



ResistancePlus[®] MG

Multiplex realtids-PCR för identifiering av *Mycoplasma genitalium* och detektion av mutationer som förknippas med resistens mot azitromycin



Produkt	Plattform	Storlek (reaktioner)	Katalognr.
ResistancePlus [®] MG FleXible	GeneXpert [®] (I, II, IV, XVI), och Infinity- (48s, 80) instrumentsystem	10	REF S2A-2000410



MedEnvoy
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123
2595 AM The Hague
Nederländerna



SpeedX Pty Ltd
Suite 102 National Innovation Centre
4 Cornwallis Street,
Eveleigh, NSW 2015, Australien
Tel.: +61 2 9209 4170, E-post: tech@speedx.com.au

ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK
Får inte säljas i USA

Innehållsförteckning

1	Avsedd användning.....	4
2	Sammanfattning och förklaring av testet	4
2.1	Patogenbeskrivning.....	4
2.2	Princip för proceduren.....	4
2.3	Princip för tekniken.....	4
3	Kittets innehåll.....	7
4	Leverans och förvaring.....	7
5	Varningar och försiktighetsåtgärder.....	7
5.1	Allmänt	7
5.2	Laboratorium.....	8
5.3	Provhantering.....	8
5.4	Analys/reagens	8
5.5	Säkerhetsåtgärder.....	8
6	Tillhörande produkter och förbrukningsartiklar	9
7	Procedursöversikt	10
8	Detaljerad procedur.....	11
8.1	Insamling, transport och förvaring av prover	11
8.1.1	Validerade provtagningsenheter.....	11
8.1.2	Provtagning, transport och förvaring för Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/A-50)	11
8.1.3	Provtagning, transport och förvaring för Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/G-50)	12
8.1.4	Provtagning, transport och förvaring för Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr URINE/A-50)	12
8.1.5	Provtagning, transport och förvaring för steril urinuppsamlingskopp	13
8.1.6	Provtagning, transport och förvaring för Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ Media (Copan, kat. nr 346C eller 306C (USA))	13
8.1.7	Provtagning, transport och förvaring för Cobas® PCR Media (Roche, kat. nr 06466281190)	13
8.1.8	Provtagning, transport och förvaring för torrsvabb återsuspenderad i 3 mL PBS	13
8.2	Förberedelse av MG FleXible-reaktionsblandning.....	13
8.3	Tillsättning av prov	16
9	Programmering av instrumentet	18
9.1	Importera ADF i programmet.....	18
9.2	Starta testet.....	19
10	Kvalitetskontroll.....	20
11	Instruktioner för <i>ResistancePlus</i> ® MG S2A positiv kontroll	21
11.1	Bruksanvisning.....	21
11.1.1	Förberedelse av prov med positiv kontroll med en mikropipett	21
11.1.2	Förberedelse av prov med positiv kontroll med en överföringspipett	21
12	Tolkning av resultat	23
13	Exempelresultat	25
14	Begränsningar.....	30
15	Prestandaegenskaper	31
15.1	Klinisk prestanda.....	31
15.2	Analytisk prestanda.....	32
15.2.1	Reproducerbarhet.....	32
15.2.2	Analytisk sensitivitet	35
15.2.3	Inklusivitet.....	35



15.2.4	Korsreaktivitet med andra 23S rRNA-mutationer.....	35
15.2.5	Analytisk specificitet	36
15.2.6	Potentiellt interferande substanser	36
15.2.7	Studie av överföringskontamination.....	38
16	Kundtjänst och teknisk service	39
17	Referenser	40
18	Ordlista.....	41

1 Avsedd användning

ResistancePlus[®] Flexible-analysen är ett kvalitativt multiplex *in vitro*-diagnostiskt realtids-PCR för identifiering av *M. genitalium* och detektion av mutationer i 23S rRNA-genen (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *Escherichia coli*-numrering) som förknippas med resistens mot azitromycin (makrolidantibiotika). Det är avsett att hjälpa vid diagnostisering av *M. genitalium* och detekterar mutationer som förknippas med resistens mot azitromycin i *M. genitalium*, och ska användas tillsammans med klinisk och annan laboratorieinformation.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen kan användas med följande provtyper: urin från män och kvinnor, vaginalsvabb, cervixsvabb, rektalsvabb, urinrörsvabb från symptomatiska och asymtomatiska patienter.

Negativa resultat utesluter inte *M. genitalium*-infektioner och ger ingen bekräftelse på känsligheten mot azitromycin, eftersom det kan finnas andra mekanismer till behandlingssvikt.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen är avsedd för användning i professionella miljöer som sjukhus, eller referens- eller statliga laboratorier. Det är inte avsett för självtestning, hemmabruk eller patientnära analyser.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen utförs på GeneXpert[®]-instrumentsystem.

2 Sammanfattning och förklaring av testet

2.1 Patogenbeskrivning

M. genitalium är en liten bakterie som förekommer i mänskliga urogenitala systemet och har förknippats med diverse olika sexuellt överförbara infektioner. Hos män är det den andra vanligaste orsaken till icke-gonokockuretrit (NGU) och ansvarar för 15–40 % av fallen¹. Den förknippas även med prostatit, epididymit och balanopostit, inflammation av slemhinnan på glans penis och preputium². Hos kvinnor förknippas den med cervicit, adnexit (PID), inklusive endometrit (inflammation i livmoderns slemhinna) och salpingit (äggledarinflammation)^{2,3,4}.

Azitromycin används ofta för behandling av *M. genitalium* och för syndromhantering av sexuellt överförbara infektioner som NGU och cervicit. Azitromycin tillhör gruppen makrolidantibiotika och fungerar genom att binda till 23S rRNA för att inhibera proteinsyntes. Punktmutationer i 23S rRNA-genen för *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C och A2059C (*E. coli*-numrering) har förknippats med behandlingssvikt och/eller *in vitro*-resistens mot azitromycin⁵⁻⁸. De vanligaste mutationerna är A2058G och A2059G⁷.

2.2 Princip för proceduren

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen är ett *in vitro*-diagnostiskt realtids-PCR för identifiering av *M. genitalium* och detektion av mutationer i 23S rRNA-genen (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *Escherichia coli*-numrering), som förknippas med resistens mot azitromycin (makrolidantibiotika). **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen utförs på Cepheid GeneXpert[®]-instrumentsystem.

Cepheid GeneXpert[®]-instrumentsystemen integrerar provrening, nukleinsyraamplifiering, PCR-detektion i realtid och rapportering av resultat. Systemet består av ett instrument och en dator, med förinstallerad programvara för att köra analyser och visa resultat. Se relevant bruksanvisning för GeneXpert[®]-instrumentsystem för mer information.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen kräver Flexible-patroner för engångsbruk, i vilka användaren tillsätter provet och PCR-reaktionsblandningen innan patronen laddas i instrumentet.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen innehåller en intern kontroll för att övervaka extraktionseffektivitet och PCR-hämning. De interna kontrollcellerna innehåller den interna kontrollens DNA-mall som tillsätts i provet och samextraheras och samamplifieras i PCR-reaktionen i realtid. Tolkning av resultat från **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen sker automatiskt med GeneXpert[®] Dx-system- eller Infinity Xpertise-programvaran från uppmätta fluorescerande signaler och inbyggda beräkningsalgoritmer för detektion av *M. genitalium* och 23S rRNA-mutationer.

ResistancePlus[®] MG Flexible-analysen använder **PlexPrime**[®]-primrar för känslig och specifik amplifiering av 23S rRNA-mutationsmål och **PlexZyme**[®]-enzymerna för känslig och specifik multiplex PCR-detektion av målsekvenser i realtid.

2.3 Princip för tekniken

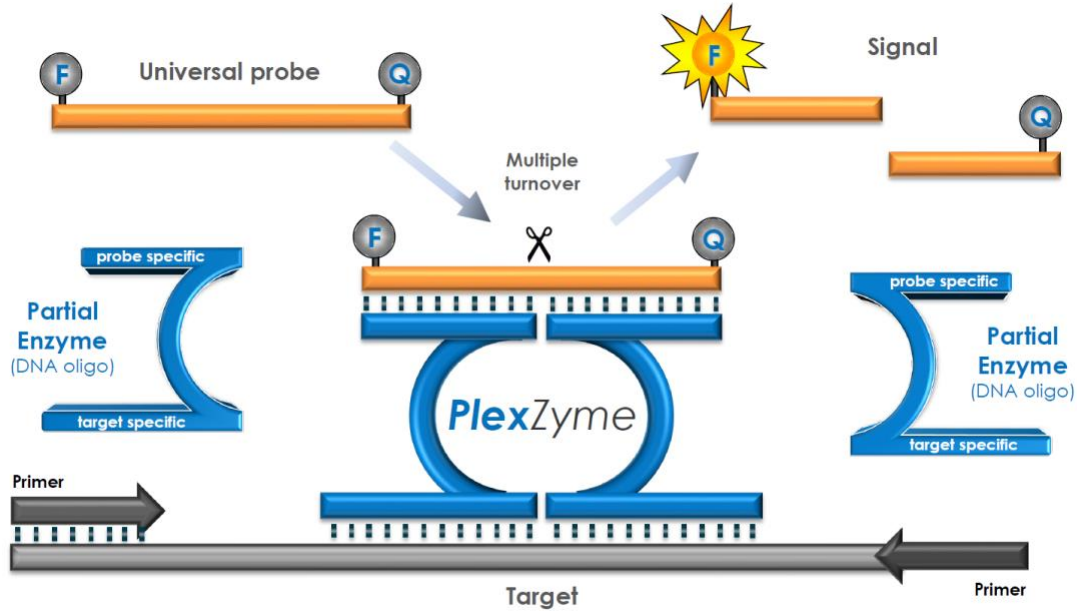
Realtids-PCR (qPCR) kan användas för att amplifiera och detektera specifika målnukleinsyror från patogener. **PlexPCR**[®] är en realtids-PCR-teknik som med hjälp av **PlexZyme**[®]-enzymerna detekterar och rapporterar den amplifierade produkten genom att generera en fluorescerande signal (Figur 1). **PlexPrime**[®]-primrar kan användas för specifik amplifiering av mutantsekvenser som är sammankopplade med mutantspecifik **PlexZyme**[®]-detektion (Figur 2).

PlexZyme[®]-enzymerna är katalytiska DNA-komplex bestående av två DNA-oligos som kallas partiella enzymerna. Varje partiell enzym har ett målspecifikt område, en katalytisk kärna och ett universellt probbindande område. De två partiella enzymerna binder intill varandra när målprodukten är närvarande och formar då det aktiva **PlexZyme**[®] som har katalytisk aktivitet för att klyva en märkt prob. Klyvningen separerar fluoroforen och quencherfärgämnen, och ger en fluorescerande signal som kan kontrolleras i realtid. **PlexZyme**[®]-enzymerna har ytterligare specifitet jämfört med alternativa detektionstekniker,

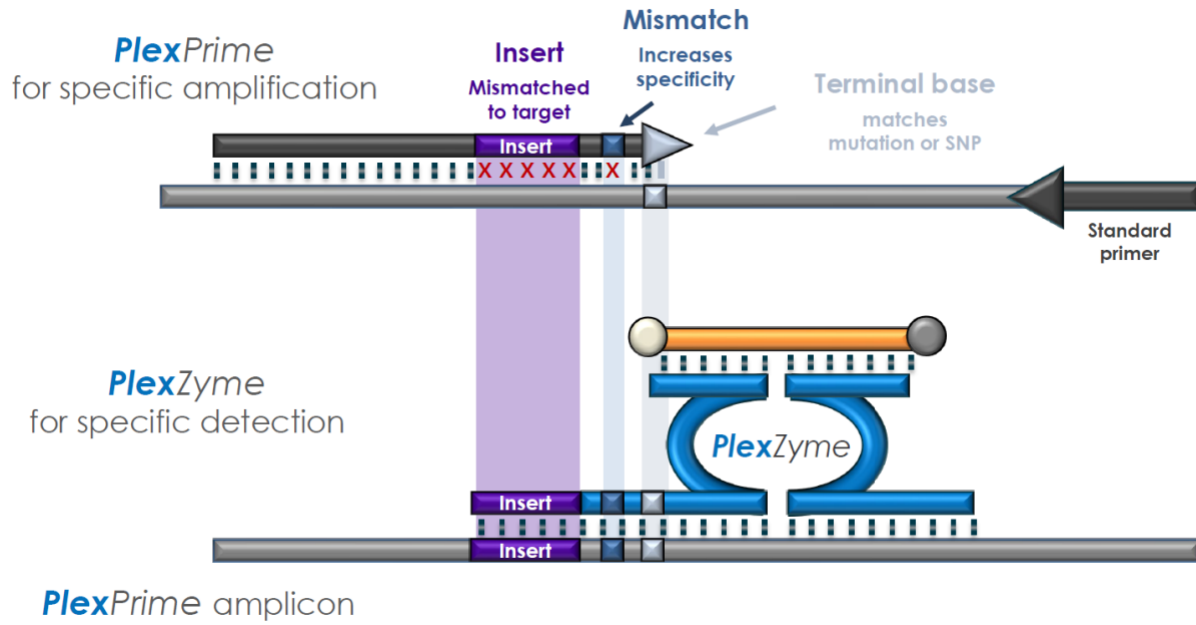
eftersom bindning av två partiella enzymer krävs för detektion. **PlexZyme**[®]-enzymer är också enzymer med multipel omsättning, och multipla prober kan klyvas under varje PCR-cykel, vilket resulterar i en stark och känslig signal. **PlexZyme**[®]-analyser är högeligen sensitiva och specifika, och är idealt lämpade för multiplexdetektion av patogener.

