	30 de zile la 15°C pana la 30°C
Solutia de Reconstituire pentru Amplificare	2°C pana la 30°C pana la data de expirare	N/A (unica folosinta)
Solutia de Reconstituire a Probei	2°C pana la 30°C pana la data de expirare	N/A (unica folosinta)
Solutia de Reconstituire a Enzimei	2°C pana la 30°C pana la data de expirare	N/A (unica folosinta)
Reactivul de Selectie	2°C pana la 30°C pana la data de expirare	30 de zile la 15°C pana la 30°C
Calibratorii	2°C pana la 8°C pana la data de expirare	N/A (un singur ciclu de rulare)
Controalele	2°C pana la 8°C pana la data de expirare	N/A (un singur ciclu de rulare)
Reactivul Ulei	15°C pana la 30°C pana la data de expirare	30 de zile la 15°C pana la 30°C
Solutia de Spalare	15°C pana la 30°C pana la data de expirare	30 de zile la 15°C pana la 30°C
Tamponul pentru Lichidul de Dezactivare	15°C pana la 30°C pana la data de expirare	28 de zile la 15°C pana la 30°C

* Pot fi reutilizate pana la 4 ori pentru alte cicluri de rulare, cu conditia ca timpul total de ramanere la temperatura camerei sa nu fie mai mare de 24 ore.

- B. Nu pastrati Reactivul de Captare a Tintei la temperaturi sub 15°C.
- C. Reactivul Probei si Reactivul Probei Reconstituite sunt fotosensibile. Protejati reactivii de expunerea prelungita la lumina in timpul pastrarii si pregatirii in vederea utilizarii.
- D. Nu congelati reactivii.
- E. Nu utilizati reactivii sau lichidele dupa data de expirare.
- F. Calibratorii si Controalele Progensa PCA3 si PSA sunt fiole cu utilizare in cadrul unui singur ciclu de rulare si trebuie aruncati dupa folosire.
- G. Modificarile in aspectul fizic al reactivului furnizat poate indica instabilitatea sau deteriorarea acestor materiale. Daca schimbarile aspectului fizic al reactivilor sunt observate dupa resuspendare (de exemplu, modificarea evidenta a culorii reactivului sau aspectul tulbure indica o contaminare microbiana), contactati Departamentul de Suport Tehnic al Gen-Probe inainte de utilizare.
- H. Aruncati reactivul reconstituit dupa 30 de zile sau la data de expirare, oricare dintre aceste cazuri intervine primul.
- I. Resturile de reactivi desigilati sau reconstituiti pot fi utilizati in analizele ulterioare daca au fost pastrate corespunzator dupa utilizarea initiala. Reactivul ramas poate face parte dintr-o proba de tip pool in combinatie cu alt reactiv proaspat sau cu alt rest de reactiv apartinand aceluiasi lot. **Nu schimbati intre ei, nu amestecati si nu combinati reactivi din kituri avand numere de lor diferite (vezi attentionari si masuri de precautie).** Nici o componenta a reactivului de tip pool nu trebuie sa depaseasca limitele de pastrare a reactivilor desigilati sau reconstituiti. Asigurati-va de faptul ca reactivul de tip pool a fost omogenizat in totalitate si ca a fost pregatit un volum suficient pentru a furniza destul reactiv pentru un ciclu de complet de rulare.

Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor

Analiza Progensa PCA3 este conceputa pentru a cuantifica ARN PCA3 si PSA din prima urina recoltata dupa efectuarea tuseului rectal (DRE) constand in trei manopere de palpate per lob. Urina este procesata utilizand Kitul Progensa PCA3 de Transport al Specimenelor de Urina. Stabilitatea ARN PCA3 si PSA in urina si in urina procesata a fost stabilita prin monitorizarea nivelurilor de copiere a ARN in speciamele de urina recoltate conform instructiunilor de mai jos.

- A. Instructiuni pentru recoltarea si procesarea probei de urina:
 1. Poate fi de ajutor sa ii solicitati pacientului sa consume un volum mare de apa (aproximativ 500 mL) pentru a asigura o cantitate suficienta de urina pentru recoltare.
 2. Inaintea recoltarii specimenului de urina, efectuati un tuseu rectal conform celor descrise mai jos:

Aplicati presiune asupra prostatei, astfel incat sa reducati suprafata cu aproximativ 1 cm, de la baza catre apex si din lateral catre linia mediana pentru fiecare lob conform celor indicate in figura de mai jos. Efectuati exact trei manopere de palpate pentru fiecare lob. **Aceasta procedura nu are drept scop masajul prostatei.**

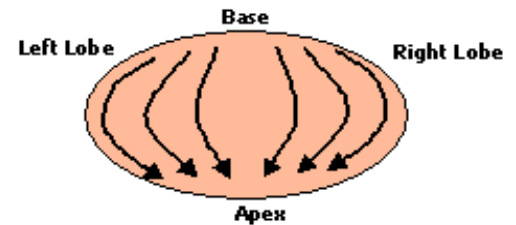


Figura 1. Directia Corespunzatoare de Aplicare a Presiunii asupra Prostatei

3. Dupa tuseul rectal, solicitati pacientului sa furnizeze o cantitate de specimen din prima urina (aproximativ 20 pana la 30 mL din primul jet de urina) intr-un recipient de recoltare al urinei etichetat corespunzator. Aceasta trebuie sa fie prima proba de urina dupa tuseul rectal. Utilizati un recipient de recoltare fara conservanti. In cazul in care pacientul nu poate opri jetul de urina si furnizeaza o cantitate mai mare decat cea solicitata de 20 pana la 30 mL, pastrati intregul volum. Daca pacientul nu poate furniza cantitatea solicitata, cantitatea minima necesara pentru a rula Analiza Progensa PCA3 este de cel putin 2,5 mL. In caz contrar, specimenul trebuie respins.

Nota. Volumele foarte mari de urina pot scadea concentratiile analitului PCA3 si PSA, si cateodata pot avea drept urmare un specimen invalid. Astfel, pacientul trebuie sa incerce sa evite umplerea recipientului de recoltare a urinei.

4. **Specimenele de urina neprocesate, in cazul in care acestea nu sunt procesate imediat, trebuie pastrate la 2°C pana la 8°C sau pastrate la gheata. Specimenele de urina neprocesate, pastrate la rece, trebuie sa fie transferate intr-un tub de transport al specimenului de urina in decurs de 4 ore de la recoltare. In caz contrar, specimenul trebuie respins si trebuie recoltat un nou specimen. Nu congelati speciamele de urina neprocesate.**

5. Pentru a procesa speciamele de urina, pozitionati ermetic capacul si intoarceti specimenul de urina cu susul in jos de 5 ori pentru a resuspenda celulele. Inlaturati capacul tubului de transport al specimenelor de urina si transferati o cantitate de 2,5 mL din urina recoltata in tub utilizand pipeta de transfer de unica folosinta furnizata. A fost adaugata o cantitate corecta de urina atunci cand nivelul lichidului se situeaza intre liniile negre de marcaj de pe eticheta tubului de transport al specimenelor de urina.
6. Repuneti etans capacul tubului de transport al specimenelor de urina si intoarceti tubul cu susul in jos de 5 ori pentru omogenizare. Acest specimen reprezinta acum specimenul de urina procesat.

- B. Transportul si pastrarea specimenelor inainte de testare:

1. Speciamele de urina procesate trebuie transportate catre laborator in tubul de transport al specimenelor de urina. Acestea trebuie expediate in conditii normale (fara control de temperatura) sau congelate. Programati transportul astfel incat sa va asigurati de faptul ca speciamele de urina procesate sunt receptionate de catre locatia de testare in decurs de 5 zile de la recoltare. Dupa receptionarea transportului, laboratorul trebuie sa verifice data recoltarii specimenului de pe tub. Daca speciamele au fost expediate in conditii normale si sunt receptionate la mai mult de 5 zile

dupa recoltarea specimenului, specimenul trebuie respins si trebuie emisa o cerere pentru un nou specimen. Laboratorul poate pastra specienele la 2°C pana la 8°C timp de pana la 14 zile, dupa care specienele trebuie aruncate. Daca este necesara pastrarea pentru perioade mai indelungate, consultati Tabelul 2 pentru a identifica perioadele de pastrare permise la diferite temperaturi.

Tabelul 2: Durata de Pastrare a Specimenelor de Urina Procesate

Temperatura de Pastrare	Perioada
Transportul si pastrarea specimenelor procesate	Pana la 5 zile*
Dupa receptionarea de catre locatia de testare	
2°C pana la 8°C	Pana la 14 zile
-35°C pana la -15°C	Pana la 11 luni**
-65°C sau la temperaturi mai scazute	Pana la 36 luni**

*Perioada de transport permisa in conditii normale sau congelate.

**Perioada permisa dupa pastrarea in frigider

- Specimenele de urina procesate pot fi supuse la maxim cinci cicluri de congelare-dezghetare.

C. Pastrarea specimenului dupa testare:

- Specimenele care au fost testate trebuie pastrate in pozitie verticala intr-un suport.
- Daca nu au fost reacoperite cu capace intacte, tuburile de transport al specimenelor de urina trebuie acoperite cu un plastic nou curat sau cu o folie protectoare.
- Daca specienele testate trebuie congelate sau transportate, indepartati capacele penetrabile si puneti alte capace noi, nepenetrabile, pe tuburile de transport al specimenelor de urina. Daca specienele trebuie transportate catre alta unitate in vederea testarii, temperaturile recomandate trebuie respectate. **Evitati imbroscarea si contaminarea incrucisata.**

Nota. Specimenele trebuie expediate in conformitate cu reglementarile nationale si internationale de transport aplicabile.

