



## ResistancePlus<sup>®</sup> MG

**Multiplex realtids-PCR-assay til identifikation af *Mycoplasma genitalium* og påvisning af mutationer forbundet med resistens over for azithromycin**



Produkt	Platform	Størrelse (reaktioner)	Katalognr.
ResistancePlus <sup>®</sup> MG FleXible	GeneXpert <sup>®</sup> (I, II, IV, XVI), og Infinity-instrumentsystemer (48s, 80)	10	<b>REF</b> S2A-2000410



**MedEnvoy**  
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123  
2595 AM The Hague  
Nederlandene



**SpeedX Pty Ltd**  
Suite 102 National Innovation Centre  
4 Cornwallis Street,  
Eveleigh, NSW 2015, Australien  
Tlf.: +61 2 9209 4170, E-mail: [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

### KUN TIL PROFESSIONEL ANVENDELSE

Ikke beregnet til salg i USA

## Indhold

1	Anvendelse .....	4
2	Oversigt over og forklaring af testen.....	4
2.1	Patogen beskrivelse.....	4
2.2	Princip for proceduren.....	4
2.3	Princip for teknologien.....	4
3	Sættets indhold .....	6
4	Transport og opbevaring .....	6
5	Advarsler og forholdsregler .....	6
5.1	Generelt .....	6
5.2	Laboratorie.....	7
5.3	Prøvehåndtering.....	7
5.4	Assay/reagens .....	7
5.5	Sikkerhedsforanstaltninger.....	7
6	Tilhørende produkter og forbrugsartikler .....	8
7	Procedureoversigt.....	9
8	Detaljeret procedure.....	10
8.1	Prøveindsamling, transport og opbevaring .....	10
8.1.1	Godkendte prøvetagningsenheder .....	10
8.1.2	Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection (Cepheid, Cat no. SWAB/A-50).....	10
8.1.3	Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert® Swab Specimen Collection (Cepheid, Kat.-Nr. SWAB/G-50).....	11
8.1.4	Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert Urine Specimen Collection (Cepheid, Kat.-nr. URINE/A-50) .....	11
8.1.5	Indsamling, transport og opbevaring af steril urinopsamlingsbæger.....	12
8.1.6	Indsamling, transport og opbevaring af Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ medie (Copan, Kat.-nr. 346C eller 306C (USA)) .....	12
8.2	Klargøring af MG Flexible-reaktionsblanding.....	12
8.3	Tilføjelse af prøve.....	15
9	Programmering af instrumentet.....	17
9.1	Import af ADF til softwaren.....	17
9.2	Start af testen.....	18
10	Kvalitetskontrol.....	19
11	Anvisninger om <i>ResistancePlus</i> ® MG S2A Positive Control.....	20
11.1	Brugsanvisning.....	20
11.1.1	Klargøring af positiv kontrolprøve med en mikropipette .....	20
11.1.2	Klargøring af positiv kontrolprøve med en overføringspipette.....	20
12	Fortolkning af resultater.....	21
13	Eksempler på resultater .....	23
14	Begrænsninger.....	28
15	Præstationskarakteristika .....	29
15.1	Klinisk præstation.....	29
15.2	Analytisk præstation .....	30
15.2.1	Reproducerbarhed.....	30
15.2.2	Analytisk følsomhed .....	33
15.2.3	Inklusivitet.....	33
15.2.4	Krydsreaktivitet for andre 23S rRNA-mutationer.....	33
15.2.5	Analytisk specificitet .....	34

15.2.6	Potentielt interfererende stoffer .....	34
15.2.7	Studie af overført kontaminering.....	36
16	Kundesupport og teknisk support.....	36
17	Referencer .....	37
18	Ordliste.....	38

## 1 Anvendelse

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay er en kvalitativ, multiplexet *in vitro*-diagnostisk realtids-PCR-test til identifikation af *M. genitalium* og påvisning af mutationer i 23S rRNA-genet (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *Escherichia coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (antibiotikum af makrolidtypen). Det er beregnet til at hjælpe med at diagnosticere *M. genitalium* og påviser mutationer forbundet med azithromycinresistens i *M. genitalium* og skal anvendes sammen med kliniske oplysninger og andre laboratorieoplysninger.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay kan bruges med følgende prøvetyper: urinprøver fra mænd og kvinder, vaginalpodning, cervikalpodning, rektalpodning og urethralpodning fra symptomatiske og asymptomatiske patienter.

