



Brugsanvisning til Bladder EpiCheck[®]-sæt

For Rotor Gene Q-brugere, EU-udgave

Til brug sammen med Bladder EpiCheck-software, version 1.12.41 eller
nyere



Til brug til in vitro-diagnosticering



Nucleix Ltd. Pekeris 3, Rehovot 7670203, Israel

Bladder EpiCheck er beskyttet af amerikansk patent nr. 9.476.100 og nr. 9.783.850 og
andre afventende patenter.

NUCLE!X

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet anvendelse	5
Resumé og forklaring	5
Procedures princip	6
Prøvningens arbejdsgang	7
Fysiske og funktionelle egenskaber for bestanddele i principsættet.....	9
Leverede materialer	11
Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C)	11
Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02C).....	12
Bladder EpiCheck-software (delnr. NX899090-03C).....	13
PC-krav	13
Softwareinstallation	13
Fjernelse af software.....	16
Softwareopgradering	18
Indstillinger	18
Nødvendige men ikke medfølgende materialer	20
Reagenser.....	20
Forbrugsvarer.....	20
Udstyr.....	20
Opbevaring og håndtering af sæt.....	21
Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C)	21
Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02C).....	21
Inden du kommer i gang	21
Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger)	21
Korrekt brug	22
Biologisk sikkerhed.....	23
Kemikalier	23
Bortskaffelse af affald.....	23
DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C) – fare- og forebyggelsessætninger	24
Præparering af reagenser i DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C).....	25
Opsamling, opbevaring og håndtering af urinprøve.....	25
Procedure for opsamling af urinprøve	25
Transport af urinprøve	26
Forhold for urinopbevaring.....	26
Laboratorieprocedure	27
Præparering af cellemasse	27

DNA-ekstraktion	28
DNA-fordøjelse	30
Realtids-PCR	32
Analyse med Bladder EpiCheck-software	40
Kom godt i gang	40
Indlæsning af en kørselsfil for realtids-PCR	40
Visning af filen med realtids-PCR i softwaren	43
Forklaring af analysen	46
Oversigt	46
EpiCheck-kørselsanalyse	46
Prøveanalyse	47
Grundlæggende funktioner	48
Visning af rådata for en enkelt brønd eller flere brønde	48
Patientrapport	51
Rapport om kørselsoversigt	52
Rapportmappe	54
Mappen Supportlog	54
Vejledning til fejlfinding	55
Bladder EpiCheck-softwarefejl	55
Flere fejl	62
Protokol for gentagelse af PCR	62
Begrænsninger	63
Forventede værdier	64
Ydeevneegenskaber	65
Klinisk ydeevne – klinisk sensitivitet og specificitet	65
Tilbagefald af blærekræft: Ydeevne vs. cystoskopi, cytologisk undersøgelse og patologisk undersøgelse	65
Hjælp til detektion af blærekræft	70
Klinisk ydeevne – urotelialt karcinom i de øvre urinveje	73
Analytisk ydeevne	75
Forkortelser	75
Klinisk afskæring	75
Analytisk sensitivitet: Analytisk grænse for detektion, funktionel grænse for detektion, grænse for detektion af metyleringsniveau og grænse for detektion af tumor	75
Specificitet	76
Reproducerbarhed og reproducerbarhed	77

Robusthed	81
Effektivitet ved DNA-ekstraktion	81
Effektivitet og eksklusivitet af fordøjelsesrestriktion	81
Stabilitet ved frysning/optøning	81
Stabilitet i realtid og under brug	82
Prøvestabilitet	82
Ordliste.....	83
Kontaktoplysninger	84

Tilsluttet anvendelse

Bladder EpiCheck-test er en enhed til in vitro-diagnosticering til detektion af mønstre af DNA-methylering i urin, der er knyttede til urotelialt karcinom. Den er beregnet til brug som en ikke-invasiv metode til overvågning af tumortilbagefald i forbindelse med diagnostiske standardprocedurer hos patienter, der tidligere er diagnosticeret med blærekræft og/eller urotelialt karcinom i de øvre urinveje.

Endvidere er Bladder EpiCheck beregnet til brug som et hjælpemiddel til påvisning af blærekræft og urotelialt karcinom i de øvre urinveje (UTUC) hos patienter med hæmaturi og/eller andre urinvejssymptomer og/eller fund med mistanke om ondartet sygdom i forbindelse med diagnostiske standardprocedurer.

Resumé og forklaring

Blærekræft er den femte mest udbredte ondartede sygdom i Europa, der påvirker mere end 200.000 mennesker hvert år. Methyleringsaberrationer findes i kræft hos mennesker^{1,2} og specifikt i blærekræft³. DNA-methylering henviser til den kovalente tilføjelse af methylgrupper (CH₃) til C5- positionen i pyrimidinringen i cytosiner, typisk i et CpG-dinukleotid, hvoraf der er ca. 28 millioner i det menneskelige haploide genom⁴. Tumorceller i forbindelse med kræft kendetegnes ved ændringer af methylering i genomet, hvor nogle CpG-øer gennemgår de novo-methylering, og flere ikke-CpG-øregioner bliver demetyleret⁵. Disse ændringer kan påvirke kræftpatogenese ved både geninaktivering grundet hypermethylering i promotorgener⁶ og onkogen aktivering eller kromosomstabilitet grundet global hypomethylering⁷. Bladder EpiCheck registrerer aberrationer i methyleringsmønstret på et panel af 15 DNA-methyleringsbiomarkører, der blev fundet at være knyttet til blærekræft hos patienter med blærekræft.

¹ Epigenetic modifications and human disease (2010), Portela A., Esteller M., Nat. Biotechnol. 28(10): 1057-68.

² Cancer epigenetics reaches mainstream oncology (2011), Rodriguez-Paredes M., Esteller M., Nat. Med. 17(3): 330-9.

³ DNA methylation-based biomarkers in bladder cancer (2013), Kandimalla R, van Tilborg AA, Zwarthoff EC. Nat Rev Urol. 10(6): 327-35.

⁴ Stevens M, Cheng JB, Li D et al. (2013) Estimating absolute methylation levels at single-CpG resolution from methylation enrichment and restriction enzyme sequencing methods. Genome Res 23, 1541-1553.

⁵ Bergman Y, Cedar H. DNA methylation dynamics in health and disease [published correction appears in Nat Struct Mol Biol. 2013 okt.;20(10):1236]. Nat Struct Mol Biol. 2013;20(3):274-281. doi:10.1038/nsmb.2518].

⁶ Merlo A, Herman JG, Mao L et al. (1995) 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumor suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. Nat Med 1, 686-692.

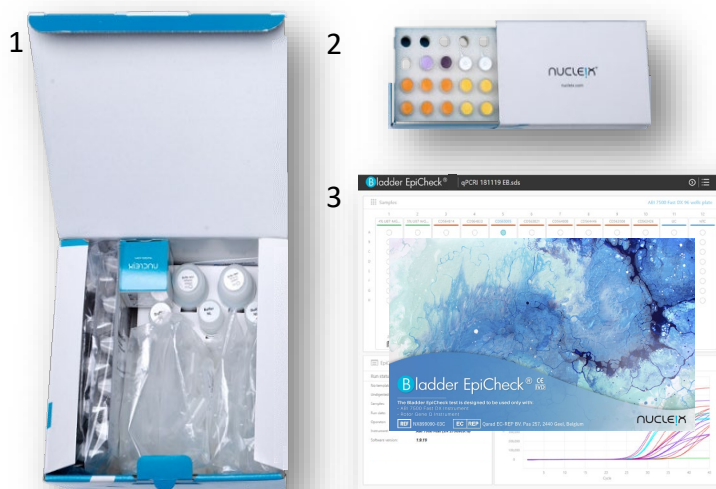
⁷ Argani P et al. (2002) Overexpression of S100A4 in pancreatic ductal adenocarcinomas is associated with poor differentiation and DNA hypomethylation. Am J Pathol 160, 45-50.

Proceduresens princip

Bladder EpiCheck er designet som et omfattende sæt med flere bestanddele til metyleringsprofilering af 15 DNA-metyleringsbiomarkører i urinprøver. Sættet består af reagenser til behandling af urinprøver fra start til slut (prøve-til-resultat), herunder reagenserne til DNA-ekstraktion, DNA-fordøjelse og realtids-PCR. Derudover omfatter produktet også analysesoftware.

Figur 1 viser bestanddelene i Bladder EpiCheck-sættet:

1. Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt – delNr. NX899090-01C
2. Bladder EpiCheck-testsæt – delNr. NX899090-02C
3. Bladder EpiCheck-software – delNr. NX899090-03C



Figur 1. Bestanddele i Bladder EpiCheck-sæt

Prøvningens arbejdsgang

Figur 2 viser en oversigt over Bladder EpiCheck-arbejdsgangen med praktik- og samlede tider.



Figur 2. Bladder EpiCheck-arbejdsgang

1. Opsamling af urinprøve

En urinprøve tages ved at bruge en af de godkendte teknikker til urinopsamling (se Opsamling, opbevaring og håndtering af urinprøve på side 25). Denne prøve opbevares, transporteres og behandles i henhold til de etablerede laboratorieprocedurer, der er defineret i denne brugsanvisning (IFU).

2. Dannelse af en cellemasseud fra urinprøven

Urinprøven centrifugeres, så cellerne (både normale og kræftceller) adskilles fra urinsupernatanten.

3. DNA-ekstraktion

DNA ekstraheres fra cellemassen ved hjælp af Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssættet (delnr. NX899090-01C).

4. Fordøjelse af ekstraheret DNA

Ved at bruge de i Bladder EpiCheck-testsættet (delnr. NX899090-02C) leverede reagenser fordøjes den ekstraherede DNA ved hjælp af et methyleringsfølsomt restriktionsenzym, der nedbryder DNA på specifikke genkendelsessteder, hvis de er umethylerede. Methyleret DNA beskyttes mod enzymatisk fordøjelse og forbliver derfor intakt. To kontrolprøver (EpiCheck-kørselskontroller), der leveres i Bladder EpiCheck-testsættet, tilføjes i dette trin: Ufordøjet kontrol (Undigested Control (UC)) og kontrol uden skabelon (No Template Control (NTC)).

5. Realtids-PCR

Ved at bruge de i Bladder EpiCheck-testsættet (delnr. NX899090-02C) leverede reagenser blandes hver enkelt prøve med fordøjet DNA og kontrolprøve med 8 unikke multiplekse PCR-reaktionsblandinger og prøves ved hjælp af Rotor Gene Q Real-Time PCR-systemet. Panelet med de 15 målbiomarkører forstærkes eksponentielt og producerer fluorescerende signalniveauer, der korrelerer med restniveauer af methyleringsbeskyttet DNA i hver mållokus.

Hver kørsel af realtids-PCR kræver de to fordøjede kontrolprøver (UC og NTC) og kan teste op til 7 patientprøver (9 prøver i alt pr. kørsel). Hver prøve optager 2 strimler med 4 glas (8 glas i alt). I hvert glas forstærkes 3-4 biomarkører, hvert med en unik fluorescerende sonde, der gør det muligt at identificere markørerne baseret på farve og brøndplacering. Panelet med de 15 biomarkører, BE-1 til BE-15, bruges til at bestemme, om en prøve er positiv eller negativ for blærekræft. Derudover anvendes tre kontrolmarkører (prøvekontroller), nemlig den interne reference (Internal Reference (IR)), fordøjelseskontrollen (Digestion Control (DC)) og referencen for fordøjelseskontrol (Digestion Control Reference (DCR)), til at kontrollere hver prøve individuelt samt kontrollere for vellykket fordøjelse og forstærkningsprocesser.

6. Softwareanalyse

PCR-kørselsfilen (.REX) i Rotor Gene Q Real-Time PCR-systemet analyseres ved hjælp af Bladder EpiCheck-softwaren (delnr. NX899090-03C). Outputtet er et kvalitativt resultat (positiv/negativ for tilbagefald af blærekræft) baseret på en integrativ score, der kaldes EpiScore. EpiScore er et tal i intervallet 0-100, der repræsenterer den generelle methylering af prøven i de 15 biomarkører. Hvis EpiScore er lig med eller større end 60, anses resultatet som positivt, hvilket angiver en høj risiko for blærekræft eller UTUC; hvis EpiScore er mindre end

60, anses resultatet som negativt, hvilket angiver en lav risiko for blærekræft eller UTUC. EpiScore bruges udelukkende til at skelne mellem positive og negative resultater og har ikke anden klinisk betydning end dens forhold med afskæringen. Den vises i patientrapporten og rapporten med oversigten over EpiCheck-kørsel (EpiCheck Run Summary Report) (intern laboratorierapport) med henblik på kvalitetskontrol alene og bør ikke anvendes til kliniske formål. Softwaren gør det muligt for operatøren at få vist og eksportere rapporter for hver enkelt patient samt have en detaljeret visning af rådataene som forstærkningsdiagram fra kørslen af realtids-PCR.

Fysiske og funktionelle egenskaber for bestanddele i principsættet

Tabel 1 viser de 8 PCR-blandinger, der består af primere, sonder og yderligere PCR-reagenser, der kræves for at forstærke panelet med 15 biomarkører samt de tre prøvekontroller (IR, DC og DCR). Alle 18 markører testes for hver enkelt patientprøve og de to kontrolprøver, nemlig UC og NTC.

Tabel 1. PCR-blandinger

Navn på blanding	Navn på locus	Rapporteringsfarvestof
PCR-blanding A	IR	FAM
	BE-1	ROX
	BE-2	Cyanine5
PCR-blanding B	IR	FAM
	BE-3	ROX
	BE-4	Cyanine5
PCR-blanding C	IR	FAM
	BE-5	ROX
	BE-6	Cyanine5
PCR-blanding D	IR	FAM
	BE-7	ROX
	BE-8	Cyanine5
PCR-blanding E	IR	FAM
	BE-9	ROX
	BE-10	Cyanine5
PCR-blanding F	IR	FAM
	DC	JOE
	BE-11	ROX
	DCR	Cyanine5
PCR-blanding G	IR	FAM
	BE-12	ROX
	BE-13	Cyanine5
PCR-blanding H	IR	FAM
	BE-14	ROX
	BE-15	Cyanine5

DNA-metyleringsbiomarkører

BE-1 til BE-15 er et panel med 15 metyleringsbiomarkører, der bruges til at bestemme, om en prøve er positiv eller negativ for blærekræft eller UTUC. Disse markører forstærkes i henhold til deres underliggende metyleringsniveau. Markører med et højt metyleringsniveau har flere intakte skabelonmolekyler efter fordøjelsen, hvilket fører til højere signalintensitet i trinnet med realtids-PCR. Omvendt har markører med et lavt metyleringsniveau færre intakte skabelonmolekyler efter fordøjelsen, hvilket fører til lavere signalintensitet i trinnet med realtids-PCR. (Se en skematisk fremstilling af prøveprincipperne for Bladder EpiCheck i Figur 3).

Prøvekontroller

IR (intern reference): En DNA-locus i det menneskelige genom indeholder ikke restriktionssteder til fordøjelsesenzymer og forbliver derfor intakt efter trinnet med fordøjelse af metyleringsfølsom DNA. IR-markøren koforstærkes i alle 8 prøveglas for at bekræfte vellykket og ensartet forstærkning for en givet prøve. IR'en bruges også til at sikre tilstrækkeligt DNA-input og kan registrere mulige urenheder, der kan forhindre PCR-forstærkning. Hvis forstærkningen af IR-markøren mislykkes eller ikke stemmer overens med foruddefinerede ydeevneparametre i én eller flere af prøvebrøndene, gennemføres analysen af prøven ikke, og softwaren giver en ugyldig indikation for den mislykkede prøve.

DC (Digestion Control) og **DCR** (Digestion Control Reference): Disse kontroller er ikke-genomiske markører, der findes i eksogene DNA-sekvenser, og føjes til alle prøver med patient-DNA og kontrolprøver under fordøjelsestrinnet. Markørerne DC og DCR forstærkes i hver enkelt prøve (ved hjælp af PCR-blanding F) for at bekræfte, at fordøjelsen blev udført. DC-sekvensen indeholder genkendelsesstederne for restriktionsenzymet, mens DCR-sekvensen gør det ikke. Efter vellykket fordøjelse fordøjes markøren DC helt og forstærkes derfor ubetydeligt i trinnet med realtids-PCR. Omvendt forstærkes den ufordøjede DCR-markør fuldstændigt. Hvis forstærkningen af DC og/eller DCR i en prøve ikke stemmer overens med foruddefinerede ydeevneparametre, gennemføres analysen af prøven ikke, og softwaren giver en ugyldig indikation for den mislykkede prøve.

EpiCheck-kørselskontroller

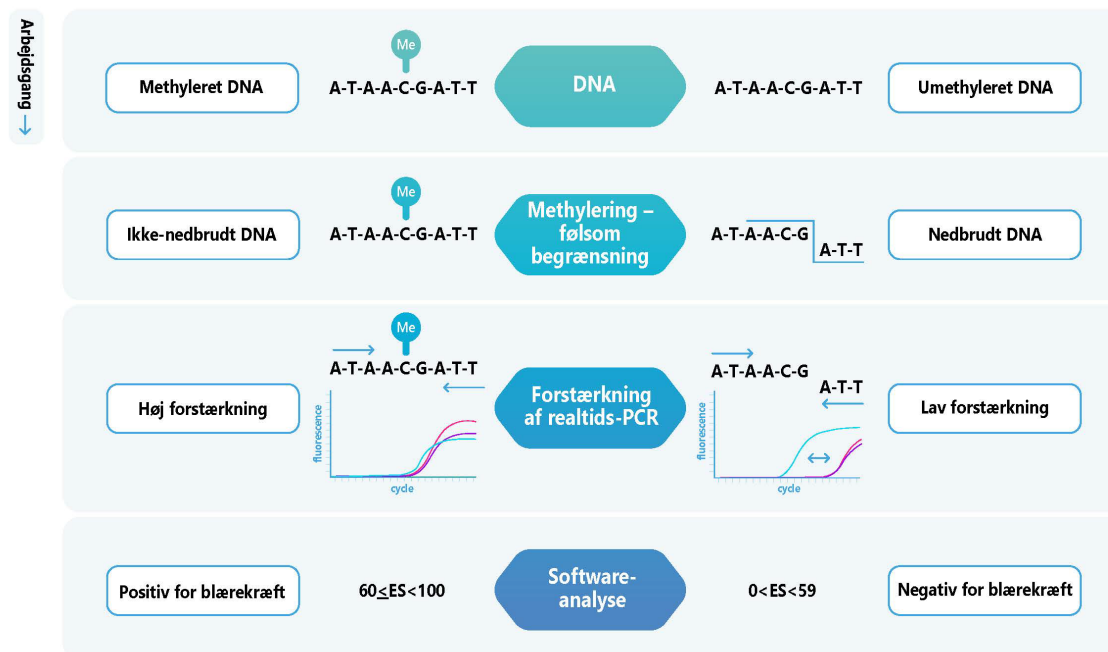
Kontrol uden skabelon (NTC): NTC er testens negative kontrol. Den er en prøve uden DNA med ultrarent vand, der bekræfter, at der ikke er indført nogen DNA-kontaminering i prøverne i en givet kørsel. Et betydeligt forstærkningssignal i denne prøve kan være tegn på mulig kontaminering i pladen, hvorfor analysen af kørslen derfor ikke gennemføres, og softwaren angiver Kørselsfejl for hele PCR-pladen.

 *Læg mærke til, at kontrolmarkørerne DC og DCR føjes under fordøjelsestrinnet til alle prøver, herunder NTC-prøven, og DCR forventes derfor at blive forstærket i denne prøve (kun i det 6. glas).*

Ufordøjet kontrol (UC): UC er testens positive kontrol. Den indeholder 17 eksogene sekvenser, der repræsenterer hele Bladder EpiCheck-panelet med biomarkører (undtagen DCR, som føjes til prøven under fordøjelsestrinnet). Denne kontrol bekræfter, at alle bestanddele i PCR-blandingerne samt instrumentdetektorerne fungerer korrekt. Disse eksogene sekvenser mangler genkendelsessteder i restriktionsenzymet og fordøjes derfor ikke under fordøjelsestrinnet. Det resulterer i høje signalintensiteter i trinnet med realtids-PCR. Hvis forstærkningen af UC ikke stemmer overens med foruddefinerede ydeevneparametre, gennemføres analysen af kørslen ikke, og softwaren angiver Kørselsfejl for hele PCR-pladen.

Prøvningsprincipper for Bladder EpiCheck

Figur 3 viser metyleret DNA (øverst til venstre), der er beskyttet mod enzymatisk nedbrydning, mens umetyleret DNA (øverst til højre) nedbrydes af restriktionsenzymet. Dernæst gennemgår de ikke-nedbrudte (dvs. methylerede) DNA-mål forstærkning af realtids-PCR, som producerer høje niveauer af fluorescerende signal (venstre), hvorimod nedbrudte (dvs. umethylerede) molekyledele af DNA-målene ikke forstærkes, hvilket resulterer i minimalt fluorescerende signal (højre). Det akkumulerede signal på tværs af flere forskellige forstærkede markører integreres automatisk af Bladder EpiCheck-softwaren, så de højere niveauer af fluorescerende signal giver en højere EpiScore (ES) med en afskæring ved 60 (≥ 60 = Positiv; < 60 = Negativ).



Figur 3. Prøvningsprincipper for Bladder EpiCheck

Leverede materialer

Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C)

Sættet indholder reagenser og forbrugsvarer til trinnet med DNA-ekstraktion (se Tabel 2). Reagenser og forbrugsvarer er tilstrækkelige til 50 præpareringer af patientprøver.

Tabel 2. Reagenser og forbrugsvarer, der leveres i Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssættet

Reagens/forbrugsvare	Volumen/mængde
Minioprensningsskolonner med opsamlingsglas (2 ml)	50
Opsamlingsglas (2 ml)	4x50
Safe-Lock-glas (1,5 ml)	75
NL-buffer, lysisbuffer*	2x12 ml
NW1-buffer*, vaskebuffer 1 (koncentrat)	19 ml
NW2-buffer**, vaskebuffer 2 (koncentrat)	13 ml
NE-buffer, elueringsbuffer	12 ml
Protease (lyofiliseret)	1 hætteglas***
Proteaseopløsningsmiddel*	1,2 ml

* Indeholder kaotropisk salt. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger) på side 21.

** Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

*** Genoplæmningsvolumen 1,2 ml.

Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02C)

Sættet indeholder reagenser til trinnene med DNA-fordøjelse og realtids-PCR (se Tabel 3). Når reagenserne bruges effektivt, er de tilstrækkelige til at teste i alt 50 patientprøver, inklusive de krævede kontrolprøver. For effektivt at bruge de leverede reagenser i sættet anbefales det at udføre trinnene med fordøjelse af DNA og realtids-PCR i batcher på 6-7 prøver med patient-DNA over 8 fordøjelser/PCR-kørsler i alt. To af de 8 fordøjelser/PCR-kørsler skal desuden inkludere 7 prøver med patient-DNA (fulde kørsler). Læg mærke til, at denne anbefaling ikke omfatter brugen af reagenserne til PCR-gentagelser grundet kørselsfejl.

Tabel 3. Reagenser, der leveres i Bladder EpiCheck-testsættet

Hættefarve	Reagens	Bestanddele	Volumen
Gul	PCR-blanding - A	IR-primere og sonde, BE-1-primere og sonde, BE-2-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - B	IR-primere og sonde, BE-3-primere og sonde, BE-4-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - C	IR-primere og sonde, BE-5-primere og sonde, BE-6-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - D	IR-primere og sonde, BE-7-primere og sonde, BE-8-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - E	IR-primere og sonde, BE-9-primere og sonde, BE-10-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - F	IR-primere og sonde, DC-primere og sonde, BE-11-primere og sonde, DCR-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - G	IR-primere og sonde, BE-12-primere og sonde, BE-13-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Gul	PCR-blanding - H	IR-primere og sonde, BE-14-primere og sonde, BE-15-primere og sonde, PCR-buffer, dNTP'er	1100 µl
Orange	Taq DNA-polymerase [5 U/µl]	Taq DNA-polymerase, Tris-HCl, KCl, EDTA, DTT, 50 % glycerin (v/v), 0,5 % Tween®,	6x50 µl
Hvid	10X fordøjelsesbuffer	Kaliumacetat, Tris-acetat, magnesiumacetat, BSA	2x1250 µl
Lyselilla	1X fortyndingsbuffer	Kaliumacetat, Tris-acetat, magnesiumacetat, BSA	1500 µl
Hvid	Fordøjelsesenzym [10 U/µl]	KCl, Tris-HCl, DTT, EDTA, 50 % glycerin (v/v), BSA	2x220 µl
Lilla	Skabelon til fordøjelseskontrol [100 fg/µl]	Eksogene DC- og DCR-sekvenser, der er opløst i NE-buffer	150 µl
Hvid	NTC (No Template Control)	Ultrarent vand (DNA-frit)	1600 µl
Blå	UC (ufordøjet kontrol) [2 fg/µl]	17 eksogene sekvenser, der er opløst i NE-buffer	1600 µl

Bladder EpiCheck-software (delnr. NX899090-03C)

PC-krav

Bladder EpiCheck-softwarens krav beskrives nærmere i Tabel 4 nedenfor.

Tabel 4. PC-krav

Beskrivelse	Minimumskrav
Operativsystem	Microsoft® Windows® 10 eller nyere med .NET Framework 4.0
RAM	2 GB
Plads på harddisk	10 GB
PDF Reader	Skal være installeret som standardprogram til åbning af PDF-filer; må ikke være en del af softwareinstallationspakkerne

Softwareinstallation

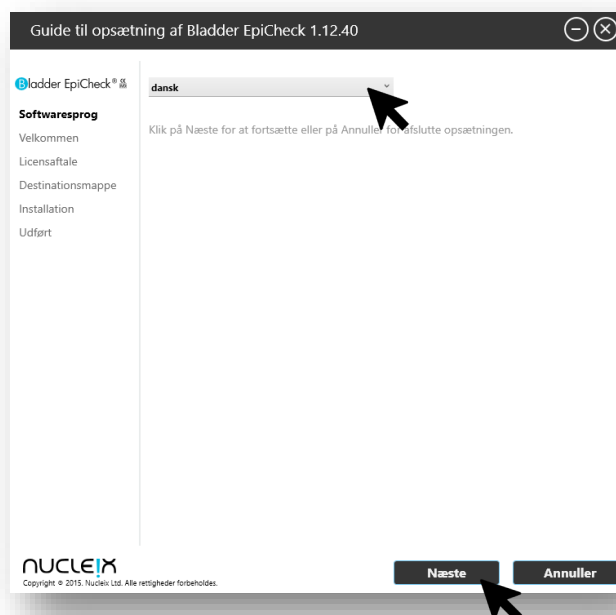
1. Hent den seneste version af Bladder EpiCheck-software fra Kundeområde på Nucleix-websiteet på <https://nucleix.com/customer-area/>

⚠ Hvis der ikke er adgang til internettet på den computer, du ønsker at installere softwaren på, skal du hente den på en anden computer og bruge et USB-flashdrev til at installere det på den ønskede computer.

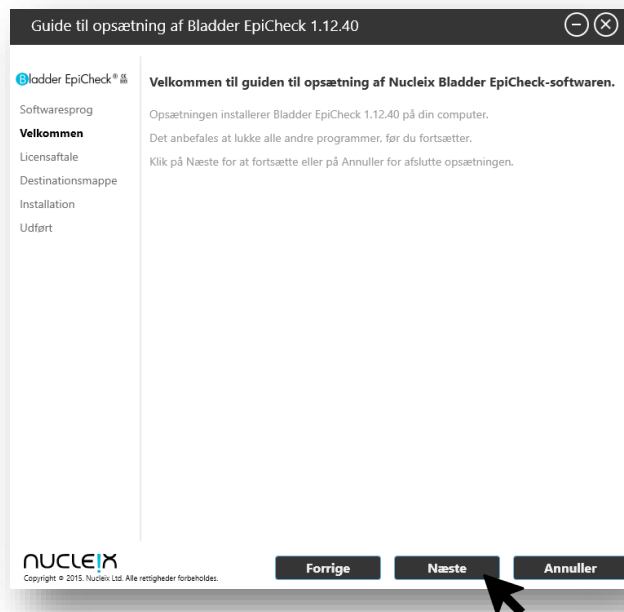
2. Dobbeltklik på ikonet for BladderEpiCheck.Setup:  **BladderEpiCheck.Setup.exe**

Guiden til installation af Bladder EpiCheck-software vises. Den venstre side af installationsvinduet viser installationstrinnene, og trinnet i fed er din aktuelle status (**softwaresprog**).

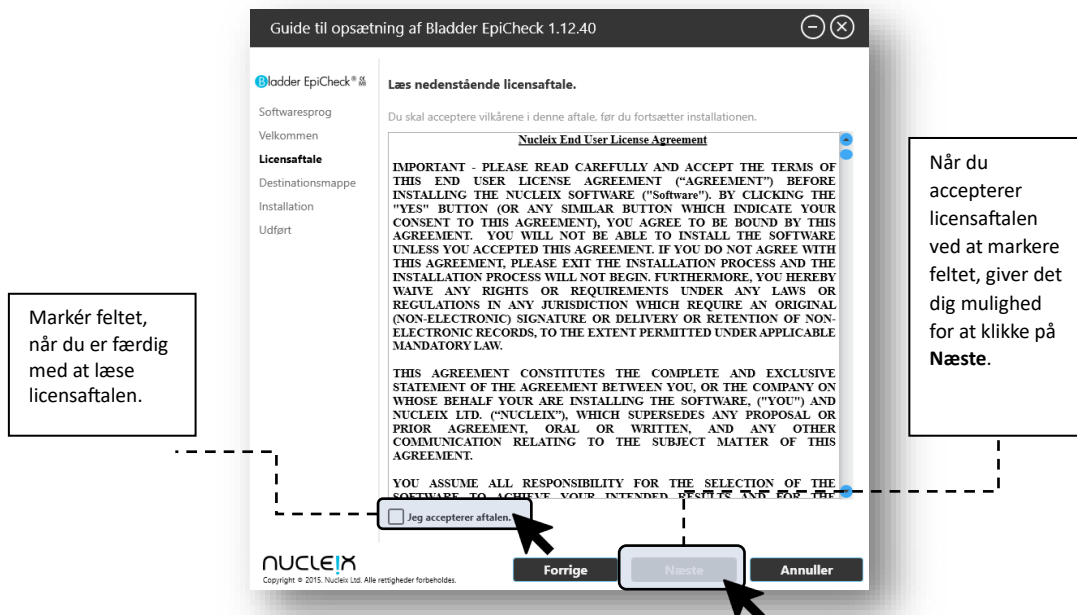
3. Vælg dit foretrukne sprog til softwaren ved at klikke på pilen for at åbne rullelisten med tilgængelige sprog.
4. Klik på **Næste** for at fortsætte med installationen.