Procedura de Testare

A. Pregatirea Zonei de Lucru

- Reglati una dintre baile de apa la 62°C ± 1°C pentru pre-amplificare, si a doua baie de apa la 42°C ± 1°C pentru amplificare, si o a treia baie de apa to 62°C ± 1°C for post-amplificare. Asigurati-va de faptul ca baile de apa contin suficienta apa (a se vedea sectiunea *Note Procedurale*). Daca utilizati Baia de Incalzire Uscata / Vortexer SB100, consultati *Fisa de Utilizare a Baii de Incalzire Uscata / Vortexer SB100 pentru Analiza Progensa PCA3 Assay (fisa de utilizare a SB100)*.
- Inainte de a incepe testarea, stergeti suprafetele de lucru si pipetele cu solutie de hipoclorit de sodiu de 2,5% pana la 3,5% (0,35M pana la 0,5M). Lasati solutia de hipoclorit de sodiu sa intre in contact cu suprafetele si pipetoarele timp de cel putin 1 minut, iar apoi clatiti cu apa. Nu lasati solutia de hipoclorit de sodiu sa se usuze. Acoperiti suprafata mesei de lucru pe care veti efectua analiza cu o husa de laborator absorbanta curata dublata pe partea opusa cu plastic.

- Place Asezati un numar suficient de Casete a cate Zece Varfuri in Sistemul de Captare a Tintei (TCS). Asigurati-va de faptul ca flaconul de spalare al TCS este umplut cu Solutie de Spalare si

ca aspiratorul este conectat la pompa vacuum. (Consultati *Manualul Operatorului Sistemului de Captare a Tintei*).

C. Reconstituirea si Prepararea Reactivului

Reconstituirea reactivului trebuie efectuata inainte de a incepe procedura de transfer al specimenului.

- Pentru a reconstitui Reactivul de Amplificare, al Enzimei, si al Probei, combinati flacoanele de reactiv liofilizat cu solutia de reconstituire. In cazul in care a fost tinuta la rece, lasati Solutia de Reconstituire sa ajunga la la temperatura camerei inainte de utilizare.

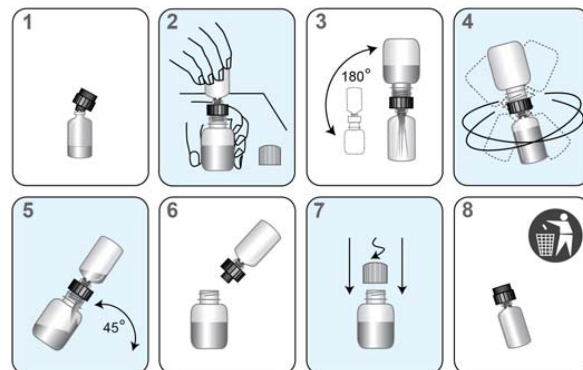


Figura 2. Procesul de Reconstituire

- Imperecheati solutia de reconstituire corespunzatoare cu reactivul uscat. Verificati ca fiolele sa aiba etichete de aceeasi culoare pentru a va asigura de imperecherea corecta.
- Deschideti flaconul cu reactivul uscat si introduceti cu fermitate capatul crestut al capacului de reconstituire in deschiderea fiolei (Figura 2, Pasul 1).
- Deschideti solutia de reconstituire cu eticheta de aceeasi culoare, si asezati capacul pe o suprafata de lucru curata si acoperita. in timp ce mentineti sticluta cu solutie pe masa de lucru, introduceti cu fermitate in deschizatura sticlutei celalalt capat al capacului de reconstituire (Figura 2, Pasul 2).
- Inoarceti usor ansamblul de sticlute. Permeteti solutiei sa se scurga din sticluta in fiola de sticla (Figura 2, Pasul 3). Asteptati ca reactivul liofilizat sa se reconstituie solutie, apoi rotiti usor solutia din fiola de sticla pentru omogenizare. Evitati formarea spumei in timpul amestecarii (Figura 2, Pasul 4).
- Intoarceti ansamblul si inclinati-l intr-un unghi de 45° pentru a minimiza crearea spumei (Figura 2, Pasul 5). Permeteti intregului lichid sa se scurga inapoi in flaconul de plastic.
- Indepartati capacul de reconstituire si fiola de sticla (Figura 2, Pasul 6).
- Repuneti capacul flaconului de plastic (Figura 2, Pasul 7). Inregistrati initialele operatorului si data reconstituirii, pe toate fiolele de reactivi reconstituiti. Asigurati-va ca ati notat analitul (PCA3 sau PSA) pe fiolele Reactivului Probei.
- Aruncati capacul de reconstituire si fiola de sticla (Figura 2, Pasul 8).

- Reactivii Probei, de Amplificare si al Enzimei reconstituiti anterior trebuie sa ajunga la temperatura camerei (15°C pana la 30°C) inainte de a incepe testarea. Consultati sectiunea *Conditii de Pastrare si Manipulare* in cazul in care doriti sa obtineti reactivi de tip pool din resturi de reactivi. Daca Reactivul de Amplificare reconstituit contine precipitat care nu reconstituie solutie la temperatura camerei, incalziti la 62°C ± 1°C timp de 1 pana la 2 minute in zona de pre-amplificare. Daca Reactivul Probei reconstituit contine precipitat care nu reconstituie solutie la temperatura camerei, incalziti la 62°C ± 1°C timp de 1 pana la 2 minute in zona de post-amplificare. Dupa aceste etape de incalzire, reactivii reconstituiti pot fi utilizati chiar daca precipitatul rezidual persista. Dupa resuspendare, omogenizati continutul fiolelor prin intoarcerea usoara a acestora.

D. Organizarea Suportului

Pipeta multicanal utilizata in operatiunile de captare a tinte, de transfer al specimenului si de amplificare a acestuia trebuie alocata numai in scopul efectuarii acestor etape (a se vedea *Atentionari si Masuri de Precautie*).

- Organizati un suport pentru analitul PCA3 si alt suport pentru analitul PSA.

Nota. Daca numarul specimenelor este destul de redus, ambii analiti pot fi testati intr-un singur suport. Daca utilizati instrumentul TECAN Freedom EVO 100/4, trebuie pastrate suporturi separate pentru fiecare dintre analiti. Nu pot fi testate mai mult de doua suporturi (20 TTU-uri) pline in acelasi timp.

- In suportul(rile) de Unitati de Zece Tuburi (TTU), puneti destule TTU-uri pentru a aseza calibratorii, controalele, si speciamele pentru fiecare analit.

- Aplicati pe TTU-uri etichete cu datele de identificare ale probelor/specimenelor. Tabelul 3 descrie adaugarea calibratorilor, controalelor, si a specimenelor. Incepeti calibratorii PSA pe un TTU nou.

Nota. Calibratorii vor fi rulati in trei replicate, iar controalele in doua replicate fiecare, si trebuie rulate pe acelasi suport cu speciamele. Speciamele trebuie rulate in duplicat. Nu lasati tuburi de reactie goale intre calibratori, controale, si speciame. Daca utilizati instrumentul TECAN Freedom EVO 100/4, consultati *Fisa de Utilizare a instrumentului TECAN Freedom EVO 100/4* pentru *Analiza Progensa PCA3* (fisa de utilizare a *TECAN Freedom EVO*) pentru mai multe instructiuni.

Tabelul 3: Exemplu de Organizare a Suportului

Pozitia Suportului	Descrierea Probei	*Concentratia PCA3 a Tinte (c/mL)	* Concentratia PSA a Tinte (c/mL)
1 pana la 3	Calibrator 1	0	0
4 pana la 6	Calibrator 2	250	7.500
7 pana la 9	Calibrator 3	2.500	75.000
10 pana la 12	Calibrator 4	25.000	750.000
13 pana la 15	Calibrator 5	125.000	3.000.000
16 pana la 17	Control A	1.250	37.500
18 pana la 19	Control B	62.500	1.500.000
20 pana la n	Specimen	necunoscut	necunoscut

*Calibratorii si Controalele Pozitive PCA3 si PSA au valori atribuite, astfel incat valorile c/mL reale pentru Calibratorii 2 pana la 5 si Controalele A si B vor fi usor diferite fata de concentratiile tinte inregistrate in tabel, si vor varia de la un lot la altul. Informatia cu privire la concentratii este furnizata pe un card din pachetul de fiole ale calibratorilor si ale controalelor si este utilizata pentru calibrarea si determinarea valabilitatii ciclului de rulare.

E. Verificarea Informatiilor cu privire la Concentratii

Verificati impreuna cu administratorul de sistem al Programului Analizei Progensa PCA3 pentru a va asigura ca informatiile despre concentratia pentru loturile Kiturilor de Calibratori si Controale Progensa ale PCA3 si PSA testate au fost introduse. Pentru mai multe informatii, consultati *Quick Reference Guide pentru Analiza Progensa PCA3 (Ghid Rapid de Referinta)* sau *Manualul Administratorului de Sistem al Programului Analizei Progensa PCA3*.

Nota. Introducerea informatiilor cu privire la concentratie este necesara **inainte de prima utilizare** a fiecarui lot nou de kituri de calibratori si controale. Rularile ulterioare utilizand calibratorii si controalele din acelasi lot de kituri nu necesita alte operatiuni.

F. Organizarea Editorului Listei de Lucru

Generati o lista de lucru pentru rulara analizei utilizand Editorul GEN-PROBE al Listei de Lucru pe un computer aflat in zona de pre-amplificare. Pentru a utiliza Editorul Listei de Lucru, consultati *Ghidul Rapid de Referinta* sau *Manualul de Operare pentru Editorul Listei de Lucru GEN-PROBE*. Daca utilizati instrumentul TECAN Freedom EVO 100/4, consultati de asemenea *fisa de utilizare TECAN Freedom EVO* pentru mai multe instructiuni.

G. Pregatirea probei

- Lasati calibratorii si controalele sa ajunga la temperatura camerei inainte de testare. Omogenizati continutul fiolelor prin usoara intoarcere a acestora.
- Lasati speciamele sa ajunga la temperatura camerei inainte de testare. **Nu agitati speciamele cu ajutorul vortexului.** Speciamele trebuie omogenizate prin intorcere usoara, ocazionala, in timpul perioadei de incalzire. Pentru informatii cu privire la precipitat si reconstituirea solutie si despre manipularea specimenelor congelate, consultati sectiunea *Note Procedurale*.