PlexPrime[®]-primrar har tre funktionsområden. Det långa 5'-området ankrar fast primern på en specifik plats och det korta 3'-området väljer selektivt elongering från den muterade basen. En infogningssekvens ligger mellan 5'- och 3'-områdena och fungerar som en brostruktur som infogar måloberoende sekvens i den resulterande ampliconen och ökar det valda trycket i 3'-området. I multiplex är varje **PlexPrime**[®]-primer utformad för att rikta in sig på en specifik mutantbas och inkorporerar en unik infogningssekvens, vilket gör att distinkta mutantampliconsekvenser skapas. Till skillnad från andra probaserade detektionstekniker kan **PlexZyme**[®]-enzymen överlappas med **PlexPrime**[®]-primern för att rikta in sig på den specifika mutantampliconen som innehåller mutantbasen och inkorporerad infogningssekvens. Den unika kombinationen av **PlexPrime**[®]-primrar kopplade till **PlexZyme**[®]-enzymer möjliggör specifik amplifiering av mutantsekvenser, och sensitiv och specifik detektion i multiplex.

Figur 1. Schematisk presentation av **PlexZyme**[®]-detektion och universell signalering



Figur 2. Schematisk representation av *PlexPrime*[®]-primern kopplad med *PlexZyme*[®]-detektion. *PlexPrime*[®]-primern amplifierar specifikt mutantsekvensen och *PlexZyme*[®]-enzymerna detekterar specifikt ampliconen.



3 Kittets innehåll

Antal teser 10 reaktioner

Tabell 1. Innehåll i <i>ResistancePlus</i> [®] MG FlexiBle-kit					
Lådnummer	Artikelnummer	Locketts färg	Innehållsförteckning	Beskrivning	Mängd
1	2000410-R	Blå	<i>Plex</i> Mastermix (<i>Plex</i> Masterblandning), 2x	Masterblandning som innehåller komponenter som behövs för realtids-qPCR, inklusive dNTP:er, DNA-polymeras och buffertlösning	1 x 440 µL
		Brun	MG+23S Mix (MG+23S-blandning), 20x	Blandning som innehåller oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutationer och intern kontroll	1 x 50 µL
		Röd	Internal Control Cells (Interna kontrollceller) [#]	Interna kontrollceller som innehåller intern DNA-mallkontroll för att kontrollera extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 100 µL
		EJ TILLÄMPLIGT	<i>ResistancePlus</i> [®] MG FlexiBle labels (<i>ResistancePlus</i> [®] MG FlexiBle-etiketter) [*]	Patronetiketter innehållande satsspecifik streckkod, mastersatsnummer, utgångsdatum och ADF-information	10 etiketter
		EJ TILLÄMPLIGT	MG FlexiBle Mix label (MG FlexiBle-blandningsetikett)	Etikett för att identifiera kombinerad MG FlexiBle-reaktionsblandning (valfri att använda)	1 etikett
2	2000410-CART	EJ TILLÄMPLIGT	<i>ResistancePlus</i> [®] MG FlexiBle Cartridge (<i>ResistancePlus</i> [®] MG FlexiBle-patron)	Patron för engångsbruk för provbearbetning, nukleinsyraamplifiering och detektion	10 patroner

[#] Förvara mallrören separat från oligoblandningar, dvs. i ett rum för hantering av mallar eller nukleinsyra

[^] Oligonukleotider PCR-primerpar (inklusive *PlexPrime*[®]-primrar), *PlexZyme*[®]-enzymer och fluorescerande prober

^{*} **Kasta inte patronetiketter**

4 Leverans och förvaring

- Analysreagenserna (finns i låda 1) för *ResistancePlus*[®] MG FlexiBle-kitten transporteras på torris eller kylklampar. Analyskomponenterna ska förvaras i -25°C till -15°C från och med mottagandet. Det rekommenderas att begränsa nedfrysnings-/upptiningscyklerna till åtta stycken. Se **avsnitt 8.2** för information om förvaringsvillkor och rekommendationer gällande nerfrysning/upptining för den kombinerade MG FlexiBle-reaktionsblandningen.
- *ResistancePlus*[®] MG FlexiBle-patronerna transporteras och förvaras i 2–28 °C.
- När de förvaras under de rekommenderade förhållandena och hanteras korrekt bevaras kittets aktivitet till och med utgångsdatumet som finns på etiketten. Får inte användas efter utgångsdatumet.
- Allvarliga incidenter ska rapporteras till SpeedX genom att kontakta tech@speedx.com.au

5 Varningar och försiktighetsåtgärder

5.1 Allmänt

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Läs denna bruksanvisning noggrant före användning. Följ procedurerna så som de beskrivs för att säkerställa testresultatens tillförlitlighet. Avvikelser från dessa procedurer kan påverka testprestandan.
- Användare måste vara tillräckligt utbildade i användningen av *ResistancePlus*[®] MG FlexiBle-analysen.
- Allvarliga incidenter ska rapporteras till tillverkaren och behörig myndighet i användarens och/eller patientens medlemsstat.

5.2 Laboratorium

- Grundläggande försiktighetsåtgärder för att förhindra kontaminering av PCR-reaktioner omfattar användningen av sterila filterpipettspetsar för förberedelse av PCR-reaktionsblandning, användningen av en ny pipettspets vid varje pipetteringsåtgärd och separering av arbetsflöde.
- Det rekommenderas att utföra beredning av masterblandning, provtillsats och termocykling i avskilda utrymmen i rummet. PCR-instrumentet bör som ett minimum placeras i ett separat rum till områdena där reaktionerna genomförs.
- Det rekommenderas att rutinemässiga laboratorieförsiktighetsåtgärder följs. Bär lämplig personlig skyddsutrustning t.ex. handskar, skyddsglasögon och laboratorierock vid hanteringen av reagenser.
- Patogena organismer kan förekommer i kliniska prover och använda patroner. Behandla alla biologiska prover och använda patroner som potentiellt infektiösa och följ institutionens säkerhetsprocedurer för hantering av kemikalier och biologiska prover.
- Följ institutionens procedurer för bortskaffande av farligt avfall för korrekt bortskaffande av använda patroner.

5.3 Provhantering

- Prover bör samlas in, transporteras och förvaras enligt standardlaborietetekniker eller enligt insamlingskittets instruktioner.

5.4 Analys/reagens

- Öppna inte patronlocket förutom när du ska tillsätta reaktionsblandningen och provet.
- Använd inte en patron som verkar vara skadad, har blivit tappad eller skakad eller som uppvisar tecken på reagensläckage eller kristallisering.
- Placera inte provets id-etikett på patronlocket eller på streckkodsetiketten.
- Använd inte en patron som har ett skadat reaktionsrör.
- Alla patroner är endast för engångsbruk. Bearbetade patroner får inte återanvändas.
- Använd inte reagenser, patroner eller etiketter från olika mastersatsnummer.
- Analysreagenserna innehåller IDTE-buffert som kan orsaka allvarlig ögonirritation. Användning av ett väl ventilerat område och lämplig personlig skyddsutrustning, såsom handskar, skyddsglasögon samt laboratorierock, rekommenderas vid hantering av reagens.

5.5 Säkerhetsåtgärder



VARNING - Lysisreagens (i patron) innehåller guanidinium thiocyanate

Faroklass:

- Akut oral toxicitet 4.
- Lindrig hudirritation 3.
- Lindrig ögonirritation 2B.

Faroangivelser:

- H302: Skadligt vid förtäring
- EUH301: Utvecklar giftig gas vid kontakt med syra

Skyddsangivelser:

- P264: Tvätta grundligt efter användning.
- P270: Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten.
- P301 + P312: VID FÖRTÄRING: Vid obehag, kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller läkare.
- P330: Skölj munnen.
- P501: Innehållet och/eller behållaren lämnas som avfall enligt lokala, regionala, nationella och/eller internationella bestämmelser.

Säkerhetsdatablad finns tillgängliga på begäran. Kontakta teknisk support som står angiven i **avsnitt 16** för mer information.

6 Tillhörande produkter och förbrukningsartiklar

Material för positiv kontroll

- **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control kit (SpeeDx, kat.nr. S2A-95004)

Allmänna förbrukningsartiklar till laboratoriet

- Handskar och rena laboratorierockar
- Vortexblandare
- Bänkcentrifug för 1,5 mL-rör
- Mikropipetter för intervallet 10–100 µL
- Sterila aerosolresistenta, DNase-/RNase-fria pipettspetsar
- Sterila överföringspipetter med kapacitet på minst 1 mL

För GeneXpert[®]-instrumentet

- GeneXpert[®]-instrumentsystem: GeneXpert[®]-instrument, dator med GeneXpert[®]-programvara version 4.7b eller högre
- Streckkodsläsare

För GeneXpert Infinity-48s eller Infinity-80:

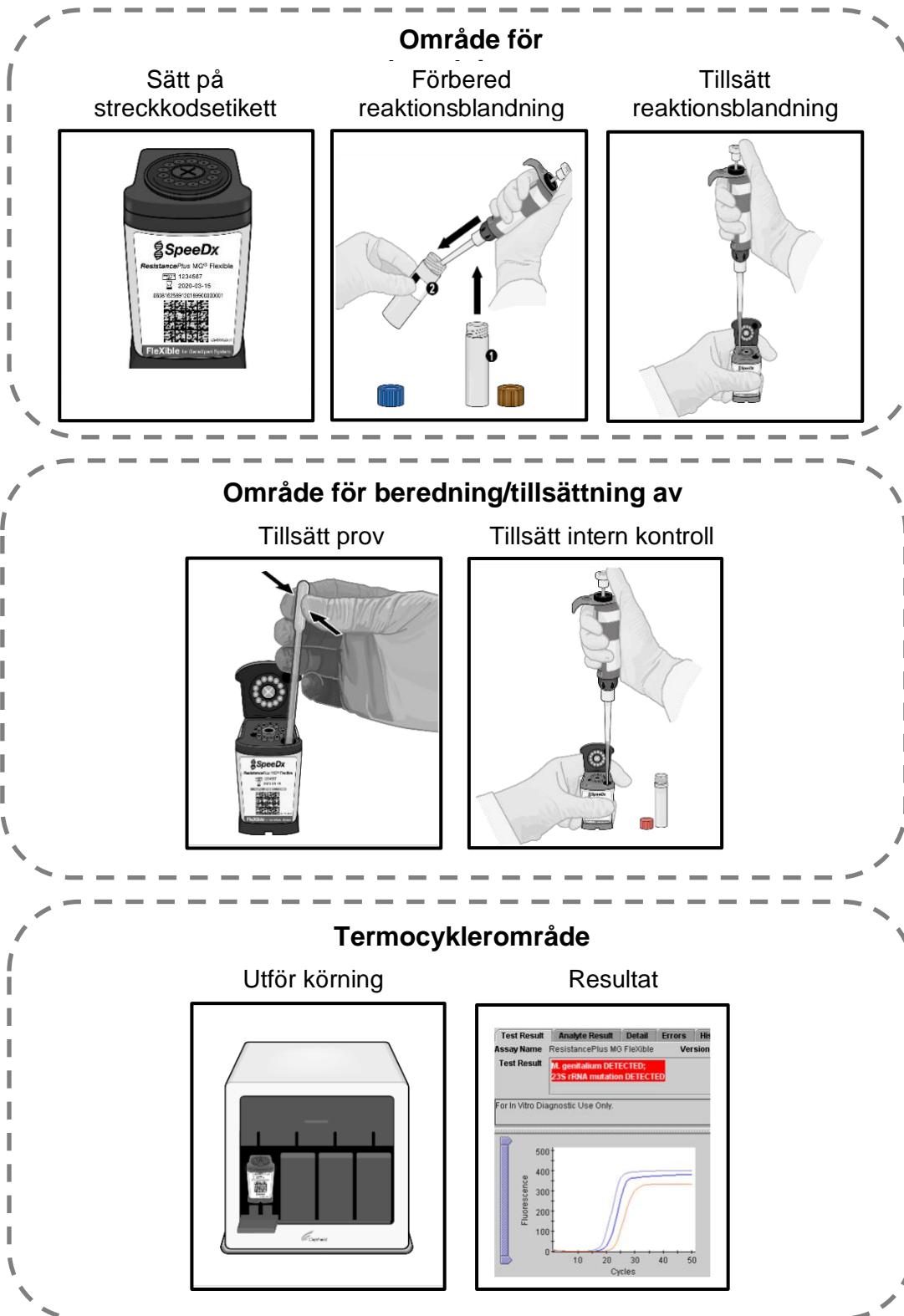
- Xpertise-programvaruversion 6.4b eller senare

Provtagningsenheter

- Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection kit (Cepheid, kat.nr. SWAB/A-50)
- Xpert[®] Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, kat.nr. SWAB/G-50)
- Xpert[®] Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, kat.nr. URINE/A-50)
- Steril uppsamlingskopp för urin
- Regular FLOQSwab[™] i 3 mL UTM[™]-medium (Copan, kat.nr. 346C eller 306C (USA))
- Cobas[®] PCR-medium (Roche, kat.nr. 06466281190)
- Torrsvabb återsuspenderad i 3 mL PBS

7 Procedursöversikt

Figur 3. Procedursöversikt



8 Detaljerad procedur

Obs! Medföljande reagensers namn står skrivna med kursiv text och färgen på behållarens lock står angiven inom parentes.