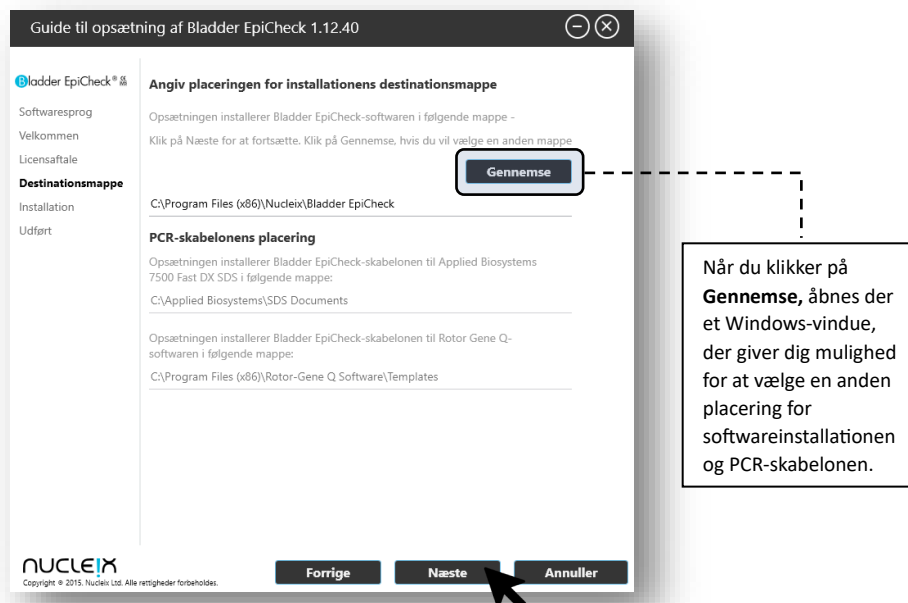
- I trinnet **Velkommen** vil softwaren anbefale at lukke alle andre kørende programmer, før der fortsættes. Klik på **Næste**, når du er klar til at fortsætte med installationen.



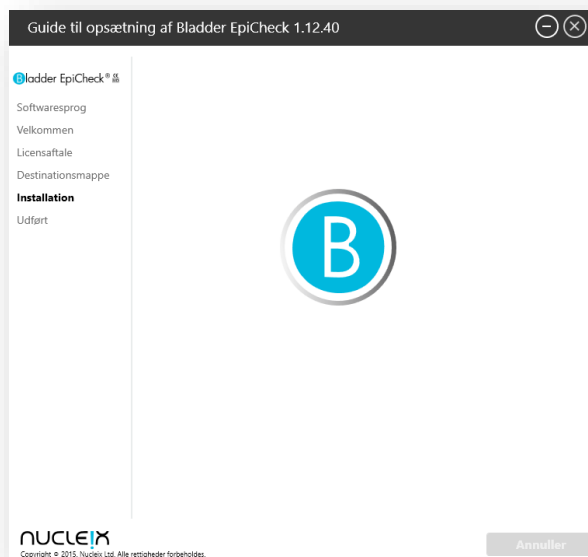
- I trinnet **Licensaftale** er du nødt til at læse licensaftalen. Det er obligatorisk at acceptere vilkårene i denne aftale for at kunne fortsætte med installationen.
- Markér feltet **Jeg accepterer aftalen**.
- Klik på **Næste**.



9. I trinnet **Destinationsmappe** vises placeringerne for softwareinstallation og PCR-skabelon. Ved at klikke på **Gennemse** kan du vælge en anden mappe, hvor softwaren installeres.
10. Klik på **Næste** for at gå videre til trinnet **Installation**.



11. Vent, indtil installationen er gennemført.



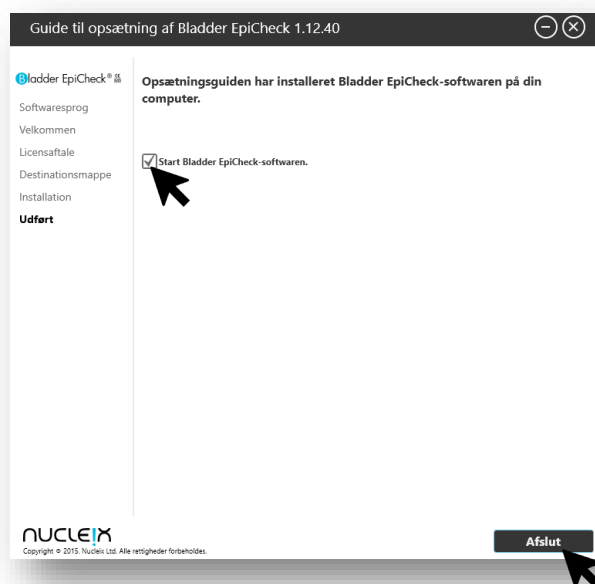
12. Guiden giver dig besked, når installationen er udført (**Udført**).
13. Klik på feltet **Start Bladder EpiCheck-software**, hvis du ønsker at starte softwaren automatisk efter lukning af guiden Installation.
14. Klik på **Afslut** for at lukke guiden Installation.

⚠ Hvis det af lovgivningsmæssige årsager ikke er muligt at installere softwaren på computeren til PCR-instrumentet, skal du udføre følgende trin:

- Installer softwaren på en anden computer, og brug et USB-flashdrev til at finde skabelonen.
- Find skabelonen ved hjælp af følgende stier:

C:\Programfiler (x86)\Rotor-Gene Q Software\Templates

C:\Programfiler (x86)\Rotor-Gene Q Software\Templates\Quick Start Templates



Fjernelse af software

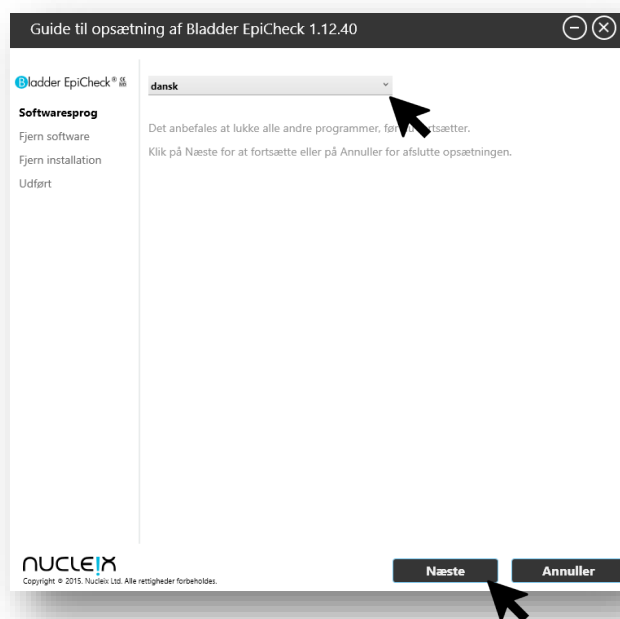
Hvis du ønsker at fjerne softwaren, skal du udføre følgende trin.

1. Dobbeltklik på ikonet for BladderEpiCheck.Setup:  **BladderEpiCheck.Setup.exe**

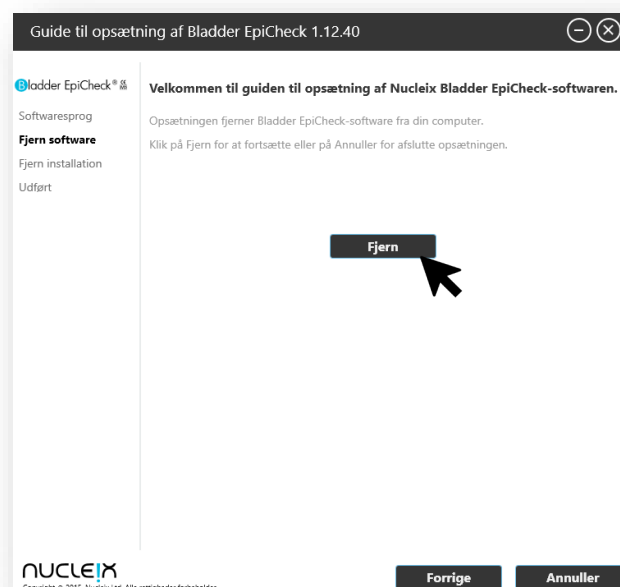
Guiden til installation af Bladder EpiCheck-software vises.

2. Vælg dit foretrukne sprog til softwaren ved at klikke på pilen for at åbne rullelisten med tilgængelige sprog.

- Klik på **Næste** for at fortsætte med fjernelsen af softwaren.



- Klik på **Fjern** for at starte fjernelsen af softwaren fra din computer. Vent, indtil fjernelsen er gennemført.



- Guiden giver dig besked, når fjernelsen er gennemført (**Gennemført**).

6. Klik på **Afslut** for at lukke guiden Installation.

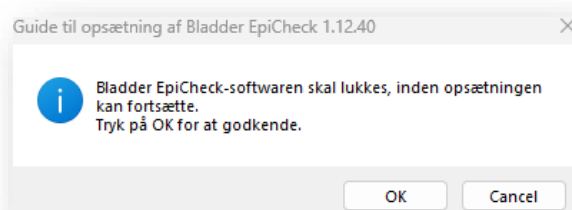


Softwareopgradering

Hvis du er blevet informeret om, at der er udgivet en ny version af Bladder EpiCheck-softwaren, skal du gå til Kundeområde på Nucleix-webstedet på www.nucleix.com/customer-area/ og hente den seneste softwareversion.

Hvis der installeres en nyere version af softwaren, fjerner det automatisk den tidligere version. Følg instruktionerne til Softwareinstallation på side 13 for at installere den nye version.

⚠ Hvis du forsøger at installere en ny softwareversion, mens den tidligere softwareversion kører, vil en fejl informere dig om, at softwaren skal lukkes for at gøre det muligt for installationen at fortsætte. Ved at trykke på **OK** lukkes den åbne software automatisk, og installationen fortsætter.



Indstillinger

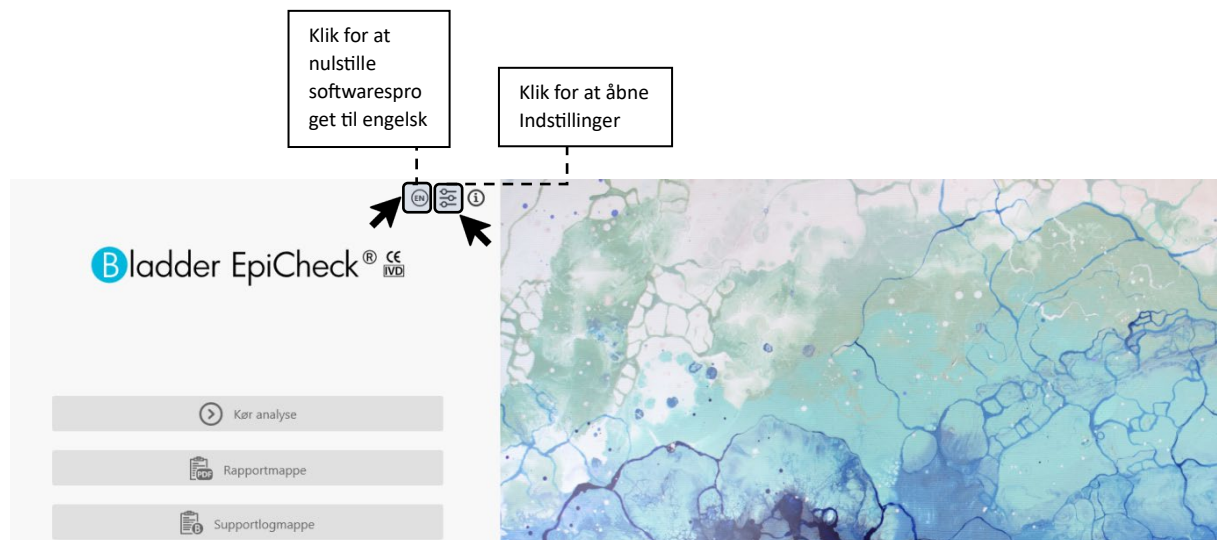
I menuen **Indstillinger** kan du:

- Ændre placeringen, hvor outputfilerne med rapport og analyse gemmes automatisk.
- Skift softwaresproget.
- Tilføj og rediger de laboratorieoplysninger, der vises i patientrapporten.

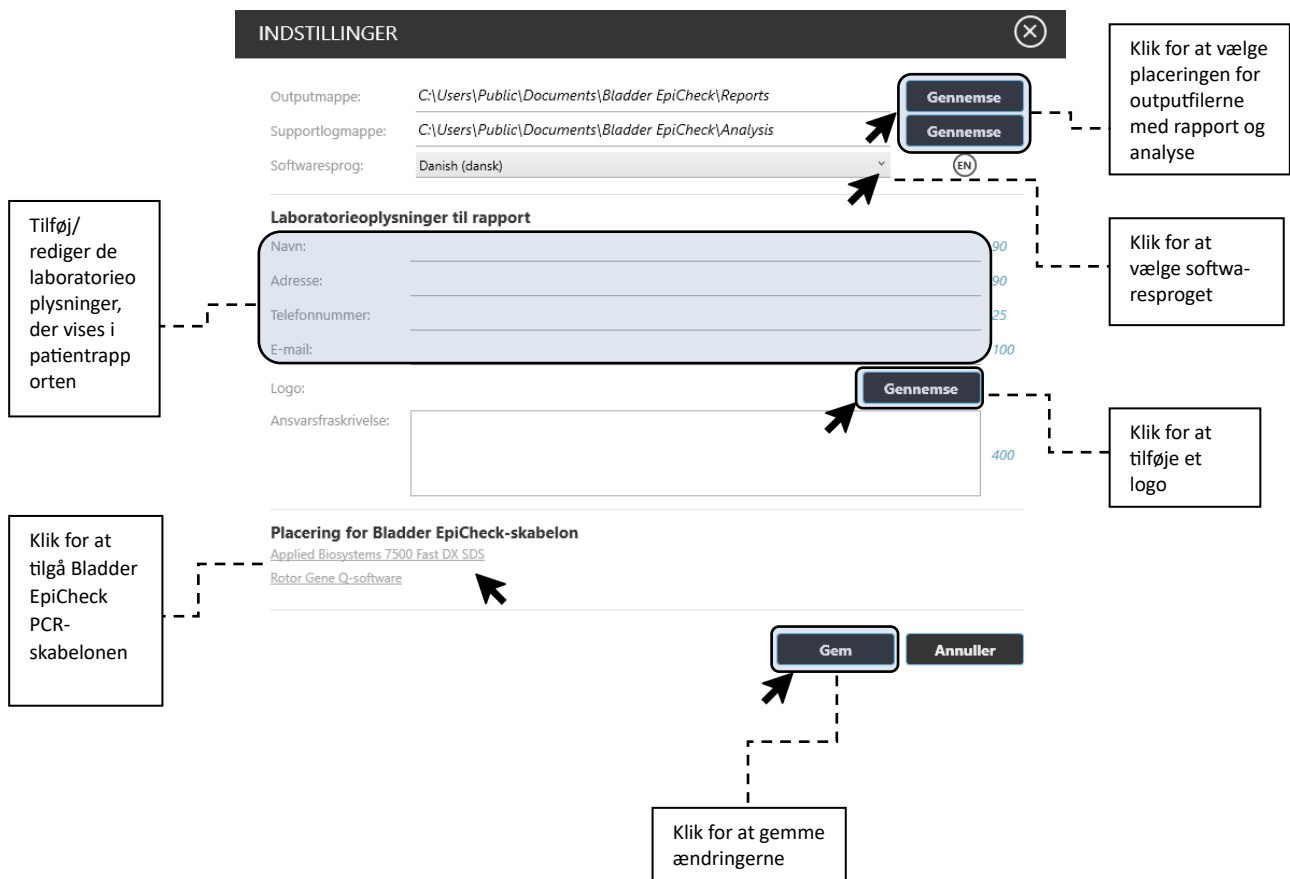
- Tilgå Bladder EpiCheck PCR-skabelonen.

Når du har startet softwaren, vises skærmen til hurtig start. Hvis du vil åbne indstillingerne, skal du klikke på ikonet  for **Indstillinger**, der sidder øverst på skærmen.

Hvis du bruger softwaren på et andet sprog end engelsk og ønsker at nulstille det tilbage til engelsk, skal du klikke på ikonet for **Tilbage til engelsk** , der sidder øverst på skærmen.



Hvis du vil ændre placeringen for outputfiler, skal du klikke på **Gennemse** og vælge den placering, hvor du ønsker, at softwaren automatisk skal gemme outputfilerne med rapport og analyse.



Nødvendige men ikke medfølgende materialer

Reagenser

- Fosfatbufferet saltopløsning (PBS) 0,01 M pH 7,4 (f.eks. Sigma, katalog nr. P3813 eller Thermo Fisher, katalog nr. A1286301 eller en hvilken som helst tilsvarende PBS)
- Absolut ætanol (96-100 %)
 - ⚠ *Brug ikke denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer.*
- Dobbelt destilleret vand (hvis der bruges PBS-pulver)

Forbrugsvarer

- Filtrede pipettespidser
- 50 ml kegleformede centrifugeglas
- 1,5 ml eller 2 ml mikrocentrifugeglas
- Strimmelglas og -hætter, 0.1 ml (QIAGEN katalog nr. 981103 eller nr. 981106)
 - ⚠ *Kun de ovennævnte strimmelglas og -hætter bør bruges til at udføre testen.*

Udstyr

- QIAGEN Rotor Gene Q og Rotor Gene Q MDx Real-Time PCR-platforme 5plex/5plex HRM/6plex med Rotor Gene Q Series-software, version 2.3.1 eller nyere og 72-Well Rotor.
 - ⚠ *Find oplysninger om betjening af instrumentet i instrumentets brugervejledning.*
 - ⚠ *Rotor Gene Q Real-Time PCR-instrumentet skal vedligeholdes i overensstemmelse med de instruktioner, der er angivet i instrumentets brugervejledning.*
- Mikrocentrifuge med rotor til 1,5/2 ml glas, der kan nå 17.000 RCF (g)
- Centrifuge med en gyngende spandrotor til 50 ml kegleformede glas med mulighed for at slå bremsen fra
- Tørbad/opvarmningsblok, der er egnet til 1,5 ml glas med kegleformet bund og kan nå 37 °C og 65 °C
- Pipetter med justerbar volumen (100-1000 µl, 20-200 µl, 2-20 µl)
- Beholder med is/kold blok til 1,5 ml centrifugeglas
- Vortexblander
- Ladeblok til 72 x 0,1 ml glas (QIAGEN, katalog nr. 9018901)
- Permanent tusch

Opbevaring og håndtering af sæt

Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C)

Sættet leveres under omgivende forhold.

Alle reagenser og forbrugsvarer, der leveres i sættet, kan bruges indtil sættets udløbsdato, der er nævnt på mærkaten på sætboksen, uden reduktion i deres ydeevne, hvis de opbevares som angivet nedenfor.

- Minioprensningsskolonner skal fjernes fra sættet ved ankomst og opbevares ved 2-8 °C.
- Alle buffere (NL, NW1, NW2, NE) skal opbevares ved stuetemperatur, 15-25 °C. Rekonstitueret NW1-buffer og rekonstitueret NW2-buffer skal opbevares ved stuetemperatur, 15-25 °C.
- Lyofiliseret protease skal opbevares ved stuetemperatur, 15-25 °C. Rekonstitueret protease skal opbevares ved 2-8 °C.

Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02C)

- Sættet leveres ved -25°C til -15°C.
- Alle reagenser i dette sæt skal opbevares ved -25°C til -15°C og kan bruges indtil sættets udløbsdato, der er nævnt på mærkaten på sætboksen, uden reduktion i deres ydeevne.
- Reagenserne i dette sæt kan optøs og fryses igen højst 10 gange. Find flere oplysninger i Stabilitet ved frysning/optøning på side 81.
- Tag kun ud det påkrævede antal glas til 10X fordøjelsesbuffer, fordøjelsesenzym og Taq DNA-polymeraseglas for et givet trin med DNA-fordøjelse eller realtids-PCR.
- Fordøjelsesenzymet skal altid placeres på is/kold blok, når det tages ud af fryseren.

Inden du kommer i gang

- Ved ankomst af Bladder EpiCheck DNA-ekstraktions- og -testsæt skal det kontrolleres, at bestanddelene ikke er beskadigede eller optøede. Hvis blisterpakningen med minioprensningsskolonner eller reagensflaskerne eller -glassene er beskadigede, eller hvis nogen af reagenserne i testsættet er optøet, må sættet ikke bruges, og Nucleix-kundesupport skal kontaktes (se Kontaktoplysninger på side 84).
- I tilfælde af væskespild skal du se Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger) på side 21. Brug ikke sættet, og kontakt Nucleix-kundesupport (se Kontaktoplysninger på side 84).
- Klargør DNA-ekstraktionssættet (delnr. NX899090-01C) i henhold til instruktionerne til Præparering af reagenser i DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C) på side 25. Klargøring udføres én gang pr. sæt før første brug.

Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger)

Inden Bladder EpiCheck-testen tages i brug, er det yderst vigtigt, at du læser denne brugsanvisning (IFU) og er meget opmærksom på de i dette afsnit opførte advarsler og forholdsregler.

Find flere oplysninger i de passende sikkerhedsdatablade (SDS'er), der er tilgængelige online i vores Kundeområde: www.nucleix.com/customer-area/

Korrekt brug

- Til brug til in vitro-diagnosticering.
- Korrekt prøveopsamling, -opbevaring og -transport er væsentlige for at opnå korrekte resultater.
- For at sikre prøvens integritet skal laboratoriet modtage prøver med patienturin senest 5 dage efter opsamlingen.
- Brug ikke reagenser fra andre producenter sammen med dette sæt.
- Opbevar sættets reagenser som angivet på deres individuelle mærkater.
- Der må ikke blandes eller erstattes reagenser fra sæt med forskellige partinumre.
- Opbevar ikke nogen af sættets reagenser i "Frostfrie" frysere.
- Sæt må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- God laboratorieteknik og planlægning af korrekt arbejdsgang er væsentlige for at reducere risikoen for kontaminering. Planlæg laboratoriearbejdsgang på en ensrettet måde ved at starte med forforstærkning og flytning gennem forstærkning og detektion.
- Hvis anvisningerne ikke følges, kan det øge hyppigheden af fejlagtige resultater eller testfejl.
- Brug engangshandsker gennem hele proceduren, og udskift dem regelmæssigt. I tilfælde af brud i handskerne eller kontakt mellem handsker og en prøve, skal handskerne udskiftes med det samme.
- Brugen af dette produkt skal begrænses til personale med uddannelse i metodologier til DNA-ekstraktion og realtids-PCR.
- Brug kun kalibreret udstyr for at opnå nøjagtige resultater.
- Markér alle glas med passende oplysninger til prøveidentifikation gennem hele prøvningens arbejdsgang.
- For at forhindre krydskontaminering af patientprøver og kontroller skal der bruges pipettespidser med aerosolbarriere og udskiftes spidserne mellem alle væskeoverførsler.
- Rengør og desinficer grundigt alle overflader med en opløsning af 10 % (v/v) natriumhypochlorit (blegemiddel) efterfulgt af vand af molekylærbiologisk kvalitet, før sættet tages i brug.
- For at undgå kontamineringer skal der bruges dedikerede forbrugsvarer og udstyr i områder til forforstærkning og forstærkning.
- Der må ikke tillades krydsbevægelse af personale eller udstyr mellem områder.
- Undgå at åbne strimmelglassene efter forstærkning for at forhindre DNA-kontamineringer på laboratoriet.
- Brug ikke forbrugsvarer, der er beregnede til præparering af reagenser eller prøver til behandling af målnukleinsyre.

- Centrifuger kort alle reagenser før brug for at fjerne dråber fra indersiden af låget.

Biologisk sikkerhed

- Brug egnet beskyttelsestøj, engangshandsker, øjen- og ansigtssvævn, når du arbejder med sættets reagenser. Find flere oplysninger i sikkerhedsdatabladene (SDS'er), der er tilgængelige online i vores Kundeområde: www.nucleix.com/customer-area/
- Vask hænderne grundigt efter arbejde med sættets reagenser og/eller patientprøver.
- Prøver skal håndteres, som om de var inficerede, ved hjælp af sikre laboratorieprocedurer såsom dem, der er beskrevet i CLSI-dokument M29-A4⁸

Kemikalier

- Tilsæt ikke blegemiddel eller syreholdige opløsninger direkte til affaldet fra prøvepræparering i trinnet med DNA-ekstraktion.
- NL-buffer og NW1-buffer indeholder guanidinhydrochlorid, som kan danne meget reaktive forbindelser, når den kombineres med blegemiddel. Hvis der spildes væske, der indeholder disse buffere, skal der rengøres med egnet rengøringsmiddel til brug på laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt infektiøse agenser, skal det afficerede område rengøres først med rengøringsmiddel til brug på laboratorier og vand og derefter med en opløsning af 1 % (v/v) natriumhypochlorit. Hvis der er bufferflasker, der er beskadigede eller lækker, skal du bære laboratoriekittel, handsker og beskyttelsesbriller, når du kasserer flaskerne, for at undgå personskade eller skade på andre.

Bortskaffelse af affald

- Flydende affald og alle potentielt infektiøse materialer og beholdere skal anses som infektiøse og håndteres og kasseres i overensstemmelse med lokale og europæiske bestemmelser, hvis det er relevant.
- Brug en beholder til biologisk fare til affald fra trinnet med præparering af cellemasse.
- Hvis affald fra trinnet med præparering af cellemasse spildes: (i) Undgå kontakt med hud og øjne, og brug passende beskyttelsestøj, handsker, ansigtsmaske og sikkerhedsbriller; (ii) absorber materialet; (iii) rengør overfladen med en opløsning af 10 % (v/v) natriumhypochlorit, og lad overfladen blive våd i én time; (iv) vask grundigt med vand; og (v) anbring affaldet i en passende beholder, og bortskaf i overensstemmelse med nationale/lokale bestemmelser vedrørende bortskaffelse af særligt affald.
- Bortskaf strimmelglas i realtid med DNA- og kontrolprøver som biologisk fare i overensstemmelse med lokale og europæiske bestemmelser, hvis det er relevant.
- Bortskaf UC-glas (blå hætte) og glas til skabelon til fordøjelseskontrol (Digestion Control Template) (lilla hætte) som biologisk fare i overensstemmelse med lokale og europæiske bestemmelser, hvis det er relevant.

⁸ CLSI. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, Fourth Edition. CLSI-dokument M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014

DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C) – fare- og forebyggelsessætninger

NL-buffer, lysisbuffer



(i) Fare: H302 Skadeligt, hvis det synkes; H315 Forårsager hudirritation; H317 Kan forårsage en allergisk hudreaktion; H319 Forårsager alvorlig øjenirritation; H332 Skadeligt, hvis det indåndes
(ii) Forebyggelse: P261 Undgå at indånde støv/røg/gas/tåge/dampe/sprøjt; P280 Brug beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenværn/ansigtsværn; P305+P351+P338 VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser, hvis det let kan gøres. Bliv ved med at skylle; P312 Ring til en FORGIFTNINGSCENTRAL/læge, hvis du føler dig utilpas; P333+P313 Hvis der opstår hudirritation eller hududslæt: Søg læge eller lægehjælp; P337+P313 Hvis øjenirritationen varer ved: Søg læge eller lægehjælp

NW1-buffer, vaskebuffer 1



(i) Fare: H302 Skadeligt, hvis det synkes; H315 Forårsager hudirritation; H319 Forårsager alvorlig øjenirritation; H332 Skadeligt, hvis det indåndes
(ii) Forebyggelse: P261 Undgå at indånde støv/røg/gas/tåge/dampe/sprøjt; P264 Vask grundigt efter håndtering; P280 Brug beskyttelseshandsker/øjenværn/ansigtsværn; P305+P351+P338 VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser, hvis det let kan gøres. Bliv ved med at skylle; P312 Ring til en FORGIFTNINGSCENTRAL/læge, hvis du føler dig utilpas; P337+P313 Hvis øjenirritationen varer ved: Søg læge eller lægehjælp

Protease (lyofiliseret)



(i) Fare: H318 Forårsager alvorlig øjenskade; H334 Kan fremkalde allergi eller forårsage astmasymptomer eller åndedrætsbesvær, hvis det indåndes
(ii) Forebyggelse: P261 Undgå at indånde støv/røg/gas/tåge/dampe/sprøjt; P280 Brug beskyttelseshandsker/øjenværn/ansigtsværn; P284 [i tilfælde af utilstrækkelig ventilation] Brug åndedrætsværn; P304+P340 HVIS DET INDÅNDES: Flyt den tilskadekomne ud i frisk luft, og anbring vedkommende i en stilling, der letter vejrtrækningen; P305+P351+P338 VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser, hvis det let kan gøres. Bliv ved med at skylle; P310 Ring straks til en FORGIFTNINGSCENTRAL/læge

Præparering af reagenser i DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C)

Præparer protease, NW1-buffer og NW2-buffer i henhold til følgende anvisninger. Klargøring udføres én gang pr. sæt før første brug.

