

# Prostatype<sup>®</sup> Test System

Bruksanvisningen måste läsas noga innan användning och följas i detalj för att tillförlitliga resultat ska erhållas.



Revidering 7, februari 2022, Prostatype Genomics AB ([www.prostatypegenomics.com/technical-documents/](http://www.prostatypegenomics.com/technical-documents/))



PG0001



Prostatype Genomics AB  
Industrivägen 19, Solna  
SE-17148 Sweden

## Innehåll

<b>1.</b>	<b>Namn och avsedd användning .....</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Sammanfattning och förklaring .....</b>	<b>3</b>
<b>3.</b>	<b>Användningsprinciper .....</b>	<b>4</b>
3.1.	Prostatype® RT-qPCR Kit .....	4
3.2.	CPMA (Classification of Prostatic Malignancy Algorithm) .....	4
<b>4.</b>	<b>Material .....</b>	<b>5</b>
<b>5.</b>	<b>Instruktioner för beredning av vävnadsprover för analys med Prostatype® Test System .....</b>	<b>5</b>
5.1.	Beredning av snitt av FFPE-vävnadsblock .....	5
5.2.	Markering och kvantifiering av cancerområdet .....	5
5.3.	Skrapning av cancerceller.....	6
<b>6.</b>	<b>Extraktion av RNA från vävnadsprover.....</b>	<b>6</b>
<b>7.</b>	<b>Instruktioner om användning av Prostatype® RT-qPCR Kit .....</b>	<b>6</b>
<b>8.</b>	<b>Prestanda för Prostatype® RT-qPCR Kit .....</b>	<b>7</b>
8.1.	Detaljerad information om testets prestanda .....	7
<b>9.</b>	<b>Instruktioner om användning av CPMA-databasen .....</b>	<b>7</b>
9.1.	Att göra en sökning i CPMA-databasen .....	7
9.2.	Korrigeringskoder.....	8
9.3.	Säkerhetskopiering av patientinformation .....	8
9.4.	Underhåll av CPMA .....	8
<b>10.</b>	<b>Begränsningar, försiktighetsåtgärder och säkerhet.....</b>	<b>8</b>
<b>11.</b>	<b>Symbolförklaringar .....</b>	<b>10</b>
<b>12.</b>	<b>Referenser .....</b>	<b>11</b>
<b>13.</b>	<b>Kontaktinformation .....</b>	<b>11</b>

## 1. Namn och avsedd användning

Prostatype® Test System (PrTS) är en produkt som är avsedd för prognostisk bedömning av patienter som nyligen diagnostiserats med prostatacancer. Med hjälp av ett RT-qPCR-test, kliniska data och en algoritm ger PrTS ett beslutsstöd vid val av behandling. PrTS består av två delar:

1. Prostatype® RT-qPCR Kit: Ett test som är utformat för användning med formalinfixerade paraffinbäddade (FFPE) tumörprover. Efter RNA-extraktion läggs en uppsättning reagenser till för att amplifiera fyra gener; en referensgen och tre cancerrelaterade gener.
2. Programmet CPMA (Classification of Prostatic Malignancy Algorithm): Denna programvaran innehåller en algoritm med kapacitet att identifiera liknande (referens-) patienter och ange deras överlevnad som ett individuellt beslutsunderlag för varje prostatacancer patient i fråga. Dessutom beräknas P-Score: ett matematisk modell som kan bedöma prostatacancers aggressivitet baserat på patientens kliniska och genetiska profil.

Den avsedda användningen av PrTS är följande: PrTS är ett testsystem som innehåller Prostatype® RT-qPCR Kit och programmet CPMA för bedömning. Prostatype® RT-qPCR Kit används för att utföra ett test baserat på kvantitativ enstegs-PCR med omvänd transkription som är avsett för bedömning av mRNA-uttrycksnivåerna hos de tre generna IGFBP3, F3 och VGLL3 relaterat till uttrycksnivån hos genen GAPDH i total-RNA extraherat från formalinfixerad och paraffinbäddad (FFPE) human prostatavävnad (tagen med nålbiopsi) som innehåller cancerceller. Resultatet för Prostatype® RT-qPCR Kit anges i CPMA tillsammans med annan klinisk information. CPMA genererar sedan en Prostatype® Test System-rapport med en presentation av de mest liknande referenspatienterna, som väljs från CPMAs databas med referenspatienter. Dessutom beräknas en numerisk score (P-Score) för en bedömning av prostatacancers aggressivitet. Därmed kan Prostatype® Test System-rapporten användas av sjukvårdspersonal tillsammans med andra parametrar som används vid prognos för prostatacancer.