Negative resultater udelukker ikke *M. genitalium*-infektioner og giver ikke bekræftelse på modtagelighed for azithromycin, da der kan være andre behandlingsfejlmekanismer på spil.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay er beregnet til anvendelse i professionelle miljøer, såsom hospitaler eller referencelaboratorier eller offentlige laboratorier. Det er ikke beregnet til selvtest, hjemmebrug eller brug på behandlingsstedet.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay udføres på GeneXpert<sup>®</sup> instrumentsystemer.

## 2 Oversigt over og forklaring af testen

### 2.1 Patogen beskrivelse

*M. genitalium* er en bakterie, der findes i menneskets urogenitale kanal, og som er blevet forbundet med en række seksuelt overførte infektioner (Sexually Transmitted Infections, STI'er). Hos mænd er det den næsthøypigste årsag til ikke-gonokok urethritis (NGU), den er årsag til 15-40 % af tilfældene<sup>1</sup> og er også forbundet med prostatitis, epididymitis og balanoposthitis, betændelse i glans penis og forhud<sup>2</sup>. Hos kvinder er det forbundet med cervicitis, underlivsbetændelse (PID), herunder endometritis (betændelse i livmoderslimhinden) og salpingitis (betændelse i æggelejerne)<sup>2,3,4</sup>.

Azithromycin anvendes hyppigt til behandling af *M. genitalium* og til syndromisk behandling af STI, såsom NGU og cervicitis. Azithromycin tilhører den makrolide klasse af antibiotika og virker ved at binde til 23S rRNA for at hæmme proteinsyntese. Punktmutationer i 23S rRNA-genet af *M. genitalium*, A2058G A2059G, A2058T A2058C og A2059C (*E. coli*-nummerering) har været forbundet med behandlingssvigt og/eller *in vitro*-resistens over for azithromycin<sup>5-6</sup>. De mest almindelige mutationer er A2058G og A2059G<sup>7</sup>.

### 2.2 Princip for proceduren

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay er en *in vitro*-diagnostisk realtids-PCR-test til identifikation af *M. genitalium* og påvisning af mutationer i 23S rRNA-genet (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *Escherichia coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (antibiotikum af makrolidtypen). **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay udføres på Cepheid GeneXpert<sup>®</sup> instrumentsystemer.

Cepheid GeneXpert<sup>®</sup>-instrumentsystemer integrerer prøveoprensning, nukleinsyreamplifikation, realtids-PCR-påvisning og rapportering af resultater. Systemet består af et instrument og en personlig computer med præinstalleret software til kørsel af assays og visning af resultater. Se betjeningsvejledningen for det relevante GeneXpert<sup>®</sup>-instrumentsystem for yderligere oplysninger.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay kræver Flexible-engangskassetter, hvortil brugeren tilføjer prøven og PCR-reaktionsblandingen, og kassetten indføres i instrumentet.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay indeholder en intern kontrol til at monitorere ekstraktionseffektivitet og PCR-hæmning. De interne kontrolceller indeholder den interne DNA-kontrolskabelon, der tilføres prøven og co-ekstraheres og co-amplificeres i realtids-PCR-reaktionen. Fortolkningen af resultaterne fra **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay automatiseres af GeneXpert<sup>®</sup> Dx- eller Infinity Xpertise-systemsoftwaren fra målte fluorescenssignaler og integrerede beregningsalgoritmer til påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutationer.

**ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-assay benytter **PlexPrime**<sup>®</sup>-primere til følsom og specifik amplifikation af 23S rRNA-mutationsmål og **PlexZyme**<sup>®</sup>-enzymet til følsom og specifik multiplexet realtids-PCR-påvisning af målsekvenser.