Stamopløsning af protease

Tilsæt 1,2 ml proteaseopløsningsmiddel til hætteglasset, der indeholder lyofiliseret protease, som angivet på mærkaten. Bland forsigtigt ved at vende hætteglasset på hovedet flere gange. Opbevar den præparerede opløsning ved 2-8 °C.

NW1-buffer

Brug en steril pipette til engangsbrug, og tilsæt 25 ml ætanol (96-100 %) til flasken, der indeholder 19 ml koncentrat af NW1-buffer. Markér på flaskehætten, at der blev tilsat ætanol. Opbevar den rekonstituerede NW1-buffer ved stuetemperatur, 15-25 °C.

Buffer NW2

Brug a steril pipette til engangsbrug, og tilsæt 30 ml ætanol (96-100 %) til flasken, der indeholder 13 ml koncentrat af NW2-buffer. Markér på flaskehætten, at der blev tilsat ætanol. Opbevar den rekonstituerede buffer NW2 ved stuetemperatur, 15-25 °C.

Opsamling, opbevaring og håndtering af urinprøve

Procedure for opsamling af urinprøve

Vigtige punkter før start

- For patienter med blærekræft må der kun opsamles udtømt urin. For patienter med UTUC kan der opsamles både udtømt og selektiv urin.
- Brug kun en standardkop til opsamling af urinprøve.
- Brug ikke vacutainer-glas til opsamling af urinprøve.
- Tilsæt ikke konserveringsmidler til urinprøven.
- Sørg for, at opsamlingskoppen er tæt tillukket og intakt for at forhindre spild og krydskontaminering.
- Frys ikke urinprøver.

Procedure

1. Opsaml urin fra patienten i én standardkop til opsamling af urinprøve. Urinopsamling skal udføres i henhold til en af de ovenfor definerede godkendte metoder.
 *Fyld opsamlingskoppen så meget som muligt. Der kræves minimalt en volumen på 10 ml til testen.*
2. Markér opsamlingskoppen med urinprøven med en patientidentifikator, og dokumentér opsamlingsdatoen og -tidspunktet på koppen og i patientformularen.

3. Opbevar urinprøven ved 2-8 °C i op til 5 dage.

- ⚠ *Det anbefales at gå videre til trinnet med præparering af cellemasse hurtigst muligt.*
- ⚠ *Prøven kan om nødvendigt opbevares ved temperaturer op til 25 °C i højst 24 timer inden for perioden på 5 dage.*
- ⚠ *Undgå at opbevare prøven uden for de angivne temperaturintervaller eller overskride de anbefalede varigheder.*

4. Gå til Transport af urinprøve på side 26 eller til Præparering af cellemasse på side 27.

Transport af urinprøve

Hvis urinprøven skal transporteres fra opsamlingsstedet til behandlingsstedet, skal du følge anvisningerne nedenfor.

- Under transport skal urinprøver opbevares ved 2-8 °C).
- Transporttiden skal inkluderes i de tilladte 5 dages opbevaring af urinprøven.
- Hvis urinprøven overføres fra opsamlingskoppen til en sekundær beholder (f.eks. et 50 ml kegleformet centrifugeglas), skal du udføre følgende trin:
 1. Bland grundigt opsamlingskoppen for at suspendere evt. udfældet cellemasse igen.
 2. Overfør den maksimalt mulige volumen baseret på den sekundære beholders volumengrænse. Den overførte volumen må mindst være 10 ml.
 3. Markér den sekundære beholder med patientidentifikator og dato og tidspunkt for opsamling af urinprøve.
- Ved ankomst til behandlingsstedet skal urinprøverne opbevares ved 2-8 °C i højst 5 dage fra opsamlingsdatoen.

Forhold for urinopbevaring

Tabel 5 nedenfor opsummerer de tilladte opbevaringsvarigheder og -temperaturer for hver enkelt prøvetype i Bladder EpiCheck-arbejdsgangen. Disse stoppunkter giver mulighed for at gruppere patientprøver i samme batch, hvilket giver effektiv tidsadministration og brug af sættets reagenser.

Tabel 5. Oversigt over forhold for prøveopbevaring

Prøvetype	Opbevaringsvarighed	Opbevaringstemperatur
Frisk urin	5 dage*	2-8 °C
Urincellemasse	19 dage	-25 °C til -15 °C
DNA	30 dage	-25 °C til -15 °C
Fordøjet DNA	30 dage	-25 °C til -15 °C

* Pelleter urinprøver snarest muligt og senest 5 dage efter tidspunktet for opsamling.

Laboratorieprocedure

Præparering af cellemasse

Vigtige punkter før start

- Præparering af cellemasse skal udføres på urinprøver, der er opbevaret i højst 5 dage fra opsamlingsdatoen ved 2-8 °C.
- Præparering af cellemasse skal udføres på en urinvolumen på 10-50 ml.
 *Det anbefales at bruge en større volumen inden for dette interval, da det kan producere større mængde DNA og forhindre mulige fejl i forbindelse med DNA-udvinding.*
- Der må højst behandles en urinvolumen på 50 ml.
- Markér alle glas med passende oplysninger til prøveidentifikation.
- Alle centrifugeringstrin udføres ved stuetemperatur, 15-25 °C.
- Slå centrifugebremsen fra for at forhindre afbrydelse af det pelleterede cellelag.
- Cellemassen er ikke altid synlig. Fortsæt med behandlingstrinnene, selvom du ikke kan se massen.
- Brug PBS med de karakteristikker, der er angivet i Nødvendige men ikke medfølgende materialer på side 20.

Opgaver før start

- Præparer en PBS-opløsning, 0,01 M, pH 7,4 (hvis der bruges PBS-pulver).

Procedure for præparering af cellemasse

1. Bland beholderen med urinprøve grundigt, så prøven er homogen.
2. Overfør 10-50 ml urin til et 50 ml centrifugeglas. Hvis der er behov for centrifugeringsafbalancering, skal prøvevolumenen justeres med PBS.
3. Centrifuger ved 1000 RCF (g) i 10 minutter ved stuetemperatur, 15-25 °C, uden bremse (centrifugebremse indstillet til "0").
 *Find oplysninger om præcis omregning af RCF (g-kraft) til RPM i producentens brugervejledning til centrifugen.*
4. Kassér supernatanten i en passende beholder til biologisk farligt affald uden at forstyrre cellemassen i bunden af glasset.
 *Massen er ikke altid synlig. Fortsæt, selvom du ikke kan se massen.*
5. Genopslæm cellemassen i den resterende urin i glasset.
6. Tilsæt 40 ml PBS, og bland godt sammen ved at vende glasset på hovedet nogle få gange for at sikre effektiv vask af cellerne.
7. Centrifuger ved 1000 RCF (g) i 10 minutter ved stuetemperatur, 15-25 °C, uden bremse (centrifugebremse indstillet til "0").

8. Kassér supernatanten i en passende beholder til biologisk farligt affald uden at forstyrre cellemassen i bunden af glasset.
 9. Genopslæm cellemassen i den resterende PBS i glasset.
 10. Overfør hele massevolumenen til et 1,5 ml eller 2 ml mikrocentrifugeglas.
 11. Brug gradueringerne på mikrocentrifugeglasset til synligt at inspicere den genopslæmmede cellemassevolumen. Den krævede volumen til trinnet med DNA-ekstraktion er ca. 400 µl. Hvis der kræves justering af den endelige prøvevolumen, skal du følge anvisningerne herunder:
 - Hvis volumen er <400 µl – tilsæt PBS, indtil der nås den samlede volumen på ca. 400 µl.
 - Hvis volumen er 400-500 µl – ingen justering påkrævet.
 - Hvis volumen er >500 µl – centrifuger mikrocentrifugeglasset ved 1000 RCF (g) i 1 minut, og fjern forsigtigt supernatanten ved hjælp af en pipette, indtil der nås ca. 400 µl.
-  Hvis du ikke med det samme går til DNA-ekstraktion på side 28, skal masseprøver opbevares ved -25°C til -15°C i op til 19 dage.

DNA-ekstraktion

Brug Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (NX899090-01C)

Vigtige punkter før start

- DNA-ekstraktion skal udføres på masseprøver, der er opbevaret i højst 19 dage ved -25°C til -15°C.
- Markér alle glas med passende oplysninger til prøveidentifikation, som giver mulighed for at spore prøvens oprindelse og behandlingsdato.
- Skift pipettespidser mellem hver væskeoverførsel.
- Alle centrifugeringstrin skal udføres ved stuetemperatur, 15-25 °C.
- Brug kun rent ætanol (96-100 %). Brug ikke denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer.
- Undgå at røre kolonnemembranen med pipettespidsen.
- Luk minioprensningsskolonnen, før du sætter den i mikrocentrifugen.
- Åbn én minioprensningsskolonne ad gangen.
- NL-buffer og NW1-buffer indeholder guanidinhydrochlorid, som kan forhindre PCR-prøvningen⁹. Sørg for at undgå restkontaminering og overførsel. Hvis der opstår spild eller dråber, skal kontaminerede plastvarer og handsker udskiftes.

Opgaver før start

- Ækvilibrer cellemasseprøver til stuetemperatur, 15-25 °C, hvis de er frosne.
- Sørg for, at protease, NW1-buffer og NW2-buffer er præpareret i henhold til Præparering af reagenser i DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C) på side 25.

⁹ Robyn E Thompson, investigation of PCR inhibition using Plexor(®) -based quantitative PCR and short tandem repeat amplification. J Forensic Sci 2014 Nov; 59(6):1517-29.

- Hvis der dannes bundfældning i NL-buffer, skal der opløses ved at inkubere ved 56 °C.

Procedure for DNA-ekstraktion

1. Centrifuger kort den ækvilibrerede cellemasseprøve.
2. Tilsæt 20 µl stamopløsning af protease til prøven, og bland ved at pipettere op og ned et par gange.
3. Tilsæt 400 µl NL-buffer til prøven, og bland med det samme ved at puls-vortexe i 15 sekunder.
 - ⚠ *Tilsæt ikke protease direkte til NL-buffer.*
 - ⚠ *Prøver må ikke grupperes til vortexing. Vortex ét glas ad gangen. For at sikre effektiv lysis er det meget vigtigt, at prøven og NL-buffer blandes øjeblikkeligt og grundigt sammen.*
4. Inkuber ved stuetemperatur, 15-25 °C, i 10 minutter.
 - ⚠ *Tidstællingen skal starte fra den sidst præparerede prøve.*
5. Centrifuger kort glasset for at fjerne dråber fra indersiden af låget.
6. Tilsæt 400 µl ætanol (96-100 %) til prøven, og bland med det samme ved at puls-vortexe i 15 sekunder. Efter blandingen skal glasset centrifugeres kort for at fjerne dråber fra indersiden af låget.
7. Tag det passende antal minioprensningsskolonner ud fra miljøet ved 2-8 °C på basis af det antal prøver, der skal behandles.
8. Tilsæt forsigtigt 700 µl af den lyserede blanding fra trin 6 til minioprensningsskolonnen (i et 2 ml opsamlingsglas) uden at gøre kanten våd. Luk hættten, og centrifuger ved 6000 RCF (g) i 1 minut.
 - ⚠ *Overfør kun supernatant. Læs ikke viskøs masse eller nogen partikler til minioprensningsskolonnen for at undgå at tilstoppe membranen.*
 - ⚠ *Kassér ikke resten af den lyserede blanding.*
9. Anbring minioprensningsskolonnen i et rent 2 ml opsamlingsglas, og kassér glasset med filtratet.
 - ⚠ *Gennemstrømning indeholder NL-buffer og er derfor ikke kompatibel med blegemiddel. Se Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger) på side 21.*
10. Tilsæt forsigtigt den resterende lyserede blanding fra trin 6 (ca. 500 µl) til minioprensningsskolonnen uden at gøre kanten våd. Luk hættten, og centrifuger ved 6000 RCF (g) i 1 minut.
 - ⚠ *Overfør kun supernatant. Læs ikke viskøs masse eller nogen partikler til minioprensningsskolonnen for at undgå at tilstoppe membranen.*
11. Anbring minioprensningsskolonnen i et rent 2 ml opsamlingsglas, og kassér glasset med filtratet.
 - ⚠ *Gennemstrømning indeholder NL-buffer og er derfor ikke kompatibel med blegemiddel. Se Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger) på side 21.*
12. Åbn forsigtigt minioprensningsskolonnen, og tilsæt 500 µl NW1-buffer uden at gøre kanten våd. Luk hættten, og centrifuger ved 6000 RCF (g) i 1 minut.

13. Anbring minioprensningsskolonnen i et rent 2 ml opsamlingsglas, og kassér opsamlingsglasset med filtratet.

⚠ *Gennemstrømning indeholder NL-buffer og NW1-buffer og er derfor ikke kompatibel med blegemiddel. Se Advarsler og forholdsregler (sikkerhedsoplysninger) på side 21.*

14. Åbn forsigtigt minioprensningsskolonnen, og tilsæt 500 µl buffer NW2 uden at gøre kanten våd. Luk hættten, og centrifuger ved 17.000 RCF (g) i 3 minutter.

15. Anbring minioprensningsskolonnen i et nyt 2 ml opsamlingsglas, og kassér opsamlingsglasset med filtratet.

16. Centrifuger minioprensningsskolonnen ved 17.000 RCF (g) i 1 minut.

⚠ *Dette trin er vigtigt for at fjerne chancen for mulig overførsel af buffere, som kan forhindre PCR-prøvning.*

⚠ *I slutning af centrifugeringen skal du visuelt inspicere glasset og sikre, at der ikke er nogen resterende filtrat. Hvis der observeres filtrat, skal minioprensningsskolonnen anbringes i et rent mikrocentrifugeglas og centrifugeres igen ved 17.000 RCF (g) i 1 minut.*

17. Anbring minioprensningsskolonnen i et rent 1,5 ml Safe-Lock-glas, og kassér opsamlingsglasset.

⚠ *Brug kun de leverede 1,5 ml Safe-Lock-glas.*

18. Åbn forsigtigt minioprensningsskolonnen, og tilsæt 100 µl NE-buffer.

19. Inkuber ved stuetemperatur, 15-25 °C, i 1 minut, og centrifuger derefter ved 10.000 RCF (g) i 2 minutter.

20. Filtratet i 1,5 ml Safe-Lock-glasset indeholder den eluerede DNA. Kassér minioprensningsskolonnen.

⚠ *Hvis du ikke med det samme går til DNA-fordøjelse på side 30, skal DNA-prøver opbevares ved -25°C til -15°C i op til 30 dage.*

DNA-fordøjelse

Brug Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02C)

Vigtige punkter før start

- DNA-fordøjelse skal udføres på DNA-prøver, der er opbevaret i højst 30 dage ved -25°C til -15°C.
- Dette trin skal udføres på hele volumen af DNA-prøven (100 µl), der er opbevaret i 1,5 ml Safe-Lock-glas, der blev brugt til DNA-eluering i trinnet med DNA-ekstraktion.
- UC- og NTC-kontrolprøver skal inkluderes i fordøjelsen. Tilpas antallet af kontrollerne til antallet af prøver med fordøjet DNA. Der skal inkluderes ét sæt kontroller for hver ≤7. patientprøve. For eksempel kræver fordøjelsen af 12 patientprøver to sæt kontroller.
- Brug de Safe-Lock-glas, der leveres i DNA-ekstraktionssættet (delnr. NX899090-01C) til præparering og fordøjelse af UC- og NTC-kontrolprøverne.
- Vortex ikke DNA-prøverne, kontrollerne eller reagenserne på noget trin. Bland grundigt ved at vende glassene på hovedet og svippe dem nogle få gange.
- Brug en varmeplade, der er egnet specifikt til 1,5 ml glas med en kegleformet form for at sikre korrekt opvarmning af glassene.

- Skift spidserne mellem prøver for at undgå krydskontaminering.
- Det anbefales at bruge et eksternt termometer til at bekræfte korrekt inkubationstemperaturer.

Opgaver før start

- Ækvilibrer DNA-prøverne til stuetemperatur, 15-25 °C, hvis de er frosne.
- Ækvilibrer følgende reagenser og kontrolprøver til stuetemperatur, 15-25 °C:
 - 10X fordøjelsesbuffer
 - Skabelon til fordøjelseskontrol
 - UC
 - NTC
- Præparer en minikøler til 1,5 ml glas eller en beholder, der er fyldt med is, til fordøjelsesenzymet.
- Forvarm varmepladen til 37 °C.

Procedure for DNA-fordøjelse

1. Når DNA-prøverne, reagenserne og kontrollerne er optøede, skal hvert enkelt glas blandes grundigt ved at vende det på hovedet og svippe det nogle få gange.
 ⚠ *Der må ikke vortexes.*
2. Centrifuger kort glassene for at fjerne dråber fra indersiden af låget.
3. Præparer UC- og NTC-kontrolprøver ved at overføre 100 µl af hver enkelt prøve til et rent Safe-Lock-glas, der leveres i DNA-ekstraktionssættet (delnr. NX-899090-01C).
4. Tag fordøjelsesenzymet ud, og bland det forsigtigt ved at vende om på hovedet og svippe nogle få gange.
 ⚠ *Der må ikke vortexes.*
5. Centrifuger kort fordøjelsesenzymet for at fjerne dråber fra indersiden af låget, og sæt det i en minikøler eller på is.
6. Præparer blandingen til fordøjelsesreaktion i henhold til Tabel 6 herunder.
 ⚠ *Tilsæt reagenserne i henhold til deres rækkefølge i tabellen nedenfor.*

Tabel 6. Præparering af blandingen til fordøjelsesreaktion

Hætteglas	Volumen (µl)
10X fordøjelsesbuffer	12 µl x (n*+1)
Skabelon til fordøjelseskontrol	2 µl x (n*+1)
Fordøjelsesenzym	6 µl x (n*+1)
Totalvolumen	20 µl x (n*+1)

* "n" er det samlede antal prøver med patient-DNA og kontrolprøver (UC og NTC). Hvis du for eksempel har 6 DNA-prøver, er n=8, og den krævede totalvolumen er til 9 reaktioner.

Hvis n>10, skal du sørge for at præparere blandingen, så den har 10 % ekstra volumen fra hver af reagenserne.

7. Bland forsigtigt den præparerede blanding til fordøjelsesreaktion ved at vende på hovedet og svippe nogle få gange.

 *Der må ikke vortexes.*

8. Centrifuger kort glasset for at fjerne dråber fra indersiden af låget.

9. Tilsæt 20 µl af blandingen til fordøjelsesreaktion til hver enkelt DNA-prøve og til NTC- og UC-kontrolprøverne. Skift spidser mellem prøver.

10. Bland hver prøve ved forsigtigt at vende glasset på hovedet og svippe det nogle få gange.

 *Der må ikke vortexes.*

11. Centrifuger kort for at fjerne dråber fra indersiden af låget.

12. Anbring glassene på den forvarmede varmeplade, og inkuber dem i henhold til følgende termiske forhold for fordøjelsesreaktion (Tabel 7).

 *Sørg for, at glaslågene er helt låst for at undgå fordampning.*

Tabel 7. Termiske forhold for fordøjelsesreaktion

Fordøjelsestrin	Temperatur (°C)	Varighed (minutter)
Enzymaktivering	37 °C	120
Enzymdeaktivering	65 °C	20*

* Nedtællingen på 20 minutter må kun starte, når varmepladen når 65 °C.

Glassene kan forblive på varmepladen, mens der opvarmes til 65 °C.

13. Centrifuger kort glassene for at fjerne dråber fra indersiden af låget.

 *Det anbefales at tilføje yderligere mærkning til prøverne med fordøjet DNA og kontrollerne for at skelne dem fra andre prøver med ufordøjet DNA.*

 *Hvis du ikke med det samme går til Realtids-PCR på side 32, skal prøver med ufordøjet DNA og kontroller opbevares ved -25°C til -15°C i op til 30 dage.*

Realtids-PCR

Brug Bladder EpiCheck-testsæt (delnr. NX899090-02US)

Vigtige punkter før start

- Trinnet med realtids-PCR skal udføres med prøver med fordøjet DNA, der er opbevaret i højst 30 dage ved -25°C til -15°C.
- Fordøjede UC- og NTC-kontrolprøver skal inkluderes i hver kørsel af realtids-PCR.
- Vortex ikke prøverne med fordøjet DNA, kontrollerne eller reagenserne på noget trin. Bland grundigt ved at vende glassene på hovedet og svippe dem nogle få gange.
- Brug kun de strimmelglas og -hætter, der er angivet i Nødvendige men ikke medfølgende materialer på side 20.
- Undgå at bruge en pipette med flere kanaler i dette trin.
- Undgå at præparere store volumener af masterblandinger og samtidig præparering af flere pladekørsler.

- Skift spidserne mellem prøver for at undgå krydskontaminering.
- Behold restvolumenen fra prøverne med fordøjet DNA, indtil softwareanalysen er gennemført. I tilfælde af fejl kan prøverester bruges til at gentage PCR og analyse (se Protokol for gentagelse af PCR på side 62). Prøver skal opbevares ved -25°C til -15°C.

Opgaver før start

- Ækvilibrer prøverne med fordøjet DNA og kontrollerne til stuetemperatur, 15-25 °C, hvis de er frosne.
 - Ækvilibrer følgende reagenser til stuetemperatur, 15-25 °C:
 - PCR-blandinger A- H
 - Taq DNA-polymerase
-  Undgå at eksponere PCR-reagenserne for direkte lys og/eller ekstreme temperaturer. Tildæk PCR-blandingerne med et uigennemsigtigt materiale såsom sølvpapir.

Procedure for opsætning af PCR-kørsel

-  Det anbefales at adskille områder, stativer og pipetter til PCR-blandinger og prøvepræpareringer.
1. Når prøverne med fordøjet DNA og kontrollerne samt PCR-reagenserne er optøede, skal hvert enkelt glas blandes grundigt ved at vende det på hovedet og svippe det nogle få gange.

 Der må ikke vortexes.
 2. Centrifuger kort glassene for at fjerne dråber fra indersiden af låget.
 3. Brug 8 rene mikrocentrifugeglas til at præparere masterblandinger A-H i henhold til Tabel 8 ved hjælp af de tilsvarende PCR-blandinger A-H (f.eks. bruges PCR-blanding A til masterblanding A). Skift spidserne efter hver blanding.

Tabel 8. Præparering af PCR-masterblandinger A-H

Hætteglas	Volumen (µl)
PCR-blanding A-H	14,5 µl x (n*+1)
Taq DNA-polymerase	0,5 µl x (n*+1)
Totalvolumen	15 µL x (n*+1)

* "n" er det samlede antal prøver med fordøjet DNA og kontrolprøverne (UC og NTC). Hvis du for eksempel har 6 prøver med fordøjet DNA, er n=8, og den krævede totalvolumen er til 9 reaktioner.

4. Bland forsigtigt de præparerede masterblandinger A-H ved at vende på hovedet og svippe nogle få gange.

 Der må ikke vortexes.
5. Centrifuger kort glassene for at fjerne dråber fra indersiden af låget.

 PCR-masterblandinger skal først pipetteres i rækker efterfulgt af prøver med fordøjet DNA og kontroller, der skal pipetteres i kolonner (hver prøve i 8 brønde i én kolonne). Sørg for at følge denne pipeteringsrækkefølge.

6. Anbring det krævede antal strimmelglas i QIAGEN-ladeblokken (til 72 x 0,1 ml glas).
7. Pipetter 15 µl PCR-masterblanding A i glassene i første række, 15 µl PCR-masterblanding B i glassene i anden række osv. i henhold til layoutet i Figur 4.

⚠ Skift spidserne efter hver blanding for at undgå krydskontaminering.

A	1	9	17	25	33	41	49	57	65
B	2	10	18	26	34	42	50	58	66
C	3	11	19	27	35	43	51	59	67
D	4	12	20	28	36	44	52	60	68
E	5	13	21	29	37	45	53	61	69
F	6	14	22	30	38	46	54	62	70
G	7	15	23	31	39	47	55	63	71
H	8	16	24	32	40	48	56	64	72

Figur 4. Pipetteringslayout for PCR-masterblandinger A-H

8. Pipetter 10 µl af hver prøve med fordøjet DNA og kontrol i henhold til layoutet i Figur 5. Skift spidserne efter hver brønd.

⚠ Det anbefales at bruge en fuld boks af pipettespidser (stativ med 96 positioner) for at hjælpe med visuelt at holde styr på, når prøverne pipetteres.

⚠ NTC-prøven skal anbringes i positionerne nr. 1-8, og UC-prøven skal placeres i positionerne nr. 9-16, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.

⚠ Figur 5 viser en fuld kørsel, der omfatter 7 patientprøver. Der kan også analyseres en mindre antal prøver.

⚠ Opbevar restvolumenen fra prøverne med fordøjet DNA ved -25°C til -15°C, indtil softwareanalysen er gennemført.

NTC	UC	<i>Sample1</i>	<i>Sample2</i>	<i>Sample3</i>	<i>Sample4</i>	<i>Sample5</i>	<i>Sample6</i>	<i>Sample7</i>
1	9	17	25	33	41	49	57	65
2	10	18	26	34	42	50	58	66
3	11	19	27	35	43	51	59	67
4	12	20	28	36	44	52	60	68
5	13	21	29	37	45	53	61	69
6	14	22	30	38	46	54	62	70
7	15	23	31	39	47	55	63	71
8	16	24	32	40	48	56	64	72

Figur 5. Layout for pipettering af prøver

9. Luk strimmelglassene med hætte, og markér den første hætte på hver strimmel med det tilhørende positionsnummer for at sikre en korrekt retning, når glassene placeres i rotoren. Sørg for, at glassene er tæt forseglede for at undgå fordampning.

⚠ Det anbefales at lukke glassene, når pipettering af hver prøve er afsluttet, for at reducere muligheden for krydskontaminering.

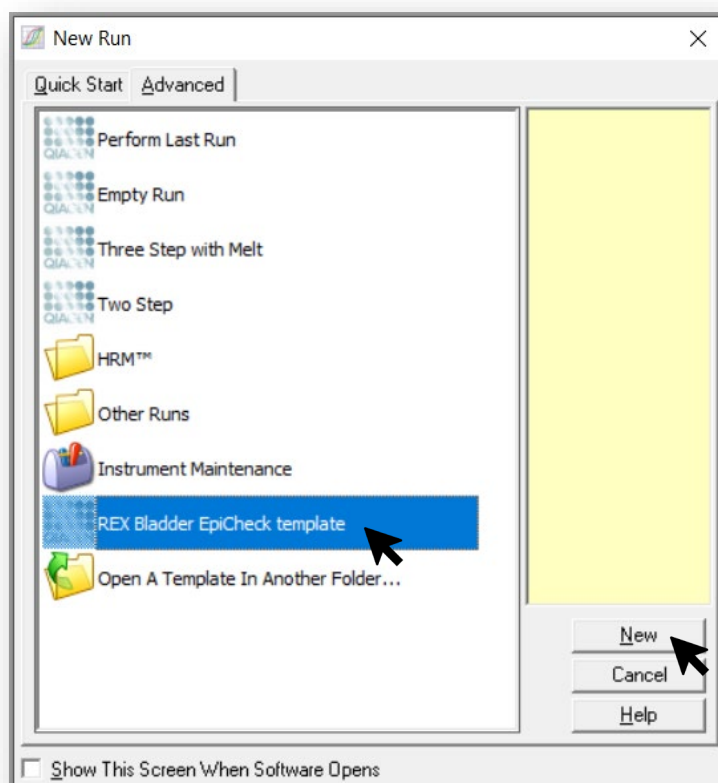
10. Anbring 72-Well Rotor på rotorholderen.
11. Indsæt strimmelglassene i 72-Well Rotor, så glasnummeret stemmer overens med det nummer, der står på rotoren, for at fastholde den korrekte retning. Sørg for, at alle glassene sidder korrekt på plads.

⚠ *Hver position i rotoren skal indeholde et glas med henblik på temperaturesartethed under kørslen. Hold et sæt tømme glas med hætte til rådighed, der kan bruges til at fylde eventuelle ubrugte positioner.*
12. Indsæt 72-Well Rotor-låseringen i 72-Well Rotor.
13. Indsæt den samlede enhed i Rotor Gene Q-instrumentkammeret.

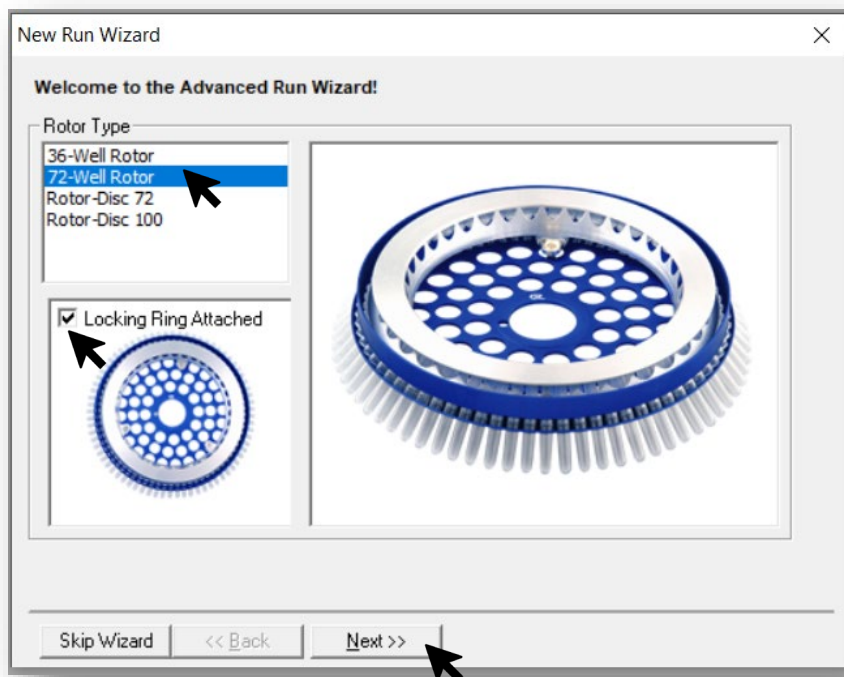
Konfiguration af PCR-kørsel med Rotor Gene Q-instrument

- ⚠ *Inden versionen af PCR-softwaren opgraderes, skal du kontakte Nucleix-kundesupport (se Kontaktoplysninger på side 84).*
- ⚠ *Alle parametrene for PCR-kørselsskabelonen er foruddefineret og må ikke ændres. Sørg for at overholde anvisningerne nedenfor, og undgå at ændre nogen af indstillingerne.*
1. Tænd for Rotor Gene Q-instrumentet og computeren.
 2. Åbn Rotor Gene Q Series-software (softwareikon: )
 3. Vælg **Rex Bladder EpiCheck template** i vinduet Ny kørsel på fanen Avanceret, og klik på **New**.