8.1 Insamling, transport och förvaring av prover

Manlig och kvinnlig urin samt vaginal-, livmoderhals-, rektal- och urinrörssvabbar från symtomatiska och icke symtomatiska patienter ska samlas in, transporteras och förvaras enligt god laboratoriesed eller provtagningskittens instruktioner.

8.1.1 Validerade provtagningsenheter

Otillräcklig eller olämplig provtagning, förvaring och transport kan ge felaktiga testresultat. Lämplig utbildning i provtagning rekommenderas starkt för att säkerställa provets kvalitet och stabilitet.

Provtagningsenheter som har validerats med **ResistancePlus**[®] MG FlexiBle-kitet anges nedan med en kort vägledning beträffande enhetsstillverkarens anvisningar för provtagning, hantering och transport. Dessa anvisningar är inte avsedda att ersätta eller gälla i stället för instruktioner som tillhandahålls av tillverkaren. Läs alltid instruktionerna från tillverkaren av provtagningsenheten för lämpliga provtagningsmetoder.

Utbildad personal måste säkerställa att enhet och metodik förstås på lämpligt sätt innan en provtagningsmetod används. Som minimum ska testbeskrivningen granskas för följande: provtypens indikation, tillräcklig volym, procedur(er), nödvändiga provtagningsmaterial, patientförberedelse och lämpliga hanterings- och förvaringsanvisningar.

8.1.2 Provtagning, transport och förvaring för Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/A-50)

8.1.2.1 Provtagning, transport och förvaring för vaginala svabbprover

Instruktioner för provtagning och transport av kvinnliga vaginala svabbprover med Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/A-50) sammanfattas nedan

1. Öppna den yttre peelpack-förpackningen (som innehåller tvåpacks-kitet) och identifiera den större rengöringssvabben och kasta den.
2. Öppna förpackningen som innehåller Xpert-svabbtransportreagensröret med rosa lock och den individuellt inslagna insamlingssvabben. Lägga röret åt sidan innan du börjar samla in provet.
3. Öppna omslagspappret till insamlingssvabben genom att dra av överdelen på omslagspappret.
4. Ta ut svabben och var försiktig så att du inte vidrör spetsen eller lägger ned den. Om du vidrör den mjuka spetsen, eller lägger ned eller tappar svabben, ska du be om ett nytt insamlingskit.
5. Håll svabben i handen och placera tummen och pekfingeret på mitten av svabbskaftet.
6. För försiktigt in svabben i vagina ca 5 cm (två tum) in i vaginaöppningen och vrid varsamt svabben i 10 till 30 sekunder. Se till att svabben vidrör väggarna i vagina så att fukt sugts upp av svabben.
7. Dra försiktigt ut svabben.
8. Medan du håller svabben i samma hand, ska du skruva av locket från Xpert-svabbtransportreagensröret.
9. Spill inte ut rörets innehåll. Om du spiller ut rörets innehåll ska du be om ett nytt insamlingskit.
10. Placera omedelbart provinsamlingssvabben i transportreagensröret.
11. Identifiera brytningslinjen på insamlingssvabbens skaft. Bryt försiktigt av svabbskaftet längs med sidan på röret vid brytningslinjen och kasta överdelen av svabbskaftet. Var försiktig så att du inte stänker ut innehållet.
12. Sätt tillbaka locket på svabbtransportreagensröret och skruva åt locket ordentligt.
13. Vänd upp och ner på eller skaka röret försiktigt 3–4 gånger för att eluera material från svabben. Undvik att det skummar.
14. Märk transportröret med providentifikationsinformationen, inklusive datum för insamling, enligt vad som krävs.
15. Dekontaminera och kassera prover, reagenser och andra potentiellt kontaminerade material i enlighet med lokala och nationella föreskrifter.
16. Xpert-svabbtransportreagensröret kan transporteras och förvaras vid 2°C till 30°C i upp till 60 dagar.

8.1.2.2 Provtagning, transport och förvaring för endocervikala svabbprover

Instruktioner för provtagning och transport av kvinnliga, endocervikala svabbprover med Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/A-50) sammanfattas nedan

1. Öppna Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen collection Kit.

2. Innan du samlar in det endocervikala provet med Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit, ska du ta bort överskott av slem från livmodertappen och den omgivande slemhinnan med den individuellt inslagna, stora rengöringssvabben. Dra av omslagspappret till rengöringssvabben delvis och ta ut svabben. Rengör livmodertappen och den omgivande slemhinnan och kasta sedan svabben. Obs! Om du samlar in flera prover behöver du bara ta bort överskott av slem en gång.
3. Öppna förpackningen som innehåller Xpert-svabbtransportreagensröret med rosa lock och den individuellt inslagna insamlingssvabben. Lägg röret åt sidan innan du fortsätter.
4. Öppna omslagspappret till insamlingssvabben genom att dra av överdelen på omslagspappret.
5. Ta ut svabben och var försiktig så att du inte vidrör spetsen eller lägger ned den. Om du vidrör den mjuka spetsen, eller lägger ned eller tappar svabben, ska du be om ett nytt insamlingskit.
6. För in insamlingssvabben i den endocervikala kanalen.
7. Vrid svabben försiktigt medurs i 10 till 30 sekunder i den endocervikala kanalen för att säkerställa tillräcklig provtagning.
8. Dra försiktigt ut svabben.
9. Håll svabben i samma hand och skruva av locket från Xpert-svabbtransportreagensröret.
10. Spill inte ut rörets innehåll. Om du spillar ut rörets innehåll ska du be om ett nytt insamlingskit.
11. Identifiera brytningslinjen på insamlingssvabbens skaft. Bryt försiktigt av svabbskaftet längs med sidan på röret vid brytningslinjen och kasta överdelen av svabbskaftet. Var försiktig så att innehållet inte stänker ut.
12. Sätt tillbaka locket på svabbtransportreagensröret och skruva åt locket ordentligt.
13. Vänd upp och ned på eller skaka röret försiktigt 3–4 gånger för att eluera material från svabben. Undvik att det skummar.
14. Märk transportröret med providentifikationsinformationen, inklusive datum för insamling, enligt vad som krävs.
15. Dekontaminera och kassera prover, reagenser och andra potentiellt kontaminerade material i enlighet med lokala och nationella föreskrifter.
16. Xpert-svabbtransportreagensröret kan transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 60 dagar.

8.1.3 Provtagning, transport och förvaring för Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/G-50)

Instruktioner för provtagning och transport av manliga och kvinnliga rektala svabbprover med Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr SWAB/G-50) sammanfattas nedan

1. Öppna Xpert Swab Specimen collection Kit.
2. Öppna den yttre peelpack-förpackningen (som innehåller tvåpacks-kitet) och identifiera den större rengöringssvabben och kasta den.
3. Öppna omslagspappret till insamlingssvabben genom att delvis dra av överdelen på omslagspappret.
4. Ta ut svabben och var försiktig så att du inte vidrör spetsen eller lägger ned den. Om du vidrör den mjuka spetsen, eller lägger ned eller tappar svabben, ska du använda ett nytt Xpert Swab Specimen Collection Kit.
5. För försiktigt in svabben ca 1 cm förbi analsfinktern (så att fiberspetsen inte längre syns) och vrid varsamt.
6. Håll svabben i samma hand och skruva samtidigt av locket från Xpert-svabbtransportreagensröret.
7. Spill inte ut rörets innehåll. Om du spillar ut rörets innehåll ska du använda ett nytt insamlingskit.
8. Placera omedelbart svabben i transportreagensröret.
9. Identifiera brytningslinjen på insamlingssvabbens skaft. Bryt försiktigt av svabbskaftet längs med sidan på röret vid brytningslinjen och kasta överdelen av svabbskaftet. Var försiktig så att innehållet inte stänker ut. Tvätta med tvål och vatten om du exponerats.
10. Sätt tillbaka locket på svabbtransportreagensröret och skruva åt locket ordentligt.
11. Vänd upp och ned på eller skaka röret försiktigt 3–4 gånger för att eluera material från svabben. Undvik att det skummar.
12. Märk transportröret med providentifikationsinformationen, inklusive datum för insamling, enligt vad som krävs.
13. Svabbprover i Xpert-svabbtransportreagensröret kan transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 60 dagar.

8.1.4 Provtagning, transport och förvaring för Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr URINE/A-50)

Instruktioner för provtagning och transport av manliga och kvinnliga urinprover med Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, kat. nr URINE/A-50) sammanfattas nedan

1. Patienten ska inte ha kissat under den senaste timmen före provinsamling. Kvinnliga patienter ska inte ha tvättat labialområdet före insamling av provet. Manliga patienter ska inte ha tvättat penisspetsen före insamling av provet.
2. Instruera patienten att tillhandahålla den initiala urinen (ca 20 till 50 ml av den första urinstrålen) i en urininsamlingskopp utan konserveringsmedel. Insamling av större urinvolymer kan leda till att provet späds ut, vilket kan minska testets känslighet.

3. Se till att urinen blandas väl i urinkoppen innan du överför ett prov till Xpert-urintransportreagensröret.
4. Öppna förpackningen med en kasserbar överföringspipett som ingår i kitet.
5. Ta bort locket från Xpert-urintransportreagensröret och från urininsamlingskoppen.
6. För in överföringspipetten i urinkoppen så att spetsen är nära botten av koppen. Överför ca 7 mL urin till Xpert-urintransportreagensröret med den kasserbara överföringspipetten. Den korrekta volymen av urin har tillsatts när nivån når den svarta, streckade linjen på märkningen på Xpert-urintransportreagensröret.
7. Sätt tillbaka locket på Xpert-urintransportreagensröret och skruva åt ordentligt.
8. Vänd röret upp och ned 3–4 gånger för att säkerställa att provet och reagensen blandas ordentligt.
9. Sätt tillbaka locket på urininsamlingskoppen ordentligt.
10. Märk transportröret med providentifikationsinformation, inklusive datum för insamling, enligt vad som krävs. Dölj inte den streckade linjen på Xpert-urintransportreagensröret.
11. Kvinnliga urinprover i Xpert-urintransportreagensröret kan transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 3 dagar eller vid 2 °C till 15 °C i upp till 45 dagar.
12. Manliga urinprover i Xpert-urintransportreagensröret kan transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 45 dagar.

8.1.5 Provtagning, transport och förvaring för steril urinuppsamlingskopp

En steril urinuppsamlingskopp kan användas för insamling av rent urinprov. På grund av variation, se tillverkarens bipacksedel för lämpliga insamlingsmetoder. Transport och förvaring ska ske i enlighet med god laboratorised.

8.1.6 Provtagning, transport och förvaring för Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ Media (Copan, kat. nr 346C eller 306C (USA))

Instruktioner för provtagning och transport av kvinnliga, vaginala svabbprover med Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ Media (Copan, kat. nr 346C or 306C (USA)) sammanfattas nedan

1. Öppna UTM-kitets förpackning och ta ut provröret och den inre påsen som innehåller den sterila provtagningspinnen.
2. Ta ut den sterila provtagningspinnen ur påsen och ta provet. Se till att provtagningspinnens spets endast vidrör provtagningsstället för att minska kontamineringsrisken.
3. Skruva loss och ta bort provrörets lock efter att provet har tagits och var försiktig så att innehållet inte spills.
4. För in provtagningspinnen i provröret tills brytpunkten är i nivå med provrörets öppning.
5. Böj och bryt provtagningspinnen vid brytpunkten samtidigt som provröret hålls borta från ansiktet. Kassera den avbrutna delen.
6. Skruva på locket till provröret igen och förslut det hermetiskt.
7. Bearbeta provet i UTM inom 48 timmar efter provtagningen och förvara provröret vid 2–25 °C.
8. Vortexa i 20 sekunder före bearbetning för frisättning från provtagningspinnen och homogenisering av provet.