H. Pre-amplificarea

Temperatura ambientata in timpul procesului de pre-amplificare trebuie sa fie de 15°C pana la 30°C. Rulati ambele suporturi in paralel. Daca utilizati o Baie de Incalzire Uscata/Vortexer SB100, consultati *fisa de utilizare a SB100*. Daca utilizati un instrument TECAN Freedom EVO 100/4, consultati *fisa de utilizare TECAN Freedom EVO* pentru mai multe instructiuni.

- Omogenizati in totalitate Reactivul de Captare a Tintei (TCR) prin rotire sau intoarcere. Utilizand pipeta multicanal, adaugati 100 µL al TCR specific analitului in tubul de reactie corespunzator.
- Intepati capacul fiolei Calibratorului cu ajutorul micropipetorului si adaugati 400 µL de Calibrator in tubul de reactie etichetat corespunzator. Utilizand acelasi varf de pipeta, extrageti replicare suplimentare din fiola prin capacul intepat. Utilizati varfuri noi de pipete pentru fiecare fiola de Calibrator. Repetati procedura pentru adaugarea Controlorilor si specimenelor. Acoperiti si pastrati probe rest de specimen si pastrati la temperaturi de 8°C sau mai scazute (a se vedea *Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor* pentru mai multe informatii) pentru cazul in care este necesara retestarea.
- Acoperiti TTU-urile cu cardul(rile) de sigilare si agitati usor suportul cu mana. **Nu agitati cu ajutorul vortexului.** Incubati suportul la 62°C ± 1°C intr-o baie de apa timp de 30 ± 5 minute.
- Scoateti suportul din baia de apa si stergeti partea inferioara a tuburilor cu un material absorbant.
- Asigurati-va de faptul ca toate cartele de sigilare sunt in pozitie. Daca este necesar, inlocuiti-le cu noi cartele de sigilare si sigilati ferm TTU-urile.
- Agitati suportul timp de 60 de secunde cu ajutorul agitatorului vortex multi-tub (a se vedea sectiunea *Note Procedurale*). Incepeti operatiunea de agitare in decurs de 2 minute de la scoaterea suportului din baia de apa.
- Fara a inlatura cartelele de sigilare, incubati suportul la temperatura camerei timp de 30 ± 5 minute.
- Asezati suportul cu capatul Frontal inainte pe baza magnetica a TCS timp de 5 pana la 10 minute. Incarcati suportul TTC cu TTC-uri.
- Incarcati liniile pompei statiei de distributie prin pomparea Solutiei de Spalare prin tuburile de distributie. . Pompati suficient lichid in sistem astfel incat sa nu existe bule de aer pe linie si astfel incat lichidul sa curga constant prin toate cele 10 duze.
- Porniti pompa vacuum si deconectati tubul aspiratorului de la primul conector dintre aspirator si recipientul de condensare. Asigurati-va de faptul ca masura standard a vacuumului respecta specificatiile testului de scurgere. Poate dura 15 secunde pentru a realiza aceasta citire. Reconectati tubul, si asigurati-va de faptul ca masura standard a vacuumului respecta specificatiile nivelului de vacuum. Lasati pompa vacuum pornita pana cand pasii de captare a tintei sunt finalizati si tubulatura de aspirare este uscata.

Pentru mai multe informatii consultati Fisa de Specificatii a Vacuumului Sistemului de Captare a Tintei care se regaseste la sfarsitul *Manualului Operatorului Sistemului de Captare a Tintei* sau contactati Departamentul de Suport Tehnic al Gen-Probe.

- Atașati în mod ferm racordul de aspirare la primul set de vârfuluri. Coborâți vârfulurile în primul TTU până când vârfulurile intră în contact cu suprafața lichidului. Mențineți contactul vârfulurilor cu suprafața lichidului pe măsură ce vârfulurile se deplasează în jos, până când acestea intră în contact cu partea de jos a tuburilor. Loviți încet vârfulurile de partea de jos a tuburilor până când întreaga cantitate de lichid rămasă este îndepărtată. Nu țineți vârfulurile în contact prelungit cu partea de jos a tuburilor și nu loviți vârfulurile prea rapid, pentru a evita formarea de spumă în exces în rezervorul cu vacuum.
- Dupa ce actiunea de aspirare a fost finalizata, expulzati varfurile in cutia initiala a acestora. Repetati pasii de aspirare pentru TTU-urile ramase, utilizand un varf distinct pentru fiecare tub de reactie.
- Pozitionati tubul de distributie pe deasupra fiecarui TTU si, utilizand pompa statiei de distributie, picurati 1,0 mL de Solutie de Spalare in fiecare tub al TTU-ului.
- Acoperiti tuburile cu o cartela de sigilare si luati suportul de pe TCS. Agitati o data pe agitatorul vortex multi-tub. Pentru mai multe informatii consultati sectiunea *Note Procedurale*.
- Asezati suportul pe baza magnetica a TCS timp de 5 pana la 10 minute.
- Aspirati tot lichidul conform Pasilor 11 si 12.
- Dupa efectuarea ultimei aspirari, luati suportul din baza TCS si verificati vizual tuburile pentru a va asigura ca intreg lichidul a fost aspirat, si toate tuburile contin granule de particule magnetice. Daca mai exista lichid, resezati suportul pe baza TCS pentru 2 minute, si repetati aspiratia pentru acel TTU utilizand aceleasi varfuri folosite anterior pentru fiecare tub de reactie. Daca VREO granula de particula magnetica este vizibila dupa ce operatiunea de aspirare este completa, tubul poate fi acceptat. Daca nici o granula nu este vizibila, specimenul trebuie retestat. Daca acelasi specimen nu contine nici o granula de particule magnetice intr-un ciclu de rulare ulterior, acest lucru poate indica o problema legata de specimen. In aceasta situatie, se recomanda o noua recoltare a unui specimen de urina.

I. Amplificarea

Nota. Adaugarea Enzimei intr-un suport de reactie (Pasii 6 si 7 de mai jos) trebuie efectuata in 90 de secunde sau mai putin.

Efectuati Pasii 6 si 7 pe un singur suport inainte de repetare pe cel de-al doilea. Daca utilizati o Baie de Apa/Vortexer SB100, consultati *fisa de utilizare a SB100*. Daca utilizati instrumentul TECAN Freedom EVO 100/4, consultati *fisa de utilizare a TECAN Freedom EVO* pentru mai multe informatii.

- Utilizand o pipeta multicanal, adaugati 75 µL de Reactiv de Amplificare reconstituit specific fiecarui analit in fiecare tub de reactie. Toate amestecurile de reactie din suport trebuie sa fie de culoare rosie.
- Utilizand o pipeta multicanal, adaugati 200 µL de Reactiv Ulei.
- Acoperiti tuburile cu cartele de sigilare si agitati cu ajutorul agitatorului vortex multi-tub.
- Incubati suportul in baia de apa pre-amp la 62°C ± 1°C timp de 10 ± 5 minute.
- Transferati suportul intr-o baie de apa la 42°C ± 1°C timp de 5 ± 2 minute.

6. Menținând suportul în baia de apă, înlăturati cu atenție cardul de sigilare și, utilizând o pipetă multicanal, adăugați 25 µL din Reactivul Enzimei reconstituit în fiecare dintre amestecurile de reacție. Toate reacțiile trebuie să fie acum de culoare portocalie.

7. Acoperiți imediat tuburile cu o nouă cartele de sigilare, scoateți suportul din baia de apă, și omogenizați repede reacțiile prin agitare ușoară cu mâna.

Nota. Minimizați perioada de timp în care suportul este menținut în afara băii de apă pentru a evita răcirea tuburilor.

8. Incubați suportul la 42°C ± 1°C timp de 60 ± 5 minute.

J. Post-Amplificarea

Pipeta multicanal utilizată în procesul de hibridizare și selecție trebuie alocată numai acestor pași (a se vedea secțiunea *Atenționari și Măsurări de Precauție*). Temperatura ambientală în timpul operațiunii de post-amplificare, incluzând procesul de detecție, trebuie să fie de 15°C până la 30°C. Dacă utilizați Baia de Încălzire Uscată/Vortexer SB100 Dry, consultați *fisa de utilizare a SB100*.

1. Hibridizarea

- Scoateti suportul din baia de apă de pre-amplificare și transferați-l în zona de post-amplificare. Adăugați 100 µL din Reactivul Probei reconstituite specific analitului, utilizând o pipetă multicanal. Toate amestecurile de reacție trebuie să fie acum de culoare galbenă.
- Acoperiți tuburile cu cartele de sigilare și agitați cu ajutorul agitatorului multi-tub vortex timp de 10 secunde, sau până când culoarea este uniformă.
- Incubați suportul într-o baie de apă la 62°C ± 1°C timp de 20 ± 5 minute.
- Scoateti suportul din baia de apă și incubați la temperatura camerei timp de 5 ± 1 minute.

2. Selecția

- Utilizând pipeta multicanal, adăugați 250 µL de Reactiv de Selecție în fiecare tub. Toate reacțiile ar trebui să fie acum de culoare roz.
- Acoperiți tuburile cu cartele de sigilare, agitați cu ajutorul vortex-ului timp de 10 secunde, sau până când culoarea este uniformă, și incubați suportul într-o baie de apă la 62°C ± 1°C timp de 10 ± 1 minute.
- Scoateti suportul din baia de apă. Incubați suportul la temperatura camerei timp de 15 ± 3 minute.

K. Detecția

Pentru utilizarea Luminometrului Leader HC+ consultați *Manualul de Operare al Luminometrului Leader HC+*. Pentru utilizarea Programului Analizei Progensa PCA3, consultați *Quick Reference Guide (Ghidul Rapid de Referință)* sau *Manualul Operatorului și Manualul Administratorului de Sistem al Programului Analizei Progensa PCA3*.

- Pregătiți Luminometrul Leader HC+ prin așezarea unui TTU gol în poziția numărul 1 a casetei și o dată efectuați protocolul de SPALARE.
- Asigurați-vă că există cantități suficiente de reactivi Auto Detect 1 și 2 pentru a finaliza reacțiile.
- Încărcați TTU-urile în luminometru utilizând drept ghid schema din luminometru. Dacă testați ambii analiți (rulare back-to-back), încărcați întâi toate TTU-urile PCA3, urmate imediat de toate TTU-urile PSA.
- Logați-vă la computer. Dați clic pe **NEW RUN (CICLU NOU DE RULARE)** și selectați protocolul și concentrațiile aferente analizei. Selectați **NEXT (CONTINUATI)** pentru a începe ciclul de rulare.