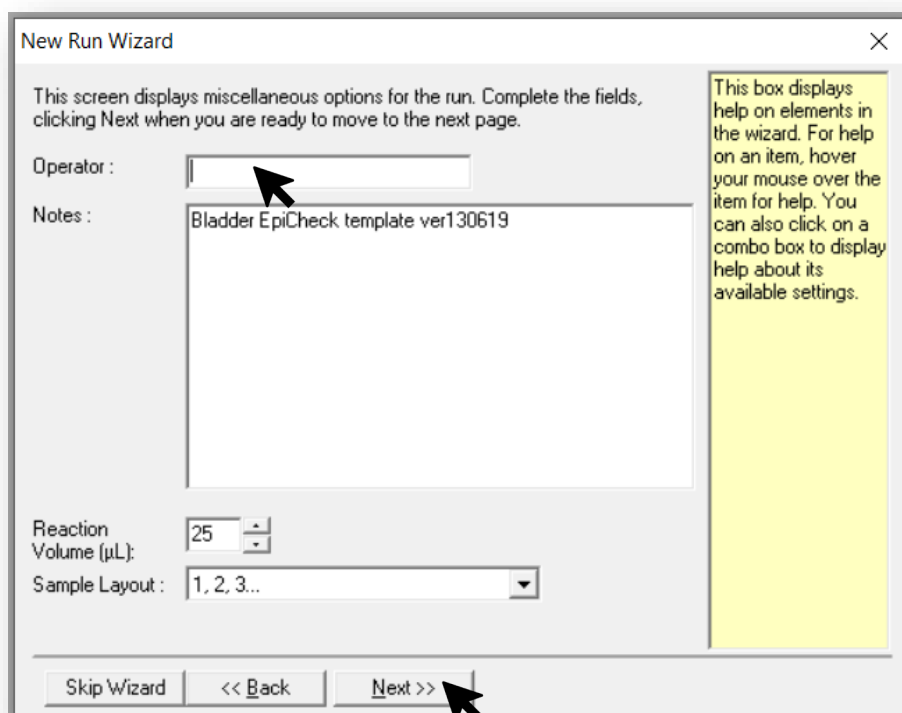
⚠ *Hvis du ikke kan finde skabelonen, skal du kontakte Nucleix-kundesupport for at få hjælp (se Kontaktoplysninger på side 84).*



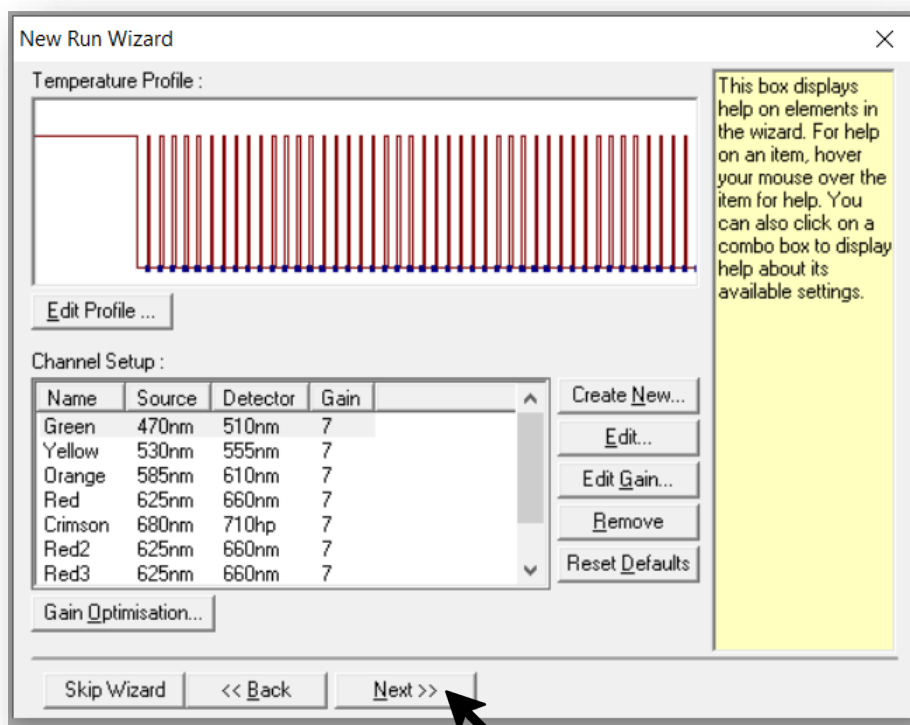
- I vinduet Guiden Ny kørsel skal du sikre, at den valgte rotortype er 72-Well Rotor, og markere afkrydsningsfeltet **Locking Ring Attached**. Klik på **Next**.



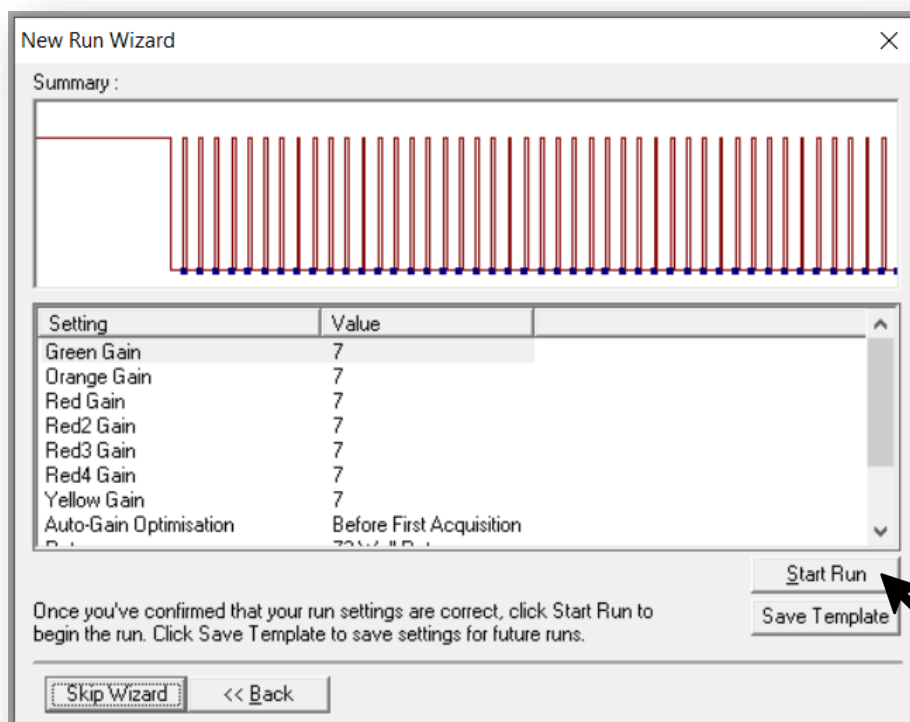
- Indtast navnet på laboranten i feltet Operatør. Klik derefter på **Next**.



6. I vinduet Temperaturprofil og kanalkonfiguration skal du klikke på **Next**.

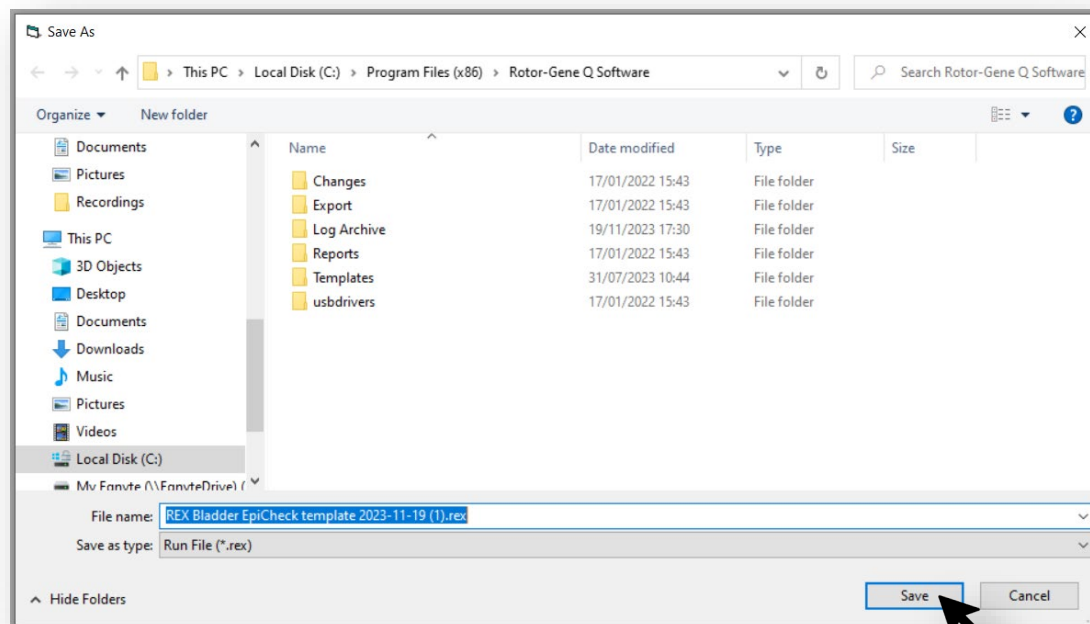


7. I vinduet Oversigt skal du klikke på **Start Run**.



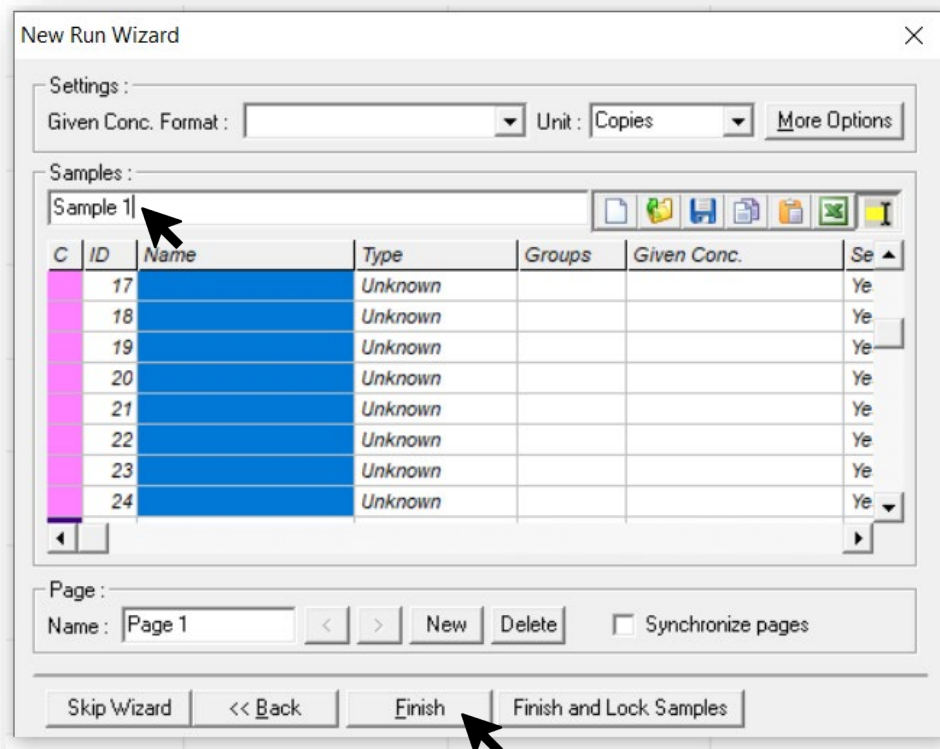
8. Der åbnes et Stifinder-vindue for at gemme PCR-kørslen. Rotor Gene Q-softwaren giver automatisk et navn med den dato, hvor kørslen blev genereret. Hvis du vil omdøbe filen, skal du indtaste et nyt navn, vælge den mappe, hvor du vil gemme PCR-kørselsfilen, og klikke på **Save**.

⚠ Undgå at bruge mere end 60 tegn til pladenavnet.



9. I vinduet **Prøve** skal du indsætte navnene på prøverne. For hver prøve skal du vælge dens relevante 8 positioner og skrive prøvens navn i feltet **Prøve**. Klik på **Finish**. Prøvenavne kan også indtastes, når kørslen er afsluttet, ved hjælp af vinduet **Rediger prøver** (find flere oplysninger i brugervejledningen til Rotor Gene Q).

- ⚠ Der er ikke behov for at navngive NTC- og UC-prøvepositionerne, da de er foruddefineret i skabelonen (NTC i positionerne nr. 1-8 og UC i positionerne nr. 9-16). Ændr ikke deres navne.
- ⚠ Hver PCR-kørsel må kun inkludere én UC- og én NTC-kontrolprøve.
- ⚠ Hver prøve skal have et unikt navn.
- ⚠ Alle 8 positioner for prøven skal have det samme navn.
- ⚠ Undgå at klikke på **Finish and Lock Samples**, da det deaktiverer valgmuligheden for at ændre prøvenavnene, hvis det er nødvendigt.



- ⚠ Der er indstillet et trin for Optimering af automatisk forstærkning, der skal udføres automatisk før den første opsamling. Vinduet Optimering af automatisk forstærkning åbnes under kørslen, når optimeringen starter. Klik ikke på **Annuler**, mens optimeringen udføres. Hvis optimeringen annulleres, forhindrer det, at Bladder EpiCheck analyserer PCR-kørslen.
- ⚠ Den estimerede PCR-kørselstid er 2 timer og 20 minutter.

Analyse med Bladder EpiCheck-software

Kom godt i gang

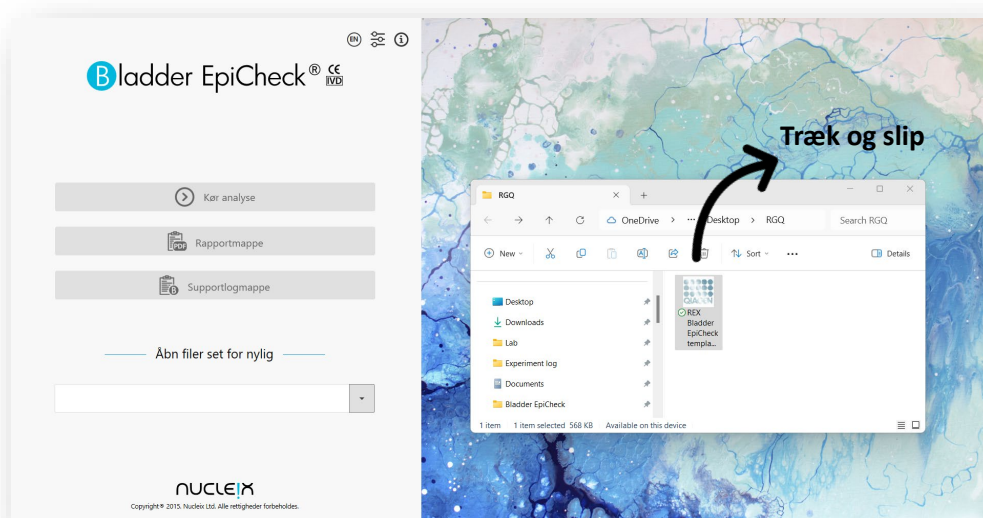
Når du har startet softwaren, vises skærmen til hurtig start. På denne skærm kan du indlæse din kørselsfil for realtids-PCR til analysen. Filtypenavnet for Rotor Gene Q er .REX.

Indlæsning af en kørselsfil for realtids-PCR

Du kan indlæse en kørselsfil for realtids-PCR i Bladder EpiCheck-softwaren til analyse på 4 måder:

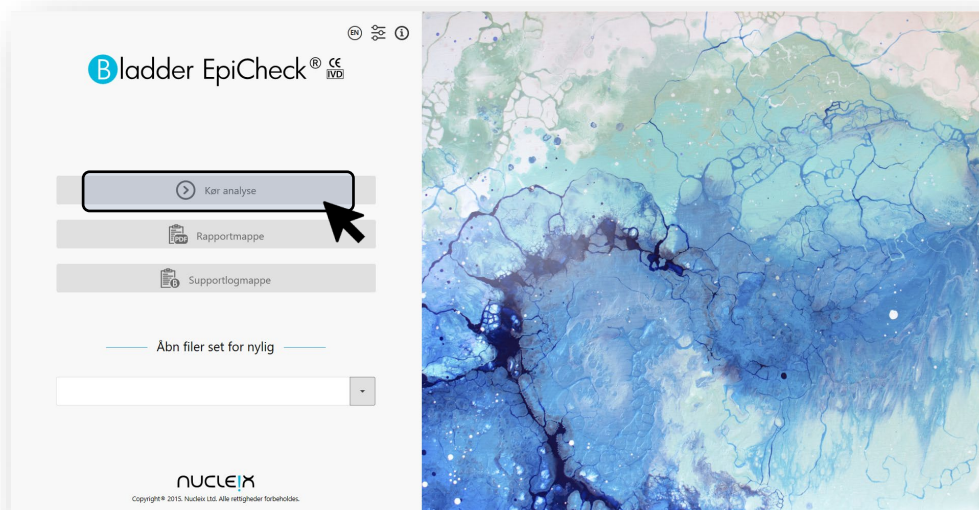
Træk og slip

1. Start Bladder EpiCheck-softwaren.
2. Find .REX-filen til analyse ved hjælp af Stifinder.
3. Træk og slip filen på skærmen til hurtig start.

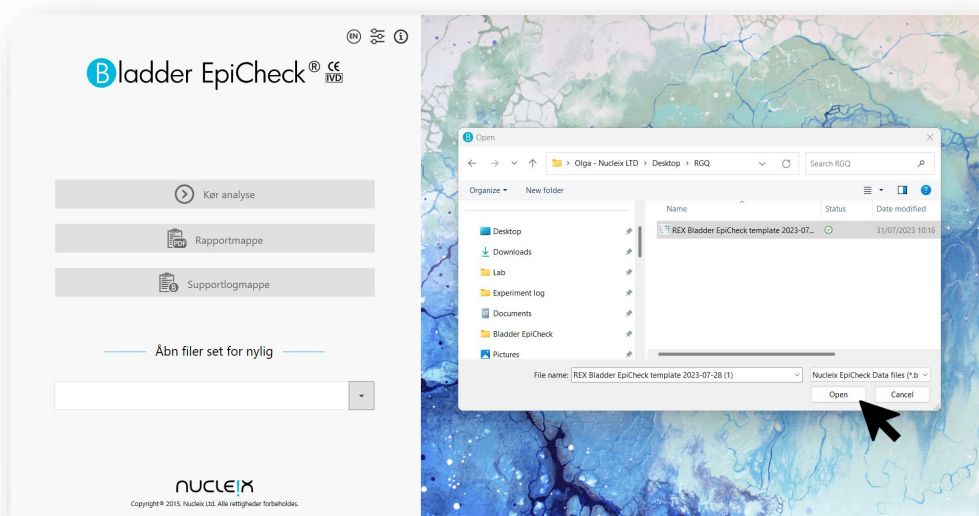


Knappen Kør analyse

1. Start Bladder EpiCheck-softwaren.
2. Klik på **Kør analyse**.

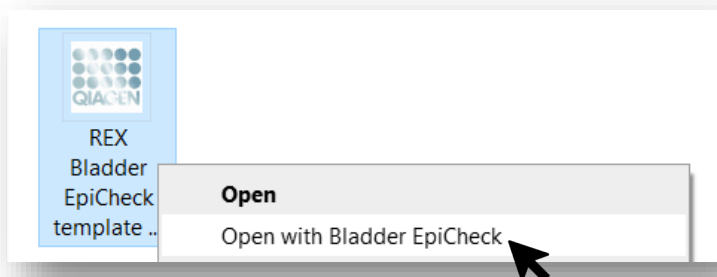


3. Vælg PCR-kørselsfilen fra Stifinder, og klik på **Open**.



Åbn med Bladder EpiCheck

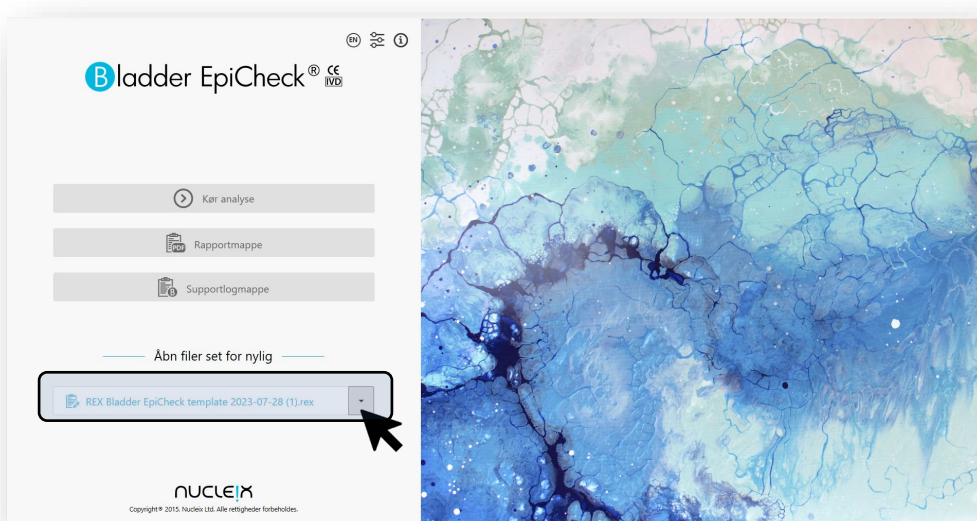
1. Find .REX-filen til analyse ved hjælp af Stifinder.
2. Højreklik på filen, og vælg **Open with Bladder EpiCheck**.



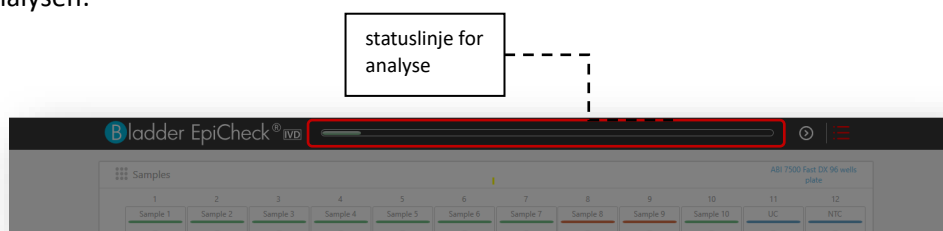
Åbn filer set for nylig

Med Bladder EpiCheck-softwaren kan du nemt genindlæse tidligere analyserede filer.

1. Start Bladder EpiCheck-softwaren.
2. Klik på pilen under **Åbn filer set for nylig** for at åbne listen over filer analyseret for nylig.
3. Klik på den ønskede PCR-kørselsfil.



Når du har indlæst din PCR-kørselsfil ved hjælp af en af ovenstående metoder, vises en statuslinje for analysen:



Visning af filen med realtids-PCR i softwaren

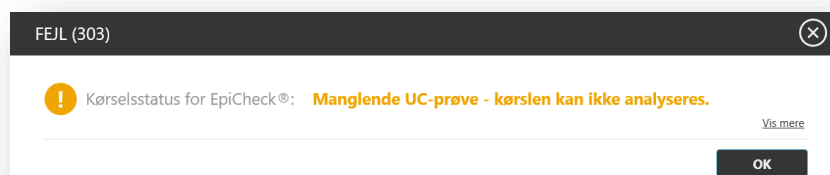
Bladder EpiCheck-softwaren analyserer automatisk PCR-kørselsfilen, når den er indlæst i softwaren, og viser hovedskærmen.

Hovedskærmen er opdelt i 3 dele:

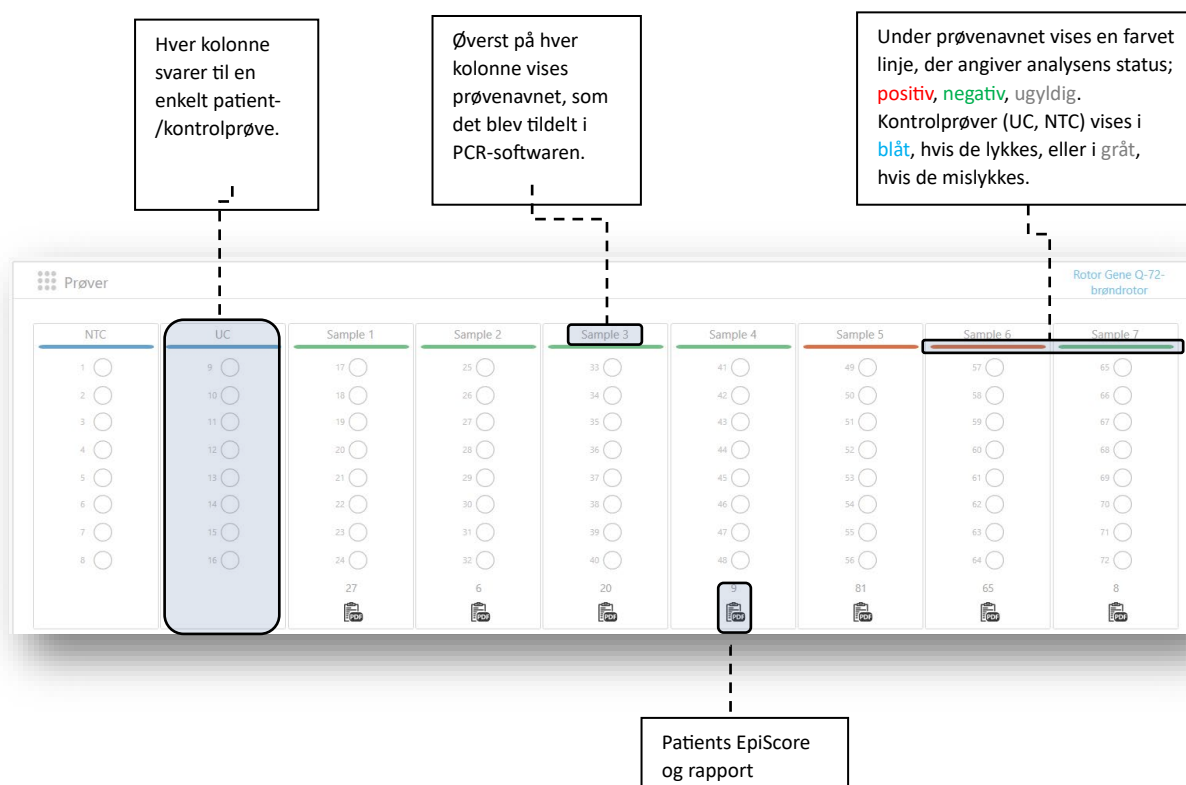
1. **Prøver** – viser navnet på den analyserede prøve og brønde, analysestatus, EpiScore og patientrapport.
2. **Kørselsoversigt** – viser grundlæggende oplysninger om PCR-kørslen.
3. **Rådata** – viser forstærkningsdiagrammerne for de valgte brønde.



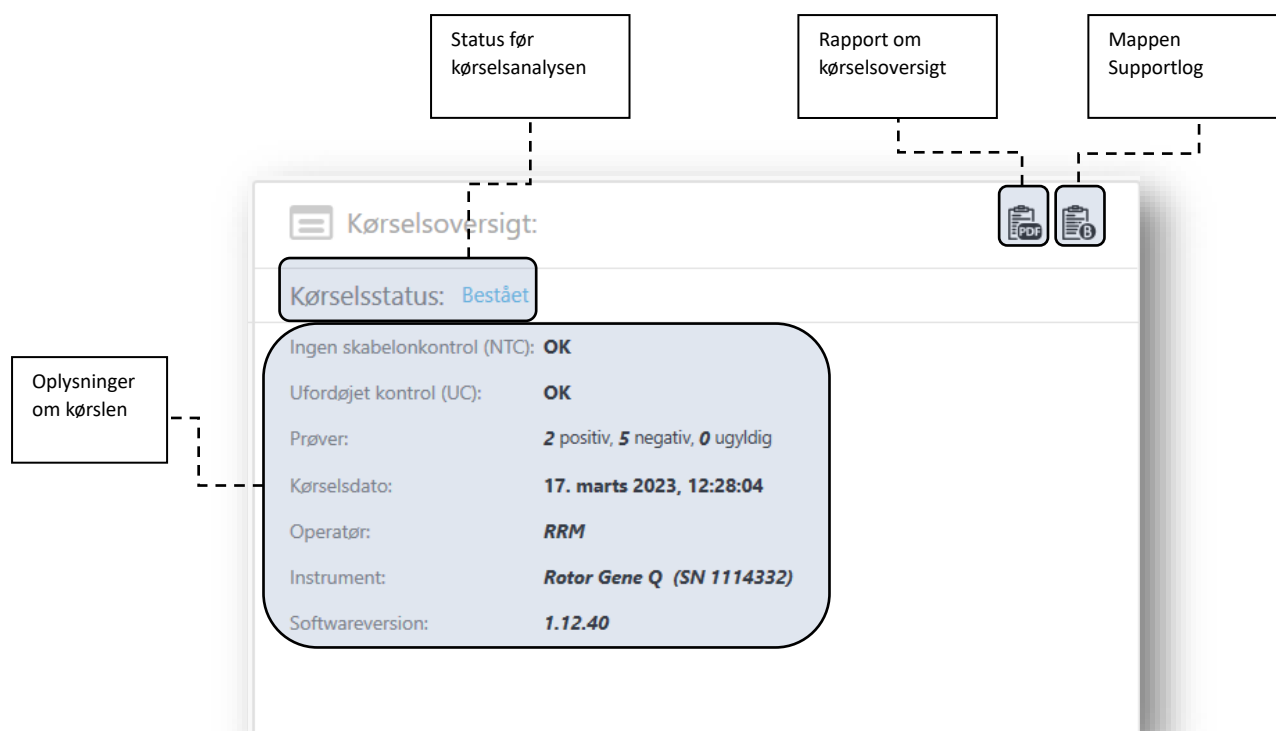
Hvis du modtager en pop op-fejlbesked, mens du indlæser PCR-kørselsfilen i softwaren, skal du se Vejledning til fejlfinding på side 55.