## 2. Sammanfattning och förklaring

Prostatype® Test System innehåller (1) Prostatype® RT-qPCR Kit och (2) programmet CPMA. PrTS är baserat på en jämförelse av genetiska och kliniska data för en patient som nyligen diagnostiserats med prostatacancer. CPMA utför en likhetssökning i en databas med referenspatienter och identifierar de tre mest liknande patienterna. Information om referenspatienternas överlevnadstid och behandling tillhandahålls. P-Score ger en individuell bedömning av prostatacancers aggressivitet. Den här informationen kan användas tillsammans med andra parametrar för att generera en prognos, och testsystemet tillhandahåller på så sätt ett beslutsunderlag för läkare och patienter med prostatacancer.

Prostatype® RT-qPCR Kit är ett 4-plex kvantitativt enstegs-PCR-test (qPCR) med omvänd transkription (RT) för bedömning av uttrycksnivåerna hos de tre generna IGFBP3, F3 och VGLL3 relaterat till uttrycksnivån hos GAPDH i RNA extraherat från FFPE-prover av human prostatacancer tagna med nålbiopsi. Den här tregens-uttryckssignaturen har identifierats och utvärderats i en svensk kohortstudie med 189 patienter med prostatacancer som fick sin diagnos mellan 1986 och 2001. Gensignaturen har visats kunna kategorisera patienter med prostatacancer i subtyperna högrisk, intermediär risk och lågrisk (1). En uppföljningsstudie i en ny kohort med patienter visade att precisionen av prediktion för överlevnad vid prostatacancer kunde förbättras ytterligare genom att kombinera genetiska data med kliniska parametrar, bland annat patientens ålder vid diagnosen, PSA-värdet, Gleason-poäng, det primära Gleason-mönstret, och tumörstadium (2).

Vid användning av Prostatype® RT-qPCR Kit rekommenderar vi att säkerställa att en hög procentandel cancerceller förekommer i den vävnad som används för RNA-extraktion. För att erhålla optimala och tillförlitliga resultat ska vävnaden innehålla minst 50% cancerceller (2). Det har rapporterats att uttrycksnivåerna för de tre biomarkörgenerna i cancerösa prostataepitelceller är oberoende av sitt Gleason-mönster. Uttryckssignaturen kan därför eventuellt återspegla underliggande mekanismer för prostatacancer, vilket stärker hypotesen att cancerstamceller är involverade i initiering och progression av

prostatacancer (1, 2). En patolog eller annan personal med adekvat utbildning ska bedöma vilken mängd vävnad som ska användas för Prostatype® RT-qPCR-analysen.

Efter att det relativa uttrycket för de tre biomarkörgenerna har fastställts och analyserats med Prostatype® RT-qPCR Kit kombineras den genetiska informationen med de kliniska parametrarna för respektive patient. Baserat på dessa data utförs sedan en likhetssökning i en databas med genetisk och klinisk information om tidigare patienter med prostatacancer med hjälp av programmet CPMA. Programmet är baserat på en k-Nearest Neighbors-algoritm (kNN) och kräver användarnamn och lösenord för att kunna användas, vilket förhindrar åtkomst till databasen av obehöriga. CPMA-algoritmen identifierar de tre mest liknande referenspatienterna och visar deras totala överlevnadstid tillsammans med information om vilken behandling de genomgick.

### 3. Användningsprinciper

#### 3.1. Prostatype® RT-qPCR Kit

Prostatype® RT-qPCR Kit används för att utföra ett 4-plex enstegs-RT-qPCR-test. I kitet ingår alla reagenser som behövs för att utföra omvänd transkription, amplifiering och detektion med kvantitativ PCR i en 4-plex reaktionsmix. Efter extraktion av RNA från FFPE-vävnad genomgår mRNA omvänd transkription med hjälp av primerpar som är sekvensspecifika för generna IGFBP3, F3, VGLL3 och GAPDH. Det cDNA som genereras amplifieras därefter och detekteras med individuella dubbelmärkta hydrolysprober (Taqman®). Hydrolysproberna märks med en individuell fluorofor och en fluorescensquencher, vilket förhindrar fluorescensdetektion. Under amplifieringssteget hydrolyseras varje prob som binder till ett cDNA-mål på grund av exonukleasaktiviteten i *Taq*-polymeraset och quenchern separeras spatialt från fluoroforen, vilket leder till att fluorescenssignaler emitteras vid specifika våglängder. Signalerna detekteras av LightCycler® 480-II eller -I i specifika kanaler. På så sätt kan var och en av de fyra generna detekteras och kvantifieras självständigt i en enskild reaktionsbrunn.