Nota. Ciclul de rulare trebuie finalizat în decurs de 2 ore de la terminarea etapei de selecție prin incubare la 62°C.

- Pregătiți Lichidul de Dezactivare prin amestecarea unor volume egale de soluție de hipoclorit de sodiu de 5% până la 7% (0,7 M până la 1,0 M) și Tampon pentru Lichid de Dezactivare într-un recipient din plastic cu capac cu diametrul mare. Aplicați o etichetă și scrieți data de expirare pe recipientul din plastic. Această soluție tamponată de dezactivare cu hipoclorit de sodiu este stabilă timp de 4 săptămâni la temperatura camerei.
- Când ciclul de rulare a luat sfârșit, soft-ul analizei va genera două rapoarte ale ciclurilor de rulare, un Raport Brut al Rulării și un Raport al Proportțiilor, dacă ciclurile de rulare sunt back-to-back (a se vedea secțiunile *Proceduri de Control de Calitate și Interpretarea Rezultatelor*).
- Când ciclul de rulare a luat sfârșit, scoateți TTU-urile utilizate din luminometru și așezați TTU-urile în recipientul cu Lichid de Dezactivare. Lăsați TTU-urile în recipient timp de cel puțin 15 minute înainte de a le arunca. Metodele corespunzătoare de manipulare și îndepărtare (aruncare) trebuie stabilite de către directorul laboratorului.

Note Procedurale

A. Pregătirea Specimenelor

1. Dacă speciemele contin precipitate suspendate, incalziti la 37°C timp de pana la 5 minute dupa care intoarceti usor tubul specimenului. In cazul in care precipitatul nu se reconstituie solutie, asigurati-va de faptul ca precipitatul nu impiedica distributia specimenului.
2. Speciemele congelate trebuie dezghetate la temperatura camerei (15°C pana la 30°C, se poate utiliza o baie de apa) intorcand ocazional fiolele in timpul procesului de dezghetare pentru a impiedica formarea unui filtru insolubil. Omogenizati fiolele prin usoara intoarcere de indata de gheata din interiorul fiolei s-a topit destul incat sa se desprinda si sa se miste libera. Continuati incalzirea pana cand specimenul este complet dezghetat si omogenizati din nou continutul fiolelor prin intoarcerea usoara a acestora.
 - a. Dacă se formeaza un dop, iar speciemele vor fi pipetate cu ajutorul instrumentului TECAN Freedom EVO 100/4, congelati specimenul, repetati instructiunile de dezghetare si asigurati-va ca nici un dop nu se va forma. Dacă nu puteti elimina dopul, specimenul trebuie pipetat manual.
 - b. Dacă se formeaza un dop, iar speciemele vor fi pipetate manual cu micropipeta, nu sunt necesare alte operatiuni, dar asigurati-va ca dopul nu va impiedica extragerea specimenului.

B. Pipetarea Controlului, a Calibratorului, si a Specimenului

1. Volumele de calibrator, control, sau specimen adaugate in TTU trebuie sa fie de 400 µL. Pentru a asigura transferul unui unei cantitati adecvate, se recomanda verificarea vizuala a volumului pipetat in TTU. Pentru obtinerea unor rezultate corecte, este necesar un volum corespunzator.
2. Asigurati-va de faptul ca varful este atasat pipetei in mod corect si verificati astfel incat volumului setat sa fie corect. Se recomanda verificarea vizuala a setarii volumului la finalul fiecarui TTU (a fiecare 10 tuburi). Atunci cand extrageti proba, eliberati pistonul pipetei incet si cu viteza constanta, pentru a evita producerea spumei sau a bulelor de aer.

C. Reactivii

1. Solutia de Reconstituire a Probei poate forma precipitat in timpul depozitarii. Incalziti solutia la 62°C ± 1°C timp de 1 pana la 2 minute. Dupa aceasta etapa de incalzire, Solutia de Reconstituire a Probei poate fi utilizata chiar daca inca mai exista precipitat rezidual. Dupa resuspendare, omogenizati fiola prin intoarcere usoara.
2. Cand pipetati alti reactivi decat cel al Enzimei, atingeti usor peretele lateral al partii inferioare a tubului de reactie (unde partea inferioara se curbeaza pentru a intalni peretii tubului). Cand pipetati Reactivul Enzimei, atingeti direct partea din centru a tubului de reactie. Confirmati vizual faptul ca reactivii sunt dispensati in mod corect (fara cantitati de reactiv in exces pe lateralele tuburilor si schimbarea corespunzatoare a culorii).

D. Temperatura

1. Etapele de captare a tinte, de amplificare, de hibridizare, si de selectie sunt dependente de temperatura. Astfel, este obligatoriu ca baile de apa sa fie mentinute in limitele de temperatura specificate.
2. Temperatura camerei este definita ca fiind de 15°C pana la 30°C.

E. Timpul

Reactiile de captare a tinte, de amplificare, de hibridizare, si de selectie sunt toate dependente de timp. Respectati timpii specifici mentionati in sectiunea *Procedura de Testare*.

F. Agitarea (cu ajutorul Vortex-ului)

Agitarea corespunzatoare este importanta pentru efectuarea cu succes a Analizei Progensa PCA3. Pentru a agita tuburile de reactie, setati pe minim viteza agitatorului vortex de tip multi-tub, fixati bine suportul, si porniti echipamentul. Mariti usor viteza pana cand lichidul urca pana la jumatatea tubului. Agitati cu ajutorul vortex-ului timp de 10 secunde, conform timpului indicat, sau pana cand culoarea este uniforma. Reglati viteza pe treapta cea mai joasa inainte de a opri agitatorul vortex multi-tub si inainte de a inlatura suportul. Amestecurile de reactie nu ar trebui sa atinga niciodata cartelele de sigilare.

G. Baile de Apa

1. Nivelul apei din baile de apa trebuie mentinut la 3,8 pana la 5,0 cm (1,5 pana la 2,0 in.) in adancime, masurat de la tavita de sprijin de metal (de pe partea inferioara a baii de apa) pana la suprafata apei. Aceasta conditie va asigura transferul corespunzator de caldura.
2. Pentru a evita contaminarea incrucisata, baile de apa trebuie alocate unor etape specifice ale analizei.

H. Decontaminarea

1. Suprafetele si pipetoarele

Suprafetele de lucru din laborator si pipetoarele trebuie decontaminate in mod regulat cu solutie de hipoclorit de sodiu de 2,5% pana la 3,5% (0,35 M pana la 0,5 M). Lasati solutia de hipoclorit de sodiu sa intre in contact cu suprafetele timp de cel putin 1 minut, apoi clatiti cu apa. **Nu lasati solutia de hipoclorit de sodiu sa se usuze.** Solutiile ce contin clor pot produce pete de rugina pe echipament si metal. Clatiti bine cu apa echipamentul, pentru a evita petele de rugina.

2. Tuburile de Aspirare ale TCS

Dupa fiecare utilizare:

- a. Dati la o parte tuburile de distributie.
- b. Asezati un nou TTC in suportul pentru TTC. Porniti pompa vacuum. Atasati tubulatura de aspirare de varfurile din TTC. Aspirati toata Solutia de Spalare ramasa in canalul de alimentare al statiei de distributie.
- c. Turnati in canalul de alimentare cel putin 100 mL de solutie hipoclorit de sodiu de 0,5% pana la 0,7% (0,07 M pana la 0,1 M), sau daca preferati de 2,5% pana la 3,5% (0,35 M pana la 0,5 M). Aspirati toata solutia prin tuburile de aspirare.
- d. Turnati cel putin 100 mL de apa deionizata in canalul de alimentare. Aspirati toata apa prin tuburile de aspirare.

- e. Expulzati varfurile in TTC-ul lor initial.
- f. Lasati pompa vacuum pornita pana ce tuburile raman uscate pentru a preveni fluxul invers (timp de aproximativ 3 minute).
- g. Decontaminati suprafetele sistemului de aspirare conform celor descrise in sectiunea *TCS Unit*.

3. Recipientul pentru reziduuri al TCS

Curatati recipientul pentru reziduuri cel putin o data pe saptamana sau atunci cand recipientul pentru reziduuri este 25% plin, oricare dintre aceste situatii ar interveni prima.

- a. Opriti pompa vacuum si lasati presiunea vacuum sa se egalizeze.
- b. Desfaceti racordurile de deconectare rapida dintre recipientul pentru reziduuri si recipientul pentru pre-plin, si recipientul pentru reziduuri si tuburile de aspirare.
- c. Inlaturati recipientul pentru reziduuri din locasul rezervorului de vid.
- d. Inlaturati capacul si adaugati 400 mL de solutie hipoclorit de sodiu de 5% pana la 7% (0,7M pana la 1,0M) in recipientul pentru reziduuri de 4 L.

Nota. Aceasta operatiune poate fi efectuata in dreptul unei hote pentru a evita eliberarea de aburi in laborator.

- e. Puneti capacul recipientului pentru reziduuri si rotiti usor continutul pana la omogenizarea completa.
- f. Lasati recipientul pentru reziduuri cu solutia cu clor timp de cel putin 15 minute si apoi aruncati continutul (reziduurile).
- g. Clatiti recipientul pentru reziduuri cu apa pentru a indeparta reziduurile ramase in interiorul acestuia.
- h. Puneti capacul recipientului pentru reziduuri gol si asezati-l in locasul rezervorului de vid. Reatasati racordurile de deconectare rapida la unitatea TCS. Inlaturati cu atentie ambele manusi.