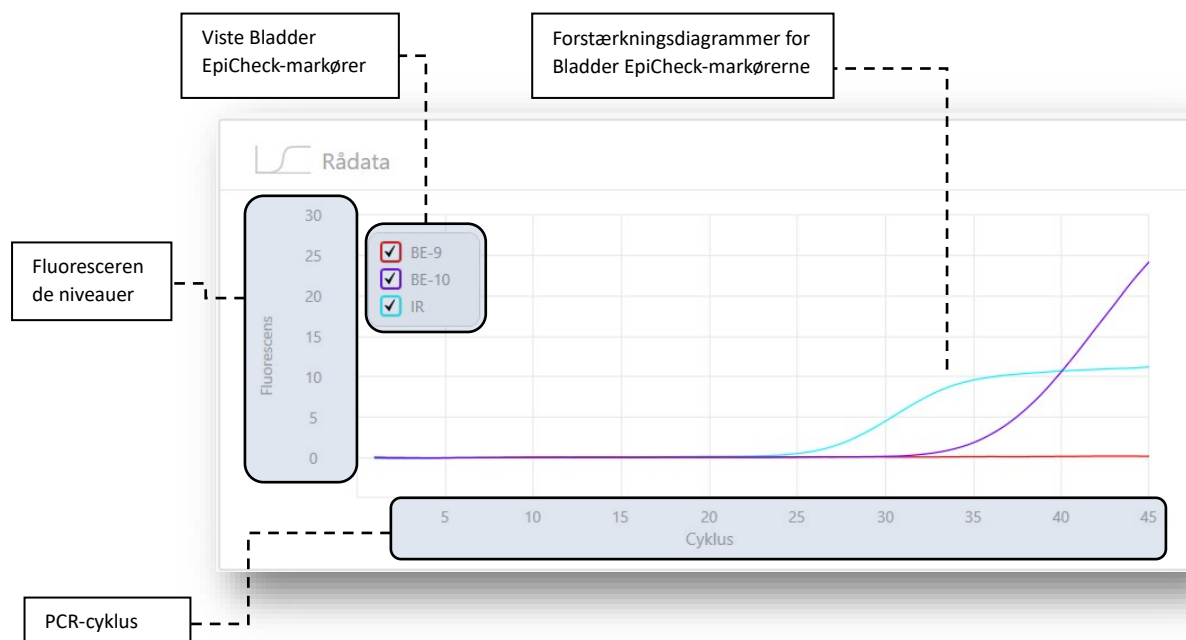
Visningen Prøver



Visningen Kørselsoversigt



Visningen Rådata



Forklaring af analysen

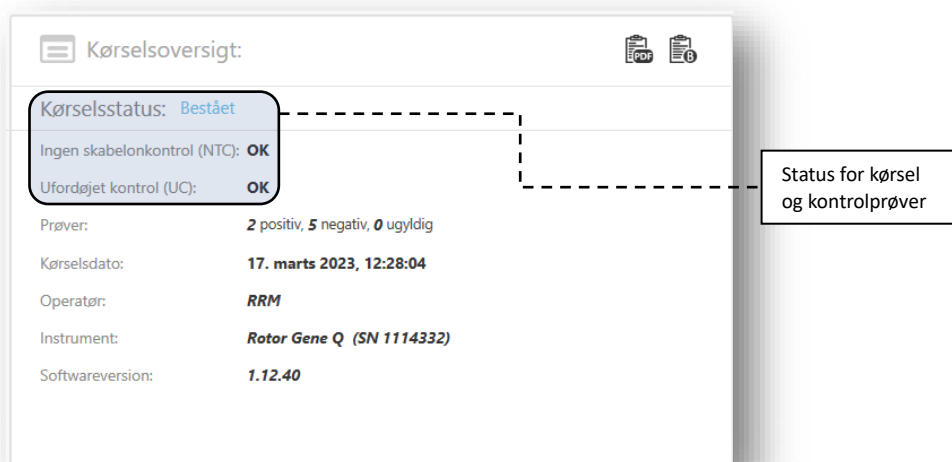
Oversigt

Bladder EpiCheck-softwaren analyserer automatisk kørselsfiler for realtids-PCR. Analysen udføres i to trin:

1. **EpiCheck-kørselsanalyse** – softwaren bestemmer, om EpiCheck-kørselsstatussen er OK eller Ikke bestået ved at kontrollere de to kontrolprøver, nemlig UC og NTC. Hvis kørselsstatussen er Ikke bestået, fortsætter softwaren ikke med at analysere prøverne og viser de relevante fejl. Alle prøver modtager statussen Ikke relevant (N/A). Hvis EpiCheck-kørselsstatussen er OK, fortsætter softwaren til trinnet Prøveanalyse.
2. **Prøveanalyse** – softwaren analyserer hver enkelt prøve individuelt. For hver prøve kontrollerer softwaren først, om de pågældende kontroller, IR-, DC- og DCR-markørerne er OK. Hvis en eller flere af kontrolmarkørerne slår fejl, fortsætter softwaren ikke med at analysere prøverne og viser de relevante fejl. Prøven modtager statussen Ikke relevant (N/A). Hvis alle kontrolmarkørerne er OK, udfører softwaren analysen og viser fortolkningen af testresultaterne (negativ/positiv) og EpiScore (0-100). Hvis EpiScore er lig med eller større end 60, anses resultatet så som positivt (hvilket angiver høj risiko for blærekræft eller urotelialt karcinom i de øvre urinveje (UTUC)); hvis EpiScore er mindre end 60, anses resultatet som negativt (hvilket angiver lav risiko for blærekræft eller UTUC).

EpiCheck-kørselsanalyse

Statussen for de to kontrolprøver, UC og NTC, vises i området Kørselsoversigt.



Mulige årsager til fejlen af EpiCheck-kørselsanalysen:

- Lavt signal i ét eller flere af markørerne i UC-prøven.
- Kontaminering i ét eller flere af markørerne i NTC-prøven.
- Forkert UC- og/eller NTC-position.
- Manglende UC- og/eller NTC-prøve i analysen.
- For mange UC- og/eller NTC-prøver i analysen.

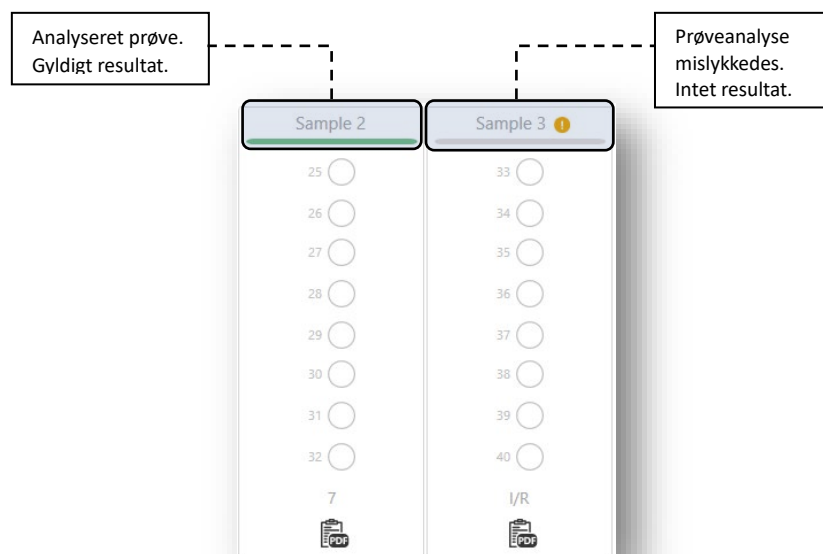
⚠ Hvis du modtog en pop op-fejl, mens du indlæste PCR-kørselsfilen i softwaren, skal du se Vejledning til fejlfinding på side 55.

Prøveanalyse

Følgende kriterier skal opfyldes, så en prøve kan analyseres af softwaren:

- Alle prøvenavne har det samme navn, som det er indtastet i PCR-softwaren.
- Prøven har et unikt navn (prøver med identiske navne analyseres ikke).
- Prøvens fordøjelse blev udført.
- Prøven har en konsekvent og tilstrækkelig mængde DNA i alle brønde.

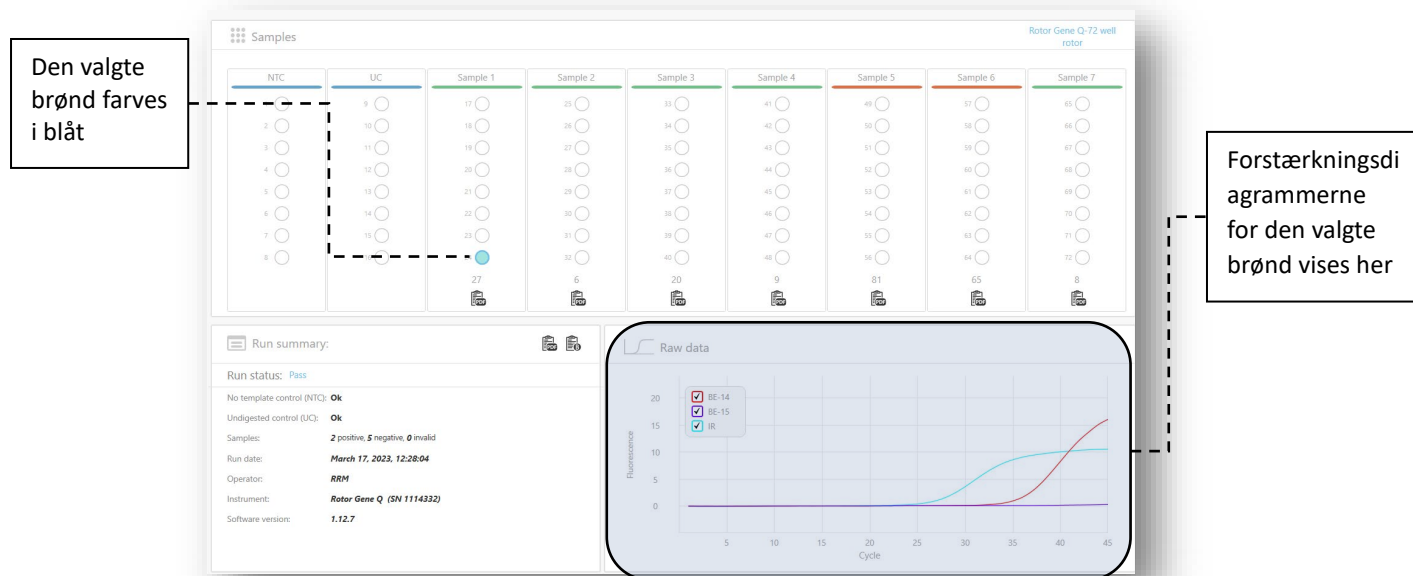
⚠ Hvis du modtog en prøvefejl i analysen af PCR-kørselsfilen, skal du se Vejledning til fejlfinding på side 55.



Grundlæggende funktioner

Visning af rådata for en enkelt brønd eller flere brønde

For at få vist rådataene (forstærkningsdiagrammerne) for en enkelt brønd skal du klikke på den ønskede brønd.

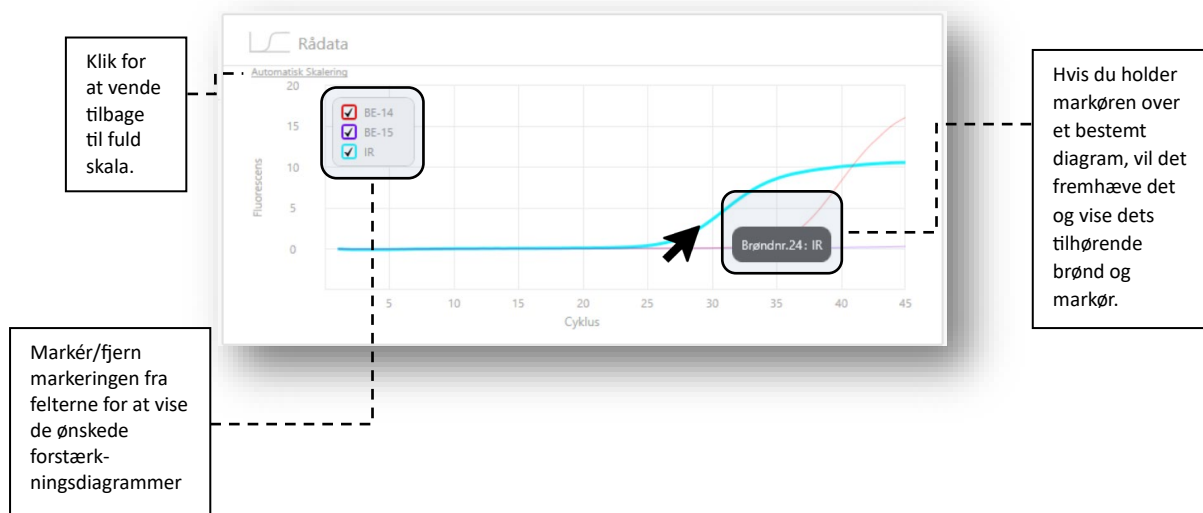


For at zoome ind på Y-aksen (fluorescens) skal du klikke på en af fluorescensværdierne. Forstærkningsdiagrammerne skaleres igen, så den valgte værdi bliver den højeste i Y-aksen.



For at vende tilbage til fuld skala skal du klikke på **Automatisk skalering**.

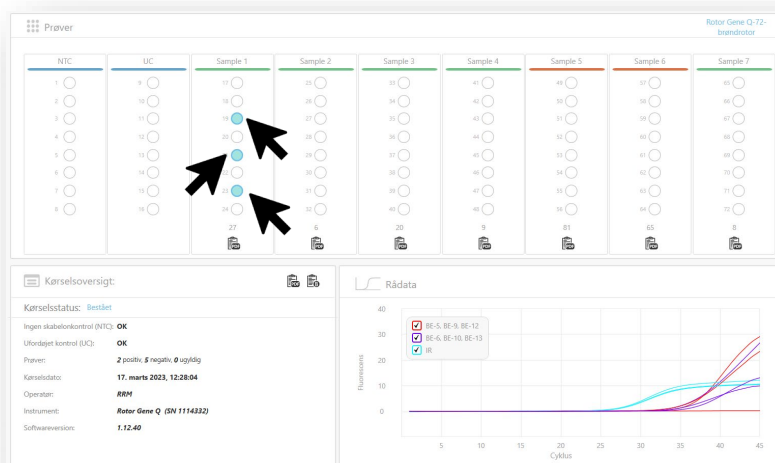
For at vælge, hvilke Bladder EpiCheck-markører der skal vises i rådataene, skal du markere/fjerne markeringen fra de relevante felter i øverste venstre hjørne.



Brug en af følgende valgmuligheder for samtidigt at vise forstærkningsdiagrammerne for flere brønde.

1. Visning af bestemte brønde

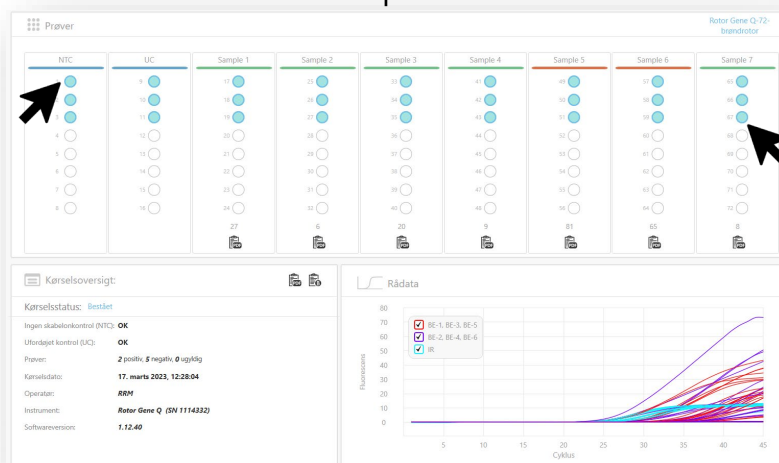
Tryk og hold på tasten **Ctrl**. Klik på de brønde, du vil få vist.



2. Visning af en hel række eller hele rækker brønde

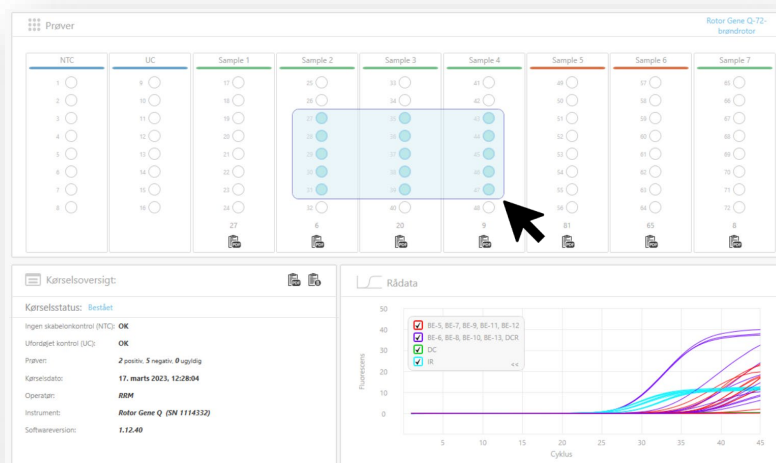
Tryk og hold på tasten Skift, og klik på den første og sidste brønd i de rækker, du vil få vist.

Hvis du for eksempel vil få vist brøndene i række A, B og C, skal du trykke og holde på tasten **Skift**, hvorefter du først skal klikke på brønd A1 og derefter på brønd C12



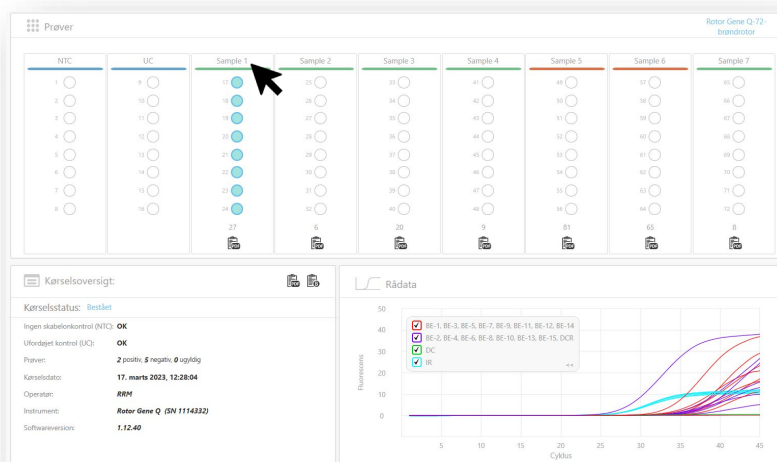
3. Visning af kolonner, rækker eller bestemte sæt brønde

Du kan vælge at vise evt. tilstødende brønde ved at klikke et vilkårligt sted i området **Prøver** og trække markøren for at vælge det ønskede sæt brønde.



4. Visning af alle brønde i en prøve

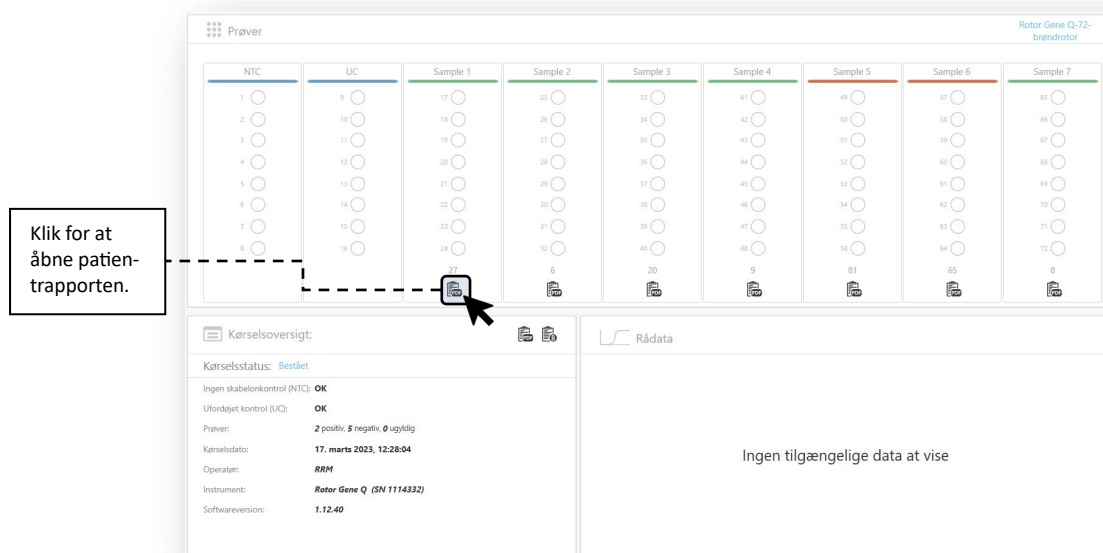
Klik på prøvenavnet for at vise alle de 8 brønde i den bestemte prøve.



Patientrapport

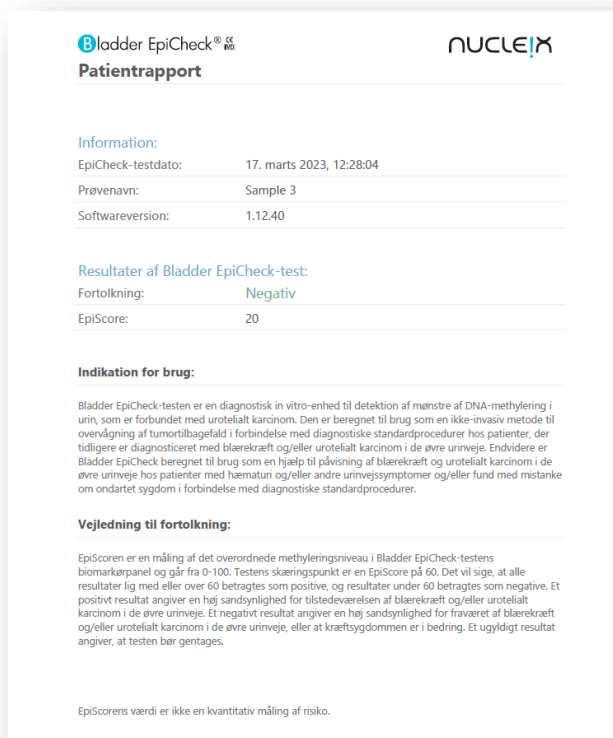
Bladder EpiCheck-softwaren opretter automatisk en rapport for hver enkelt patientprøve i PDF-format. Rapporten genereres, uanset om prøvens analyse blev udført. Rapporter genereres ikke for kontrolprøverne (UC og NTC), og deres status vises i Kørselsstatus.

For at åbne en patientrapport skal du klikke på rapportikonet  nederst i prøvens kolonne.



Patientrapporten omfatter:

- Generelle oplysninger – testdato, prøvenavn og version af Bladder EpiCheck-software, der er brugt til analysen.
- Testresultat – positiv/negativ/mislykket (og årsagen til fejlen).
- EpiScore
- Indikation for brug.
- Vejledning til fortolkning.



The screenshot shows a patient report for Bladder EpiCheck. It includes a header with the logo and 'NUCLEIX'. The report is divided into sections: Information (test date, sample name, software version), Results (interpretation, EpiScore), Indication for use, and Interpretation instructions. The EpiScore is 20, and the interpretation is 'Negativ'.

Information:	
EpiCheck-testdato:	17. marts 2023, 12:28:04
Prøvenavn:	Sample 3
Softwareversion:	1.12.40

Resultater af Bladder EpiCheck-test:	
Fortolkning:	Negativ
EpiScore:	20

Indikation for brug:

Bladder EpiCheck-testen er en diagnostisk in vitro-enhed til detektion af mønstre af DNA-metylering i urin, som er forbundet med urotelalt karcinom. Den er beregnet til brug som en ikke-invasiv metode til overvågning af tumortilbagefald i forbindelse med diagnostiske standardprocedurer hos patienter, der tidligere er diagnosticeret med blærekræft og/eller urotelalt karcinom i de øvre urinveje. Endvidere er Bladder EpiCheck beregnet til brug som en hjælp til påvisning af blærekræft og urotelalt karcinom i de øvre urinveje hos patienter med hæmaturi og/eller andre urinvejssymptomer og/eller fund med mistanke om ondartet sygdom i forbindelse med diagnostiske standardprocedurer.

Vejledning til fortolkning:

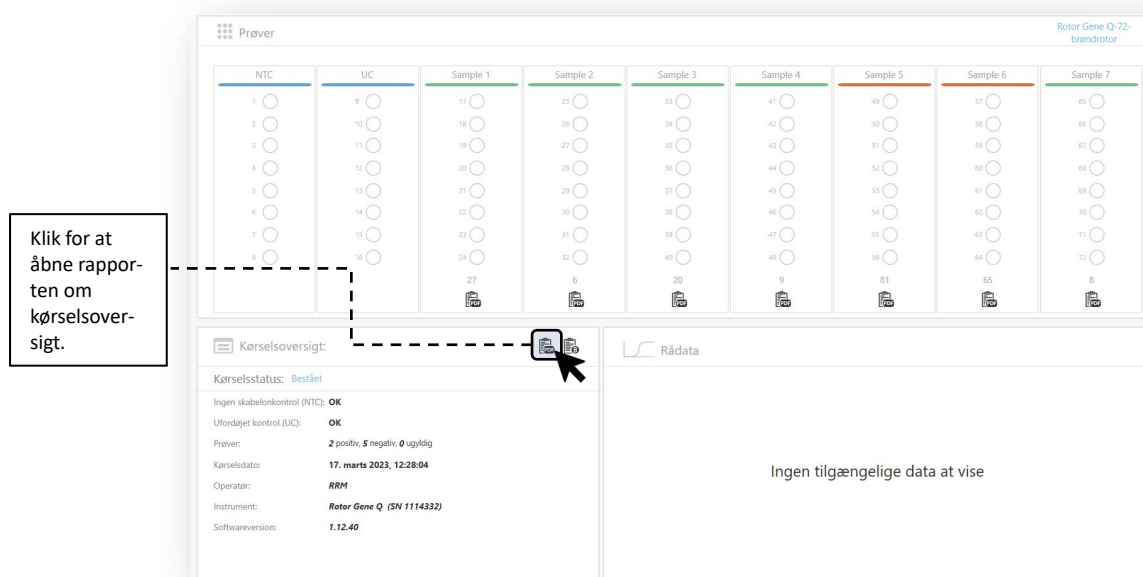
EpiScoren er en måling af det overordnede metyleringsniveau i Bladder EpiCheck-testens biomarkørpanel og går fra 0-100. Testens skæringspunkt er en EpiScore på 60. Det vil sige, at alle resultater lig med eller over 60 betragtes som positive, og resultater under 60 betragtes som negative. Et positivt resultat angiver en høj sandsynlighed for tilstedeværelsen af blærekræft og/eller urotelalt karcinom i de øvre urinveje. Et negativt resultat angiver en høj sandsynlighed for fravær af blærekræft og/eller urotelalt karcinom i de øvre urinveje, eller at kræftsygdommen er i bedring. Et ugyldigt resultat angiver, at testen bør gentages.

EpiScorens værdi er ikke en kvantitativ måling af risiko.

Rapport om kørselsoversigt

Bladder EpiCheck-softwaren opretter automatisk en rapport om kørselsoversigt i PDF-format.

For at åbne rapporten om kørselsoversigt skal du klikke på rapportikonet  i øverste højre hjørne i Kørselsoversigt.



Rapporten om kørselsoversigt omfatter resultaterne af alle analyserede prøver og oplysningerne om PCR-kørslen og dens analyse.

Bladder EpiCheck®
EpiCheck-kørselsoversigtsrapport

Resultater af Bladder EpiCheck PCR Run.rex

Brøndnr.	Prøvenavn	Resultat
1 - 8	NTC	OK
9 - 16	UC	OK
17 - 24	Sample 1	Negativ - (27)
25 - 32	Sample 2	Negativ - (6)
33 - 40	Sample 3	Negativ - (20)
41 - 48	Sample 4	Negativ - (9)
49 - 56	Sample 5	Positiv - (81)
57 - 64	Sample 6	Positiv - (65)
65 - 72	Sample 7	Negativ - (8)

Kørselsstatus: **Bestået**

Ufordøjet kontrol (UC): **OK**

Ingen skabelonkontrol (NTC): **OK**

Prøver: **2 positiv, 5 negativ, 0 ugyldig**

Kørselsdato: **17. marts 2023, 12:28:04**

Operatør: **RRM**

Instrument: **Rotor Gene Q (SN 1114332)**

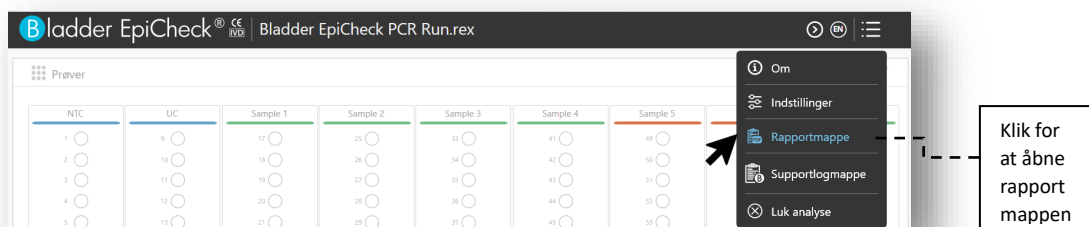
Softwareversion: **1.12.40**

EpiScorens værdi er ikke en kvantitativ måling af risiko.