8.1.7 Provtagning, transport och förvaring för Cobas® PCR Media (Roche, kat. nr 06466281190)

Instruktioner för provtagning och transport av manlig och kvinnlig urin med cobas® PCR Media (Roche, Cat no 06466281190) sammanfattas nedan

1. Blanda och överför urinen till cobas® PCR Media-röret med en kasserbar pipett (medföljer ej). Obs! Urin kan förvaras vid 2°C till 30°C i upp till 24 timmar före överföring till cobas® PCR Media-röret.
2. Den korrekta volymen av urin har tillsatts när vätskenivån hamnar mellan de två svarta linjerna på rörets märkning.
3. Sätt tillbaka locket ordentligt på cobas® PCR Media-röret.
4. Vänd röret 5 gånger för att blanda. Provet är nu redo för transport och testing
5. Transportera och förvara cobas® PCR Media-röret som innehåller det stabiliserade urinprovet vid 2°C till 30°C.

8.1.8 Provtagning, transport och förvaring för torrsvabb återsuspenderad i 3 mL PBS

Torrsvabbar kan användas för olika insamlingsprover från klinik eller patient. På grund av variation, se tillverkarens bipacksedel för lämpliga insamlingsmetoder.

8.2 Förberedelse av MG Flexible-reaktionsblandning

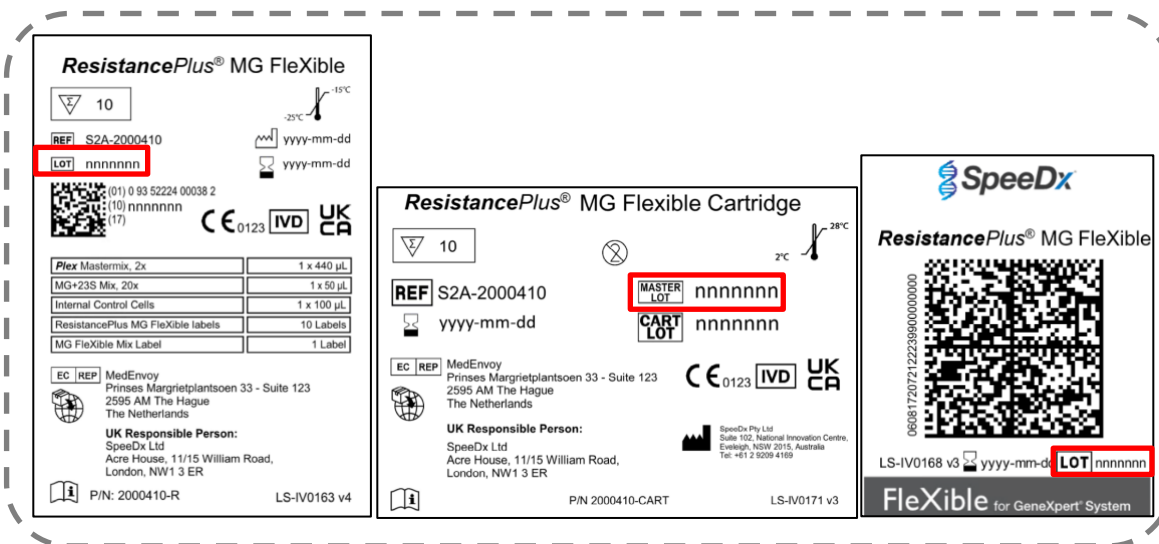
Se **Tabell 1** för beskrivning av kittets innehåll.

Obs! Analyskonfigurationen måste använda samma produktmastersatsnummer för låda 1 (analysreagens), låda 2 (patroner) och **ResistancePlus® MG Flexible-etiketter (Figur 4)** indikeras i rött).

Obs! Kontrollera att patronerna är utan skador och att reaktionsröret är intakt.

Obs! Innan du använder eller märker patronen ska du kontrollera alla reagenser och patroner för att se att utgångsdatumet inte har varit.

Figur 4. MASTERSATSNUMRET måste vara samma på låda 1 (vänster; **ResistancePlus® MG Flexible**-analysreagenser, artikelnummer: 2000410-R), låda 2 (mitten; **ResistancePlus® MG Flexible**-patroner, artikelnummer :2000410-CART) och **ResistancePlus® MG Flexible-etiketter (höger)**



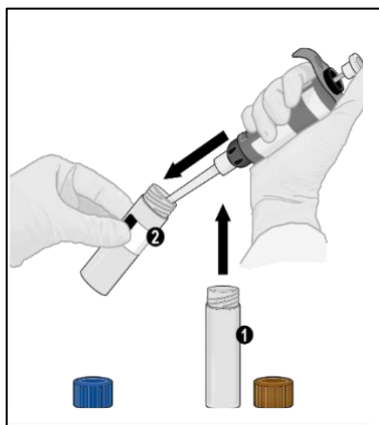
Sätt på **ResistancePlus® MG Flexible-etiketten** på framsidan av patronen så som visas i **Figur 5**.

Figur 5. Sätt på ResistancePlus® MG Flexible-etiketten



Obs! Före användning av reagenser ska de tinas helt och blandas noga genom att vortexa snabbt.

För att göra MG Flexible-reaktionsblandningen ska du pipettera 44 µL av **MG+23S-blandningen (BRUN)** i **Plex-masterblandningsröret (BLÅTT)** så som visas i **Figur 6**. Denna reaktionsblandning räcker till tio reaktioner.

Figur 6. Göra MG Flexible-reaktionsblandningen

(Valfritt) För förvaring av överbliven kombinerad MG Flexible-reaktionsblandning kan innehållet ligga kvar i **Plex-masterblandningsröret (BLÅTT)** och röret kan märkas med hjälp av etiketten för *MG Flexible-blandning*. Skriv beredningsdatumet på etiketten.

- Den kombinerade MG Flexible-reaktionsblandningen kan förvaras i -25°C till -15°C i upp till åtta veckor. Det rekommenderas att begränsa nedfrysnings-/upptiningscyklerna till åtta stycken.

Sätt tillbaka och dra åt locket på **Plex-masterblandningsröret (BLÅTT)**. Vortexa så som visas i **Figur 7**.

Figur 7. Vortexa MG Flexible-reaktionsblandning

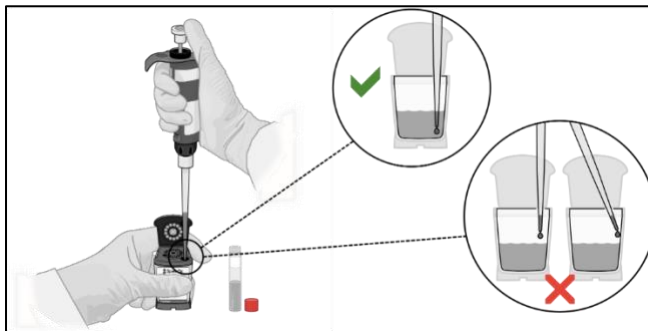
Kassera **MG+23S-blandningsröret (BRUNT)**.

Öppna patronlocket.

Pipettera 44 μL av den kombinerade MG Flexible-reaktionsblandningen i reaktionskammaren (liten öppning på vänster sida av patronen så som visas i **Figur 8**). För in spetsen vertikalt så långt det går i kammaren innan du släpper ut lösningen. Knacka försiktigt på patronens undersida mot skåpet för att få lösningen att lägga sig.

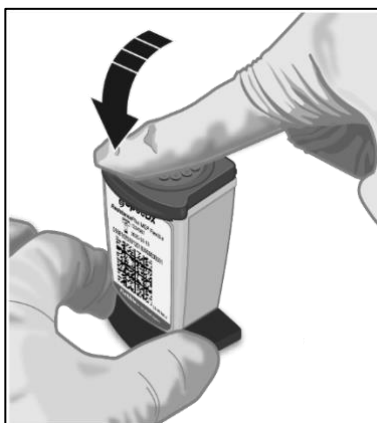
Figur 11. Se till att spetsen är nedsänkt i provet innan du släpper ut de *interna kontrollcellerna*. Du får inte blanda eller skaka patronen.

Figur 11. Tillsätt interna kontrollceller



Stäng patronlocket så som visas i **Figur 12**.

Figur 12. Stäng locket



Obs! Patronen ska laddas inom 30 minuter efter beredning.

9 Programmering av instrumentet

ResistancePlus® MG FleXible-analysen måste köras på ett GeneXpert®-instrumentssystem med GeneXpert®-programvara version 4.7b eller senare eller Infinity Xpertise-programvaruversion 6.4b eller senare.

ResistancePlus MG FleXible-analysdefinitionsfilen (ADF) måste importeras i programmet innan testet körs för första gången.

Obs! Stegen nedan baseras på GeneXpert® -programvaruversion 4.7b och kan skilja sig åt om systemets standardarbetsflöde har ändrats av systemadministratören

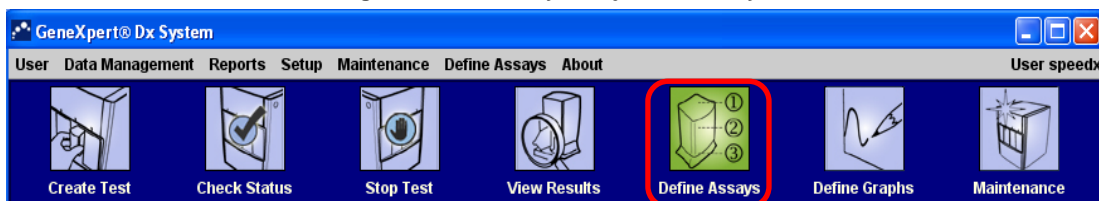
9.1 Importera ADF i programmet

I huvudmenyn i GeneXpert® Dx-programmet

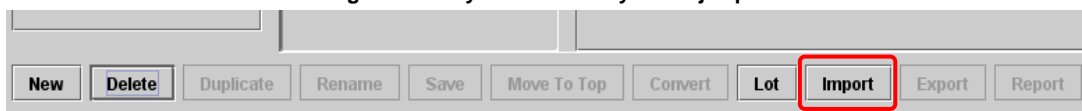
Välj **Define Assays** (Figur 13)

Välj **Import** (Figur 14)

Figur 13. Huvudmeny – Välj Define Assays

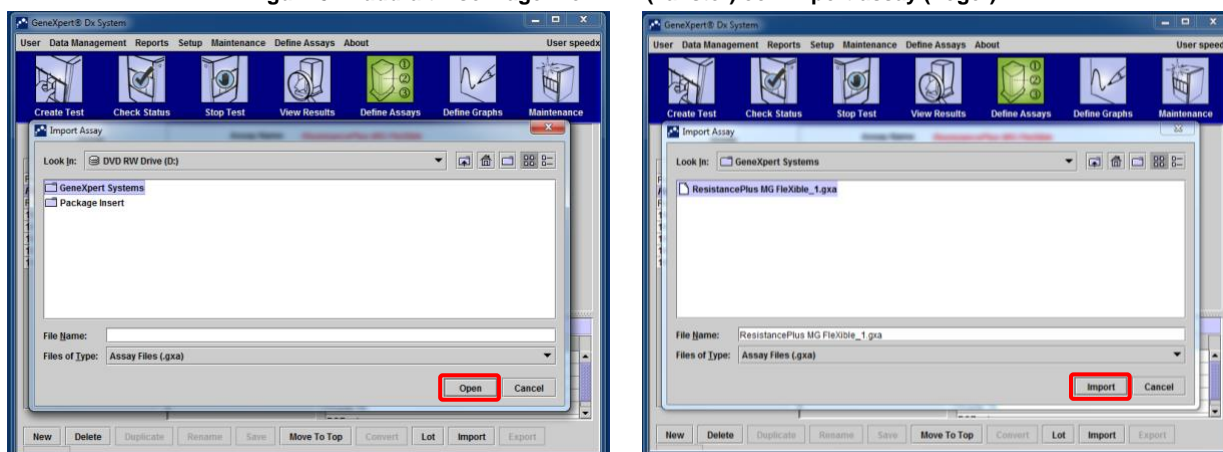


Figur 14. Meny Define Assays – Välj Import



I fönstret **Import Assay** bläddrar du till sökvägen för ADF och väljer **Import** (Figur 15)

Figur 15. Bläddra till sökvägen för ADF (vänster) och Import assay (höger)



I Infinity Xpertise-programvaran väljer du **Hem**-ikonen för att visa startsidan för Xpertise-programvaran

Välj knappen **Inställning**

I menyn Inställning väljer du **Hantera analyser**

I arbetsytan Hantera analyser klickar du på **Importera**. Dialogrutan Importera analys visas.

Bläddra till platsen för ADF, och klicka sedan på knappen **Öppna** på dialogrutan Importera analys.

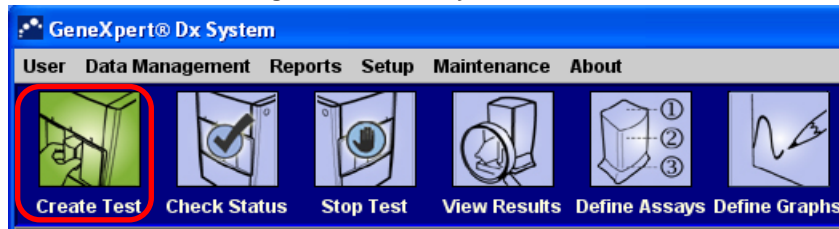
9.2 Starta testet

Obs! Stegen nedan kan skilja sig åt om systemadministratören har ändrat systemets standardarbetsflöde.