Amplikonerna ökar exponentiellt med varje PCR-cykel, vilket gör att även fluorescenssignalerna ökar och kan detekteras i realtid. När intensiteten för en särskild fluorescenssignal korsar en definierad tröskel kallas den motsvarande cykeln för korsningspunkt (Cp). Cp-värdet beror på den initiala koncentrationen för målgenen. En högre initial mängd mål-RNA resulterar i ett lägre Cp-värde. Baserat på Cp-värdena för de tre målgenerna (IGFBP3, F3 och VGLL3) och referensgenen (GAPDH) kan den relativa uttrycksnivån hos målgenen (Delta ( $\Delta$ ) Cp) beräknas med följande formel:

$$\Delta\text{Cp (målgen)} = \text{Cp (målgen)} - \text{Cp (GAPDH)}$$

Förutom att normalisera uttrycksnivåerna hos målgenerna fungerar referensgenen GAPDH som en intern kontroll, och dess motsvarande Cp-värde i varje prov används för att utvärdera provets validitet och integritet och för att säkerställa att en tillräckligt stor mängd RNA användes i provet.

#### 3.2. CPMA (Classification of Prostatic Malignancy Algorithm)

Programmet CPMA uppfyller kraven i ISO13485 och IEC 62304:2006/AMD1:2015. Programmet omvandlar den genetiska information som erhålls med Prostatype® RT-qPCR Kit – i kombination med kliniska parametrar – till prognosinformation som är avsedd att hjälpa läkare att fatta patientspecifika och relevanta beslut om behandling.

Programmet jämför den nyligen angivna patientinformationen med varje patient i en referensdatabas och identifierar de tre mest liknande patienterna i databasen. På så sätt erhålls ett resultat som är baserat på autentiska patientfall. CPMA använder en kNN-algoritm för likhetsbedömning av patienter. Algoritmen omvandlar, skalar och viktar individuella parametrar för att optimala resultat ska erhållas.

## 4. Material

En fullständig lista med material som medföljer och som behövs för Prostatype® Test System finns i **bruksanvisningen (IFU) till Prostatype®-RT-qPCR-Kit** (3). Ett Roche LightCycler® 480-II eller ett Roche LightCycler® 480-I måste användas för att utföra Prostatype® RT-qPCR-testet. Installation, kalibrering, verifiering av prestanda samt underhåll av Roche LightCycler® 480-instrumentet måste utföras enligt tillverkarens instruktioner.

## 5. Instruktioner för beredning av vävnadsprover för analys med Prostatype® Test System

I Prostatype® Test System används RNA som isolerats från FFPE-prover av prostatacancer tagna med nålbiopsi som input-material. En hög kvalitet och integritet på RNA:t är av avgörande betydelse för att erhålla tillförlitliga resultat med Prostatype® RT-qPCR-analysen. Korrekt beredning av biopsimaterialet innan RNA-extraktion är ett mycket viktigt moment som innehåller tre steg:

### 5.1. Beredning av snitt av FFPE-vävnadsblock

Separata snitt av FFPE-vävnadsblocken bereds enligt normala histopatologiska protokoll med följande ändringar:

- Använd DNas/RNas-fritt vatten.
- Efter att vävnadssnittet har torkat utelämnas steget med smältning av paraffinet.

**OBS:** FFPE-vävnadsblocken ska inte vara mer än 11 år gamla för att vara lämpliga för användning med Prostatype® RT-qPCR Kit.

**OBS:** Vävnad som är inbäddad i icke-buffrad formalin ska inte användas eftersom resultaten blir otillförlitliga.

Bered följande snitt:

- Ett vävnadssnitt med 5 µm tjocklek: Det här snittet används för färgning med hematoxylin och eosin (H&E). Färgningsproceduren ska utföras enligt standardprotokoll.
- Nio sekventiella vävnadssnitt med 10 µm tjocklek: De här snitten ska vara ofärgade och vävnaden ska användas för RNA-extraktion.