Kommentarer:
Bladder EpiCheck template ver130619

Rapportmappe

Bladder EpiCheck-softwaren gemmer patientrapporterne og rapporten om kørselsoversigt for den analyserede kørsel i rapportmappen. For at åbne rapportmappen skal du klikke på menuikonet  i øverste højre hjørne af softwarens hovedskærm og derefter klikke på **Rapportmappe**.

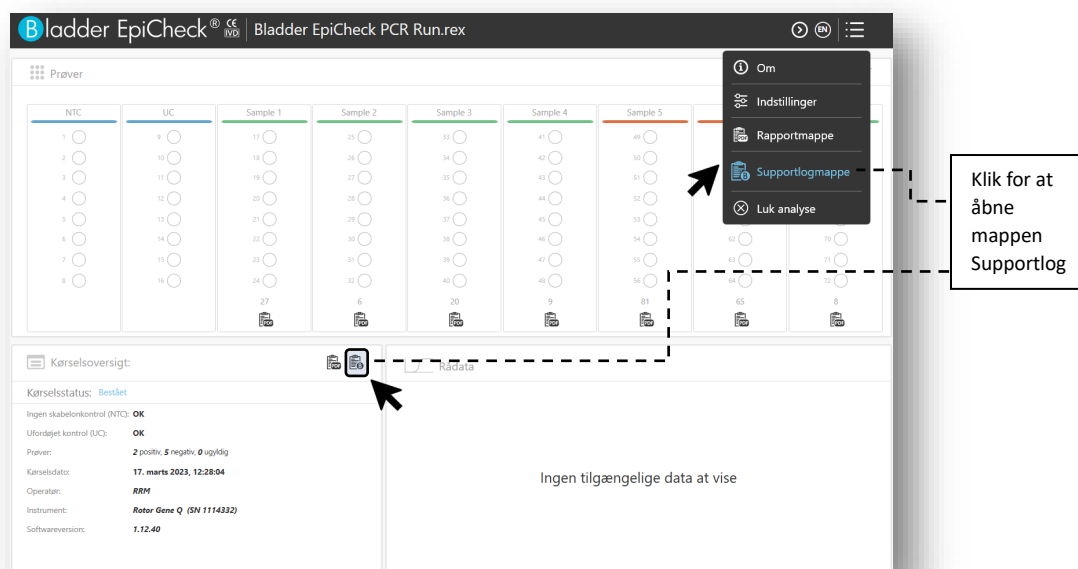


Mappen Supportlog

Bladder EpiCheck-softwaren gemmer outputfilen for analysen (med filtypenavnet .bepc) i mappen Supportlog. Denne fil kræves af Nucleix-kundesupport for at foretage fejlfinding på en mislykket kørsel.

For at åbne mappen Supportlog skal du klikke på menuikonet  i øverste højre hjørne af softwarens hovedskærm og derefter klikke på **mappen Supportlog**.

Mappen kan også tilgås ved at klikke på ikonet for supportlog  i øverste højre hjørne af Kørselsoversigt. Dette ikon flimrer, når EpiCheck-kørselsanalysen eller -prøveanalysen mislykkes.



Vejledning til fejlfinding

Denne vejledning til fejlfinding kan være nyttig til at løse eventuelle problemer, der måtte opstå. Find flere oplysninger på siden Ofte stillede spørgsmål i vores Kundeområde: www.nucleix.com/customer-area/ (for at åbne siden skal du logge ind på din konto).

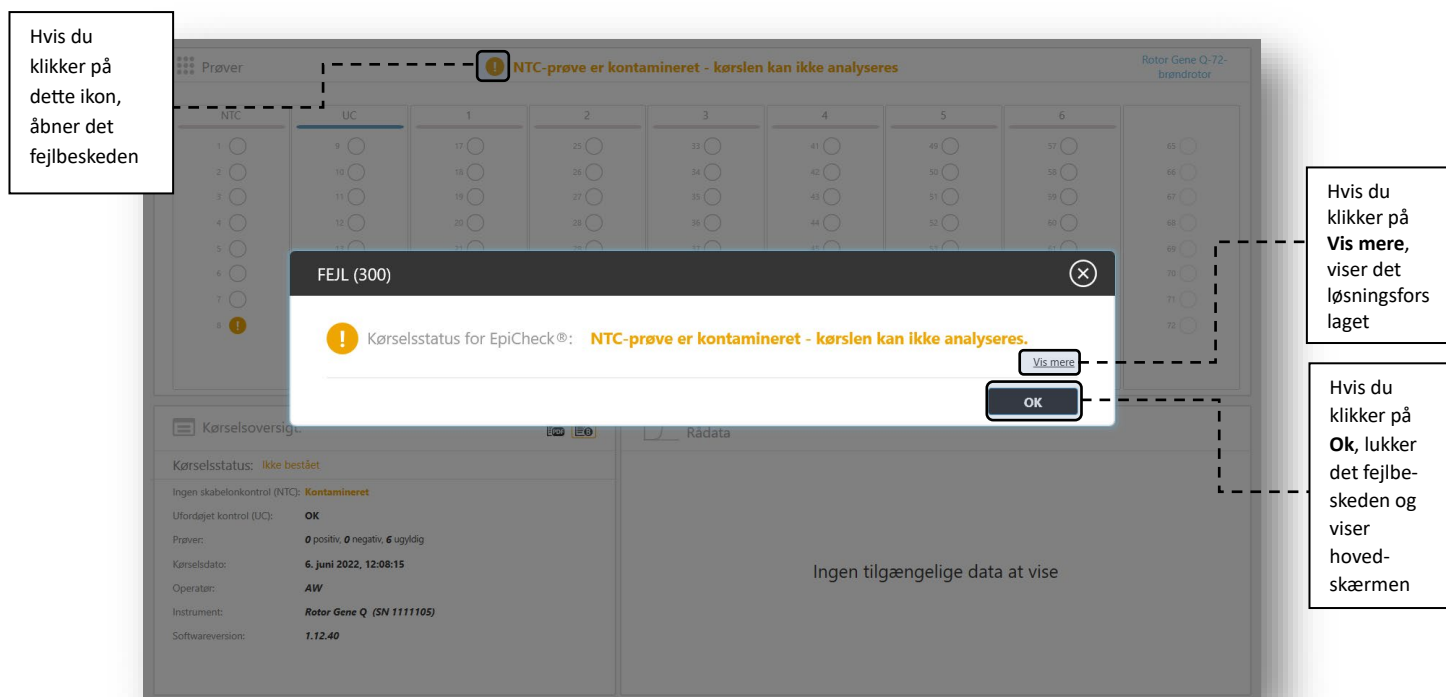
Nucleix-kundesupport vil være glad for at svare på evt. yderligere spørgsmål, du måtte have om oplysningerne og laboratorieproceduren i denne brugsanvisning. Hvis du vil kontakte os, bedes du se Kontaktoplysninger på side 84.

Bladder EpiCheck-softwarefejl

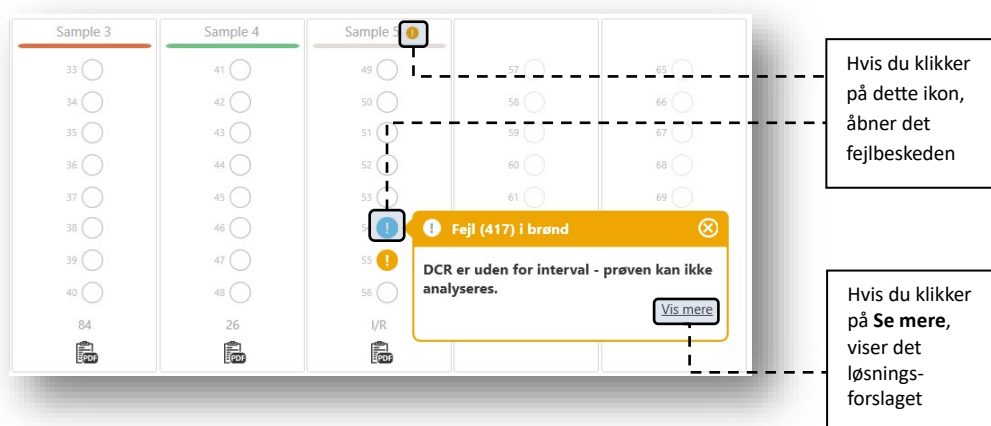
Bladder EpiCheck-softwaren kan vise fejl af 4 typer, der er opført i Error! Reference source not found..

Tabel 9. Bladder EpiCheck-fejltyper

Fejltype	Fejlkode	Forklaring af fejlen
Installations-/konfigurationsfejl	Starter med 1_ _	Disse fejl angiver, at der er et problem, der forhindrer softwarens installation/konfiguration på din computer, eller at der er manglende ressourcer, der forhindrer softwaren i at køre analysen eller vise patientrapporter.
Fil-/indstillingsfejl	Starter med 2_ _	Disse fejl angiver, at softwaren ikke kan genkende og analysere den indlæste PCR-kørselsfil.
EpiCheck-kørselsfejl	Starter med 3_ _	Disse fejl angiver, at UC- og/eller NTC-kontrolprøverne ikke opfyldte deres definerede specifikationer og mislykkedes. Ingen af patientprøverne analyseres, og de får statussen Ikke relevant (N/A). Find et eksempel på visningen af denne type fil i softwaren under Figur 6.
Prøvefejl	Starter med 4_ _	Disse fejl angiver, at mindst én af prøvekontrollerne, IR, DC og DCR ikke opfyldte deres definerede specifikationer og mislykkedes. De bestemte patientprøver analyseres ikke og får statussen Ikke relevant (N/A). Find et eksempel på visningen af denne type fil i softwaren under Figur 7.



Figur 6. Eksempel på en EpiCheck-kørselsfejl



Figur 7. Eksempel på en prøvefejl

Tabel 10, Tabel 11, Tabel 12 og Tabel 13 nedenfor viser fejlene opdelt i grupper baseret på fejltypen. Hver fejl omfatter fejlkoden, dens betydning, fejlbeskeden og den pågældende løsningsforslag, som det vises i softwaren.

Tabel 10. Installations-/konfigurationsfejl

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
103	Programmet PDF Reader er ikke installeret eller ikke indstillet som standardprogram – dokumentet <filnavn> kan ikke åbnes.	Programmet PDF Reader er ikke installeret eller ikke indstillet som standardlæser til PDF-filer.	Hvis programmet PDF Reader ikke er installeret, skal du hente og installere det. Sørg for, at PDF Reader er defineret som standardprogrammet til åbning af PDF-filer.
106	Utilstrækkelig lagerplads på harddisken – kørsel kan ikke analyseres.	Den krævede lagerplads på harddisken for at gemme Bladder EpiCheck-softwareanalysen er større end den aktuelt tilgængelige lagerplads på denne computer.	Skab mere lagerplads på harddisken, og indlæs PCR-kørselsfilen igen. Find oplysninger om den minimalt krævede lagerplads på harddisken i afsnittet PC-krav i brugsanvisningen på side 13.
107	Utilstrækkelig RAM (Random Access Memory) – kørsel kan ikke analyseres.	Computeren har ikke tilstrækkelig RAM til at køre analysen.	Kontrollér, at computeren har den minimalt krævede RAM, og indlæs PCR-kørselsfilen igen. Find oplysninger om den minimalt krævede RAM i afsnittet PC-krav i brugsanvisningen på side 13.
108	Manglende krævede ressourcer – softwaren kan ikke køre.	Bladder EpiCheck-softwarefiler mangler eller er beskadigede. Softwaren kan ikke køre og skal installeres igen.	Hent Bladder EpiCheck-softwaren fra Nucleix-webstedet, og installer den igen. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
109	Den valgte sti er for lang. Indstillingerne kan ikke gemmes.	Stien for den mappe, du har valgt (outputmappe til lagring af rapporter eller mappen Supportlog til lagring af analyser), overstiger den tilladte antal tegn. Dette forhindrer softwaren i at gemme disse indstillinger.	Vælg en sti, der indeholder mindre end 120 tegn.
110	Utilstrækkelig plads på harddisken	Den krævede lagerplads på harddisken for at installere Bladder EpiCheck-softwaren er større end den aktuelt tilgængelige lagerplads på denne computer.	Den minimalt krævede lagerplads på harddisken er 1 GB. Kontrollér, at computeren, hvor du installerer softwaren på, opfylder dette minimumskrav på lagerplads.
111	Utilstrækkelig RAM (Random Access Memory)	Computeren har ikke tilstrækkelig RAM til at installere Bladder EpiCheck-softwaren.	Den minimalt krævede RAM er 100 MB. Kontrollér, at computeren, hvor du installerer softwaren på, opfylder dette minimumskrav.
112	Ugyldig version af Windows	Bladder EpiCheck-softwaren er ikke kompatibel med det aktuelle Microsoft Windows-operativsystem.	EpiCheck-softwaren er kun kompatibel med følgende versioner af Microsoft Windows-operativsystemet: Windows 10 eller nyere. Softwaren kan ikke installeres på andre systemer eller versioner

Tabel 11. Fil-/indstillingsfejl

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
200	Filen <filnavn> er ugyldig og kan ikke indlæses.	Den indlæste fil er ikke en gyldig kørselsfil for realtids-PCR.	Sørg for at indlæse en gyldig fil. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
201	Et ugyldigt antal PCR-cykklusser (<cyklusantal> i stedet for 45).	PCR-programmet udførte ikke det forventede antal cyklusser. Dette kan opstå grundet tidlig afslutning af kørsel.	Løs eventuelle problemer, der måtte føre til tidlig afslutning af kørsel (f.eks. strømsvigt). Gentag derefter PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).
203	Filen < filnavn > kan ikke åbnes, fordi nogle af dens rapporter er åbne i øjeblikket.	Én eller flere af PDF-rapportfilerne i PCR-kørselsfilen er åbne, hvilket forhindrer Bladder EpiCheck-softwaren i at åbne og analysere kørselsfilen.	Luk alle rapporter, der er knyttede til denne fil, og tryk derefter på Prøv igen .
204	Den PCR-skabelon, der blev brugt til denne kørsel, blev ændret og ligger uden for specifikationerne – kørsel kan ikke analyseres.	Et eller flere af PCR-skabelonens parametre blev ændret (f.eks. termisk profil, indstillinger for cyklusvarighed osv.). Softwaren kan ikke genkende PCR-kørslen og analysere den.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62) ved hjælp af den korrekte PCR-skabelon. Foretag ikke nogen ændringer til skabelonen.
206	Filen <filnavn> kan ikke analyseres, fordi Optimering af automatisk forstærkning, der er indstillet i PCR-skabelonen, blev annulleret.	Optimering af automatisk forstærkning, der er indstillet i PCR-skabelonen, blev annulleret. Softwaren kan ikke analysere en PCR-kørsel, hvor dette trin blev annulleret. Find flere oplysninger i Realtids-PCR på side 32	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62). Sørg for ikke at annullere Optimering af automatisk forstærkning, der blev udført under kørslen.
207	Navnet på PCR-kørselsfilen er for langt – kørsel kan ikke analyseres	Filnavnet skal bestå af højst 60 tegn, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Ændr filens navn, så det består af højst 60 tegn.

Tabel 12. EpiCheck-kørselsfejl

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
300	NTC-prøve er kontamineret – kørsel kan ikke analyseres.	Én eller flere af markørerne blev forstærket i en cyklus under den definerede kontamineringstærskel.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62). Sørg for, at alle handlinger i forbindelse med god laboratoriepraksis blev udført, før du gentager PCR. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
301	UC-prøve mislykkedes i markører <markørliste> – kørsel kan ikke analyseres.	Én eller flere af markørerne blev ikke forstærket korrekt i UC-prøven.	Kontakt Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
302	Manglende NTC-prøve – kørsel kan ikke analyseres.	NTC-prøven skal medtages i kørslen og kaldes "NTC", for at Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Hvis du udførte PCR-kørslen med en NTC-prøve, skal du åbne kørselsfilen i PCR-softwaren, navngive NTC-prøvens brønde som "NTC" og indlæse igen i Bladder EpiCheck-softwaren. Ellers skal du gentage PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62). Sørg for at medtage en NTC-prøve.
303	Manglende UC-prøve – kørsel kan ikke analyseres.	UC-prøven skal medtages i kørslen og kaldes "UC", for at Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Hvis du udførte PCR-kørslen med en UC-prøve, skal du åbne kørselsfilen i PCR-softwaren, navngive UC-prøvens brønde som "UC" og indlæse igen i Bladder EpiCheck-softwaren. Ellers skal du gentage PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62). Sørg for at medtage en UC-prøve.
304	For mange NTC-prøver – kørsel kan ikke analyseres.	Kun én prøve skal kaldes "NTC", så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Åbn kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøb prøvebrøndene, så kun én prøve hedder "NTC", og indlæs i Bladder EpiCheck-softwaren igen.
305	For mange UC-prøver – kørsel kan ikke analyseres.	Kun én prøve skal kaldes "UC", så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Åbn kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøb prøvebrøndene, så kun én prøve hedder "UC", og indlæs i Bladder EpiCheck-softwaren igen.

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
310	Ugyldig UC-prøveplacering – kørsel kan ikke analyseres.	UC-prøven skal anbringes i positionerne nr. 9-16, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Hvis UC-prøven blev anbragt i de korrekte positioner (nr. 9-16), skal du åbne kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøbe prøverne tilsvarende og genindlæse filen i Bladder EpiCheck-softwaren. Ellers skal du gentage PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).
311	Ugyldig NTC-prøveplacering – kørsel kan ikke analyseres.	NTC-prøven skal anbringes i positionerne nr. 1-8, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere PCR-kørslen.	Hvis NTC-prøven blev anbragt i de korrekte positioner (nr. 1-8), skal du åbne kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøbe prøverne tilsvarende og genindlæse filen i Bladder EpiCheck-softwaren. Ellers skal du gentage PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).
322	Signalmætning i UC-prøve – kørsel kan ikke analyseres.	En eller flere af markørerne i UC-prøven har et mættet signal.	Kontakt Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
323	DCR er uden for intervallet – kørsel kan ikke analyseres	DCR-markøren i NTC-prøven blev ikke forstærket i det forventede signalinterval, hvilket kan angive, at fordøjelsestrinnet for denne prøve ikke blev udført i henhold til instruktionerne.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).

Tabel 13. Prøvefejl

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
400	Uoverensstemmelse i prøvenavn – prøve kan ikke analyseres.	Mindst én af de otte prøvebrønde har et andet navn. Alle otte prøvebrønde skal have det samme navn, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere prøven.	Åbn kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøb prøvebrøndene, så kun alle otte brønde har det samme navn, og indlæs i Bladder EpiCheck-softwaren igen.
403	Utilstrækkelig mængde DNA – prøve kan ikke analyseres.	IR-markøren i en eller flere af prøvebrøndene blev forstærket over den definerede tærskel, hvilket angiver utilstrækkelig mængde DNA til analyse i disse brønde.	Opsaml en ny urinprøve fra denne patient, og gentag Bladder EpiCheck-testen.
405	Fordøjelseskontrol mislykkedes – prøve kan ikke analyseres.	Ufuldstændig fordøjelse af prøven blev registreret af DC- og DCR-markørerne.	Opsaml en ny urinprøve fra denne patient, og gentag Bladder EpiCheck-testen. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeservice på Nucleix-webstedet.
406	DCR er uden for intervallet – prøve kan ikke analyseres.	DCR-markøren blev forstærket over det tilladte signalinterval.	Opsaml en ny urinprøve fra denne patient, og gentag Bladder EpiCheck-testen. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeservice på Nucleix-webstedet.
407	DCR er uden for intervallet – prøve kan ikke analyseres.	DCR-markøren blev forstærket under det tilladte signalinterval.	Opsaml en ny urinprøve fra denne patient, og gentag Bladder EpiCheck-testen. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeservice på Nucleix-webstedet.
408	Uoverensstemmende signaler fra IR-markøren – prøve kan ikke analyseres.	De 8 PCR-kurver for IR-markøren blev ikke forstærket i den samme cyklus som forventet. Uoverensstemmelse i IR-signalerne kan angive unøjagtigheder ved pipettering eller tilstedeværelse af PCR-inhibitorer i prøven.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62). Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeservice på Nucleix-webstedet.
409	Uoverensstemmende signaler fra IR-markøren – prøve kan ikke analyseres.	De 8 PCR-kurver for IR-markøren blev ikke forstærket i den samme cyklus som forventet. Uoverensstemmelse i IR-signalerne kan angive unøjagtigheder ved pipettering eller tilstedeværelse af PCR-inhibitorer i prøven.	Der er utilstrækkelig mængde DNA for at kunne gentage PCR. Opsaml en ny urinprøve fra denne patient, og gentag Bladder EpiCheck-testen. Hvis denne fejl vises igen, skal du kontakte Nucleix via Kundeservice på Nucleix-webstedet.

Fejlkode	Fejlbesked	Betydning	Løsningsforslag
413	Signalmætning – prøve kan ikke analyseres.	En eller flere af markørerne i denne prøve har et mættet signal.	Kontakt Nucleix via Kundeområde på Nucleix-webstedet.
415	Flere prøver med nøjagtigt det samme navn – prøve kan ikke analyseres.	Hver prøve skal have et unikt navn, så Bladder EpiCheck-softwaren kan analysere prøverne.	Åbn kørselsfilen i PCR-softwaren, omdøb prøverne, så hver prøve har et unikt navn, og indlæs i Bladder EpiCheck-softwaren igen.
416	Utilstrækkelig mængde DNA – prøve kan ikke analyseres.	IR-markøren i en eller flere af prøvebrøndene blev forstærket over den definerede tærskel, hvilket angiver utilstrækkelig mængde DNA til analyse i disse brønde. IR-signalet i andre brønde i denne prøve angiver dog utilstrækkelig mængde DNA for at gentage PCR.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).
417	DCR er uden for intervallet – prøve kan ikke analyseres.	DCR-markøren blev forstærket over det tilladte signalinterval. Signaldataene for denne prøve angiver dog, at DCR-forstærkningen blev påvirket af unøjagtigheder ved pipettering eller af tilstedeværelsen af PCR-inhibitorer i prøven.	Gentag PCR (se Protokol for gentagelse af PCR i brugsanvisningen på side 62).

Flere fejl

Bladder EpiCheck-softwaren kan vise flere fejl for en enkelt analyseret PCR-kørsel, hvoraf hver har dens egen løsningsforslag.

Hvis du blandt de flere fejl har modtaget en EpiCheck-kørselsfejl (starter med 3_ _), skal du følge løsningsforslaget for den fejl, der poppede op, da du indlæste filen i softwaren.

Hvis du modtog flere prøvefejl (starter med 4_ _) for én patientprøve, skal du følge løsningsforslaget, der henviser dig til det tidligste punkt i arbejdsgangen (hvis for eksempel én fejl beder dig om at opsamle en ny urinprøve, og en anden fejl beder dig om at gentage PCR, skal du opsamle en ny urinprøve).

Protokol for gentagelse af PCR

Dette trin skal udføres i tilfælde, hvor Bladder EpiCheck-softwaren efter analysen af PCR-kørslen beder dig om at gentage PCR.

For at sikre en tilstrækkelig volumen til gentagelse af PCR-kørslen skal du udføre følgende trin for at fortynde restvolumen af prøverne med fordøjet DNA:

1. Præparerer nye UC- og NTC-kontrolprøver ved at gentage trin DNA-fordøjelse på side 30.

 *Det er muligt at kombinere de gentagne prøver med en anden planlagt PCR-kørsel, som omfatter UC- og NTC-kontrolprøver, og at springe dette trin over.*

2. Ækvilibrer følgende til stuetemperatur, 15-25 °C:
 - 1X fortyndingsbuffer
 - Restvolumen af prøverne med fordøjet DNA
3. Når prøverne med fordøjet DNA og 1X-fortyndingsbufferen er optøede, skal hvert enkelt glas blandes grundigt ved at vende det på hovedet og vippe det nogle få gange.

⚠ *Der må ikke vortexes.*
4. Centrifuger kort glassene for at fjerne dråber fra undersiden af låget.
5. Tilsæt 1X-fortyndingsbufferen til hver prøve, så den endelige totalvolumen er 90 µl.

⚠ *Totalvolumen skal omfatte restvolumenen for prøven med fordøjet DNA.*
6. Gentag trin Realtids-PCR på side 32.

⚠ *Læg mærke til, at mens fortyndingstrinnet giver dig mulighed for at gentage PCR-kørsler for de fleste prøver, kan det i nogle tilfælde fortynde prøver med lavt input og producere fejl pga. utilstrækkelig mængde DNA i analysetrinnet.*

Begrænsninger

- Testresultater bør bruges sammen med patientens anamnese, kliniske tegn og symptomer samt resultaterne fra andre diagnostiske tester, der er til rådighed for sundhedspersonalet.
- Bladder EpiCheck-resultater er kvalitative. Korrelationen mellem en patients methyleringsmønstre for en tumor på tværs af panelet med 15 biomarkører og kendte negative og positive methyleringsmønstre bruges til at beregne EpiScore-værdien.
- Positive Bladder EpiCheck-resultater i fravær af andre tegn eller symptomer på blærekræft eller urotelialt karcinom i de øvre urinveje (UTUC) kan være tegn på anden relateret kræft i urinvejene (f.eks. i urinrør, nyre og/eller prostata), og yderligere patientopfølgning bør overvejes.
- Hvis Bladder EpiCheck-resultaterne er negative, men plejestandardens kliniske eller diagnostiske tester (f.eks. cytologisk undersøgelse, cystoskopi) er positive, skal plejestandarden have forrang for Bladder EpiCheck-testen, og yderligere patientopfølgning bør overvejes.
- Selvom Bladder EpiCheck-testen blev designet til at registrere epigenetiske ændringer, der er knyttede til de fleste former for blærekræft, kan der være nogle former for blærekræft, hvis epigenetiske ændringer måske ikke registreres af Bladder EpiCheck-testen.
- Bladder EpiCheck-sættets ydeevne blev kun valideret ved hjælp af procedurerne i denne brugsanvisning. Ændringer af disse procedurer kan ændre prøvningens ydeevne.
- Bladder EpiCheck-testen valideres til brug sammen med Rotor Gene Q og Rotor Gene Q MDx Real-Time PCR-platforme 5plex/5plex HRM/6plex med Rotor Gene Q Series-software, version 2.3.1 eller nyere og 72-Well Rotor eller med ABI 7500 Real-Time Fast Dx-instrumentet og dens software til sekvensdetektion. Brug ikke tidligere versioner af PCR-software.

- Denne tests ydeevneegenskaber er kun blevet fastsat med prøver med udtømt urin for blærekræft og med udtømt og selektiv urin for UTUC. Testens ydeevne med andre prøvetyper er ikke blevet evalueret.
- Testen er blevet valideret med Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssæt (delnr. NX899090-01C). Testens ydeevne med andre ekstraktionsmetoder er ikke blevet evalueret.
- Testydeevne afhænger af DNA-kvantitet og -kvalitet i patientprøven, som kan påvirkes af prøveopsamling, prøveopbevaring og prøvebehandling.
- Forhøjede niveauer af urinsyre i urinen over 20 mg/dL viste sig at forstyrre DNA-ekstraktionstrinnet og kan føre til et ugyldigt eller unøjagtigt resultat.
- DNA-renhed og -kvalitet er meget vigtige for Bladder EpiCheck-prøvningsydeevne. Midler, der afledes fra selve urinprøven, samt restmængder af reagenser fra DNA-ekstraktionsprocessen, kan påvirke DNA-kvantitet og -kvalitet.
- Der er risiko for falsk positive værdier, der resulterer fra krydskontaminering af trinnet med DNA-ekstraktion og trinnet med realtids-PCR.
- Bladder EpiCheck-resultater kan være ugyldige eller resultere i en unøjagtig diagnose af enhver af følgende grunde:
 - Uegnet kvalitet af urinprøve.
 - Utilstrækkelig mængde DNA.
 - Forkert opsamling, håndtering, transport eller opbevaring af urinprøve.
 - Teknisk fejl.
 - Fejllaceret prøve.
 - Krydskontaminering af forstærket produkt.
 - Ikke-specifikke signaler i prøvningen.

Forventede værdier

Bladder EpiCheck-testsoftwaren oversætter markørscoren for 15 Bladder EpiCheck-markører til en integreret score kaldt EpiScore, der ligger i intervallet 0-100. Et EpiScore-resultat på 0-59 repræsenterer et negativt testresultat for blærekræft eller UTUC, og et EpiScore-resultat på 60-100 repræsenterer et positivt testresultat for blærekræft eller UTUC.