I huvudmenyn i GeneXpert® Dx-programmet

Välj **Skapa test** (GeneXpert Dx **Figur 16**) eller välj **Order** och **Ordertest** (Infinity Xpertise)

Figur 16. Huvudmeny – Create test



På fönstret Skapa test i GeneXpert® Dx-programvaran (**Figur 17**) eller arbetsytan Ordertest i Infinity Xpertise-programvaran:

Ange **Patient ID** (valfritt) genom skanning eller genom att skriva manuellt

Ange **Sample ID** genom skanning eller genom att skriva manuellt

Välj **Scan Cartridge Barcode**

Skanna streckkoden på **ResistancePlus®** MG Flexible-etiketten. Med hjälp av informationen från streckkoden fyller programmet automatiskt i rutorna för följande fält:

- Select Assay
- Reagent Lot ID
- Cartridge SN
- Expiration Date

Obs! Om streckkoden på **ResistancePlus®** MG Flexible-etiketten inte går att skanna ska du kontakta den tekniska supporten (**avsnitt 16**) för att få hjälp.

För **Select Assay**

Kontrollera att **Name** visas som "**ResistancePlus MG Flexible**"

Gör så här för att starta testet på GeneXpert® Dx-instrumentet:

Klicka på **Select Module** och välj önskad modul

Välj **Start Test** (ange lösenord om det behövs)

En blinkande grön lampa indikerar vald modul.

Ladda patronen med reaktionsröret pekande mot modulens baksida

Stäng modulluckan

Den gröna lampan slutar blinka och övergår till att lysa för att indikera att testet körs

Gör så här för att starta testet på GeneXpert® Infinity-instrumentet:

Välj **Skicka** (ange lösenord om det behövs)

Placera patronen på transportbandet

Infinity-instrumentet laddar patronen och kör testet automatiskt

När testet avslutats:

För GeneXpert® Dx-instrumentet:

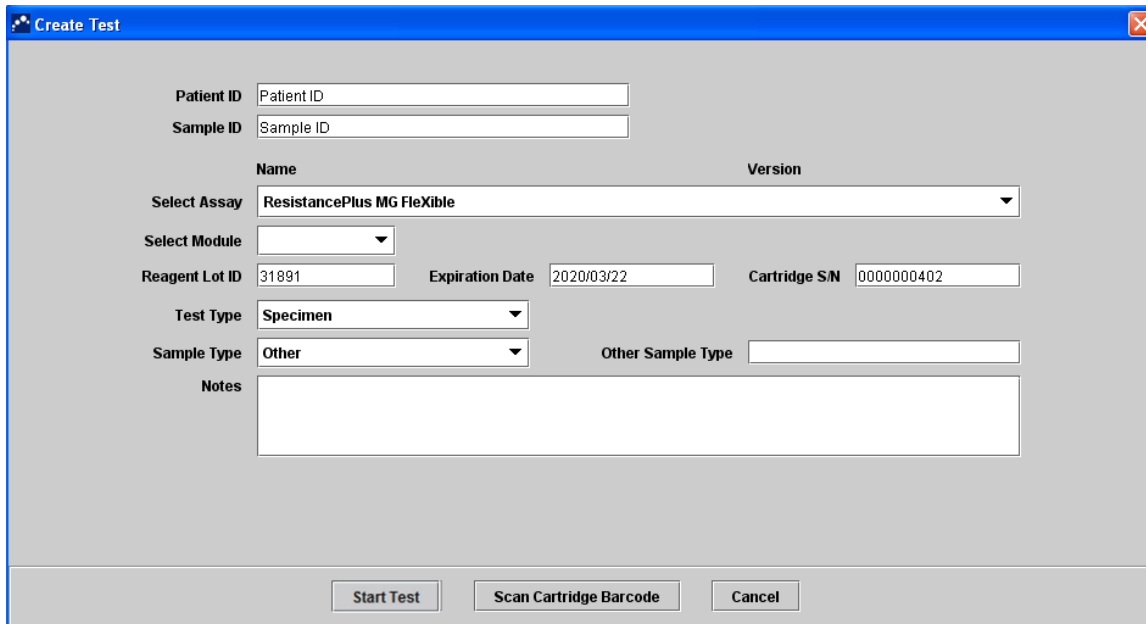
Lampan slocknar och luckan öppnas

Patronerna måste tas bort manuellt och ska kasseras enligt gällande procedurer för kassering av farligt avfall

För GeneXpert Infinity-instrumentet:

Patronen som används placeras automatiskt i avfallsbehållaren

Figur 17. Fönstret Create Test



The screenshot shows the 'Create Test' window with the following fields and options:

- Patient ID: Patient ID
- Sample ID: Sample ID
- Select Assay: ResistancePlus MG Flexible
- Select Module: [Dropdown]
- Reagent Lot ID: 31891
- Expiration Date: 2020/03/22
- Cartridge S/N: 0000000402
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Other Sample Type: [Text Field]
- Notes: [Text Area]

Buttons at the bottom: Start Test, Scan Cartridge Barcode, Cancel

10 Kvalitetskontroll

Varje test innehåller en internkontroll och en probkontroll (PCC).

Den interna kontrollen (IC) övervakar extraktionseffektivitet och PCR-hämning. De *interna kontrollcellerna* är *Escherichia coli*-celler som innehåller den interna kontrollens DNA-mall som tillsätts i provet och samextraheras och samamplifieras i reaktionen. IC är giltig om den uppfyller acceptanskriterierna. För ett analytnegativt prov måste IC vara giltigt för att provet ska fastställas som ett giltigt negativ. För ett analytpositivt prov påverkar inte IC-intervallet det totala testresultatet.

Innan PCR startas utförs en probkontroll av GeneXpert-systemet. Den fluorescerande signalen mäts för att kontrollera att blandningen laddats, att reaktionsröret fylls, att proben är intakt och att färgämnet är stabilt. Probkontrollen är godkänd om den uppfyller de validerade acceptanskriterierna.

Externa kontroller (positiva och negativa kontroller) ska köras enligt institutionens regler. **ResistancePlus**® MG S2A Positive Control-kittet rekommenderas som positivt kontrollmaterial för nukleinsyraamplifiering. Se **avsnitt 11** för instruktioner gällande **ResistancePlus**® MG S2A Positive Control. Ett känt negativt prov rekommenderas för användning som en negativ kontroll.

11 Instruktioner för *ResistancePlus*[®] MG S2A positiv kontroll

ResistancePlus[®] MG S2A Positive Control-kittet innehåller positivt kontrollmaterial för *M. genitalium* 23S rRNA-mutanter och *M. genitalium* 23S rRNA vildtyp (**Tabell 2**).

Tabell 2. Kitinnehåll för <i>ResistancePlus</i> [®] MG S2A Positive Control-kittet			
Lockets färg	Innehållsförteckning	Beskrivning	Mängd
Vit	MG, 23S rRNA wild type (MG, 23S rRNA vildtyp)	Positiv kontrollmall för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA vildtyp	2 x 100 µL
Grön	MG, 23S rRNA A2058G	Positiv kontrollmall för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058G mutation	2 x 100 µL
Orange	MG, 23S rRNA A2059G	Positiv kontrollmall för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2059G mutation	2 x 100 µL
Blå	MG, 23S rRNA A2058T	Positiv kontrollmall för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058T mutation	2 x 100 µL
Gul	MG, 23S rRNA A2058C	Positiv kontrollmall för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058C mutation	2 x 100 µL
Neutral	Dilution Buffer (Spädningsbuffert)	Utspädningsmedel	10 x 1 mL

11.1 Bruksanvisning

Obs! Före användning av reagenser ska de tinas helt och blandas noga genom att vortexa snabbt.

Förbered MG FlexiBle-reaktionsblandningen enligt anvisningarna i **avsnitt 8.2**.

11.1.1 Förberedelse av prov med positiv kontroll med en mikropipett

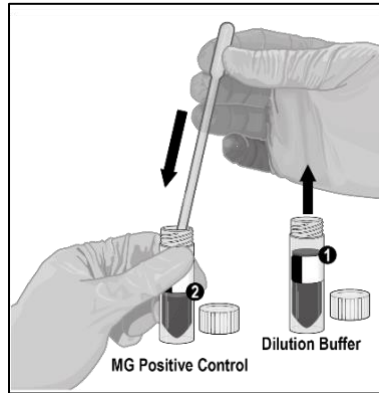
- Pipettera 1 mL *spädningsbuffert* (**NEUTRAL**) i ett rör med positiv kontroll (t.ex. *MG, 23S rRNA vildtyp* (**VIT**)).
- Sätt tillbaka pipetten och dra åt locket. Vortexa röret.
- Tillsätt 1 mL av det utspädda provet med positiv kontroll i en patron enligt anvisningarna i **avsnitt 8.3**.
- Starta test av positiv kontroll enligt anvisningarna i **avsnitt 9.2**.

11.1.2 Förberedelse av prov med positiv kontroll med en överföringspipett

- Öppna locket till röret med *spädningsbufferten* (**NEUTRAL**). Tryck ihop blåsan på överföringspipetten, för långsamt in spetsen i röret med *spädningsbuffert* så att den befinner sig ca en fjärdedel från botten. **Släpp långsamt** blåsan för att fylla överföringspipetten samtidigt som du flyttar spetsen mot botten av röret (**Figur 18**). Se till att överföringspipetten fylls ungefär till markeringen för 1 mL.
- För in överföringspipetten i röret med positiv kontroll (t.ex. *MG, 23S rRNA vildtyp* (**VIT**)) så att den vidrör den invändiga väggen och släpp **långsamt** ut *spädningsbufferten* från överföringspipetten. Ta ut överföringspipetten ur röret.
- Tryck ihop blåsan på överföringspipetten, för långsamt in överföringspipettens spets i den utspädda positiva kontrollen under vätskenivån och släpp **långsamt** blåsan samtidigt som du långsamt flyttar spetsen mot botten av röret. Se till att överföringspipetten fylls ungefär till markeringen för 1 mL.
- Dispensera 1 mL av det utspädda provet med positiv kontroll i en patron enligt anvisningarna i **avsnitt 8.3**.
- Starta test av positiv kontroll enligt anvisningarna i **avsnitt 9.2**.

Se **avsnitt 13** för exempelresultat.

Figur 18. Tillsätt 1 mL spädningsbuffert i den MG-positiva kontrollen



12 Tolkning av resultat

Tolkning av resultaten från *ResistancePlus*[®] MG Flexi[®]le-analysen sker automatiskt av GeneXpert[®]-systemprogramvaran med hjälp av uppmätta fluorescerande signaler och inbyggda beräkningsalgoritmer.

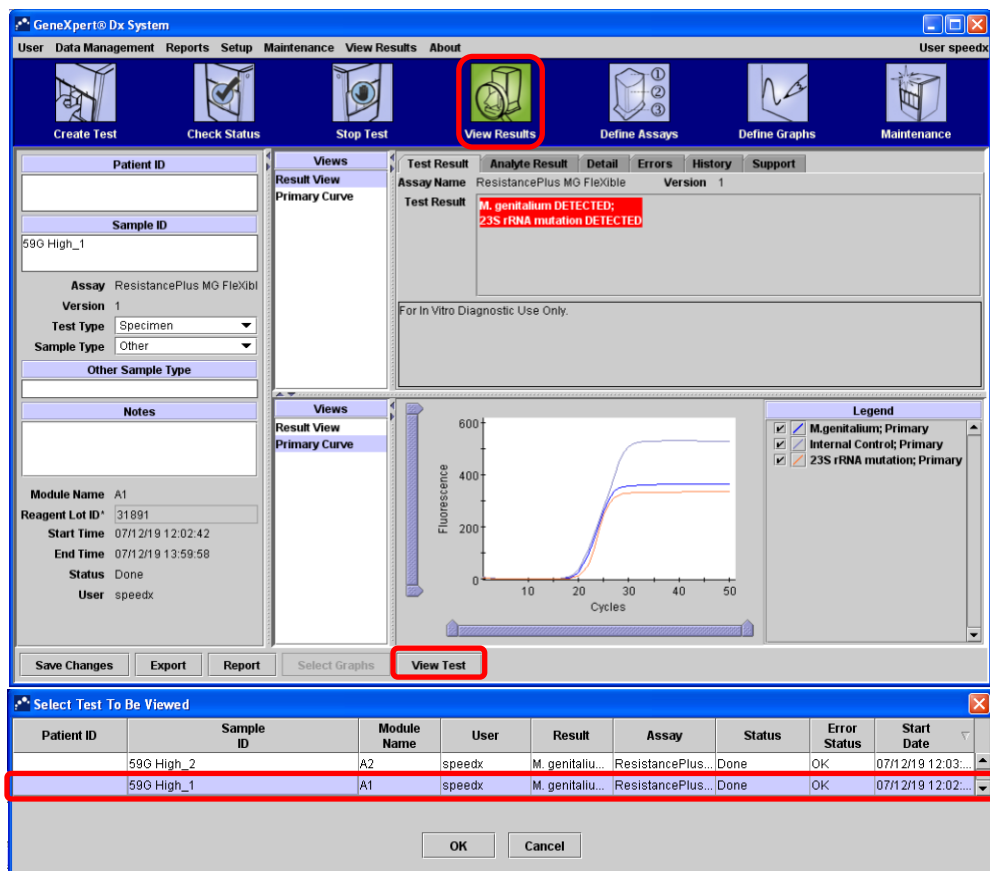
I huvudmenyn i GeneXpert[®] Dx-programmet

Välj **View Results** (Figur 19) > välj **View Test**

I fönstret **Select Test to Be Viewed**

Välj önskat test och tryck på **OK**

Figur 19. View Results (skärmen kan variera beroende på användarinställningar)



The screenshot shows the GeneXpert Dx System interface. The 'View Results' menu item is highlighted in red. The main window displays the following information:

- Test Result:** M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED
- Assay Name:** ResistancePlus MG Flexible
- Version:** 1
- Test Type:** Specimen
- Sample Type:** Other
- Module Name:** A1
- Reagent Lot ID:** 31891
- Start Time:** 07/12/19 12:02:42
- End Time:** 07/12/19 13:59:58
- Status:** Done
- User:** speedx

The 'Select Test To Be Viewed' dialog box is open, showing a table with the following data:

Patient ID	Sample ID	Module Name	User	Result	Assay	Status	Error Status	Start Date
59G High_2		A2	speedx	M. genitaliu...	ResistancePlus...	Done	OK	07/12/19 12:03...
59G High_1		A1	speedx	M. genitaliu...	ResistancePlus...	Done	OK	07/12/19 12:02...