**OBS:** Samla snitten på objektglas som inte är kontaminerade med DNas/RNas!

### 5.2. Markering och kvantifiering av cancerområdet

Använd ett vanligt mikroskop eller en digital skanner (t.ex. iScan Coreo, Ventana Medical Systems, Inc.) och markera cancervävnaden i det H&E-färgade vävnadssnittet.

**OBS:** Markeringen ska utföras av en patolog eller annan personal med adekvat utbildning för att undvika felaktig märkning av tumörområdet.

**OBS:** Cancerområdet ska vara 10–30 mm<sup>2</sup>. Vid manuell markering av cancerområdet ska längden på det markerade området per snitt vara 1,5–4,5 mm på upp till 9 FFPE-snitt för att undvika att mängden insamlad vävnad ligger under specifikationerna.

**OBS:** Det markerade området ska innehålla minst 50% cancerceller för att goda resultat ska erhållas.

Konventionellt mikroskop:

- Markera cancerområdet på det H&E-färgade objektglaset.
- Beräkna cancerområdet.

Digital skanner:

- Skanna bilderna med 20x förstoring.
- Markera och beräkna cancerområdet med ett bildbehandlingsprogram (t.ex. Image Viewer, Ventana Medical Systems, Inc).
- Överför markeringen av cancerområdet från den skannade bilden till det ursprungliga H&E-färgade objektglaset med hjälp av ett mikroskop.

Det erhållna provet fungerar som en förlaga och används som mall i följande steg.

### 5.3. Skrapning av cancerceller

I det här steget används det H&E-färgade objektglaset och de ofärgade snitten som input-material. Du behöver dessutom en engångsskalpell och ett DNAs/RNas-fritt mikrocentrifugrör.

- Överlappa det H&E-färgade snittet med ett ofärgat snitt.
- Identifiera och märk noggrant ut cancerområdet på det ofärgade snittet med skalpellbladet med det H&E-färgade objektglaset som förlaga.
- Skrapa cancerområdet med skalpellen och samla upp den skrapade vävnaden i ett mikrocentrifugrör.

**OBS:** Detta steg måste utföras med hög precision, och det krävs viss övning för att hitta den rätta vinkeln när du håller skalpellen för att kunna skrapa vävnaden på ett jämnt sätt.

**OBS:** En ny engångsskalpell och ett separat mikrocentrifugrör ska användas för varje prov.

**OBS:** För optimala testresultat rekommenderar vi att du skrapar 30 mm<sup>2</sup> vävnad som innehåller minst 50% cancerceller. Patologen kan kombinera tumörprover från en eller flera biopsier på samma patient för att få fram en tillräcklig vävnadsmängd.

## 6. Extraktion av RNA från vävnadsprover

För att extrahera RNA, från den skrapade prostatacancer-vävnaden, rekommenderar vi användandet av det semi-automatiserade Maxwell<sup>®</sup> 16 LEV RNA FFPE Purification Kitet tillsammans med instrumentet eller Roche High Pure FFPE RNA Micro Kit enligt leverantörens instruktioner, med följande ändringar:

Föreslagna ändringar i protokollet för Maxwell<sup>®</sup> 16 LEV RNA FFPE Purification Kit:

1. När mineraloljan är tillsatt, skall inkuberingen vid 80°C under 2 min ske under skakning (1200 rpm).
2. Nedbrytningen v vävnaden: För prover insamlade mindre än ett år innan RNA-extraktionen; Under inkuberingen vid 56°C under 15 min, skall skakhastigheten vara 1200 rpm under 5 min, och sedan 650 rpm under 10 min. Efter detta skall provet inkuberas vid 80°C under 1 timme och 650 rpm.

Föreslagna ändringar för Roche High Pure FFPE RNA Micro Kit:

1. För prover insamlade mindre än ett år innan RNA-extraktionen; tillsätt 350  $\mu$  L Lysis Buffer och 350  $\mu$  L Binding Buffer , i homogeniseringssteget (för att minska viskositeten).
2. Innan elueringen av RNA: Centrifugera High Pure Micro filter under 4 minuter i stället för 2 minuter vid maximal hastighet.

**OBSERVERA:** Om mer än en patient skall analyseras i samma körning går det bra att slå ihop reagens av samma slag efter upptining. Reagens från olika batcher skall **EJ** slås ihop.