Ydeevneegenskaber

Klinisk ydeevne – klinisk sensitivitet og specificitet

Tilbagefald af blærekræft: Ydeevne vs. cystoskopi, cytologisk undersøgelse og patologisk undersøgelse

Fordele ved EpiCheck til detektion af tilbagevendende urotelialt karcinom. En prospektiv, blindet multicenterundersøgelse¹⁰ – pivotal undersøgelse i EU

Undersøgelsesresumé

En prospektiv multicenterundersøgelse med enkelt besøg blev udført på fem (5) centre i Europa og Israel. Formålet med undersøgelsen var at fastsætte ydeevneegenskaberne for Bladder EpiCheck-testen hos patienter under overvågning for tilbagefald af blærekræft. Data fra 440 forsøgspersoner blev medtaget i analysen af Bladder EpiCheck-ydeevne. Dataene blev indsamlet fra forsøgspersoner, der ankom til rutinemæssig overvågning på undersøgelsescentrene, fra december 2015 til januar 2017. 'Guldstandard', der blev brugt til alle ydeevneberegninger, var cystoskopi med bekræftelse ved patologisk undersøgelse for positive eller mistænkelige cystoskopier og cytologisk undersøgelse. Hvis patienten havde positiv cystoskopi, men patologisk undersøgelse var fraværende, var patienten anset som positiv baseret på den behandlende urologs kliniske beslutning (f.eks. start af MMC- eller BCG-behandling). Forsøgspersoner blev udeladt fra analysen, hvis det ikke var muligt at stille en afgørende diagnose (f.eks. tvetydig cytologisk undersøgelse, cystoskopi eller patologisk undersøgelse).

Ydeevneanalysen omfattede 353 forsøgspersoner. De 87 udelukkede forsøgspersoner omfatter 30 urinprøver uden Bladder EpiCheck-resultater af flere forskellige grunde (f.eks. utilstrækkelig mængde DNA i urinprøven, at urinprøven blev beskadiget eller væk under transport), 50 forsøgspersoner, der blev udeladt fra analyse, da det ikke var muligt at stille en afgørende diagnose vha. guldstandard, og 7 forsøgspersoner uden Bladder EpiCheck og uden afgørende diagnose. Bladder EpiCheck-prøvningen blev udført på to centrale laboratorier i Jena, Tyskland, og Kfar-Saba, Israel, af uddannede laboranter i henhold til brugsanvisningen. De demografiske data for de 440 forsøgspersoner, der var kvalificerede til at deltage i undersøgelsen, opsummeres i Tabel 14.

Tabel 14. Forsøgspersoners demografi

Køn	N (%)
Mand	341 (77,50 %)
Kvinde	99 (22,50 %)
Race og etnicitet	N (%)
Kaukasisk	440 (100 %)
Ikke spansk eller latinamerikansk	440 (100 %)
Alder	År
Gennemsnit	70,1
Interval	31-92
Rygehistorie	N (%)
Har aldrig røget	81 (18,41 %)
Tidligere ryger	252 (57,27 %)
Ryger i øjeblikket	107 (4,32 %)

¹⁰ Witjes JA, Morote J, Cornel EB, Gakis G, van Valenberg FJP, Lozano F, Sternberg IA, Willemsen E, Hegemann ML, Paitan Y, Leibovitch I. Performance of the Bladder EpiCheck™ Methylation Test for Patients Under Surveillance for Non-muscle-invasive Bladder Cancer: Results of a Multicenter, Prospective, Blinded Clinical Trial. Eur Urol Oncol. 2018 Sep;1(4):307-313. doi: 10.1016/j.euo.2018.06.011. Epub 2018 Jul 17. PMID: 31100252.

Bladder EpiCheck-ydeevne vs. guldstandard

353 forsøgspersoner havde komplette data til ydeevneanalyse. Ud af de 353 forsøgspersoner i ydeevneanalysen blev 46 forsøgspersoner defineret som positive. 40 blev defineret som positive baseret på cystoskopi og patologisk undersøgelse og yderligere 6 baseret på cystoskopi og den behandlende urologs kliniske beslutning. To (2) af de 46 positive havde ikke Bladder EpiCheck-resultater. Det samlede antal positive, der blev medtaget i ydeevneanalysen, var derfor 44. 309 forsøgspersoner blev defineret som negative baseret på resultater af cystoskopi og cytologisk undersøgelse, og 57 blev udeladt grundet inkonklusiv diagnose. Tabel 15 nedenfor viser Bladder EpiCheck-resultaterne versus den gyldige guldstandard.

Tabel 15. Bladder EpiCheck-resultater versus den gyldige guldstandard i NMIBC-tilbagefold

Bladder EpiCheck-resultat	Diagnose med gyldig guldstandard (*)			
	Positiv	Negativ	Udeladt (**)	I alt
Intet EpiCheck-resultat	2	28	7	37
Positiv	30	37	16	83
Negativ	14	272	34	320
I alt	46	337	57	440

(*) Negativ ved cystoskopi og cytologisk undersøgelse/positiv ved cystoskopi og patologisk undersøgelse eller klinisk beslutning

(**) Ingen diagnose efter gyldig guldstandard

Tabel 16 viser fasen og graden af de positive patologier.

Tabel 16. Fase og grad af de positive patologier i NMIBC-tilbagefold

Fase	Grad			
	I alt	Lav grad	Høj grad	ND*
I alt	46	21	19	6
Cis	3	0	3	-
Ta	29	21	8	-
T1	7	-	7	-
T2	1	-	1	-
ND*	6	-	-	-

*Seks positive er baseret på positiv cystoskopi og den behandlende urologs kliniske beslutning. To (2) af de 46 positive havde ikke Bladder EpiCheck-resultater.

Det samlede antal positive til analyse er derfor 44.

Tabel 17 viser Bladder EpiCheck-testens sensitivitet og specificitet sammen med deres respektive tosidede, nøjagtige binomiale 95 %-konfidensintervaller (KI). Samlet set var den observerede Bladder EpiCheck-sensitivitet 68,18 % (30/44), 95 %-KI: [52,42 %; 81,39 %]. Bladder EpiCheck-sensitiviteten for alle tumorer med høj grad var 91,67 % (22/24), 95 %-KI: [73,00 %; 98,97 %]. Den observerede specificitet var 88,03 % (272/309), 95 %-KI: [83,87 %; 91,43 %].

Tabel 17. Sensitivitet og specificitet for Bladder EpiCheck i NMIBC-tilbagefald

Parameter	% (n/N)	95 %-KI
Samlet sensitivitet	68,18 % (30/44)	[52,42 %; 81,39 %]
Sensitivitet for alle positive, undtagen Ta med lav grad	91,67 % (22/24)	[73,00 %; 98,97 %]
Sensitivitet for alle positive, undtagen Ta med lav grad	91,67 % (22/24)	[73,00 %; 98,97 %]

Tabel 18 viser sensitiviteten for Bladder EpiCheck efter tumorfase og grad for alle tilfælde med tilgængelige oplysninger om patologisk undersøgelse eller kliniske oplysninger. Bladder EpiCheck-sættet viste største klinisk sensitivitet (100 %) blandt de svære ikke-muskelinvaderende tumorer (T1 og CIS) sammenlignet med cystoskopi og patologisk undersøgelse.

Tabel 18. Sensitivitet af Bladder EpiCheck efter tumorfase og grad i NMIBC-tilbagefald

Fase	Klinisk sensitivitet	95 %-KI
T1	100,0 % (7/7)	[59,04 %; 100,0 %]
CIS	100,0 % (3/3)	[29,24 %; 100,0 %]
Ta	51,85 % (14/27)	[31,95 %; 71,33 %]
Ta med høj grad	85,71 % (6/7)	[42,13 %; 99,64 %]
Grad	Klinisk sensitivitet	95 %-KI
Ikke-Ta med lav grad	91,67 % (22/24)	[73,00 %; 98,97 %]
Lav grad	40,00 % (8/20)	[19,12 %; 63,95 %]

Tabel 19 viser den samlede overensstemmelse, samlede negative prognoseværdi, negative prognoseværdi for alle forsøgspersoner, undtagen forsøgspersoner med tilbagefald af Ta med lav grad, og positive prognoseværdi. Den samlede negative prognoseværdi blev beregnet baseret på den samlede tilbagefaldsprocent, der er observeret i den nuværende undersøgelse, som var på 12,2 %. Den negative prognoseværdi for alle forsøgspersoner med tilbagefald af Ta med lav grad blev beregnet baseret på hyppigheden af tilbagefald af tumorer med høj grad, der er observeret i den nuværende undersøgelse, som var på 7,2 %.

Tabel 19. Overensstemmelse, NPV og PPV i NMIBC-tilbagefald

Parameter	% (n/N)	95 %-KI
Samlet overensstemmelse	85,55 % (302/353)	[81,45 %; 89,05 %]
NPV	95,10 % (272/286)	[91,92 %; 97,30 %]
NPV for tumorer med høj grad	99,27 % (272/274)	[97,39 %; 99,91 %]
PPV	44,78 % (30/67)	[32,60 %; 57,42 %]

Undersøgelsesresumé

En prospektiv longitudinal multicenterundersøgelse blev udført i USA og Canada for at fastsætte ydeevnen af Bladder EpiCheck til FDA-godkendelse. Kvalificerede forsøgspersoner var en hvilken som helst mandlig eller kvindelig patient på 22 år og derover, der var diagnosticeret med forekomst af eller tilbagevendende urotelialt cellekarcinom (UCC) og er under overvågning for tilbagefald af blærekræft, som havde fået resektet urotelialt cellekarcinom inden for 12 måneder fra baselinebesøg og havde en plan til cystoskopiovervågning. Forsøgspersoner blev udelukket fra undersøgelsen, hvis de havde muskelinvaderende blærekræft. Undersøgelsen omfattede op til 3 besøg: baseline og op til 2 yderligere overvågningsbesøg. Bestemmelse af UCC var enten via cytologisk undersøgelse eller via en kombination af cystoskopi/patologisk undersøgelse. Hvis resultaterne af cytologisk undersøgelse eller kombinationen af cystoskopi/patologisk undersøgelse var positive, var guldstandarden positiv; hvis resultaterne af både cytologisk undersøgelse og kombinationen af cystoskopi/patologisk undersøgelse var negative, var guldstandarden negativ. Tvetydig cytologisk undersøgelse blev anset som negativ. Hvis en forsøgsperson havde en positiv cystoskopi, men den histologiske undersøgelse ikke var til stede (f.eks. var læsionen glimtet), blev forsøgspersonen udeladt fra analysen. Testning ved hjælp af Bladder EpiCheck blev udført på to centrale CLIA-certificerede laboratorier i USA.

Der blev i alt tilmeldt 674 forsøgspersoner til undersøgelsen. For forsøgspersoner, der oplev et tilbagefald (som fastsat ved cytologisk undersøgelse/patologisk undersøgelse), blev det første positive besøg brugt (dvs. det besøg, hvor tilbagefaldet blev diagnosticeret). For forsøgspersoner uden tilbagefald blev det sidste negative besøg brugt til de patienter med mere end 1 besøg. Undersøgelsens population havde en gennemsnitlig alder på 71 år (i intervallet 38-93) med 79 % mænd. Cirka halvdelen af dem havde en tilbagevendende sygdom i anamnesen, hvoraf 62 % var med høj grad, og 60 % havde undergået instillationer siden sidste TURBT.

Ud af de 583 prøver med udtømt urin, der blev opsamlet, fik 449 prøver et gyldigt resultat med EpiCheck og guldstandarden i mindst ét besøg. Se ydeevnen af Bladder EpiCheck i FDA-undersøgelsen i Tabel 20 og Tabel 21.

Tabel 20. Bladder EpiCheck-ydeevne vs. guldstandard – undersøgelse i Nordamerika

Parameter	% (n/N)	95 %-KI
Nøjagtighed	78,8 % (354/449)	74,8 %;82,4 %
Sensitivitet	66,7 % (92/138)	58,4 %;74,0 %
Sensitivitet med høj grad	76,6 % (49/64)	64,9 %;85,3 %
Specificitet	84,2 % (262/311)	79,8 %;87,9 %
PPV	65,3 % (92/141)	57,1 %;72,6 %
NPV	85,1 % (262/308)	80,7 %;88,6 %

Longitudinel analyse

Ud af de 449 prøver med udtømt urin, der havde et gyldigt resultat med EpiCheck® og guldstandarden i mindst ét besøg, påviste resultaterne af den longitudinelle undersøgelse, at 52,6 % ((20/38), 95 %-KI: 37,26 %; 67,52 %) af patienter med et positivt resultat eller en negativ cytologisk undersøgelse eller kombinationen af cystoskopi/patologisk undersøgelse i et af de to første besøg havde et tilbagefald i

et efterfølgende besøg sammenlignet med kun 10,0 % ((10/100), 95 %-KI: 5,53 %; 17,44 %) af patienter med negativt resultat af EpiCheck og cytologisk undersøgelse eller kombinationen af cystoskopi/patologisk undersøgelse.

Resumé af kliniske ydeevneundersøgelser for NMIBC

Der blev udført en litteraturgennemgang i PUBMED den 7. juni 2023 for at identificere alle offentliggjorte fagfællebedømte undersøgelser for Bladder EpiCheck i NMIBC-overvågning. Ud af 21 offentliggjorte artikler blev 7 oprindelige undersøgelser, der rapporterer Bladder EpiCheck-resultater i NMIBC-overvågning, identificeret og medtaget i analysen: en sponsoreret undersøgelse og 6 uafhængige undersøgelser. Bladder EpiCheck påviste konsekvent ydeevne for NMIBC-overvågning på tværs af pivotale og uafhængige undersøgelser, der blev udført i flere forskellige populationer og på flere forskellige laboratorier. Ved en puljet analyse af de uafhængige undersøgelser blev der inkluderet 1.211 NMIBC-overvågningspatienter. Bladder EpiCheck påviste puljet samlet sensitivitet på 76 %, puljet HG-sensitivitet på 91 % og puljet specificitet på 83 %. Puljet HG NPV var 98 % og puljet PPV var 50 %.

Tabel 21. Bladder EpiCheck-ydeevne i NMIBC-overvågning – resumé af dokumentation

Sponsorerede undersøgelser (2)	Undersøgelsesdesign	Evaluerbare forsøgspersoner	Sensitivitet	HG-sensitivitet	Specificitet	NPV	HG NPV	PPV
Pivotal undersøgelse i Nordamerika	PR, BL, MC	449	67 %	77 %	84 %	85 %	95 %	65 %
Pivotal undersøgelse i Europa, Witjes Urol Oncol 2018	PR, BL, MC	353	68 %	89 %	88 %	95 %	99 %	45 %
Uafhængige undersøgelser (6)	Undersøgelsesdesign	Evaluerbare forsøgspersoner	Sensitivitet	HG-sensitivitet	Specificitet	NPV	HG NPV	PPV
Trenti Cancer Cytopathol 2020	PR, SL	432	64 %	79 %	82 %	89 %	98 %	49 %
Pierconti Urol Oncol Semin Orig Investig 2021	RT, SL	375	-	94 %	79 %	-	97 %	65 %
Cochetti Urol Oncol 2022	PR, SC	40	100 %	100 %	91 %	100 %	100 %	90 %
Peña et al. J Clin Med 2022	PR, SC	57	92 %	100 %	82 %	97 %	100 %	60 %
Ragonese et al. Clin Genitourin Cancer 2022	PR, SC	209	80 %	91 %	85 %	89 %	97 %	73 %
Caño Velasco Actas Urol Esp (Engl Ed) 2023*	PR, SC	98	88 %	100 %	91 %	99 %	100 %	47 %
Puljede resultater fra uafhængige undersøgelser		1211	76 %	91 %	83 %	94 %	98 %	50 %

BL, blindet; HG, høj grad; MC, multicenter; PR, prospektiv; RT, retrospektiv; SC, enkeltcenter; *Data, der rapporteres her for gruppen af Peña et al., er lidt forskellige fra publikationen baseret på den afklaring, der blev modtaget fra forfatterne; Witjes et al. Eur. Urol. Oncol. 2018;1:307–313; Trenti et al. Cancer Cytopathol. 2020;128:341–347; Pierconti et al. Urol Oncol Semin Orig Investig. 2021;39:131. e17–21; Cochetti et al. Urol Oncol. 2022;40(3):105.e11-105.e18; Peña et al. J Clin Med. 2022;11(13):3855; Ragonese et al. Clin Genitourin Cancer. 2022;20(4):e271-e275; Caño Velasco et al. Actas Urol Esp (Engl Ed). 2023;S2173-5786(23)00075-6.

Hjælp til detektion af blærekræft

Klinisk specificitet i urologiske patienter uden blærekræft

En prospektiv multicenterundersøgelse blev udført for at fastsætte specificiteten af Bladder EpiCheck-testen i urologiske patienter uden tidligere anamnese eller kliniske tegn på blærekræft. Et hundred og enoghalvfjerds (171) kræftfrie forsøgspersoner med en alder på 22 år og derover, der besøgte den urologiske klinik vedrørende evt. forstyrrelser, der ikke var forbundet med blærekræft, blev rekrutteret på fem amerikanske urologiske klinikker. Forsøgspersoner blev udelukket fra undersøgelsen, hvis de havde kendt aktuel eller tidligere diagnose af både invasiv og ikke-muskelinvasiv blærekræft eller tilstedeværelse af enhver anden kræft. Gennemgang af patientjournal blev udført for at identificere diagnose af urologisk kræft efter 12 og 24 måneder. Et hundred og syvogfyrre (147) forsøgspersoner var kvalificerede og havde en gyldig EpiCheck ved baseline (se demografien i Tabel 22), og 144/141 holdt sig i live og frie for enhver urologisk kræft efter henholdsvis 12 og 24 måneder. Ingen forsøgsperson udviklede urotelial kræft efter 24 måneder. Specificiteten af Bladder EpiCheck i denne undersøgelses population var 98,0 %. Der blev udført kovariansanalyse efter køn, aldersgruppe, etnicitet, race, rygerstatus, årsag til besøg på klinik, type af ikke-kræftrelateret urogenital sygdom, tilstedeværelse af hæmaturi, benign prostatahypertrofi (BPH), urinvejsinfektion (UTI) og seksuelt overførte sygdomme (STD). Ingen statistisk signifikans blev fundet, hvilket betyder, at der ikke var nogen indvirkning af nogen af de testede kovarianter på, hvorvidt de primære analyseresultater kunne anvendes på den testede population.

Tabel 22. Demografi for forsøgspersoner uden urotelialt kræft – kræftfri gruppe

Demografi	
Alder, median (interval)	70 (31-94)
Køn, mand % (N/%)	92 (62,6 %)
Race (N/%)	
Hvid	142 (96,6 %)
Sort eller afroamerikaner	5 (3,4 %)
Asiat	0 (0,0 %)
Indianer eller indfødt i Alaska	0 (0,0 %)
Hawaiianer eller anden beboer på øerne i Stillehavet	0 (0,0 %)
Spansk eller latinamerikansk %	55 (37,4 %)
Rygehistorie (N/%)	
Har aldrig røget	98 (66,7 %)
Tidligere ryger	37 (25,2 %)
Ryger i øjeblikket	12 (8,2 %)
Urologiske klager og betingelser, der er relevante for blærekræft* (N/%)	
Hæmaturi	13 (8,8 %)
Infektion [^]	28 (19,1 %)
Inflammation [§]	7 (4,8 %)
Nyrestenssygdom	15 (10,2 %)
Symptomer i de nedre urinveje (LUTS)	34 (23,1 %)
Andet [∞]	60 (40,8 %)

* Patienter kan have mere end en klage/tilstand

[^] Infektion omfatter: UTI, akut cystitis, akut prostatitis, balanitis, epididymitis, candidase i vulva og vagina

[§] Inflammation omfatter: kronisk cystitis, interstitiel cystitis, uretrit, kronisk prostatitis

[∞] Andet omfatter patienter uden hæmaturi, infektion, inflammation, nyrestenssygdom og/eller LUTS. Det omfatter tilstande som BPH, erektil dysfunktion, atrofisk vaginitis, hydronefroze, testikulær hypofunktion osv.

Klinisk specificitet – krydsreaktivitet

Virkningen af potentiel krydsreaktivitet var vurderet ved hjælp af rester af anonymiserede urinprøver i bank, der blev opsamlet fra patienter, der blev diagnosticeret med forskellige kræfttyper, især kræfttyper, hvor det er mere sandsynligt, at kræftceller løsner sig ind i blæren, såsom renalcellekarcinom (RCC) og prostatakraft samt anden solid og blodkræft.

Et hundred og syvogfyrre urinprøver blev vurderet. Se demografien og sygdomsfordelingen i Tabel 23. Den hyppigste kræftkategori var urogenital med 54 forsøgspersoner (37 %), herunder prostata- og renalcellekarcinom, efterfulgt af gastrointestinal med 26 forsøgspersoner (18 %); 15 forsøgspersoner (10 %) havde gynækologisk kræft, og 10 forsøgspersoner havde blodkræft (7 %). 42 forsøgspersoner (29 %) havde andre typer solid kræft.

Undersøgelsens population havde en gennemsnitsalder på 65 år (i intervallet 27-89) med en lignende procent mellem køn. Næsten alle forsøgspersoner var ikke-rygere eller tidligere rygere, og 12 % af dem var rygere i øjeblikket.

I denne undersøgelse blev der fundet en specificitet på 95 % (140/147: prostata (3), renalcellekarcinom (RCC) (2), livmoder (1), bygspytkirtel (1)) (95 %-konfidensinterval på 90,4 %-98,1 %), som bekræfter den høje specificitet af Bladder EpiCheck hos patienter med anden kræft end blærekræft.

Tabel 23. Demografi for forsøgspersoner uden urotelialt kræft – gruppe med andre kræfttyper

Demografi	N (%)
Alder, median (interval)	67 (27-89)
Køn, mand %	72 (49,0 %)
Race	
Hvid	127 (86,4 %)
Sort eller afroamerikaner	6 (4,1 %)
Asiat	13 (8,8 %)
Indianer eller indfødt i Alaska	1 (0,7 %)
Hawaiianer eller anden beboer på øerne i Stillehavet	-
Spansk eller latinamerikansk %	45 (30,6 %)
Rygehistorie	
Har aldrig røget	85 (57,8 %)
Tidligere ryger	45 (30,6 %)
Ryger i øjeblikket	17 (11,6 %)
Kræfttype (N/%)	
Urogenital kræft, ikke-urotelial kræft	69 (46,9 %)
Ikke-urogenital solid kræft	68 (46,3 %)
Blodkræft/lymfom	10 (6,8 %)

En anden prospektiv enkeltcenterundersøgelse blev udført på en spansk urologisk klinik for ambulante patienter for at vurdere specificiteten af Bladder EpiCheck-testen i en population af urologiske patienter uden tidligere anamnese eller tegn på blærekræft, der ankom med hæmaturi. Der blev i alt tilmeldt 46 patienter til undersøgelsen, hvoraf 31 (67,4 %) var mænd. Tabel 24 viser de kliniske oplysninger for den spanske gruppe.

Tabel 24. Kliniske oplysninger for den spanske gruppe

Diagnose	N (%)
Stene, n (%) ^a	30 (65,2 %)
BPH, n (%) ^a	12 (26,1 %)
Urinvejsinfektion, n (%)	4 (8,7 %)
Andre urologiske tilstande, n (%)	1 (2,2 %)
Niveau af hæmaturi i den opsamlede urinprøve med Roche Combur-Test®	
1	4 (8,7 %)
2	1 (2,2 %)
3	3 (6,5 %)
4	22 (47,8 %)
Negativ	16 (34,8 %)

(a) én patient havde både stene og BPH

I alt fik 43 patienter et gyldigt Bladder EpiCheck-resultat, og alle var negative, hvilket førte til en specificitet på 100,0 % (91,8-100,0 %). Tabel 25 viser specificiteten for den spanske gruppe.

Tabel 25. Specificitet af Bladder EpiCheck ved detektion af blærekræft – spansk gruppe

Diagnose	N	Bladder EpiCheck, negativt	Specificitet (95 %-KI)
Alle	43	43	100,0 % (91,8-100,0 %)
Stene ^a	29	29	100,0 % (88,1-100,0 %)
BPH ^a	11	11	100,0 % (71,5-100,0 %)
UTI	3	3	100,0 % (29,2-100,0 %)

(a) én patient havde både stene og BPH

Sensitivitet af Bladder EpiCheck hos patienter med primær blærekræft

Ud over specificitetsundersøgelserne blev der udført en prospektiv enkeltcenterundersøgelse i Spanien for at vurdere sensitiviteten af Bladder EpiCheck-testen hos patienter med primær blærekræft. Der blev i alt tilmeldt 64 patienter med nydiagnosticeret blærekræft til undersøgelsen; diagnosen blev bekræftet for alle ved hjælp af patologisk undersøgelse. Der blev opsamlet en urinprøve forud for TURBT. Medianalderen var 74 år (intervallet 43-96), og 56 (87,5 %) var mænd. I alt fik 62 patienter et gyldigt Bladder EpiCheck-resultat, hvoraf 41 var positive, hvilket førte til en samlet sensitivitet på 66,1 % (53,0 %-77,7 %). Samlet set blev 40 patienter diagnosticeret med tumorer med høj grad. Sensitiviteten for tumorerne med høj grad var 87,5 % (73,2 %-95,8 %), som var nogenlunde det samme på tværs af alle faser ($p=0,5135$ med Fishers eksakte test). Sensitivitet for lav grad var 27,3 % (10,7 %-50,2 %). Tabel 26 viser den samlede sensitivitet og sensitiviteten efter sygdomsgrad og -fase.

Tabel 26. Sensitivitet af Bladder EpiCheck ved detektion af blærekræft, samlet og efter sygdomsgrad og -fase

Fase og grad	N	Bladder EpiCheck, positiv	Sensitivitet (95 %-KI)
Alle	62	41	66,1 % (53,0 %-77,7 %)
Høj grad ^a	40	35	87,5 % (73,2 %-95,8 %)
Ta	18	17	94,4 % (72,7 %-99,9 %)
T1	14	13	92,9 % (66,1 %-99,8 %)
T2	5	4	80,0 % (28,4 %-99,5 %)
Samtidig CIS ^b	15	14	93,3 % (68,1 %-99,8 %)
Lav grad eller PUNLMP	22	6	27,3 % (10,7 %-50,2 %)

(a) Fem patienter havde ikke oplysninger om fase: 3 med lav grad og 2 med høj grad. (b) Ti patienter havde ikke oplysninger om samtidig CIS.

Bladder EpiCheck-NPV og -PPV ved detektion af blærekræft i forskellige scenarier med sygdomsforekomst i henhold til en samlet sensitivitet på 66,1 %, HG-sensitivitet på 87,5 % og specificitet på 98 %. Tabel 27 viser den beregnede NPV og PPV for detektion af blærekræft.

Tabel 27. Beregnet NPV og PPV med Bladder EpiCheck til detektion af blærekræft

Sygdomsforekomst	1 % forekomst	3 % forekomst	10 % forekomst
Samlet NPV	99,7 %	98,9 %	96,3 %
HG NPV	99,9 %	99,6 %	98,6 %
PPV	25,0 %	50,5 %	78,6 %

Klinisk ydeevne – urotelialt karcinom i de øvre urinveje

Hjælp til detektion og overvågning af tilbagefald af urotelialt karcinom i de øvre urinveje

Tre uafhængige publikationer rapporterede ydeevnen af Bladder EpiCheck ved detektion og overvågning af tumortilbagefald i urotelialt karcinom i de øvre urinveje (UTUC). Samlet set blev 229 patienter omfattet i de rapporterede undersøgelser på følgende måde:

Territo et al.¹¹ tilmeldte prospektivt 95 patienter, hvoraf 83 undergik mindst 1 urinopsamling og fik et gyldigt Bladder EpiCheck-resultat. Medianalderen var 72 år (64-78), og 63 (75,9 %) var mænd. 64 (77,1 %) af patienterne blev henvist til klinikken til vurdering for tilstedeværelse af UTUC grundet mistænkelige symptomer eller fund, og 19 (22,9 %) blev opfulgt for et kendt UTUC. Mange patienter havde anamnese af urotelialt karcinom, 46 (55,4 %), 39 (47,0 %) og 21 (25,3 %) havde henholdsvis tidligere blærekræft, tidligere homolateralt eller kontralateralt UTUC. Urin til Bladder EpiCheck og cytologisk undersøgelse blev opsamlet fra blæren hos patienter med intakt blære (n=72) og fra én eller begge urinledere (n=82). Testernes resultater blev sammenlignet med biopsi af urinleder som referencestandard. Patienter blev udelukket fra analysen, hvis de havde en metakron blæretumor, og hvis Bladder EpiCheck ikke producerede et resultat.

Pierconti et al.¹² udførte en retrospektiv analyse af 134 patienter, 82 patienter med klinisk lokaliseret UTUC af høj grad, som havde undergået en radikal nefrourektomi, og 52 patienter ankom med hæmaturi med et negativt resultat for blærekræft og UTUC via cystoskopi, cytologisk undersøgelse og opfølgning. Patienterne med bekræftet UTUC var mest mænd, 55 (67 %), med en medianalder på 70,5 (45-93); der blev ikke rapporteret nogen demografidata for kontrolgruppen. Urin til Bladder EpiCheck og cytologisk undersøgelse blev opsamlet fra urinlederen i begge grupper ved selektiv ureterkateterisering forudgående for evt. kirurgisk indgreb, hvis det blev udført. Hos kontrolpatienterne blev 20 (38,5 %) diagnosticeret klinisk med stene, og resten, 32 (61,5 %), blev diagnosticeret med inflammatorisk tilstand i den øvre urinvej. Patienter blev udelukket fra analysen, hvis EpiCheck ikke producerede et resultat.

¹¹ Territo A, Gallioli A, Diana P, Boissier R, Fontana M, Gaya JM, Sanguedolce F, Calderón J, Piana A, Fontanet S, Algaba F, Palou J, Breda A. DNA Methylation Urine Biomarkers Test in the Diagnosis of Upper Tract Urothelial Carcinoma: Results from a Single-Center Prospective Clinical Trial. J Urol. 2022 Sep;208(3):570-579. doi: 10.1097/JU.0000000000002748. Epub 2022 May 12. PMID: 35549312.