### 2.3 Princip for teknologien

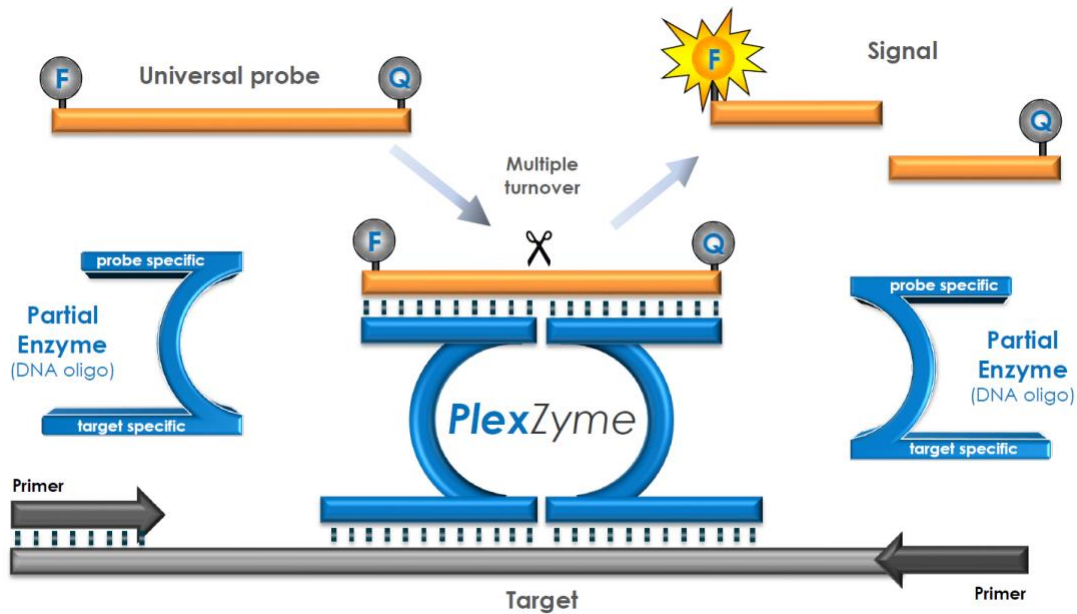
PCR (qPCR) i realtid kan bruges til at amplificere og påvise specifikke målnukleinsyrer fra patogener. **PlexPCR**<sup>®</sup> is a realtids-PCR-teknologi, der benytter **PlexZyme**<sup>®</sup>-enzymet, som påviser og rapporterer det amplificerede produkt ved at generere et fluorescenssignal (**Figur 1**). **PlexPrime**<sup>®</sup> primere kan bruges til specifik amplifikation af mutanssekvenser, som er kombineret med mutantspecifik **PlexZyme**<sup>®</sup> påvisning (**Figur 2**).

**PlexZyme**<sup>®</sup> enzymer er katalytiske DNA-komplekser bestående af to DNA-oligoer, der betegnes "partielle enzymer". Hvert partielt enzym har en mål-specifik region, en katalytisk kerne og en region til binding af en universalprobe. Når målproduktet

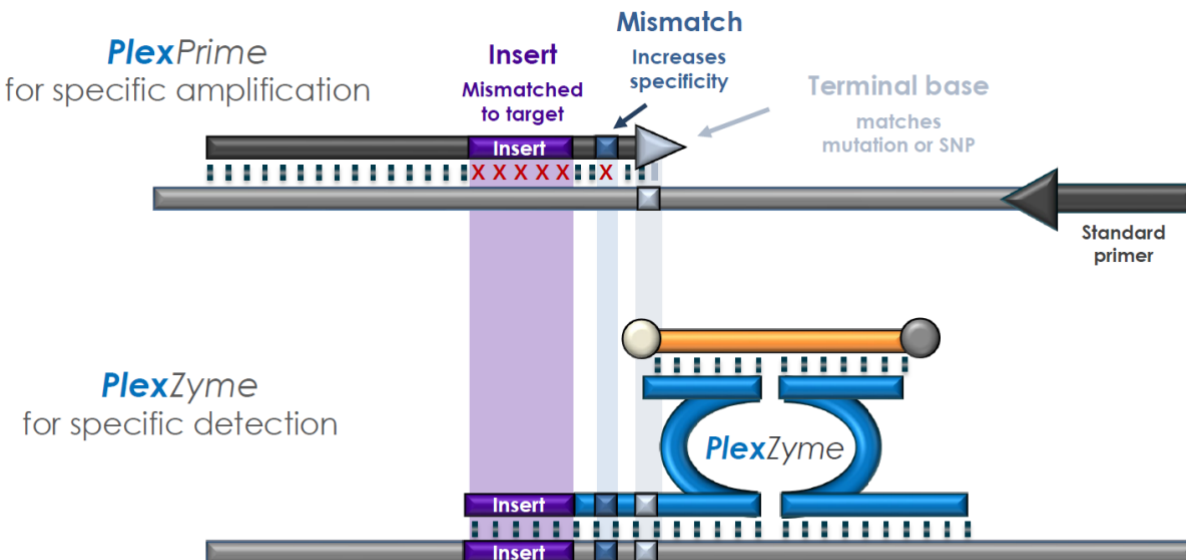
er til stede, bindes de to partielle enzymer ved siden af hinanden og danner det aktive **PlexZyme**<sup>®</sup>, som har katalytisk aktivitet med henblik på at kløve en mærket probe. Kløvning adskiller fluorofor- og dæmpningsfarverne, så der fremkommer et fluorescenssignal, der kan monitoreres i realtid. **PlexZyme**<sup>®</sup> enzymer har yderligere specificitet i forhold til andre påvisningsteknologier, idet der kræves binding af to partielle enzymer for at foretage påvisning. **PlexZyme**<sup>®</sup> er også enzymer med multiple reaktioner, og der kan kløves multiple prober under hver PCR-cyklus, hvilket giver et kraftigt og følsomt signal. **PlexZyme**<sup>®</sup> assays er yderst følsomme og specifikke, og de er ideelt egnede til den multiplekserede påvisning af patogener.