## 7. Instruktioner om användning av Prostatype<sup>®</sup> RT-qPCR Kit

Detaljerade instruktioner om hur Prostatype<sup>®</sup> RT-qPCR Kit används samt instruktioner om hur rådata analyseras finns i **bruksanvisningen till Prostatype<sup>®</sup> RT-qPCR Kit (3)**. Sammanfattningsvis används RNA som extraherats från skrapade FFPE-prover som startmaterial för Prostatype<sup>®</sup> RT-qPCR-testet. Varje låda av Prostatype<sup>®</sup> RT-qPCR kit innehåller tillräckligt med reagens för att analysera fyra

patientprover plus fyra kontrollr. I varje kitlåda finns fyra mindre lådor och varje sådan låda innehåller reagens för att analysera en patient tillsammans med en positiv kontroll och en negativ kontroll. På så vis undviks upprepade omgångar av upptining och nedfrysning av reagensen. Varje patientprov och kontroll ska testas tre gånger.  $\Delta$ Cp-värden och median- $\Delta$ Cp-värden beräknas enligt den detaljerade beskrivningen i **bruksanvisningen till Prostatype® RT-qPCR Kit**. Eftersom analysen av testet är baserad på bestämning av median-Cp- och median- $\Delta$ Cp-värden istället för på beräkning av medelvärden är det inte relevant att hantera avvikande värden vid användning av Prostatype® RT-qPCR Kit.

## 8. Prestanda för Prostatype® RT-qPCR Kit

Prostatype® RT-qPCR Kit har validerats för att kunna generera ett Cp (GAPDH) på  $\leq 28$  med ungefär 95% säkerhet genom att använda prover som samlats in enligt följande kriterier:

- Ofärgade FFPE-vävnadsnitt tagna med nålbiopsi användes.
- Snitten hade en tjocklek på 10  $\mu$ m.
- Det minsta tumörområdet som användes var 30 mm<sup>2</sup> med ett tumörinnehåll på >50%.

För prover med ett tumörområde mellan 15 mm<sup>2</sup> och 30 mm<sup>2</sup> med 50% cancerceller är det ändå meningsfullt att utföra RNA-extraktionen och Prostatype® RT-qPCR-testet, eftersom sannolikheten att erhålla ett Cp (GAPDH) på  $\leq 28$  från de här proverna är >90%. För prover med ett tumörområde på <15mm<sup>2</sup> med 50% cancerceller är sannolikheten att erhålla ett Cp(GAPDH) värde på  $\leq 28$  ungefär 80%. Prover med <5mm<sup>2</sup> tumörområde är icke-lämpliga för analys med Prostatype RT-qPCR kit.

### 8.1. Detaljerad information om testets prestanda

Detaljerad information om kvantifieringsgräns, detektionsgräns, precision, reproducerbarhet, interferens, och relativ sensitivitet finns i *avsnitt 12* i **bruksanvisningen till Prostatype® RT-qPCR Kit**.

## 9. Instruktioner om användning av CPMA-databasen

När Cp-värdena för de fyra generna har erhållits med hjälp av Prostatype® RT-qPCR Kit analyseras informationen enligt den detaljerade beskrivningen i **bruksanvisningen till Prostatype® RT-qPCR Kit**, och median- $\Delta$ Cp-värdena beräknas för de tre generna IGFBP3, F3 och VGLL3 (3). I nästa steg utförs en likhetssökning baserat på gennuttrycksinformationen i kombination med kliniska parametrar. Resultatet tillhandahåller ett beslutsstöd för att generera en prognos. Likhetssökningen är baserad på programmet CPMA, som söker igenom databasen med referenspatienter för att hitta de tre mest liknande patienterna. Resultatet presenteras som överlevnadstiden för de tre referens-patienterna.

### 9.1. Att göra en sökning i CPMA-databasen

För att kunna göra en sökning i databasen måste följande steg utföras:

- Dubbelklicka på ikonerna för programmet CPMA för att starta det.
- Logga in i programmet med ditt användarnamn och lösenord som du tilldelats av Prostatype Genomics AB.
- Om du vill lägga in en ny patient i databasen klickar du på **New patient** i det övre vänstra hörnet och anger patient-ID i den motsvarande textrutan.
- Ange följande numeriska värden i de respektive textrutorna: Gleason score, det primära Gleason mönstret, tumörstadium, PSA-värde, ålder vid diagnosen, median  $\Delta$ Cp IGFBP3, median  $\Delta$ Cp F3 och median  $\Delta$ Cp VGLL3.
- Ange information om patientens behandling (om sådana uppgifter är tillgängliga) eller andra kommentarer i textrutan "*Comment*".
- Ange en giltig kit-kod i textrutan "*Kit id*".