4. Unitatea TCS

Stergeti suprafetele unitatii TCS, sistemul de tuburi de aspirare, si spalati cu solutia Buffer suprafata dispozitivelor de ejectare a varfurilor cu prosoape de hartie umezite in solutie de hipoclorit de sodiu de 2,5% pana la 3,5% (0,35 M pana la 0,5 M). Etapa de folosire a solutiei de hipoclorit de sodiu trebuie urmata de etapa de clatire cu apa, apoi de cea de uscare completa a suprafetelor cu prosoape de hartie.

5. Suporturile

Scufundati suporturile in solutie de hipoclorit de sodiu de 2,5% pana la 3,5% (0,35 M pana la 0,5 M), asigurandu-va ca suporturile sunt acoperite de solutie. Mentineti suporturile scufundate timp de 10 minute. Expunerea mai indelungata va deteriora suporturile. Clatiti suporturile temeinic cu apa, apoi uscati-le cu prosoape de hartie.

I. Contaminarea testelor

- 1. Introducerea materialelor contaminante poate avea loc in cazul in care procedura de testare nu este respectata cu rigurozitate.
- 2. TTU-urile trebuie decontaminate in Lichid de Dezactivare conform indicatiilor din sectiunea *Procedura de Testare*. Nu re folositi TTU-urile.
- 3. Efectuati in mod regulat operatiunea de decontaminare a echipamentelor si a suprafetelor de lucru conform indicatiilor de mai sus din sectiunea *Decontaminarea*.
- 4. Ca in orice sistem de reactivi, pudra in exces de pe unele tipuri de manusi poate duce la contaminarea tuburilor neacoperite. Se recomanda ca operatorii sa utilizeze manusi fara pudra.

Proceduri de Control de Calitate

A. Valabilitatea Ciclurilor de Rulare

1. Calibratorii si controalele trebuie rulate cu toate testele pe acelasi suport cu speciamele de testare. Trebuie respectate urmatoarele criterii pentru ca un ciclu de rulare sa fie considerat valabil:

Valoarea medie a RLU ale Calibratorului 2 > RLU ale Cutoff-ului

Unde RLU ale Cutoff-ului = RLU medie a Calibratorului 1
+ 1,645 deviatii standard ale replicatelor RLU ale Calibratorului 1
+ 1,645 deviatii standard ale replicatelor RLU ale Calibratorului 2.

Reproductibilitatea mediei de interpretare a Calibratorului 5 = $100 \pm 30\%$
Reproductibilitatea mediei de interpretare a Controlului A = $100 \pm 60\%$
Reproductibilitatea mediei de interpretare a Controlului B = $100 \pm 35\%$

2. Soft-ul PCA3 evalueaza in mod automat rezultatele in comparatie cu criteriile indicate de mai sus si va raporta Statusul Ciclului de Rulare drept REUSIT (PASS) daca sunt respectate criteriile de valabilitate, sau va raporta Statusul Ciclului de Rulare drept NEREUSIT (FAIL) in cazul in care criteriile de valabilitate nu sunt respectate.
3. Daca Statusul unui Ciclu de Rulare este indicat ca fiind NEREUSIT, toate rezultatele testelor din acelasi ciclu de rulare sunt invalide pentru acel analit si nu trebuie transmise.
4. Daca un ciclu de rulare este invalid, ciclul de rulare trebuie repetat pentru acel analit (a se vedea sectiunea *Interpretarea Rezultatelor*). Daca un ciclu de rulare este valid pentru celalalt analit, acele rezultate pot fi folosite in analiza datelor impreuna cu rezultatele obtinute dupa repetarea si validarea ciclului de rulare ale primului analit.

B. Valabilitatea Specimenului

In cadrul unui ciclu de rulare valid, rezultatele individuale ale speciamelelor pot fi considerate drept INVALIDE si acest lucru va fi indicat in Raportul Brut al Ciclurilor de Rulare (a se vedea sectiunea *Interpretarea Rezultatelor*). Cu toate ca replicatele individuale pentru un specimen pot fi valide, un specimen va fi invalidat daca diferenta interpolata c/mL dintre replicate depaseste 600%. Testarea specimenului pentru acel analit trebuie repetata.

Interpretarea Rezultatelor

A. Tipuri de Rapoarte

1. Raportul Brut al Ciclului de Rulare

Raportul Brut al Ciclului de Rulare furnizeaza informatii cu privire la validitatea ciclului de rulare (PASS sau FAIL; a se vedea sectiunea *Proceduri de Control de Calitate*) si cu privire la tuburile individuale de reactie testate in cadrul Analizei Progensa PCA3. Daca un ciclu de rulare este invalid (FAIL), toate tuburile din acel ciclu de rulare vor fi marcate ca fiind invalide. Totusi, tuburile individuale pot fi considerate invalide in cadrul unui ciclu de rulare valid (PASS). In cazul ciclurilor de rulare back-to-back (adica ambii analiti PCA3 si PSA sunt testati in acelasi ciclu de rulare al analizei), ciclul de rulare al unuia dintre analiti poate fi invalid, in timp ce ciclul de rulare al celuilalt analit este valid.

Rezumatul Exceptiilor se regaseste la finalul Raportului Brut al Ciclului de Rulare. In cazul ciclurilor de rulare back-to-back in care ambele cicluri de rulare ale analitelor sunt valide, speciamelele inregistrate in Rezumatul Exceptiilor pot necesita retestarea unuia dintre analiti. Desi un rezultat al Scorului PCA3 poate fi inregistrat in Rezumatul Exceptiilor, acest rezultat nu este considerat raportabil pana cand nu se efectueaza interpretarea manuala si pana cand rezultatul nu este inregistrat in Raportul Proportiiilor. Daca numai unul dintre analiti a fost testat sau daca ciclul de rulare al unuia dintre analiti este invalid, toate speciamelele testate vor fi inregistrate in Rezumatul Exceptiilor.

2. Raportul Proportiiilor

Softul analizei genereaza in mod automat un Raport al Proportiiilor pentru ciclurile de rulare back-to-back in care ambele cicluri de rulare ale analitelor sunt valide. Soft-ul calculeaza si indica Scorul PCA3 al speciamelelor in Raportul Proportiiilor. Speciamelele indicate in Raportul Proportiiilor fie nu mai necesita testarea suplimentara, fie ambii analiti trebuie retestati. Speciamelele neinregistrate in Raportul Proportiiilor se vor regasi in sectiunea Rezumatul Exceptiilor a Raportului Brut al Ciclului de Rulare.

Un Raport al Proportiiilor poate fi de asemenea generat dupa interpretarea manuala (pentru mai multe informatii, consultati *Interpretarea Manuala*).

3. Raportul QC (al Controlului de Calitate)

Raportul QC indica criteriile de validitate ale ciclului de rulare, concentratiile atribuite si interpretate, si reproductibilitatea calibratorilor si controalelor. Raportul indica de asemenea parametrii care definesc curba de calibrare rezultata din determinarea celor patru parametrii standard (3). Pentru mai multe informatii, consultati *Manualul Operatorului Soft-ului pentru Analiza Progensa PCA3*.

B. Interpretarea

1. Interpretarea Automata

In cazul ciclurilor de rulare back-to-back in care ambele cicluri de rulare ale analitilor sunt valide, soft-ul interpreteaza in mod automat rezultatele individuale ale analitilor PCA3 si PSA pentru specimene si determina Scorul PCA3 (daca acesta poate fi calculat). Rezultatele sunt indicate in Raportul Proportiiilor sau in Rezumatul Exceptiilor al Raportului Brut al Ciclului de Rulare.

2. Interpretarea Manuala

Cand analitiile PCA3 si PSA sunt testate in cicluri de rulare diferite, soft-ul nu poate determina in mod automat Scorul PCA3. Este necesara interpretarea manuala a rezultatelor analitilor pentru a determina Scorul PCA3 sau intervalul Scorului PCA3 (consultati *Ghidul Rapid de Referinta (Quick Reference Guide)* sau *Manualul Operatorului Soft-ului pentru Analiza Progensa PCA3*). Interpretarea manuala poate fi de asemenea necesara pentru rezultatele inregistrate in Rezumatul Exceptiilor al Raportului Brut de Rulare. Dupa interpretarea manuala, Scorul(rile) PCA3 pentru specimenul(ele) interpretat va(vor) fi inregistrat(e) intr-un nou Raport al Proportiiilor.

C. Interpretarea Rapoartelor

1. Scorul PCA3

Nota. Numai Scorurile PCA3 si intervalul Scorului PCA3 inregistrate in Raportul Proportiiilor sunt raportabile. Rezultatele care apar in Rezumatul Exceptiilor pot necesita testari suplimentare si nu sunt raportabile.

Scorul PCA3 este calculat ca fiind raportul dintre copiile ARN PCA3 si copiile ARN PSA, inmultit cu 1000. Scorurile PCA3 pot fi calculate numai utilizand rezultate obtinute din cicluri de rulare si specimene valide. Ciclurile de rulare invalide si speciimenele invalide trebuie retestate pentru analitul respectiv (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Retestarea*).

Daca Scorul PCA3 raportat este sub valoarea cutoff-ului, rezultatul ar trebui interpretat ca fiind NEGATIV. Daca Scorul PCA3 este situat deasupra sau este egal cu valoarea cutoff-ului, rezultatul ar trebui interpretat ca fiind POZITIV. Directorul laboratorului va stabili valoarea cutoff (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Caracteristici de Performanta*).

In anumite conditii, este furnizat intervalul Scorului PCA3 (>[Scorul PCA3 Calculat] sau <[Scorul Calculat]). Daca <[Scorul PCA3 Calculat] se situeaza sub cutoff, rezultatul ar trebui interpretat ca fiind NEGATIV. Daca >[Scorul PCA3 Calculat] este situat deasupra cutoff-ului, rezultatul ar trebui interpretat ca fiind POZITIV. Daca este necesara o valoare numerica, diluarea si retestarea specimenului pot genera un Scor PCA3 in loc de un interval al Scorului PCA3 (a se vedea *Retestarea – Dilutia Specimenelor care se inscriu In Afara Intervalului Superior*).