**PlexPrime**<sup>®</sup> primere har tre funktionelle regioner. Den lange 5'-region forankrer primeren til et bestemt sted, og den korte 3'-region er selektivt rettet mod forlængelser fra den mutante base. En indsættelsessekvens ligger mellem 5'- og 3'-regionerne og fungerer som en forbindelsesstruktur, der indsætter en måluafhængig sekvens i den resulterende amplikon og øger det selektive tryk fra 3'-regionen. I multiplex er hver **PlexPrime**<sup>®</sup> primer designet til at være rettet mod en specifik mutant base og inkorporerer en unik indsættelsessekvens, hvilket frembringer særlige mutante amplikonsekvenser. I modsætning til andre probebaserede påvisningsteknologier kan **PlexZyme**<sup>®</sup> enzymet overlappes med **PlexPrime**<sup>®</sup> primeren og rettes mod den specifikke mutantamplikon, som indeholder den mutante base og inkorporerede indsættelsessekvens. Den unikke kombination af **PlexPrime**<sup>®</sup> primere forbundet med **PlexZyme**<sup>®</sup> enzymer gør det muligt at foretage specifik amplifikation af mutante sekvenser og følsom og specifik påvisning i multiplex.

Figur 1. Schematisk fremstilling af **PlexZyme**<sup>®</sup> påvisning og universel signalering



Figur 2. Schematisk fremstilling af **PlexPrime**<sup>®</sup>-primeren kombineret med **PlexZyme**<sup>®</sup>-påvisning. **PlexPrime**<sup>®</sup>-primeren amplificerer specifikt mutantsekvensen, og **PlexZyme**<sup>®</sup>-enzymerne påviser specifik amplikon.



**PlexPrime** amplicon

### 3 Sættets indhold

Antal test: 10 reaktioner

Tabel 1. Indhold af <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible-sæt					
Æske nr.	Del nr.	Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Quantity (Mængde)
1	2000410-R	Blå	<i>Plex</i> Masttermix ( <i>Plex</i> -masterblanding), 2x	Masterblanding, der indeholder nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, DNA-polymerase og buffer	1 x 440 µL
		Brun	MG+23S Mix (MG+23S-blanding), 20x	Blanding, der indeholder oligonukleotider <sup>^</sup> til amplifikation og påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutationer og intern kontrol	1 x 50 µL
		Rød	Internal Control cells (Interne kontrolceller) <sup>#</sup>	Interne kontrolceller indeholdende DNA-skabelon til intern kontrol til at monitorere ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 100 µL
		Ikke relevant	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible labels ( <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible-etiketter) <sup>*</sup>	Kassette-etiketter med Lot-specifik stregkode, hovedlotnummer, udløbsdato og ADF-information	10 etiketter
		Ikke relevant	MG Flexible Mix label (MG Flexible Mix-etiket)	Etiket til identifikation af kombineret MG Flexible-reaktionsblanding (valgfri anvendelse)	1 etiket
2	2000410-CART	Ikke relevant	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible Cartridge ( <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible-kassette)	Engangskassette til prøvebehandling, nukleinsyreampifikation og påvisning	10 kassetter