**OBS:** Varje Prostatype® RT-qPCR Kit har en unik kit-kod som kan användas för 16 individuella prover.

- Klicka på **OK**, verifiera de angivna uppgifterna och signera med ditt användarnamn och lösenord för CPMA.

Gör så här om du vill visa en patient i listan:

- Dubbelklicka på motsvarande patient-ID eller välj **View patient** i det nedre vänstra hörnet.

**OBS:** Klassificeringen beror på den angivna informationens kvalitet och korrekthet. Om den angivna informationen är felaktig kan det resultera i felaktig prognosinformation!

**OBS:** Om felaktig patientinformation har angetts eller om statusen för en tidigare sparad patient måste ändras till inaktuell kan du använda funktionen *korrigeringskod* (correction enabling code) för att rätta till felet (mer information finns i avsnitt 9.2. *Korrigeringskoder*).

### 9.2. Korrigeringskoder

Om du upptäcker fel i den angivna patientinformationen kan du använda funktionen *korrigeringskod* (correction enabling code) för att korrigera informationen. För att kunna använda den här funktionen måste du få en korrigeringskod från Prostatype Genomics AB.

Gör så här för att korrigera information:

- Logga in i programmet med ditt användarnamn och lösenord.
- Klicka på **Tools** och välj **Correction enabling code**.
- Kontakta Prostatype Genomics AB (info@prostatypegenomics.com) och ange koden med tre tecken som identifierar ditt system/CPMA och det datum när du vill utföra korrigeringen.
- Du får då en upplåsningskod (som är giltig det datum som du angav) från CPMA-administratören.
- Du kommer åt korrigeringsfunktionen genom att skriva in koden på det aktuella datumet.  
**OBS:** Det går endast att redigera en patient per kod och per dag!
- Välj den patient som ska redigeras och klicka på **Set patient obsolete** i det övre vänstra hörnet.
- Ange korrekt information för patienten i CMPA.
- Signera sedan med ditt användarnamn och lösenord.

Den tidigare felaktiga patientinformationen är nu markerad som inaktuell. Den nya patientinformationen kan jämföras med de tre mest liknande referenspatienterna enligt beskrivningen i avsnitt 9.1. *Göra en sökning i CPMA-databasen*.

**OBS:** Logga ut från CPMA och stäng programmet efter användning för att förhindra att obehöriga får tillgång till programmet.

### 9.3. Säkerhetskopiering av patientinformation

Vi rekommenderar att du säkerhetskopierar patientinformationen regelbundet till en säker plats enligt följande instruktioner:

- Leta upp mappen som innehåller de krypterade databasfilerna (\*.cpma). Den förvalda rotmappen är "[root:]/ProgramData/ ProstatypeGenomicsAB/CPMA".
- Kopiera mappen till önskad plats, t.ex. en extern hårddisk som förvaras på en säker plats eller som är lösenordsskyddad.

### 9.4. Underhåll av CPMA

Det behövs inget underhåll av CPMA.

## 10. Begränsningar, försiktighetsåtgärder och säkerhet

För att skydda dig och för att undvika kontamination från reagenser och prover ska du alltid använda laboratorierock och engångshandskar när du använder Prostatype® Test System. Detta är också mycket viktigt att tänka på när du skrapar cancervävnad för RNA-extraktion.



Prostatype® RT-qPCR Kit innehåller inga farliga ämnen. Säkerhetsdatablad (MSDS) med detaljerad information om de material som ingår finns på vår webbplats ([www.prostatypegenomics.com/technical-documents](http://www.prostatypegenomics.com/technical-documents)).

Instruktionerna i bruksanvisningen *måste* följas för att tillförlitliga resultat ska erhållas. Om du inte följer instruktionerna kan felaktig eller ogiltig information genereras eller så kanske du inte erhåller några testresultat över huvud taget.