I fönstret **View Results**

I **Views** > välj **Result View**

> Välj fliken **Test Result** för att visa totala testresultat

> Välj fliken **Analyte Result** för att visa Ct-värden för alla analyser

I **Views** > välj **Primary curve** för att visa amplifieringskurvan

I programvaran Infinity Xpertise väljer du knappen **Results**. Menyn Results visas.

I menyn Results väljer du knappen **View Results**. Fönstret View Results visas.

I fönstret View Results

> Välj fliken **Test Result** för att visa totala testresultat



- > Välj fliken **Analyte Result** för att visa Ct-värden för alla analyter
- > Välj **Förstärkningskurva** för att visa förstärkningskurvor

OBS! Det rekommenderas att amplifieringskurvor bekräftas för alla positiva prover.

13 Exempelresultat

Följande exempel visar totala testresultat från fliken Test Result samt amplifieringskurvor och analyt-Ct:er från fliken Analyte Result i fönstret View Results i GeneXpert® Dx-programmet.

Exempel 1. *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantprov

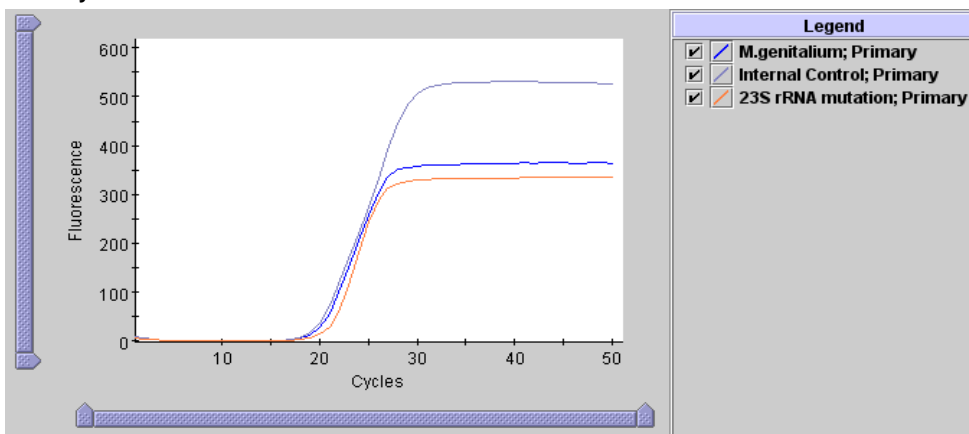
Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name		ResistancePlus MG Flexible	Version 1		
Test Result		M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Resultatvy > fliken Analyte Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	20.6	364	POS	PASS	
Internal Control	20.4	527	NA	PASS	
23S rRNA mutation	21.1	334	POS	PASS	

Primary Curve



Testresultat	Tolkning
M. genitalium DETEKTERAD; 23S rRNA-mutation DETEKTERAD	<p><i>M. genitalium</i> och 23S rRNA mutationsmål-DNA detekterad</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR-amplifiering av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA-mutationsmål ger Ct:er inom ett giltigt intervall • Intern kontroll: Ej tillämpligt (NA) när <i>M. genitalium</i> detekteras • Probkontroll: GODKÄNT; Alla probkontroller har godkänt resultat

Exempel 2. *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtypsprov

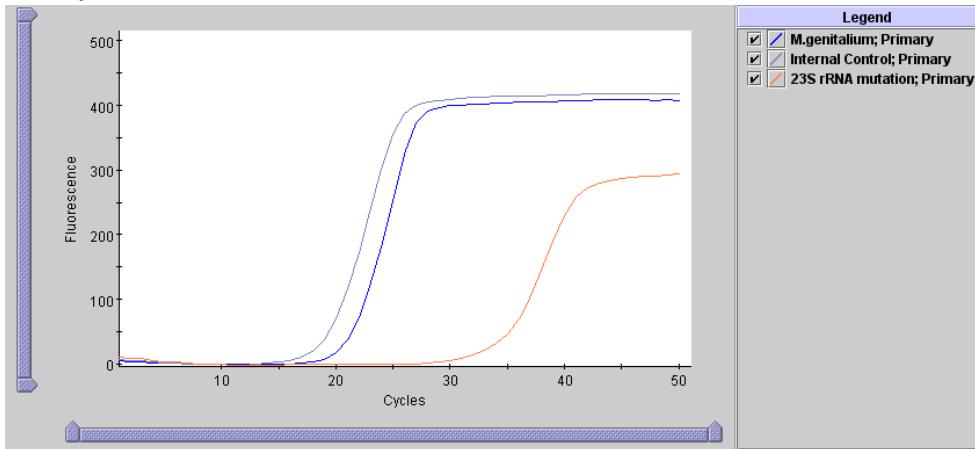
Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name ResistancePlus MG Flexible Version 1					
Test Result <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px;">M. genitalium DETECTED;</div> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px;">23S rRNA mutation NOT DETECTED</div>					
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Resultatvy > fliken Analyte Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	21.2	408	POS	PASS	
Internal Control	19.4	418	NA	PASS	
23S rRNA mutation	33.9	293	POS	PASS	

Primary Curve



Testresultat	Tolkning
<div style="background-color: red; color: white; padding: 2px;">M. genitalium DETEKTERAD;</div> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px;">23S rRNA-mutation EJ DETEKTERAD</div>	<p><i>M. genitalium</i>-mål-DNA detekterad; 23S rRNA mutationsmål-DNA ej detekterad</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR-amplifiering av <i>M. genitalium</i>-mål ger en Ct inom det giltiga intervallet; 23S rRNA-mutationsmål är frånvarande eller inte inom det giltiga intervallet • Intern kontroll: Ej tillämpligt (NA) när <i>M. genitalium</i> detekteras • Probkontroll: GODKÄNT; Alla probkontroller har godkänt resultat

Exempel 3. *M. genitalium*-negativt prov

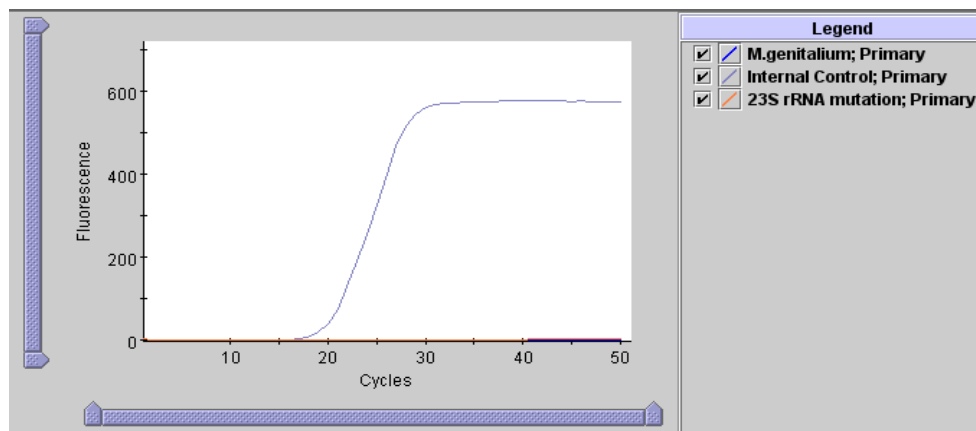
Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name ResistancePlus MG Flexibile Version 1					
Test Result M. genitalium NOT DETECTED; 23S rRNA mutation NOT DETECTED					
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Resultatvy > fliken Analyte Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	1	NEG	PASS	
Internal Control	20.3	575	PASS	PASS	
23S rRNA mutation	0.0	4	NEG	PASS	

Primary Curve



Testresultat	Tolkning
M. genitalium EJ DETEKTERAD; 23S rRNA-mutation EJ DETEKTERAD	<i>M. genitalium</i> -mål-DNA ej detekterad <ul style="list-style-type: none"> <i>M. genitalium</i>-mål är frånvarande eller utanför det giltiga intervallet Intern kontroll: GODKÄNT; PCR-amplifiering av intern kontroll ger en Ct inom det giltiga intervallet Probkontroll: GODKÄNT; Alla probkontroller har godkänt resultat

Exempel 4. Ogiltigt prov

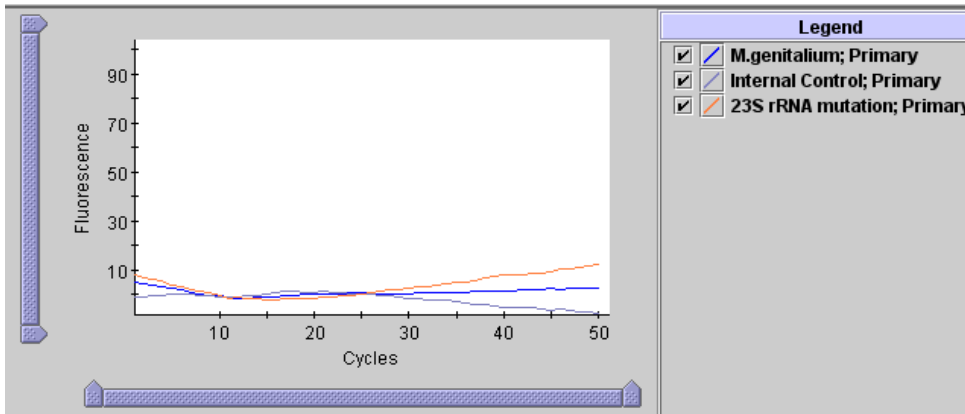
Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name		ResistancePlus MG Flexible		Version 1	
Test Result		INVALID			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Resultatvy > fliken Analyte Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	3	INVALID	PASS	
Internal Control	0.0	-7	FAIL	PASS	
23S rRNA mutation	0.0	12	INVALID	PASS	

Primary Curve



Testresultat	Tolkning
OGILTIGT	<p>Förekomst eller frånvaro av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA mutationsmål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet och fortsatt från avsnitt 8.2. Om det upprepade testet inte ger ett giltigt resultat ska ett nytt prov tas och testet utföras på nytt.</p> <ul style="list-style-type: none"> Intern kontroll: MISSLYCKAT; resultat för intern kontroll är frånvarande, eller Ct ligger inom det giltiga intervallet Probkontroll: GODKÄNT; Alla probkontroller har godkänt resultat

Exempel 5. Felresultat

Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name		ResistancePlus MG Flexible		Version 1	
Test Result		ERROR			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Resultatvy > fliken Analyte Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Analyte Name	Ct	EndPt	Analyte Result	Probe Check Result	
M.genitalium	0.0	0	NO RESULT	FAIL	
Internal Control	0.0	0	NO RESULT	FAIL	
23S rRNA mutation	0.0	0	NO RESULT	FAIL	

Testresultat	Tolkning
FEL	<p>Förekomst eller frånvaro av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA mutationsmål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet och fortsätt från avsnitt 8.2. Om det upprepade testet inte ger ett giltigt resultat ska ett nytt prov tas och testet utföras på nytt.</p> <ul style="list-style-type: none"> Intern kontroll: INGET RESULTAT Probkontroll: MISSLYCKADES*; en eller alla probkontroller hade ett misslyckat resultat. Probkontrollen kan ha misslyckats på grund av att reaktionsblandningen gjordes felaktigt, eller för att reaktionskammaren fylldes felaktigt eller att problem med blandningen upptäcktes. <p>* Om probkontrollen får godkänt resultat beror felet på ett systemkomponentfel, detektering av tappa signal eller annat fel.</p>