2. Interpretarea Codurilor Statusurilor si al Analizelor

Coloana Statusului, atat din Raportul Brut al Ciclului de Rulare cat si din Raportul Proportiiilor indica informatiile in format "s:a". Codurile specifice ciclurilor de rulare ("s") sunt indicate inaintea (in partea stanga a) coloanei si codurile analizei analit-specifice ("a") sunt indicate dupa (in partea dreapta a) coloana. Codurile analit-specifice sunt indicate cu majuscule pentru rezultatele PCA3 si cu litere mici pentru rezultatele PSA. Fiecare raport contine descrierile codurilor statusurilor si al analizelor care apar in acel raport. De exemplu, codurile pot indica daca un specimen sau un replicat este valid sau daca se situeaza in afara intervalului. Consultati *Ghidul Rapid de Referinta (Quick Reference Guide)* sau *Manualul Operatorului Soft-ului pentru Analiza Progensa PCA3* pentru a obtine lista completa a codurilor statusurilor si al analizelor si alte detalii.

Daca un Scor PCA3 este raportat in Raportul Proportiiilor si daca pe coloanele Statusului PCA3 sau PSA nu apare nici un cod al statusului sau al analizei, acest lucru inseamna ca ambii analiti testati au avut rezultate valide sau "in interval." Rezultatul specimenului poate fi transmis si nu mai sunt necesare alte operatiuni.

In cazul in care codul statusului sau al analizei apare in Rezumatul Exceptiilor sau in Raportul Proportiiilor, retestarea poate fi necesara (a se vedea *Interpretarea Rezultatelor din Rezumatul Exceptiilor* si *Interpretarea Rezultatelor din Raportul Proportiiilor*). Daca rezultatele analitilor provin din cicluri de rulare diferite si au un cod (sau coduri) de analiza, combinatia pentru ambii analiti, in vederea determinarii daca alte operatiuni suplimentare sunt sau nu necesare, se regaseste in Tabelul 4a sau Tabelul 4b.

Nota. Presenta unui cod de status sau de analiza nu implica in mod automat necesitatea unei retestari.

3. Interpretarea Rezultatelor din Rezumatul Exceptiilor

Este posibil ca Rezumatul Exceptiilor sa nu redea nici o exceptie. In aceste cazuri, nu sunt necesare alte operatiuni suplimentare.

Daca Rezumatul Exceptiilor indica un(niste) specimen(e) pentru ciclurile de rulare back-to-back in care ambele cicluri de rulare ale analitilor sunt valide, consultati Tabelul 4 pentru mai multe instructiuni.

Pentru cucluri de rulare individuale, consultati sectiunea *Interpretarea Codurilor Statusurilor si al Analizelor*. In cazul ciclurilor de rulare back-to-back in care un ciclu de rulare al analitului este invalid, retestati ciclul de rulare invalid (pentru mai multe informatii, a se vedea sectiunea *Retestarea*), si luati in considerare rezultatele ca si cum ciclurile de rulare individuale ale analitului au fost efectuate. Va fi necesara interpretarea manuala.

Un specimen poate fi etichetat drept invalid desi tuburile individuale (replicatele) pot fi etichetate drept valide. Rezultatul combinat al al replicatelor este acela care determina validitatea specimenului, si o diferenta mare intre replicate va invalida un specimen (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Proceduri de Control de Calitate*).

Tabelul 4: Conditii Rezumatului Exceptiilor Analizei Progensa PCA3

Rezultatul PCA3 (Codul Analizei *)	Rezultatul PSA (Codul Analizei *)	Scorul PCA3 Inregistrat	Testare Suplimentara?	Operatiune/ Comentariu
Se inscrie in interval (nici un cod)	Invalid** (A, B, E, H, sau I)	--	Da	Retestati PSA (vezi <i>Retestarea</i>) si interpretati manual rezultatele.
In afara intervalului inferior (g)	Invalid (A, B, E, H, sau I)	--	Da	Retestati PSA (vezi <i>Retestarea</i>) si interpretati manual rezultatele.
Invalid (a, b, e, h, sau i)	Se inscrie in interval (nici un cod)	--	Da	Retest PCA3 (vezi <i>Retestarea</i>) and interpretati manual rezultatele.
Se inscrie in interval (nici un cod)	In afara intervalului superior (F)	<[Scorul PCA3 Calculat]***	Optional	1. Interpretati manual pentru a obtine <[Scorul PCA3 Calculat] SAU 2. Diluati specimenul in diluantul pentru specimen (vezi <i>Dilutia Specimenelor care se inscriu in afara intervalului superior</i>), retestati PSA, si interpretati manual rezultatele daca este necesar un Scor PCA3.
In afara intervalului superior (f)	Se inscrie in interval (nici un cod)	>[Scorul PCA3 Calculat]	Optional	1. Interpretati manual pentru a obtine >[Scorul Calculat] SAU 2. Diluati specimenul in diluantul pentru specimen, retestati PCA3, si interpretati manual rezultatele daca este necesar un Scor PCA3.
In afara intervalului inferior (g)	Se inscrie in interval (nici un cod)	<[Scorul PCA3 Calculat]	Nu	Interpretati manual pentru a obtine <[Scorul PCA3 Calculat].
In afara intervalului inferior (g)	In afara intervalului superior (F)	<[Scorul PCA3 Calculat]	Nu	Interpretati manual pentru a obtine <[Scorul PCA3 Calculat].

*Pentru lista completa a codurilor analizelor, consultati *Manualul Operatorului softului Analizei Progensa PCA3*.

**Se aplica numai in cazul specimenelor invalide din cadrul unui ciclu de rulare valid.

***Pentru valorile inscrise in afara intervalului, Scorul Calculat este obtinut utilizand nivelurile de copiere pentru cel mai apropiat calibrator pozitiv.

4. Interpretarea Rezultatelor din Raportul Proportiiilor

Daca un specimen este regasit in Raportul Proportiiilor cu un Scor PCA3, rezultatul este un Scor PCA3 reportabil si nu sunt necesare operatiuni suplimentare. Daca nu este inregistrat nic un Scor PCA3, fapt exprimat prin semnul "--" in coloana Scorului PCA3, consultati Tabelul 5 pentru instructiuni.

Tabelul 5: Conditii Raportului Proportiiilor al Analizei Progensa PCA3

Rezultatul PCA3 (Codul Analizei*)	Rezultatul PSA (Codul Analizei*)	Scor PCA3 Inregistrat	Testare Suplimentara?	Operatiune/ Comentariu
Se inscrie in interval (nici un cod)	Se inscrie in interval (nici un cod)	Scor PCA3	Nu	Nu sunt necesare operatiuni suplimentare; rezultatul poate fi transmis.
Invalid** (a, b, e, h, sau i)	Invalid (A, B, E, H, sau I)	--	Da	Retestati ambii analiti (vesi <i>Retestarea</i>).
Invalid (a, b, e, h, sau i)	In afara intervalului superior (F)	--	Da	Diluati specimenul in diluantul pentru specimen (vezi <i>Diluarea Specimenelor inscrise In afara intervalului superior</i>), retestati ambii analiti.
In afara intervalului superior (f)	Invalid (A, B, E, H, sau I)	--	Da	Diluati specimenul in diluantul pentru specimen, retestati ambii analiti.
In afara intervalului superior (f)	In afara intervalului superior (F)	--	Da	Diluati specimenul in diluantul pentru specimen, retestati ambii analiti.
Invalid (a, b, e, h, or i)	In afara intervalului inferior (G)	--	Nu	Proba nu are suficient ARN pentru o analiza exacta. Un nou specimen trebuie recoltat de la pacient.
Se inscrie in interval (nici un cod)	In afara intervalului inferior (G)	--	Nu	Proba nu are suficient ARN pentru o analiza exacta. Un nou specimen trebuie recoltat de la pacient.
In afara intervalului superior (f)	In afara intervalului inferior (G)	--	Nu	Proba nu are suficient ARN pentru o analiza exacta. Un nou specimen trebuie recoltat de la pacient.
In afara intervalului inferior (g)	In afara intervalului inferior (G)	--	Nu	Proba nu are suficient ARN pentru o analiza exacta. Un nou specimen trebuie recoltat de la pacient.

* Pentru lista completa a codurilor analizelor, consultati *Manualul Operatorului softului Analizei Progensa PCA3*

** Se aplica numai in cazul specimenelor invalide din cadrul unui ciclu de rulare valid. Daca speciemele au fost invalide din cauza faptului ca ciclul de rulare a fost invalid, rezultatele vor fi inregistrate in Rezumatul Exceptiilor (pentru mai multe informatii, vezi *Interpretarea Rezultatelor din Rezumatul Exceptiilor*).

D. Retestarea

1. Linii Directoare pentru Retestare

- a. Desi nu este absolut necesar ca ambii analiti sa fie testati in cadrul aceleiasi ciclu de rulare, **ambele rezultate ale analitelor trebuie sa provina din aceeasi fiola de a probei pentru a obtine un Scor PCA3 raportabil.**
- b. Toate ciclurile de rulare invalide trebuie repetate si toate speciemele invalide din cicluri de rulare valide trebuie retestate.
- c. Retestati specimenul(ele) utilizand un nou set de calibratori si controale.
- d. Este esentiala depozitarea corespunzatoare a resturilor de specimen inainte de Retestare (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor*).
- e. Interpretarea manuala a analitelor PCA3 si PSA poate fi necesara pentru a determina Scorul PCA3 (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Interpretarea Manuala*).