- Prostatype® Test System är endast avsett för användning i ett professionellt laboratorium där det förutsätts att användaren har kunskaper om RNA-hantering och realtids-PCR-analyser.
- Att följa god laboratorised är av helt avgörande betydelse för att minimera risken för korskontamination mellan prover under och efter RNA-extraktionen och -reningen.
- Allmänna rekommendationer om laboratoriets organisation och procedurer ska följas för att förhindra DNA-kontamination.
- Undvik mikrobiell kontaminering av reagens när portioner tas från reagensflaskor.
- Användning av sterila pipettspetsar med aerosolbarriär rekommenderas för att förhindra korskontaminering av patientprover. Torka alltid av alla arbetsytor, all utrustning och allt material med ett DNA-dekontaminationsmedel och ett RNAs-dekontaminationsmedel innan du påbörjar proceduren.
- Använd helst ett arbetsområde som är avsett enbart för RNA-testning.
- Prover som är avsedda för analys med Prostatype® Test System ska väljas ut av en behörig patolog eller annan personal med adekvat utbildning.
- I Prostatype® Test System används prover som erhållits från ofärgade FFPE-snitt från prostatavävnad som tagits med nålbiopsi. Vävnadssnitten ska ha en tjocklek på 10 µm.
- En optimal mängd på 30 mm<sup>2</sup> vävnad som innehåller minst 50% cancerceller rekommenderas för varje patientprov.
- Förvara inte RNA efter extraktion och säkerställ att nyligen extraherat RNA används i Prostatype® RT-qPCR-testet inom en dag.
- För varje enskild qPCR måste en Prostatype® Positive och Negative Control testas på samma 96-håls platta.
- Alla patientprover samt Prostatype® Positive och Negative Control ska analyseras tre gånger.
- Prostatype® RT-qPCR Kit bör enbart användas av professionell laboratoriepersonal som har utbildats och certifierats av Prostatype Genomics enligt det motsvarande utbildningsdokumentet (4).
- Förberedelse av Prostatype® RT-qPCR ska utföras i rumstemperatur (15–25 °C).
- Rådata (Cp-värden) ska analyseras enligt instruktionerna i **bruksanvisningen till Prostatype® RT-qPCR Kit** för att bedöma giltigheten för testkörningen och för att generera  $\Delta$ Cp-värden och median- $\Delta$ Cp-värden.
- Prostatype® RT-qPCR-testet måste utföras på en Roche LightCycler® 480-II eller en Roche LightCycler® 480-I.
- För att förhindra kontamination från amplikoner som genererats vid tidigare PCR-reaktioner rekommenderar vi starkt att aktiviteterna innan PCR (t.ex. RNA-extraktion, PCR-konfiguration) och efter PCR (t.ex. realtids-PCR) utförs strikt separerat. Vi rekommenderar även att använda PCR-plattor placeras i en förslutningsbar plastpåse eller motsvarande omedelbart efter borttagning från PCR-instrumentet. Påsen ska förslutas och kastas i en särskild avfallsbehållare. Förvara aldrig en använd PCR-platta utanför PCR-instrumentet. Öppna aldrig en använd PCR-platta.

## 11. Symbolförklaringar



Se bruksanvisningen



Artikelnummer



Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik



Partinummer



Utgångsdatum



Tillverkare



Temperaturbegränsning



Innehåller tillräckligt med material för <n> tester



Streckkod

---

## 12. Referenser

1. Peng Z, Skoog L, Hellborg H, Jonstam G, Wingmo IL, et al. (2014) An expression signature at diagnosis to estimate prostate cancer patients' overall survival. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 17:81-90.
2. Peng Z, Andersson K, Lindholm J, Bodin I, Pramana S, et al. (2014) Operator dependent choice of prostate cancer biopsy has limited impact on a gene signature analysis for the highly expressed genes IGFBP3 and F3 in prostate cancer epithelial cells. *PLoS One* 9: e109610.
3. Peng Z, Andersson K, Lindholm J, Dethlefsen O, Pramana S, et al (2016) Improving the prediction of prostate cancer overall survival by supplementing readily available clinical data with gene expression levels of IGFBP3 and F3 in formalin-fixed paraffin embedded core needle biopsy material. *PLoS One* 11: e0145545.
4. Prostatype® RT-qPCR Kit Instructions for Use. Prostatype Genomics. 2021

## 13. Kontaktinformation

Prostatype® Test System tillverkas av:

Prostatype Genomics AB

Industrivägen 19

171 48 Solna

Sverige

Om du vill ha mer information eller behöver produktsupport ber vi dig kontakta oss via e-post på adressen [info@prostatypegenomics.com](mailto:info@prostatypegenomics.com) eller via telefon på nummer +46 (0)8-20 87 00.