¹² Pierconti F, Martini M, Fiorentino V, Cenci T, Racioppi M, Foschi N, Di Gianfrancesco L, Sacco E, Rossi E, Larocca LM, Bassi PF. Upper urothelial tract high-grade carcinoma: comparison of urine cytology and DNA methylation analysis in urinary samples. Hum Pathol. 2021 Dec;118:42-48. doi: 10.1016/j.humpath.2021.09.007. Epub 2021 Sep 25. PMID: 34582934.

Pycha et al.¹³ tilmeldte prospektivt 79 patienter, der undergik ureterskopi for mistanke om UTUC, og som producerede 121 urinprøver, hvoraf 97 var evaluerbare til analyse for alle testede urinmarkører. Medianalderen var 71 år (31-90), og 60 (76 %) var mænd. Enogtredive (32 %) patienter havde blærekræft i anamnesen og 10 (10 %) af UTUC i anamnesen. Urin til Bladder EpiCheck, cytologisk undersøgelse og andre urintester blev opsamlet fra ene eller begge urinledere. Testernes resultater blev sammenlignet med biopsi af urinleder som referencestandard. Der blev registreret enogtredive med UTUC: 5 HG og 26 LG.

Resultaterne af de tre undersøgelser er opsummeret i Tabel 28 og Tabel 29.

Tabel 28. Bladder EpiCheck-ydeevne i UTUC – resumé af grupper

Urinkilde	Territo et al.		Pierconti et al.		Pycha et al.	
	Bladder EpiCheck	Cytologisk undersøgelse	Bladder EpiCheck	Cytologisk undersøgelse	Bladder EpiCheck	Cytologisk undersøgelse
Urinleder, n	72		134		97	
Sensitivitet	84,8 %	63,0 %	Ikke relevant	Ikke relevant	65 %	42 %
HG-sensitivitet	95,8 %	80,0 %	97,4 % (91,0 %-99,7 %)	59,0 % (47,3 %-70,0 %)	100 %	100 %
Specifitet	80,6 %	91,7 %	100,0 % (93,0 %-100,0 %)	96,0 % (86,3 %-99,5 %)	79 %	94 %
Blære, n	82		-	-	-	-
Sensitivitet	58,5 %	37,5 %	-	-	-	-
HG-sensitivitet	73,7 %	57,9 %	-	-	-	-
Specifitet	80,6 %	93,7 %	-	-	-	-

(a) 95 %-KI blev ikke rapporteret

Tabel 29 viser HG NPV med Bladder EpiCheck efter urinkilde i forskellige scenarier med sygdomsforekomst (baseret på Territo et al.).

Tabel 29. Beregnet NPV med Bladder EpiCheck i UTUC

HG NPV	1 % forekomst	3 % forekomst	10 % forekomst
Urin fra urinlederen	99,95 %	99,84 %	99,42 %
Urin fra blæren	99,67 %	99,00 %	96,5 %

¹³ Pycha S, Trenti E, Mian C, Schwienbacher C, Hanspeter E, Palermo M, Pycha A, Danuser H, D'Elia C. Diagnostic value of Xpert® BC Detection, Bladder Epicheck®, Urovysion® FISH and cytology in the detection of upper urinary tract urothelial carcinoma. World J Urol. 2023 May;41(5):1323-1328. doi: 10.1007/s00345-023-04350-x. Epub 2023 Mar 16. PMID: 36929411.

Analytisk ydeevne

Alle undersøgelser om analytisk ydeevne, der vises nedenfor, blev udført ved hjælp af ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR-plattformen, medmindre andet specifikt af angivet.

Forkortelser

De viste tabeller i dette afsnit omfatter de opsummerede forkortelser i Tabel 30.

Tabel 30. Forkortelser i forbindelse med analytisk ydeevne

Forkortelse	Betydning
T24	Blærekræft, cellelinje (ATCC, #HTB-4)
LN	Lav negativ
HN	Høj negativ
LP	Lav positiv
HP	Høj positiv
Cml	Kommerciel

Klinisk afskæring

Prøvningens afskæring og proprietære EpiScore-algoritme til Bladder EpiCheck-softwaren blev valideret på et sæt urinprøver, der blev opsamlet fra kontrolpatienter med blærekræft i anamnesen og patienter, der var positive for blærekræft, som blev bekræftet via cystoskopi og patologisk undersøgelse.

Den samlede prøvestørrelse for udviklingen af softwarealgoritmen omfattede 178 prøver, som blev opsamlet i to særskilte sæt: Det første sæt prøver tjente til afskæringsdefinitionen og omfattede 109 prøver, hvoraf 40 blev opsamlet fra kontrolpatienter med blærekræft i anamnesen og 69 fra patienter, der var positive for urotelialt cellegarcinom (UCC), som blev bekræftet via patologisk undersøgelse. Det andet sæt prøver tjente til validering af afskæringen. Sættet omfattede 67 prøver, hvoraf 51 blev opsamlet fra kontrolpatienter med blærekræft i anamnesen og 16 fra patienter, der var positive for UCC, som blev bekræftet ved patologisk undersøgelse. Den afledte Bladder EpiCheck-algoritmes sensitivitet og specificitet sammenlignet med resultatet af patologisk undersøgelse påviste en sensitivitet på 94 % for UCC-tilbagefald og en specificitet på 84 %.

Analytisk sensitivitet: Analytisk grænse for detektion, funktionel grænse for detektion, grænse for detektion af methyleringsniveau og grænse for detektion af tumor

Analytisk grænse for detektion

For at bestemme den analytiske grænse for detektion (aLoD) blev der testet en række fortyndinger bestående af menneskelig DNA. Undersøgelsen blev udført ved hjælp af sæt fra to forskellige fremstillingspartier. Antallet af gentagelser pr. koncentration var n=60 nær LoD-koncentrationen og n=30 ved højere koncentrationer inden for fortyndingsserien. Efter PCR-reaktionerne blev grænsen for detektion fastsat særskilt for hver enkelt BE-markør. Den markørspecifikke aLoD blev fastsat ud fra en PROBIT-regressionsmodel som den laveste koncentration af DNA-input, hvor mindst 95 % procent af målingerne er over den analytiske grænse for blindværdi (Analytical Limit of Blank (aLoB)). Derudover blev den samlede aLoD fastsat ved den laveste koncentration af DNA-input, hvor mindst 95 % procent af målingerne er over aLoB på tværs af alle målloci. Med denne tilgang blev de markørspecifikke aLoD-

værdier fastsat for ABI 7500 Fast Dx PCR-instrumentet. Den samlede aLoD blev fastsat på 5,319 pg/μl, som er aLoD for BE-2-markøren.

En tilsvarende aLoD-undersøgelse blev udført for RGQ real-time PCR-instrumentet. Den samlede aLoD for RGQ blev fastsat på 45,943 pg/μl, som er aLoD for BE-3-markøren.

Funktionel grænse for detektion

Den funktionelle grænse for detektion (Functional Limit of Detection (fLoD)) blev fastsat ved at teste DNA, der blev ekstraheret fra positive kliniske prøver blandet med DNA, der blev ekstraheret fra puljede sunde individer (negative kliniske prøver) for at skabe en klinisk prøve med en EpiScore nær den kliniske afskæring (lav positiv). fLoD blev fastsat ud fra en PROBIT-regressionsmodel som den koncentration, hvor måleresultatet med en sandsynlighed på 95 % og en 90 %-KI producerede en "positiv" klassifikation. Med denne tilgang blev den estimerede fLoD fastsat til at være 0,186 ng/brønd (2,23 ng/prøve).

Grænse for detektion – methylering

Grænsen for detektion af methylering (Methylation Limit of Detection (mLoD)) blev fastsat ved hjælp af en blanding af methyleret og umethyleret syntetisk plasmid-DNA for at oprette en gradient af forskellige niveauer af DNA-methylering. Denne undersøgelse fandt sted i 2 faser. Fase I fastsatte en foreløbig mLoD ved at teste en enkelt PCR-blanding (blanding A) på tværs af en gradient af DNA-blandinger, og fase II bekræftede mLoD fra fase I på tværs af andre 7 PCR-blandinger. Baseret på interpolationen fra en PROBIT-estimering blev mLoD fastsat til at være 0,35 %.

Grænse for detektion – tumor

For at fastsætte grænsen for detektion af tumor (tLoD) blev genomisk DNA ekstraheret fra urinprøver fra patienter med blærekræft og sunde urindonorer og puljet sammen. Positive og negative DNA-puljer blev blandet ved forskellige procenttal for at oprette en række prøver, der spændte mellem 0 og 100 % brøk af tumor-DNA. Den samlede DNA-koncentration blev holdt konstant på 1-2x af Bladder EpiCheck-afskæringen ved utilstrækkelig mængde DNA (IR CQ=32). Baseret på interpolationen fra en PROBIT-estimering blev tLoD fastsat til at være 7,5 %, som svarer til en minimumsmængde tumor-DNA i en klinisk prøve på ca. 0,17 ng.

Specificitet

Interfererende stoffer

Ydeevnen af Bladder EpiCheck blev evalueret med 27 potentielt interfererende stoffer, herunder almindelige urinbestanddele, mikrobielle kontaminanter, terapeutiske stoffer og konserveringsmidler til brug på laboratorier (Tabel 31). Der var ingen tegn på interferens forårsaget af de testede stoffer, med undtagelse af urinsyre ved forhøjede niveauer i urinen over 20 mg/dL.

Tabel 31. Testede interfererende stoffer

Stof	Højest testede koncentration
Mulige urinbestanddele	
Albumin	1,0 g/dl
Ascorbinsyre	500 mg/dl
Bilirubin (konjugeret)	5 mg/dl
Hæmoglobin	100 mg/dl
Protein (menneskelig IgG)	10 mg/dl
Røde blodlegemer (menneskelige)	1 x 10 ⁶ legemer/ml
Hvide blodlegemer (menneskelige)	1 x 10 ⁶ legemer/ml
Natriumklorid	730 mg/dl
Urinsyre	250 mg/dl
Koffein	5 mg/dl
Ætanol	1 % (v/v)
Nikotin	1 mg/dl
Lægemidler	
Paracetamol	40 mg/dl
Ampicillin	600 mg/dl
BCG	20 mg/dl
Doxorubicin-HCl	10 mg/dl
Mitomycin C	10 mg/dl
Nitrofurantion	50 mg/dl
Phenazopyridin-HCl	200 mg/dl
Thiotepa	10 mg/dl
Trimethoprin	50 mg/dl
Mulige mikrobielle kontaminanter	
<i>Candida albicans</i>	10 ⁷ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷ CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁷ CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermis</i>	10 ⁷ CFU/ml
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	10 ⁷ CFU/ml
Uringkonserveringsmidler	
Norgen-urinkonserveringsmiddel – enkelt dosis, kat.nr. 18124	90 µl/ml

Repeterbarhed og reproducerbarhed

Laboratorium til laboratorium

En undersøgelse om repeterbarhed og reproducerbarhed fra laboratorium til laboratorium blev udført for at vurdere variationen i Bladder EpiCheck, når den udførtes på 3 forskellige laboratorier af 2 laboranter på hvert laboratorium i over 3 ikke på hinanden følgende kørselsdage ved hjælp af 6 simulerede prøver med menneskelig DNA. Disse DNA-prøver, der stammede fra 2 forskellige prøvekilder (repræsenterede således differentielt underliggende markørkombinationer), blev præpareret for at repræsentere fire forskellige EpiScore-kategorier med fælles testafskæringen. Det samlede overensstemmelsesniveau var 99 % med konfidens på 98,0% med de forventede resultater, negativ procentvis overensstemmelse (Negative Percent Agreement (NPA)) var 98,6 %, og positiv

procentvis overensstemmelse (Positive Percent Agreement (PPA)) var 100 %. Derudover var overensstemmelsesniveauet med hensyn til forskellige laboratorier over 97 % for hvert laboratorium (Tabel 32). Der var ingen kontrolfejl (plade) (0/54); samlet ugyldig procent var 0,2 % (1/433; 95 %-KI 0,05 %; 1,03 %).

Tabel 32. Reproducerbarhed fra laboratorium til laboratorium med simulerede prøver med menneskelig DNA – NPA, PPA og samlet overensstemmelse pr. sted og prøve

Prøve	DNA-input	Laboratorium 1		Laboratorium 2		Laboratorium 3		Samlet	
		% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI
Negativ									
NPA									
T24 LN	Høj	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
	Lav	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
T24 HN	Høj	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
	Lav	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
Cml. HN	Høj	91,7 % (11/12)	[69,88 %; 98,12 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	97,2 % (35/36)	[88,46 %; 99,38 %]
	Lav	83,3 % (10/12)	[60,08 %; 94,32 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	94,4 % (34/36)	[84,53 %; 98,14 %]
Alle negative		95,8 % (69/72)	[90,02 %; 95,83 %]	100 % (72/72)	[96,38 %; 100 %]	100 % (72/72)	[96,38 %; 100 %]	98,6 % (213/216)	[96,58 %; 99,44 %]
Positiv									
PPA									
T24 LP	Høj	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
	Lav	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
T24 HP	Høj	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
	Lav	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
Cml. LP	Høj	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
	Lav	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (12/12)	[81,60 %; 100 %]	100 % (36/36)	[93,01 %; 100 %]
Alle positive		100 % (72/72)	[96,38 %; 100 %]	100 % (72/72)	[96,38 %; 100 %]	100 % (72/72)	[96,38 %; 100 %]	100 % (216/216)	[98,76 %; 100 %]
Alle prøver									
Overensstemmelse									
Samlet		97,9 % (141/144)	[97,92 %; 99,16 %]	100 % (144/144)	[98,16 %; 100 %]	100 % (144/144)	[98,16 %; 100 %]	99,3 % (429/432)	[98,28 %; 99,72 %]

En yderligere undersøgelse om reproducerbarhed fra laboratorium til laboratorium blev udført på 3 laboratorier for at fastsætte præcision mellem laboratorier ved hjælp af kliniske prøver, der repræsenterede de fire forskellige EpiScore-kategorier. Én laborant kørte testen på hvert laboratorium på 3 forskellige, ikke på hinanden følgende hverdage med et interval på mindst 3 dage mellem kørsler. På hver dags testning kørte hver laborant 4 unikke kliniske prøver ved 2 DNA-koncentrationsniveauer, hvor den lave DNA-koncentration repræsenterede en koncentration, der lå tæt på prøvningens afskæring. Samlet overensstemmelse var 97 %, Negativ procentvis overensstemmelse var 93 %, og positiv procentvis overensstemmelse var 100 % (Tabel 33). Der var ingen kontrolfejl (plade) (0/18); der var en ugyldig procent på 2 % (3/147).

Tabel 33. Reproducerbarhed fra laboratorium til laboratorium med kliniske prøver – NPA, PPA og samlet overensstemmelse pr. sted og prøve

Prøve	DNA-input	Laboratorium 1		Laboratorium 2		Laboratorium 3		Samlet	
		% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI
Negativ									
NPA									
LN	Høj	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
	Lav	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
HN	Høj	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	83,3 % (5/6)	[57,47 %; 94,87 %]	83,3 % (5/6)	[57,47 %; 94,87 %]	88,9 % (16/18)	[75,99 %; 95,29 %]
	Lav	66,7 % (4/6)	[40,94 %; 85,23 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	83,3 % (5/6)	[57,47 %; 94,87 %]	83,3 % (15/18)	[69,42 %; 91,68 %]
Alle negative		91,7 % (22/24)	[75,1 %; 98,2 %]	95,8 % (23/24)	[80,4 %; 99,7 %]	91,7 % (22/24)	[75,1 %; 98,2 %]	93,1 % (67/72)	[88,2 %; 96,0 %]
Positiv									
PPA									
LP	Høj	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
	Lav	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
HP	Høj	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
	Lav	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (6/6)	[78,51 %; 100 %]	100 % (18/18)	[91,64 %; 100 %]
Alle positive		100 % (24/24)	[86,4 %; 100 %]	100 % (24/24)	[86,4 %; 100 %]	100 % (24/24)	[86,4 %; 100 %]	100 % (72/72)	[97,8 %; 100 %]
Alle prøver									
Overensstemmelse									
Samlet		95,8 % (46/48)	[90,4 %; 98,3 %]	97,9 % (47/48)	[93,3 %; 99,4 %]	95,8 % (46/48)	[90,4 %; 98,3 %]	96,5 % (139/144)	[94,0 %; 98,0 %]

Alle prøver undtagen dem med høj negativ havde en overensstemmelse på 100 % med det forventede resultat. Disse uoverensstemmelser opstod dog på alle 3 steder ensartet og ved begge DNA-koncentrationer, og denne prøvekategori er utrolig sjælden (ca. 4,5 % af prøvepopulationen), så risikoen for et resultat med falsk positiv vil være ca. 1 %.

Laborant til laborant og dag til dag

En undersøgelse om repeterbarhed og reproducerbarhed fra laborant til laborant og fra dag til dag blev udført for at vurdere variationen intrakørsel (inden for kørsel), interkørsel (mellem kørsler) og interlaborant (mellem laboranter) for Bladder EpiCheck, når den udførtes af forskellige laboranter over 5 ikke på hinanden følgende dage. Sunde puljer af urindonorere blev tilsat cellelinjemateriale fra blærekræft på forskellige DNA-koncentrationsniveauer for at formulere mindst 4 testprøver, der spændte over det målbare interval for EpiScore-værdier. Samlet overensstemmelse på tværs af prøver og laboranter var 99 %, negativ procentvis overensstemmelse var 99 %, og positiv procentvis overensstemmelse var 99 % (Tabel 34). Derudover var overensstemmelsen inden for hver laborant 99 %. Der var ingen kontrolfejl (plade) (0/54 og 0/18 for henholdsvis hver laborant og hver dag).

Tabel 34. Repeterbarhed fra laborant til laborant – NPA, PPA og samlet overensstemmelse pr. dag og prøve

Prøve	Dag 1		Dag 2		Dag 3		Dag 4		Dag 5		Samlet	
	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI	% (n/N)	95 %-KI
Negativ NPA												
LN	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (50/50)	[94,9 %; 100 %]
HN	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	90 % (9/10)	[59,5 %; 99,3 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	98 % (49/50)	[91,5 %; 99,6 %]
Alle negative	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	95 % (19/20)	[76,4 %; 99,1 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	99 % (99/100)	[94,6 %; 99,8 %]
Positiv PPA												
LP	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	90 % (9/10)	[59,5 %; 99,3 %]	98 % (49/50)	[91,5 %; 99,6 %]
HP	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (10/10)	[78,7 %; 100 %]	100 % (50/50)	[94,9 %; 100 %]
Alle positive	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	100 % (20/20)	[83,9 %; 100 %]	95 % (19/20)	[76,4 %; 99,1 %]	99 % (99/100)	[94,6 %; 99,8 %]
Alle prøver Overensstemmelse												
Samlet	100 % (40/40)	[91,2 %; 100 %]	100 % (40/40)	[91,2 %; 100 %]	97,5 % (39/40)	[87,1 %; 99,6 %]	100 % (40/40)	[91,2 %; 100 %]	97,5 % (39/40)	[87,1 %; 99,6 %]	99 % (198/200)	[96,4 %; 99,7 %]

Parti til parti og instrument til instrument

En undersøgelse om repeterbarhed og reproducerbarhed fra parti til parti og fra instrument til instrument blev udført for at vurdere variabiliteten af Bladder EpiCheck, når den udførtes ved hjælp af flere sætpartier og flere PCR-instrumenter. Sunde puljer af urindonorere blev tilsat cellelinjemateriale fra blærekræft på forskellige inputniveauer for at formulere mindst 4 testprøver, der spændte over intervallet for EpiScore-værdier. Samlet overensstemmelse var 100 % med lavere konfidensgrænse på 99,1 % (Tabel).

Tabel 35. Reproducerbarhed fra parti til parti og fra instrument til instrument – NPA, PPA og samlet overensstemmelse

Prøve	BE, parti 1				BE, parti 2				BE, parti 3			
	PCR-instrument 1		PCR-instrument 2		PCR-instrument 3		PCR-instrument 1		PCR-instrument 1		Samlet	
	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI
Negativ NPA												
LN	100 % (25/25)	90,2 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (14/14)	83,8 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (74/74)	96,5 %
HN	100 % (25/25)	90,2 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (75/75)	96,5 %
Positiv PPA												
LP	100 % (20/20)	88,1 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (70/70)	96,3 %
HP	100 % (25/25)	90,2 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (10/10)	78,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (15/15)	84,7 %	100 % (75/75)	96,5 %
Alle prøver Overensstemmelse												
Samlet	100 % (95/95)	97,2 %	100 % (40/40)	93,7 %	100 % (40/40)	93,7 %	100 % (59/59)	95,6 %	100 % (60/60)	95,7 %	100 % (294/294)	99,1 %

En undersøgelse fra instrument til instrument blev også udført for RGQ real-time PCR-instrumentet. Samlet overensstemmelse var 100 % med lavere konfidensgrænse på 97,8 % (Tabel).

Tabel 36. Reproducerbarhed fra instrument til instrument på Rotor Gene Q-enhed – NPA, PPA og samlet overensstemmelse

Prøve	PCR-instrument 1		PCR-instrument 2		PCR-instrument 3		Samlet	
	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI	% (n/N)	LL 95 %-KI
Negativ NPA								
LN	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (30/30)	91,73 %
HN	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (30/30)	91,73 %
Positiv PPA								
LP	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (30/30)	91,73 %
HP	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (10/10)	78,71 %	100,0 % (30/30)	91,73 %
Alle prøver Overensstemmelse								
Samlet	100,0 % (40/40)	93,66 %	100,0 % (40/40)	93,66 %	100,0 % (40/40)	93,66 %	100,0 % (120/120)	97,80 %

Robusthed

Robustheden af Bladder EpiCheck over for variationer i de optimerede forhold for DNA-fordøjelse og PCR-kørsel blev evalueret under forskellige prøvningsforhold. 4 simulerede DNA-prøver, der repræsenterede det fulde interval for EpiScore-værdier, blev analyseret under hvert forhold. Samlet overensstemmelse var 99% [nedre 95 %-KI: 96,9 %].

En supplerende undersøgelse blev udført for yderligere at påvise Bladder EpiCheck-prøvningens robusthed ved hjælp af fire kliniske prøver, der repræsenterede det fulde interval for EpiScore-værdier, under fem forskellige prøvningsforhold. Samlet overensstemmelse viste sig at være 99,3 % [96,9 %; 99,8 %].

En tilsvarende robusthedsundersøgelse, der kun testede variationerne i de optimerede forhold for PCR-kørsel, blev udført for RGQ Real-Time PCR-instrumentet. Samlet overensstemmelse var 100% [nedre 95 %-KI: 97,9 %].

Effektivitet ved DNA-ekstraktion

Ydeevnen af Bladder EpiCheck DNA-ekstraktion blev evalueret ved hjælp af 47 kliniske urinprøver, der blev opsamlet fra både patienter med blærekræft og sunde donorer. Resultater for alle testede partier var 100 %, som var i overensstemmelse med de forventede resultater. Derudover påviste både positive og negative kliniske prøver en lignende EpiScore-fordeling uanset det anvendte parti af ekstraktionssæt.

Effektivitet og eksklusivitet af fordøjelsesrestriktion

Effektiviteten af fordøjelsesrestriktion blev fastsat ved evaluering af fordøjelse af to syntetiske DNA-sekvenser, der bestod af fordøjelseskontrol (Digestion Control (DC)) og reference for fordøjelseskontrol (Digestion Control Reference (DCR)). Den samlede fordøjelseseffektivitet var større end 99,9 %, hvor den nedre grænse for ensidet 95 %-KI var større end 90 %.

Effektivitet af fordøjelsesrestriktion (eksklusivitet) blev fastsat ved at evaluere fordøjelsen af umethylerede markører for at undgå falske positive resultater. Fordøjelseseffektiviteten var større end 99,9 % for 9 af de 15 Bladder EpiCheck-markører, hvilket sikrer, at intet uspecifikt signal genereres i trinnet med qPCR i Bladder EpiCheck-prøvningen.

Derudover blev der udført en supplerende metaanalyse for at påvise, at hver af de 15 Bladder EpiCheck-markører kan fordøjes 99,9 % eller derover. Den maksimale fordøjelsesprocent blev fastsat til at være >99,99 % for alle 15 biomarkører.

Stabilitet ved frysning/optøning

Testning af stabilitet ved frysning/optøning for tre partier af Bladder EpiCheck-testsættet, der blev opbevaret ved det anbefalede opbevaringsforhold, blev udført på tre særskilte testpunkter (T = 1, 8 og 12 cyklusser). Resultater blev derefter bekræftet i en supplerende undersøgelse ved hjælp af 4 kliniske prøver, der repræsenterede det fulde interval for EpiScore-værdier (LN, HN, LP, og HP) over 2 tidspunkter (1 cyklus og 12 cyklusser). Begge undersøgelser viste ingen signifikante ydeevneændringer og viste lav variabilitet i EpiScore-værdier mellem de 3 tidspunkter.

Stabilitet i realtid og under brug

Testning af stabilitet i realtid og under brug for tre partier af Bladder EpiCheck-testsættet, der var opbevaret ved det anbefalede opbevaringsforhold, blev udført på seks særskilte testpunkter. Undersøgelserne viste ingen signifikant ændring i ydeevne i EpiScore-værdier op til sættets holdbarhedsperiode, der blev defineret som 16 måneder.

Prøvestabilitet

Kliniske prøver, der blev opsamlet fra patienter med blærekræft og normale donorer, blev opdelt i 3 dele og brugt til at evaluere stabiliteten af frisk urin, urinmasse, ekstraheret DNA og fordøjet DNA. Prøver med frisk urin kan opbevares i op til 5 dage ved 2-8 °C; urinmasser kan opbevares i op til 19 dage ved -25°C til -15°C; ekstraheret DNA kan opbevares i op til 30 dage ved -25°C til -15°C, og fordøjet DNA kan opbevares i op til 30 dage ved -25°C til -15°C.

Ordliste

Tabel 37. Ordliste over symboler

Symbol	Standardreference	Symbolnummer	Symboltitel	Beskrivelse
	ISO 15223	5.1.1	Producent	Angiver producenten af den medicinske enhed.
	ISO 15223	5.1.2	Autoriseret repræsentant i EU	Angiver den autoriserede repræsentant i Det Europæiske Fællesskab (EF).
	ISO 15223	5.1.4	Dato for sidste anvendelse	Angiver datoen, hvorefter den medicinske enhed ikke må bruges.
	ISO 15223	5.1.5	Batchnummer	Angiver producentens batchkode, så batchen eller partiet kan identificeres.
	ISO 15223	5.1.6	Katalognummer	Angiver producentens katalognummer, så lægeudstyret kan identificeres.
	ISO 15223	5.1.8	Distributør	Angiver enheden, der distribuerer den medicinske enhed i det lokale område
	ISO 15223	5.1.9	Importør	Angiver virksomheden, der importerer den medicinske enhed i det lokale område
	ISO 152 23	5.3.6	Øvre temperaturgrænse	Angiver den øvre temperaturgrænse, som den medicinske enhed sikkert kan udsættes for.
	ISO 15223	5.3.7	Temperaturgrænse	Angiver temperaturgrænserne, som den medicinske enhed sikkert kan udsættes for.
	ISO 15223	5.4.3	Følg brugsanvisningen	Angiver patientens behov for at læse brugsanvisningen.
	ISO 15223	5.5.1	Medicinsk enhed til in vitro-diagnosticering	Angiver en medicinsk enhed, der er beregnet til brug som medicinsk enhed til in vitro-diagnosticering.
	ISO 15223	5.5.2	Kontrol	Angiver et kontrolmateriale, der er beregnet til at bekræfte ydeevnen for en anden medicinsk enhed.
	ISO 15223	5.5.3	Negativ kontrol	Angiver et kontrolmateriale, der er beregnet til at bekræfte resultaterne i det forventede negative interval.
	ISO 15223	5.5.4	Positiv kontrol	Angiver et kontrolmateriale, der er beregnet til at bekræfte resultaterne i det forventede positive interval.
	ISO 15223	5.5.5	Indeholder tilstrækkeligt til <n> reaktioner.	Angiver det samlede antal tester, der kan udføres med den medicinske enhed.

Symbol	Standardreference	Symbolnummer	Symboltitel	Beskrivelse
	ISO-15223	5.7.10	Entydig enhedsidentifikator	Angiver en transportør, der indeholder oplysninger om entydig enhedsidentifikator
	Globalt harmoniseret system til klassificering og mærkning af kemikalier (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS))	GHS07	Skadelig	Et irriterende stof eller narkotikum, der virker øjeblikkeligt på hud, øjne eller luftveje
	Globalt harmoniseret system til klassificering og mærkning af kemikalier (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS))	GHS08	Sundhedsfare	Et kræftfremkaldende middel (karcinogen) eller stof med åndedræts-, reproduktiv eller organotoksicitet, der forårsager skade med tiden (en kronisk eller langvarig sundhedsfare).
	Globalt harmoniseret system til klassificering og mærkning af kemikalier (Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS))	GHS05	Ætsende	Materialer, der forårsager hudætsning/-forbrændinger eller øjenskade ved kontakt, eller der er ætsende for metaller.

Kontaktoplysninger



Bladder EpiCheck DNA-ekstraktionssættet og Bladder EpiCheck-testsættet fremstilles af: Nucleix Ltd. Pakeris 3, Rehovot 7670203, Israel.

T +972-8-9161616

F +972-8-9166966

 Qarad EC-REP BV, Pas 257, 2440 Geel, Belgien

Find yderligere oplysninger ved at kontakte os på info@nucleix.com eller besøge vores websted www.nucleix.com.

For kundesupport bedes du kontakte Nucleix-kundesupport ved hjælp af kommunikationsformularen i vores Kundeområde på Nucleix-webstedet på: www.nucleix.com/customer-area/ (for at fremsætte en meddelelse skal du logge ind på din konto) eller på support@nucleix.com.

Nucleix, Nucleix-logoet og EpiCheck er varemærker eller registrerede varemærker tilhørende Nucleix, Ltd. Alle andre varemærker tilhører de registrerede ejere.