2. Diluarea Specimenelor inregistrate in afara intervalului superior

- a. Daca valoarea concentratiei unui specimen este superioara valorii Calibratorului 5 in cadrul unui ciclu de rulare valid, rezultatul se inregistreaza "in afara intervalului superior" si va fi marcat cu un cod de analiza "F" sau "F" in raportul(cilul) de rulare. Valoarea concentratiei va fi indicata drept >[Valoarea concentratiei Calibratorului 5].
- b. Intoarceti tubul specimenului de urina procesata pentru a omogeniza specimenul inainte de diluarea acestuia. Dilutia recomandata, dar nu neaparat necesara, este de 1:10 utilizand Kitul Progensa PCA3 pentru Diluarea Specimenelor. Intr-o fiola corespunzatoare, adaugati 1800 µL de diluant pentru speciemele si 200 µL de specimen; puneti capacul tubului si intoarceti de cinci ori pentru o omogenizare completa. Factorul de dilutie va fi "10" in lista de lucru a ciclului de rulare. In cazul in care ambii analiti vor fi retestati, dublati volumele (utilizati 3600 µL de diluant pentru specimen si 400 µL de specimen). Consultati insertul tehnic al Kitului Progensa PCA3 pentru Diluarea Specimenelor. Testati specimenul diluat cu analiza.
- c. In cazul in care, dupa retestare, rezultatul specimenului se situeaza tot in afara intervalului superior, este necesara o noua diluare oana cand rezultatul specimenului se inregistreaza in intervalul calibratorilor. Diluarea ulterioara celei initiale de 1:10 este permisa, cu conditia ca dilutia initiala de 1:10 sa fi fost pastrata in mod corespunzator (pentru mai multe informatii, consultati sectiunea *Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor*).

Limitari

- A. Analiza Progensa PCA3 nu ar trebui utilizata in cazul pacientilor aflati in tratament medicamentos despre se stie ca influenteaza nivelurile de PSA din ser, cum ar fi finasterida (Proscar, Propecia), dutasterida (Avodart), si terapia anti-androgen (Lupron). Influenta acestor medicatii asupra expresiei genei PCA3 nu a fost inca evaluata.
- B. Anumite proceduri terapeutice si de diagnosticare, cum ar fi prostatectomia, excizia, biopsia prostatei, si altele, pot afecta caracterul viabil al tesutului prostatei si ulterior influenteaza Scorul PCA3. Efectul acestor proceduri asupra performantei analizei nu a fost evaluat inca. Probele de testare a PCA3 ar trebui recoltate atunci cand un medicul clinician este de parere ca tesutul prostatei s-a refacut.
- C. Aceasta analiza trebuie efectuata numai de catre personal care a fost instruit in vederea realizarii acestei proceduri. Nerespectarea instructiunilor oferite in acest insert poate duce la obtinerea unor rezultate eronate.
- D. Fiecare laborator trebuie sa valideze in mod independent un proces de transfer LIS.
- E. Obtinerea unor rezultate corecte depinde de recoltarea adecvata a specimenelor de urina. Din cauza faptului ca sistemul de transport utilizat pentru aceasta analiza nu permite evaluarea microscopica a caracterului adecvat al specimenului de urina, este necesara instruirea personalului clinic cu privire la tehnicile corespunzatoare de recoltare a specimenelor de urina. Pentru instructiuni, consultati sectiunea *Recoltarea, Transportul si Pastrarea Specimenelor*. Pentru informatii detaliate, consultati insertul tehnic furnizat in Kitul Progensa PCA3 de Transport al Specimenelor de Urina.
- F. Rezultatele Analizei Progensa PCA3 ar trebui interpretate in corelatie cu alte date clinice si de laborator furnizate medicului clinician. (Rezultatele testelor pot fi influentate de recoltarea necorespunzatoare a specimenelor, de erori tehnice, sau de incurcarea specimenelor.)

Caracteristici de Performanta

A. Rezultate Clinice

1. Sensibilitatea si Specificitatea Diagnosticului

Caracteristicile de performanta ale Analizei Progensa PCA3 au fost stabilite utilizand specimene recoltate de la pacienti inscrisi la patru clinici din locatii diferite din punct de vedere geografic din America de Nord. Populatia pacientilor a fost formata din 529 de barbati programati pentru efectuarea biopsiei prostatei. Demografica pacientilor este indicata mai jos:

- a. Varsta Medie ± SD = 64 ± 8 ani (media de 63, interval intre 32 si 89)
- b. Nivelul mediu de PSA in ser = 7,9 ± 21,9 µg/L (5,6, 0,3 pana la 484)
- c. Volumul mediu al prostatei (determinat trans-rectal prin ultrasunete) = 44 ± 25 cc (39, 5 pana la 225)
- d. 34% (180/529) cu un rezultat pozitiv al biopsiei pentru cancerul de prostata

Figura 3 indica corelatia Scorului PCA3 cu probabilitatea biopsiei pozitive. Pe masura ce Scorul PCA3 a crescut, frecventa biopsiei cancer- pozitive in randul pacientilor s-a marit.

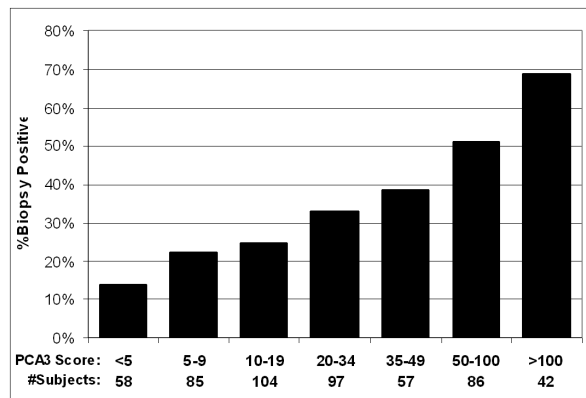


Figura 3. Corelatia Scorului PCA3 cu Probabilitatea Biopsiei Pozitive

A fost efectuate studii privind caracteristicile de functionare a receptorului (ROC), utilizand drept metoda de referinta biopsia prostatei, conform CLSI GP10-A (1995) (4). In cazul Analizei Progensa PCA3, zona sub curba (AUC) a fost de 0,685 (interval de incredere de 95% = 0,637 pana la 0,733). Tabelul 6 indica sensibilitatea si specificitatea diagnosticului pentru valori diferite ale cutoff-ului Scorului PCA3. Fiecare laborator ar trebui sa isi stabileasca valoarea cutoff-ului pentru sensibilitatea sau specificitatea diagnosticului (a se vedea sectiunea *Interpretarea Rezultatelor*).

Tabelul 6: Sensibilitatea si Specificitatea Diagnosticului Analizei Progensa PCA3 pentru Valori Diferite ale Cutoff-ului Scorului PCA3

Val. Cutoff-ului Scorului PCA3	5	10	15	25	35	50	95
Sensibilitate	96%	85%	77%	63%	53%	41%	17%
Specificitate	14%	33%	47%	61%	74%	84%	95%

2. Studii de Stabilitate a Specimenelor

- a. Stabilitatea in cazul specimenelor de urina integrala: Prima urina a fost recoltata de la 10 pacienti si pastrata la 2°C pana la 8°C sau la 30°C inainte de procesare prin adaugarea mediului de transport al urinei (UTM). La temperaturile de 2°C pana la 8°C, in cazul unora dintre spcimene, dupa patru ore, s-a observat o degradare semnificativa a mRNA PCA3 si PSA. Asadar, urina integrala trebuie procesata in decurs de 4 ore. La 30°C, o degradare semnificativa a fost observata in mai putin de 1 ora. Asadar, urina integrala trebuie intotdeauna pastrata la temperaturi scazute sau la gheata inainte de a fi procesata.
- b. Stabilitatea in cazul specimenelor de urina procesata: Douasprezece specimene au fost incubate la 4°C sau 30°C timp de pana la 38 de zile. La 4°C, ARN PCA3 si PSA au fost stabili timp de 21 de zile; la 30°C, au fost dtabili timp de 5 zile. Specimenele pastrate la -20°C si -70°C au dovedit o stabilitate a ARN PCA3 si PSA de pana la 90 de zile.
- c. Stabilitatea in cazul ciclurilor de congelare-dezghetare: Specimenele au fost supuse de 6 ori unor cicluri de congelare-dezghetare la temperaturi intre 37°C si -70°C. Nu s-a observat nici o scadere a nivelurilor copiilor ARN PCA3 sau PSA.

B. Rezultate Analitice

1. Sensibilitatea Analitica

Un panel pentru analiza sensibilitatii compus din transcript ARN *in vitro*, diluat, a fost utilizat pentru a evalua sensibilitatea analizei. Un operator a testat panelul in cadrul a douasprezece cicluri de rulare a cinci replicate, utilizand un singur lot de reactivi. Limita de detectie si limita de cuantificare au fost calculate conform CLSI EP17-A (2004) (5). Limita de detectie a analitului PCA3 a fost de 80 c/mL, iar pentru analitul PSA limita de detectie a fost de 1.438 c/mL. Limita de cuantificare ai ambilor analiti a fost Calibratorul 2.

2. Specificitatea Analitica

- a. Transcriptul necuplat: Analiza Progensa PCA3 a fost conceputa numai pentru detectia ARN PCA3 cuplat cu secventele exon 3-exon 4 specifice cancerului de prostata (2). Analiza nu a detectat 1 milion de c/mL de ARN PCA3 necuplat, semnificativ deasupra mediei.
- b. Specificitatea ARN PCA3 al prostatei in urina: Specimenele recoltate de la pacienti dupa prostatectomia totala (n = 97) au fost testate cu Analiza Progensa PCA3, iar nivelurile de ARN PCA3 au fost comparate cu cele recoltate de pa pacienti inainte de biopsie (n = 464). Valoarea medie in c/mL a ARN PCA3 s-a situat sub limita de detectie a analizei in cazul specimenele recoltate post-prostatectomie, in timp ce media in c/mL a ARN PCA3 in cazul specimenelor recoltate inainte de biopsie a fost de 7.243 c/mL; aceste date confirma faptul ca ARN PCA3 in urina este determinat de prostata.
- c. Specificitatea Tesutului: ARN-ul total a fost extras din tesutul a doi donatori barbati, unici din punct de vedere al tipului de tesut, adaugat in diluant pentru specimen (10 ng per reactie), si testat cu Analiza Progensa PCA3. Tesutul prostatei a fost singurul tip de tesut detectat peste limita de dectie a ARN PCA3 a tipurilor de tesut mentionate in Tabelul 7.