Exempel 6. Inget resultat

Resultatvy > fliken Test Result

Test Result	Analyte Result	Detail	Errors	History	Support
Assay Name		ResistancePlus MG Flexible		Version 1	
Test Result		NO RESULT			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Testresultat	Tolkning
INGET RESULTAT	<p>Förekomst eller frånvaro av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA mutationsmål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet och fortsätt från avsnitt 8.2. Om det upprepade testet inte ger ett giltigt resultat ska ett nytt prov tas och testet utföras på nytt.</p> <p>Otillräckligt med data samlades in för att generera ett testresultat (t.ex. användaren stoppade ett pågående test eller ett systemkomponentfel inträffade).</p>

14 Begränsningar

- **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen inriktar sig på *MgPa*-genen för *M. genitalium* och mutationer i positionerna 2058 och 2059 i 23S rRNA-genen (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *E. coli*-numrering) som förknippas med resistens med azitromycin (makrolidantibiotika).
- **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen har visat sig korsreagera med mutansekvenserna *M. genitalium*, 23S rRNA A2059C.
- **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen bör endast utföras av personal som utbildats i proceduren och enligt denna bruksanvisning.
- Tillförlitliga resultat är beroende av korrekt insamling, transport, förvaring och behandling av prover. Underlåtenhet att följa lämpliga procedurer för något av dessa steg kan leda till felaktiga resultat.
- **ResistancePlus**[®] MG Flexible-analysen är en kvalitativ analys och ger inga kvantitativa värden eller information om organismmängd.
- Med urinprover kan analysinterferens observeras vid förekomst av blod (>0,4 % v/v) eller bilirubin (>0,18 mg/mL).
- Resultat från testet måste korreleras med klinisk historik, epidemiologiska data, laboratoriedata och andra data som är tillgängliga för klinikern.
- Prevalens av *M. genitalium* och makrolidresistens påverkar positiva och negativa förväntade värden för analysen.
- Detektion av antibiotikaresistensmarkörer kan inte korreleras med fenotypiskt genuttryck.
- Huruvida behandling har misslyckats eller lyckats kan inte fastställas utifrån analysresultaten, eftersom nukleinsyra kan förekommer efter lämpliga antimikrobiell behandling.
- Negativa resultat utesluter inte risken för infektion på grund av felaktig provinsamling, tekniska fel, förekomst av inhibitorer, provblandning eller liten mängd organismer i det kliniska provet.
- Negativa resultat för resistensmarkörerna indikerar inte känslighet mot detekterade mikroorganismer, eftersom resistensmarkörer som inte mätts av analysen eller andra potentiella mekanismer för antibiotikaresistens kan förekomma.
- Falskt positiva resultat kan förekomma på grund av korskontamination av målorganismer, deras nukleinsyror eller amplifierad produkt.

15 Prestandaegenskaper

15.1 Klinisk prestanda

En prospektiv-retrospektiv klinisk studie utföres vid STD Laboratory, University of Alabama, Birmingham, Alabama, USA. Prover samlades in mellan september 2018 och mars 2019 och baserades på en intern *M. genitalium* pdhD realtids-PCR (utförd på Johns Hopkins Center for the Development of Point-of-Care Sexually Transmitted Diseases, Baltimore, Maryland, USA), 21 *M. genitalium*-positiva och 54 på varandra följande *M. genitalium*-negativa prover valdes ut för inkludering i studien. De 76 proverna bestod av 38 stycken med manligt urin (insamlade i Xpert® Urine Specimen Collection-kit) och 38 stycken vaginalsvabbar (insamlade i Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection-kit). För att fastställa prestandan för **ResistancePlus® MG Flexible**-kittet jämfördes detektion av *M. genitalium* med resultatet för pdhD realtids-PCR, och 23S rRNA-detektion av muterade bakterier jämfördes med Sanger-sekvensering. **ResistancePlus® MG Flexible**-kittets sensitivitet och specificitet för detektion av *M. genitalium* och 23S rRNA-detektion av muterade bakterier visas i **Tabell 3**. Ett prov (vaginalsvabb) rapporterades som ogiltigt av **ResistancePlus® MG Flexible** och exkluderades från analysen. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation inkluderade endast prover där mutantstatus kunde fastställas. Analys av resultaten i enlighet med provtyp visas i **Tabell 4**. 23S rRNA-mutationsanalys visas i **Tabell 5**.

Tabell 3. Klinisk utvärdering av ResistancePlus® MG Flexible						
		Referens Detektion av <i>M. genitalium</i> (pdhD qPCR)		Referens 23S rRNA-detektion av muterade bakterier (Sanger-sekvensering)		
		MG-positiv	MG-negativ	Mutant	Vildtyp	
ResistancePlus MG Flexible	MG-positiv	21	2	Mutant	13	0
	MG-negativ	0	52	Mutant ej detekterad	1	7
	Totalt	21	54	Totalt	14	7
Sensitivitet		100,0 % (95 % CI 83,9–100,0 %)		Sensitivitet		92,9 % (95 % CI 66,1–99,8 %)
Specificitet		96,3% (95 % CI 87,3–98,7 %)		Specificitet		100,0 % (95 % CI 59,0–100,0 %)

Tabell 4. Klinisk resultatanalys i enlighet med provtyp*			
Prov	Förväntat MG-negativ	Förväntat MG-positiv 23S rRNA vildtyp	Förväntat MG-positiv 23S rRNA-mutant
Urin från man	33/33	1/1	3/4 ¹
Vaginalsvabb från kvinna	22/22	6/6	10/10

* Prover inkluderades i denna analys om de hade ett giltigt resultat i både referenstestet och **ResistancePlus® MG Flexible**

¹ 1 ett prov benämndes felaktigt *M. genitalium* detekterad, 23S rRNA-mutant ej detekterad

Tabell 5. Klinisk resultatanalys enligt 23S rRNA-mutation	
Referensresultat	Resultat för ResistancePlus® MG Flexible
Vildtyp	7/7
A2059G	8/8
A2058G	5/6 ¹

¹ 1 ett prov benämndes felaktigt *M. genitalium* detekterad, 23S rRNA-mutant ej detekterad

15.2 Analytisk prestanda

15.2.1 Reproducerbarhet

En reproducerbarhetsstudie utfördes över testplatser, instrument, satser, användare, körningar och dagar för **ResistancePlus**® MG Flexible-kittet, med hjälp av paneler som förberetts med en matris av urin och vaginalsvabbar. Testning utfördes på två ställen. Varje panel innehöll tre replikat av en panelmedlem som testats vid 3x LOD. Varje panel innehöll tre negativa prover. Panelerna testades två gånger om dagen under tre ej på varandra följande dagar av tre användare, vilket ger totalt 54 observationer per panelmedlem (3 replikat per körning x 2 körningar x 3 dagar x 2 användare = 54 observationer). Minst tre satser med **ResistancePlus**® MG Flexible-kit inkluderades i studien.

Alla giltiga testkörningar inkluderades i analyserna av procentöverensstämmelsen för varje mål för **ResistancePlus**® MG Flexible-kittet för varje paneltyp separat.

Reproducerbarhetsresultat för urinpaneler: Överensstämmelseprocent för alla prover var 100 % (Tabell 6). Analys av varianskomponenter (Tabell 7 – Tabell 9) för Cq-värdena som utfördes på positiva panelmedlemmar gav totala CV-intervall från 0,00 till 4,07 %, 0,54 till 4,23 % och 0,25 till 6,04 % för de respektive målen MgPa, IC och 23S.

Reproducerbarhetsresultat för vaginala svabpaneler: Överensstämmelseprocent för alla prover var 100% (Tabell 10). Analys av varianskomponenter (Tabell 11 – Tabell 13) för Cq-värdena som utfördes på positiva panelmedlemmar gav totala CV-intervall från 0,10 till 2,69 %, 0,02 till 2,57 % och 0,18 till 2,86% för de respektive målen MgPa, IC och 23S.

Tabell 6. Urinprover: Överensstämmelseprocent						
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	Plats 1 (GeneXpert XVI)		Plats 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Total överensstämmelse per mål	
	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)
A2058C	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058T	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2059G,	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
WT	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 7. Urinprover: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för MgPa-målet													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	n/N ^a	Överensstämmelse (%)	Medel -Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	27,93	0,66	2,38	0,23	0,81	0,47	1,66	0,69	2,47	0,57	2,03
A2058G	54/54	100	28,78	1,10	3,88	0,42	1,46	0,62	2,17	0,79	2,78	0,76	2,63
A2058T	54/54	100	31,27	1,12	3,62	0,30	0,98	1,04	3,36	1,21	3,90	1,27	4,07
A2059G	54/54	100	29,42	0,77	2,62	0,59	2,01	0,09	0,32	0,77	2,62	0,00	0,00
Vildtyp	54/54	100	30,81	0,62	2,01	0,38	1,25	0,21	0,68	0,51	1,65	0,24	0,78
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 8. Urinprover: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för 23S rRNA-mutationsmålet

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA- typ	n/N ^a	Överensstäm- melse (%)	Medel- -Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	28,47	1,09	3,83	0,61	2,15	0,59	2,07	0,94	3,29	0,85	2,98
A2058G	54/54	100	33,54	0,25	0,74	0,15	0,45	0,26	0,77	0,74	2,21	0,09	0,25
A2058T	54/54	100	32,18	0,73	2,30	0,09	0,28	0,46	1,44	1,21	3,80	0,40	1,23
A2059G	54/54	100	30,02	1,04	3,47	1,20	3,97	1,48	4,88	1,83	6,04	1,24	4,14
Vildtyp	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 9. Urinprover: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för IC-målet

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA- typ	n/N ^a	Överensstäm- melse (%)	Medel- -Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	19,46	0,72	3,77	0,34	1,78	0,67	3,49	0,68	3,54	0,82	4,23
A2058G	54/54	100	18,82	0,44	2,37	0,36	1,91	0,11	0,61	0,39	2,09	0,10	0,54
A2058T	54/54	100	19,07	0,29	1,55	0,31	1,62	0,28	1,45	0,57	3,02	0,25	1,31
A2059G	54/54	100	19,17	0,79	4,19	0,17	0,87	0,65	3,45	0,62	3,28	0,80	4,18
Vildtyp	54/54	100	19,21	0,66	3,44	0,49	2,57	0,54	2,82	0,67	3,54	0,66	3,43
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	19,72	0,69	3,52	0,42	2,12	0,22	1,13	0,53	2,67	0,27	1,38

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 10. Prover med vaginalsvabbar: Överensstämmelseprocent

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	Plats 1 (GeneXpert XVI)		Plats 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Total överensstämmelse per mål	
	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)	Ej tillämpligt ^a	Träfffrekvens (%)
A2058C	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2058T	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
A2059G	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0
WT	36/36	100,0	18/18	100,0	54/54	100,0

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 11. Prover med vaginalsvabbar: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för MgPa-målet													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	n/N ^a	Överensstämmelse (%)	Medel-Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	26,49	0,09	0,35	0,22	0,85	0,25	0,94	0,41	1,57	0,30	1,12
A2058G	54/54	100	25,69	0,15	0,58	0,17	0,66	0,39	1,53	0,55	2,13	0,19	0,73
A2058T	54/54	100	27,00	0,45	1,68	0,03	0,10	0,64	2,36	0,69	2,55	0,14	0,51
A2059G	54/54	100	27,16	0,15	0,53	0,12	0,45	0,08	0,29	0,37	1,38	0,10	0,36
Vildtyp	54/54	100	28,38	0,48	1,71	0,32	1,14	0,43	1,52	0,76	2,69	0,44	1,56
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 12. Prover med vaginalsvabbar: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för 23S rRNA-mutationsmålet													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	n/N ^a	Överensstämmelse (%)	Medel-Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	27,13	0,09	0,35	0,20	0,74	0,58	2,15	0,59	2,18	0,66	2,45
A2058G	54/54	100	30,64	0,47	1,54	0,24	0,78	0,18	0,58	0,61	2,00	0,41	1,35
A2058T	54/54	100	28,89	0,46	1,60	0,05	0,18	0,17	0,60	0,53	1,84	0,33	1,13
A2059G	54/54	100	27,71	0,49	1,77	0,19	0,70	0,52	1,88	0,79	2,86	0,23	0,82
Vildtyp	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

Tabell 13. Prover med vaginalsvabbar: Sammanfattning av reproducerbarhetsdata för IC-målet													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	n/N ^a	Överensstämmelse (%)	Medel-Cq	Mellan sats		Mellan dag		Mellan användare		Mellan körning		Mellan instrument	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
A2058C	54/54	100	17,02	0,23	1,36	0,11	0,62	0,24	1,44	0,32	1,89	0,13	0,74
A2058G	54/54	100	17,78	0,33	1,87	0,09	0,51	0,30	1,69	0,42	2,36	0,06	0,32
A2058T	54/54	100	17,06	0,14	0,79	0,10	0,60	0,30	1,76	0,29	1,72	0,36	2,13
A2059G	54/54	100	17,59	0,11	0,65	0,10	0,55	0,09	0,50	0,26	1,47	0,07	0,40
Vildtyp	54/54	100	17,18	0,25	1,47	0,30	1,72	0,07	0,39	0,31	1,83	0,00	0,02
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	17,28	0,45	2,57	0,06	0,35	0,41	2,36	0,41	2,37	0,22	1,27

^a n/N = antal korrekt identifierade prover/totalt antal testade prover

15.2.2 Analytisk sensitivitet

Representativa *M. genitalium*-stammar används för att utvärdera analytisk sensitivitet (detektionsgräns, eller LOD). Varje *M. genitalium*-stam späddes ut i en matris med negativt urinprov och negativt vaginalsvabbsprov. LOD definieras vid den lägsta koncentrationen (uttryckt som antalet genom per prov) som kan särskiljas med avseende på reproducerbarhet från negativa prover med 95 % konfidens.