Tabelul 7: Tipurile de Tesut Barbatesc Testat pentru ARN PCA3

Tip de Tesut	
Veziica urinara (Normal)	Rinichi
Veziica urinara (Tumor)	Penis
Maduva Osoasa	Prostata
Ductus deferens	Veziica Seminala
Epididymus	Testis (Testicol)

- d. Substante ce interfereaza: Substantele enumerate in Tabelul 8 au fost adaugate in alicote de urina barbatesca procesata de tip pool. Specimenele au fost testate cu Analiza Progensa PCA3 in conformitate cu CLSI EP7-A2 (2005) (6). In cazul concentratiilor mentionate, nu s-a observat nici o influenta asupra analizei.

Tabelul 8: Substante Testate pentru Interferenta cu Analiza Progensa PCA3

Agenti Terapeutici	Agenti Terapeutici, continuare	Agenti Terapeutici	Agenti Terapeutici, continuare
Substanta	Concentratia Testului	Substanta	Concentratia Testului
Acetaminophen/Codeine	5,34 µmol/L	Uroxatral	30 mg/L
Atorvastatin	25 mg/L	Doxazosin	1,33 µmol/L
Lisinopril	0,74 µmol/L	Terazosin	7,8 µmol/L
Amlodipine	245 µmol/L	Finasteride	15 mg/L
Atenolol	37,6 µmol/L	Tamsulosin	1,2 µg/L
Sulfasalazine	754 µmol/L	Metformin	310 µmol/L
Esomeprazole	120 mg/L	Sildenafil	12,9 pmol/L
Allopurinol	294 µmol/L	Saw palmetto	1600 mg/L
Diphenhydramine	19,6 µmol/L	Selenium	0,275 mg/L
Acetaminophen	1324 µmol/L		
Acetylsalicylic acid	3,62 mmol/L	Constituenti ai Urinei	
Ibuprofen	2425 µmol/L	Substanta	Concentratia Testului
Furosemide	181 µmol/L	Acid uric	1,4 mmol/L
Ciprofloxacin	30,2 µmol/L	Hemoglobina	2 g/L
Levaquin	48,6 µmol/L	Globule albe din sange	4,56 x 10 ⁷ cells/L
Doxycycline	67,5 µmol/L	Celule rosii din sange	3,06 x 10 ⁷ cells/L
Fluoxetine hydrochloride	11,2 µmol/L	Albumina	50 g/L
Flutamide	1500 mg/L	Bilirubina (neconjugata)	342 g/L
Dutasteride	1,5 mg/L	IgG	60 g/L

3. Exactitate

Exactitatea Analizei Progensa PCA3 a fost evaluata in conformitate cu CLSI EP15-A2 (2005) (7). Transcriptele ARN PCA3 si PSA au fost cuantificate prin spectrofotometrie UV-vis, apoi adaugate in urina normala, procesata, recoltata de la femei (nu s-au detectat ARN PCA3 sau PSA), si concentratii masurate in Analiza Progensa PCA3. Procentul (%) de interpretare a fost calculat drept un raport dintre c/mL masurati si c/mL adaugati, inmultit cu 100.

Tabelul 9: Reproducibilitatea copiei in Analiza Progensa PCA3

Analit	Concentratia Cunoscuta, c/mL	Concentratia Masurata, c/mL	% Reproducibilitate
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. Linearitatea si Intervalul

Intervalul linear al Analizei Progensa PCA3 a fost determinat in conformitate cu CLSI EP6-A (2003) (8) pe baza analizei regresiei lineare (metoda celor mai mici patrate). Doua seturi de serii de diluare au fost pregatite din specimene continand concentratii mari de ARN PCA3 si PSA. Un set a fost diluat in urina procesata recoltata de la femei si un set a fost diluat in diluant pentru specimene. Dilutiile au parcurs intregul interval al analizei intre valoarea cea mai scazuta si cea mai ridicata a calibratorilor pozitivi pentru fiecare. Pentru ambii analiti PCA3 si PSA, rezultatele masurate prin analiza au indicat o relatie de direct proportionalitate intre dilutiile testate si c/mL de analit raportate. Nu a existat nici un efect semnificativ al matricei diluantului. A se vedea Figura 4.

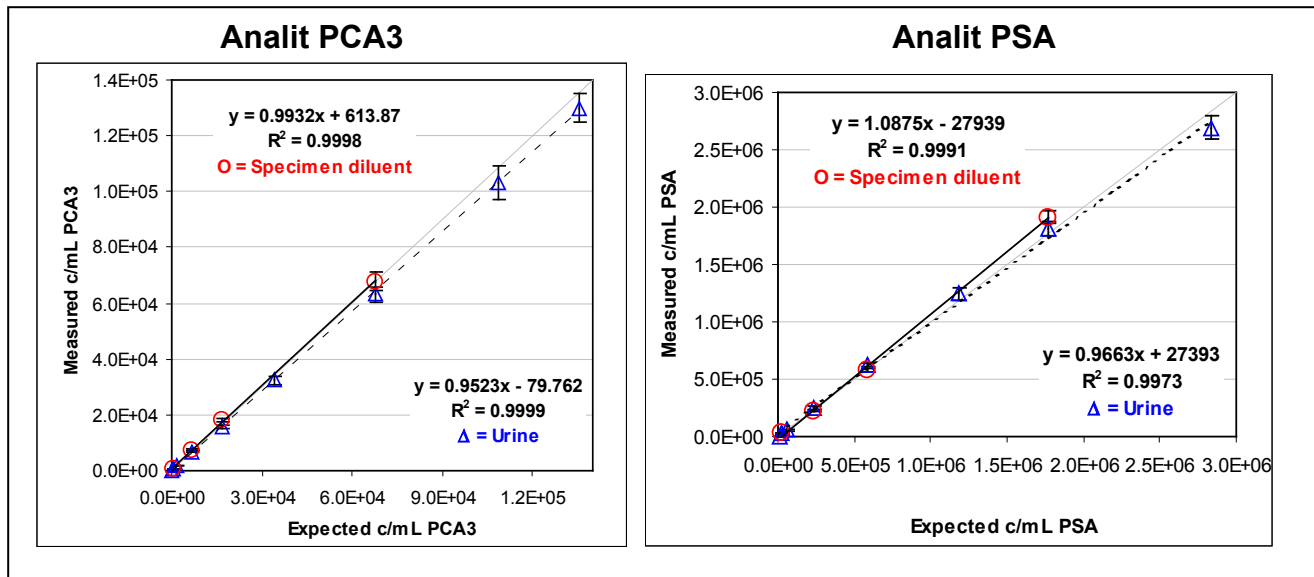


Figura 4. Linearitatea Analizei Progensa PCA3 pentru Analiti PCA3 si PSA

5. Precizia

Precizia Analizei Progensa PCA3 a fost evaluata in conformitate cu CLSI EP5-A2 (2004) (9). Repetabilitatea este precizia in conditii de minima variabilitate, iar reproductibilitatea este precizia in conditii de maxima variabilitate.

Pentru repetabilitate, a fost pregatit un panel de testare alcatuit din trei componente, constand in transcript ARN *in vitro*, diluat. Un operator al unei locatii a testat panelul in 20 de cicluri de rulare a 5 replicate in decurs de 20 de zile, utilizand un singur lot de calibrator si control, un lot de reactivi, si un set de echipamente. Tabelul 10 indica precizia repetabilitatii Analizei Progensa PCA3 in cazul unor niveluri diferite de concentratii de testare.

Tabelul 10: Repetabilitatea Analizei Progensa PCA3

Analit	Component Panel	Media c/mL	Repetabilitatea SD	Repetabilitatea 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%

Pentru reproductibilitate, a fost pregatit un panel de testare cu 8 componente ce a constat in specimene de tip pool (1 pana la 3) si transcript ARN *in vitro*, diluat (4 pana la 8). Trei operatori au testat panelul in cadrul a 18 cicluri de rulare in decurs de 3 zile, utilizand un singur lot de calibrator si control, 3 loturi de reactivi, si 3 seturi de echipamente. Tabelele 11 si 12 rezuma precizia totala, intra-ciclu de rulare, si inter-ciclu de rulare, a operatorului, a echipamentelor, si a lotului Analizei Progensa PCA3 pentru c/mL de analit si pentru Scorul PCA3.

Variabilitatile intra-ciclu de rulare, inter-operator, si inter-ciclu de rulare au contribuit cel mai mult, in ordine descrescatoare, la variabilitatea generala a analizei. Lotul reactivilor si echipamentul au contribuit in mica masura la variabilitatea generala a analizei. Aceste rezultate demonstreaza faptul ca Analizei Progensa PCA3 are un caracter de reproductibilitate, si ca principala sursa a variatiilor este aceea a erorilor aleatoare (intra-ciclu de rulare).

Tabelul 11: Reproductibilitatea Analizei Progensa PCA3: Analiza Copiilor/mL

Analit	Component Panel	n	c/mL Masurat	CV Total	CV Intra-Ciclu de rulare	CV Inter-Ciclu de rulare	CV, Inter-Operator	CV, Inter-Echipament	CV, Inter-Lot
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%

Tabelul 12: Reproductibilitatea Analizei Progensa PCA3: Analiza Scorului PCA3

Component Panel *	n	Scor Mediu	CV Total	CV Intra-Ciclu de rulare	CV Inter-Ciclu de rulare	CV, Inter-Operator	CV, Inter-Equipment	CV, Inter-Lot
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%

*Componentele 4 pana la 6 ale panelului au continut numai transcript al ARN PCA3 sau PSA si astfel nu au fost incluse in aceasta analiza.

Bibliografie

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 SUA

Serviciu de asistență clienți: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Asistență tehnică: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pentru date de contact suplimentare, vizitați www.hologic.com.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Hologic, Aptima, DTS, Leader, Progensa, și SB100 sunt mărci comerciale și/sau mărci comerciale înregistrate ale Hologic, Inc. și/sau subsidiarelor acesteia, în Statele Unite ale Americii și/sau alte țări. eppendorf (stylized) și REPEATER sunt mărci comerciale aparținând Eppendorf AG.

RAININ este marca comercială a Rainin Instrument, LLC.

TECAN și FREEDOM EVO sunt mărci comerciale ale Tecan Group AG.

Toate celelalte mărci comerciale care ar putea apărea în acest prospect sunt deținute de respectivii proprietari.

©2006-2017 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.

501377RO Rev. 002
2017-03