Resultaten för varje *M. genitalium*-stam visas i **Tabell 14**.

Tabell 14. LOD för varje mål för <i>ResistancePlus</i> ® MG Flexible-kittet			
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	Stam	Urin	Vaginalsvabb
		LOD (genom per prov)	LOD (genom per prov)
WT	G37	157	157
A2058C	M6302	317	317
A2059G	M6593	147	220
A2058G	M6604	387	387
A2058T	M6926	151	151

15.2.3 Inklusivitet

En inklusivitetsstudie utfördes för att testa *ResistancePlus*® MG Flexible-kittets reaktivitet med åtta stammar av *M. genitalium*. *M. genitalium*-isolaten representerade olika 23S rRNA-mutanter från olika geografiska platser (isolat kom från följande nummer, med antal stammar angivet inom parentes: Australien (2), Danmark (3), Norge (1), Storbritannien (1), USA (1)). Varje stam späddes ut i en matris med negativt urinprov och negativt vaginalsvabbsprov. Alla isolat testades i en koncentration på 2x LOD i replikat om tre med hjälp av en sats av *ResistancePlus*® MG Flexible-kittet. Alla stammar detekterades korrekt.

Resultaten sammanfattas i **Tabell 15**.

Tabell 15. <i>M. genitalium</i> -stammar testade med avseende på inklusivitet	
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-typ	Stam
Vildtyp	M2300
	M2321
	M2341
	M30 tidig
A2058G	M6271
A2059G	M6303
	M6320
A2058C	M6848

15.2.4 Korsreaktivitet med andra 23S rRNA-mutationer

En syntetisk DNA-konstruktion innehållande målen *M. genitalium* MgPa och A2059C 23S rRNA testades i 5 000 kopior mot en bakgrund av 35 ng DNA-inmatning per prov. Resultaten visade att *ResistancePlus*® MG Flexible-testet korsreagerar med *M. genitalium*, A2059C 23S rRNA-målet med en träffkvot på > 90 %. Analytisk prestanda för *ResistancePlus*® MG Flexible-testet med avseende på detektion av denna mutation har inte utvärderats.

15.2.5 Analytisk specificitet

En studie genomfördes för att utvärdera korsreaktivitet med **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kittet när icke-målorganismer förekommer i höga koncentrationer. En panel med 42 mikroorganismer bestående av bakterier, virus, svampar och protozoer som representerar patogener eller flora som ofta förekommer i det urogenitala systemet, eller som är nära besläktade med *M. genitalium*, utvärderades. Varje bakteriestam testades i koncentrationen 1×10^6 genom/mL, såvida inte annat anges. Virusstammar testades i koncentrationen 1×10^5 genom/mL, såvida inte annat anges. Alla andra organismer testades enligt angivna koncentrationer. Alla bakterie- och virusorganismer kvantifierades med hjälp av realtids-PCR, förutom de som angavs som kvantifierade med kolonibildande enheter (CFU) eller plackbildande enheter (PFU) (Tabell 16). Alla mikroorganismer testades i tre exemplar med avseende på korsreaktivitet med **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kittet. Alla mikroorganismer som testades späddes ut i negativ klinisk matris (urin).

Resultaten indikerade att ingen av dessa organismer genererade falskt positiva resultat i den *M. genitalium*-negativa urinmatrisen (Tabell 16).

En *in silico*-analys utfördes också för att utvärdera om oligonukleotider i **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kittet kunde amplifiera och detektera nukleinsyrasekvenser från icke-målorganismer som finns i BLAST. Inga signifikanta interaktioner detekterades.

Tabell 16. Mikroorganismer testade för analytisk specificitet					
Organism	Koncentration (genom/mL)	Organism	Koncentration (genom/mL)	Organism	Koncentration (genom/mL)
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^6	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10^6
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6	<i>Haemophilus ducreyi</i>	1×10^6	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	$1 \times 10^{5\Delta}$
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6	Herpes simplex virus I	1×10^6	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1×10^6
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6	Herpes simplex virus II	1×10^6	<i>Prevotella bivia</i>	1×10^6
<i>Candida albicans</i>	1×10^5	HPV-typ 18 (HeLa-celler)	$1 \times 10^{5*}$	<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10^5
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1×10^6	<i>Proteus mirabilis</i>	1×10^6
<i>Candida parapsilosis</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^6	<i>Proteus vulgaris</i>	1×10^6
<i>Candida tropicalis</i>	1×10^5	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1×10^6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1×10^6
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus jensenii</i>	1×10^6	<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^6
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1×10^6	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1×10^6
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6	<i>Listeria monocytogenes</i>	1×10^6	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1×10^6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1×10^5	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1×10^6
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6	<i>Mycoplasma hominis</i>	1×10^6	<i>Trichomonas vaginalis</i>	$1 \times 10^{5\Delta}$
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1×10^6	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1×10^5

* kvantifierad som PFU/mL

^Δ kvantifierad som CFU/mL

15.2.6 Potentiellt interfererande substanser

En studie om interfererande substanser genomfördes för att undersöka om substanser eller åkommor som kan förekomma i kliniska prover kan påverka **ResistancePlus**[®] MG Flexible-kittets prestanda. Panelen bestod av endogena substanser såsom blod, mucin, leukocyter och läkemedel (receptbelagda och receptfria) som kan användas för att behandla urogenitala åkommor. Alla substanser testades vid närvaro och frånvaro av en representativ *M. genitalium* A2058G-stam vid 3x LOD. Alla testprover testades i tre exemplar. Substanserna späddes ut i negativ klinisk matris (antingen urin- eller vaginalsvabb), beroende på vad som var lämpligt.

Med undantag för bilirubin, helblod och Vagisil intimpuder indikerade resultaten att ingen av substanserna och åkommorna interfererade med detektion av den representativa *M. genitalium* A2058G-stammen eller genererade falska positiva resultat i de *M. genitalium*-negativa matriserna vid de angivna koncentrationerna.

Med urinprover kan analysinterferens observeras vid förekomst av följande:

- Blod i en koncentration högre än 0,4 % v/v

- Bilirubin i en koncentration högre än 0,18 mg/mL

Med vaginalsvabbsprover kan analysinterferens observeras vid förekomst av följande:

- Vagisil intimpuder i en koncentration högre än 0,1 % w/v

Resultaten sammanfattas i **Tabell 17** och **Tabell 18**.

Tabell 17. Potentiellt interfererande substanser i urinprover		
Klass/substans	Produktnamn	Testkoncentration
Helblod	-	0,4 % v/v ^A
Sperma	-	5,0% v/v
Mucus	Mucin	0,8 % w/v
Antibiotika	Azithromycin	1,8 mg/mL
Analgetika	Paracetamol	3,2 mg/mL
Intravaginala hormoner	Progesteron; Östradiol	7 mg/mL progesteron + 0,07 mg/mL betaöstradiol
Leukocyter	-	10 ⁵ celler/mL
Albumin	Bovint serumalbumin	10 mg/ml
Glukos	-	10 mg/ml
Bilirubin	-	0,18 mg/ml [*]
Surt urin (pH 4,0)	Urin + N-Acetyl-L-Cystein	pH 4,0
Alkaliskt urin (pH 9,0)	Urin + ammoniumcitrat	pH 9,0

^{*}interferens kan observeras i prover innehållande mer än 0,18 mg/mL bilirubin

^{*}interferens kan observeras i prover innehållande mer än 0,4 % helblod

Tabell 18. Potentiellt interfererande substanser i vaginalsvabbsprover		
Klass/substans	Produktnamn	Testkoncentration
Receptfria vaginala produkter och preventivmedel	Vagisil Anti-Itch Crème (1.0 oz)	0,25% w/v
	K-Y Jelly (4.0 oz)	0,25% w/v
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel	0,25% w/v
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1.5 oz)	0,25% w/v
	Vagi-gard douche	0,25% w/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0.2 oz x 8 pack)	0,25% w/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,10 % w/v [*]
Deodorant och puder	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25% v/v
Hemorroidsalva	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25% w/v
Endast receptbelagda läkemedel	Estrace® (estradiol vaginal cream, USP 0.01%)	0,25% w/v

^{*}interferens kan observeras i prover innehållande mer än 0,1 % w/v Vagisil intimpuder



15.2.7 Studie av överföringskontamination

En studie utfördes för att visa att GeneXpert-patroner för engångsbruk förhindrar överföringskontamination i negativa prover som körs efter mycket positiva prover i samma GeneXpert-modul. Studien bestod av ett negativt prov som bearbetades i samma GeneXpert-modul direkt efter ett prov med hög MG-koncentration (syntetisk DNA; 10^8 kopior/mL av A2058C-mål). Prover testades i två GeneXpert-moduler i totalt 40 körningar, vilket resulterade i 20 positiva och 20 negativa. Inga falska positiva resultat observerades bland de negativa proverna, vilket indikerar att överföringskontamination inte sker mellan körningar på GeneXpert.

16 Kundtjänst och teknisk service

Innan du kontaktar Cepheids tekniska support ska du ha följande uppgifter tillgängliga:

- Produktnamn
- Satsnummer
- Instrumentets serienummer
- Felmeddelande (i förekommande fall)
- Programvaruversion och, i förekommande fall, datorns service tag-nummer

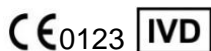
Tabell 19. Kontaktuppgifter för teknisk support		
Region	Telefon	E-post
Australien och Nya Zeeland	+1800 130 821 +0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Österrike	+43 720 380 091	support@cepheideurope.com
Frankrike	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Tyskland	+49 21 513 280 100	support@cepheideurope.com
Italien	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Spanien	+34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
Polen	+48 225 048 523	support@cepheideurope.com
Portugal	+351 800 913 174	support@cepheideurope.com
Storbritannien	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Belgien, Nederländerna och Luxemburg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Övriga länder i Europa, Mellanöstern och Afrika	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com

Kontaktuppgifter för andra Cepheids supportavdelningar finns på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com under fliken **SUPPORT**. Välj alternativet **Contact Us**.

17 Referenser

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2015) Diseases characterized by urethritis and cervicitis in Sexually transmitted Diseases Guidelines. 2015. <http://www.cdc.gov/std/tg2015/urethritis-and-cervicitis.htm>
2. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24:498–514.
3. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. Mycoplasma genitalium: should we treat and how? Clin Infect Dis. 2011 Dec;53 Suppl 3:S129-42.
4. Cazanave C, Manhart LE, Bébéar C. Mycoplasma genitalium, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 2012 Sep;42(9):381-92
5. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in Mycoplasma genitalium-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. Clin Infect Dis. 2008 Dec 15;47(12):1546-53.
6. Jensen JS. Chapter 8: Protocol for the Detection of Mycoplasma genitalium by PCR from Clinical Specimens and Subsequent Detection of Macrolide Resistance-Mediating Mutations in Region V of the 23S rRNA Gene in Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 903, Science+Business Media New York 2012.
7. Bissessor M, Tabrizi SN, Twin J, Abdo H, Fairley CK, Chen MY, Vodstrcil LA, Jensen JS, Hocking JS, Garland SM, Bradshaw CS. Macrolide resistance and azithromycin failure in a Mycoplasma genitalium-infected cohort and response of azithromycin failures to alternative antibiotic regimens. Clin Infect Dis. 2015 Apr 15;60(8):1228-36.

18 Ordlista



Europeisk överensstämmelse för *In Vitro*-diagnostisk användning



Katalognummer



Mastersats



Batchkod



Auktoriserad representant i den europeiska gemenskapen



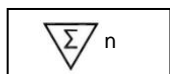
Tillverkare



Tillverkningsdatum



Temperaturgräns



Innehåller tillräckligt för <n> bestämningar



Utgångsdatum



Varning



Får inte återanvändas



Läs bruksanvisningen



Positiv kontroll

P/N

Artikelnummer



Europeisk importör



Bedömningsmärke för överensstämmelse i Storbritannien

SpeedX-produkter kan täckas av en eller flera lokala eller främmande patent. Se www.plexpcr.com/patents för uttömmande information om patent.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] och **PlexZyme**[®] är varumärken som tillhör SpeedX. Andra copyright och varumärken är respektive ägares egendom.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.