<sup>#</sup> Skabelonrør skal opbevares adskilt fra oligoblandinger, dvs. i rummet til håndtering af skabeloner eller nukleinsyre

<sup>^</sup> Oligonukleotider er PCR-primerpar (inklusive *PlexPrime*<sup>®</sup> primere), *PlexZyme*<sup>®</sup> enzymer og fluorescensprober

<sup>\*</sup> **Kassette-etiketter må ikke kasseres**

### 4 Transport og opbevaring

- Analysereagenserne (i æske 1) i *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-kit forsendes på tøris eller frosne gelpakker. Assay-komponenter skal opbevares ved -25°C til -15°C ved modtagelsen. Det anbefales, at nedfrysning/optøning begrænses til under 8 gange. Se **Afsnit 8.2** for opbevaringsbetingelser og fryse/tø -anbefalinger fra den kombinerede MG Flexible reaktionsblanding.
- *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-kassetter forsendes og opbevares ved 2 °C – 28 °C.
- Ved opbevaring under de anbefalede forhold og ved korrekt håndtering bibeholdes sættets aktive egenskaber indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Må ikke bruges efter udløbsdatoen.
- Enhver alvorlig hændelse skal indberettes til SpeedX ved henvendelse til [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

### 5 Advarsler og forholdsregler

#### 5.1 Generelt

- Kun til *in vitro* diagnostisk brug.
- Læs denne brugsanvisning omhyggeligt før brug. Følg procedurerne nøje som beskrevet for at sikre troværdigheden af testresultaterne. Enhver afvigelse fra disse procedurer kan påvirke testens resultater.
- Brugere skal være tilstrækkeligt uddannet i brugen af *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-assayet.
- Enhver alvorlig hændelse skal indberettes til fabrikanten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

## 5.2 Laboratorie

- Grundlæggende forholdsregler til at undgå kontaminering af PCR-reaktioner omfatter brug af pipettespidser med sterilt filter til klargøring af PCR-reaktionsblanding, brug af en ny pipettespid til hver pipetteringshandling og adskillelse af arbejdsflow.
- Det anbefales at udføre klargøring af masterblanding, tilsætning og termocykling af prøver i rumligt adskilte områder. Som minimum skal PCR-instrumentet ideelt være i et rum, der er adskilt fra områder, hvor reaktioner klargøres.
- Det anbefales at følge rutinemæssige laboratorieforholdsregler. Brug hensigtsmæssigt personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker, beskyttelsesbriller og kittel ved håndtering af reagenser.
- Der kan forekomme patogener i både klinisk prøvemateriale og brugte kassetter. Behandl alle biologiske prøver og brugte kassetter som potentielt smittefarlige, og følg institutionens sikkerhedsprocedurer for håndtering af kemiske og biologiske prøver.
- Følg institutionens procedurer for bortskaffelse af farligt affald ved bortskaffelse af brugte kassetter.

## 5.3 Prøvehåndtering

- Prøver skal indsamles, transporteres og opbevares med brug af standardmetoder for laboratorier eller i overensstemmelse med anvisningerne i indsamlingssættet.

## 5.4 Assay/reagens

- Åbn ikke kassetens låg, undtagen ved tilføring af reaktionsblanding og prøve.
- Brug ikke en kassette, der er beskadiget, tabt eller rystet, eller som viser tegn på reagenslækage eller krystallisering.
- Anbring ikke prøve-ID-etiketten på kassetens låg eller på strekkodeetiketten.
- Brug ikke en kassette, der har et beskadiget reaktionsrør.
- Hver kassette er kun til engangsbrug. Behandlede kassetter må ikke genbruges.
- Brug ikke reagenser, kassetter og etiketter fra forskellige Master Lot-numre.
- Analysereagenser indeholder IDTE-buffer, som kan forårsage alvorlig øjenirritation. Det anbefales, at brug sker i et godt ventileret område, og at der bæres passende personlige værnemidler såsom handsker, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af reagenser.

## 5.5 Sikkerhedsforanstaltninger



**ADVARSEL** - Lysis-reagens (indeholdt i kassetten) indeholder guanidinium-thiocyanat

Fareklasse:

- Akut oral toksicitet 4.
- Mild hudirritation 3.
- Mild øjenirritation 2B.

Faresætninger:

- H302: Farlig ved indtagelse.
- EUH301: Udvikler giftig gas ved kontakt med syre.

Sikkerhedssætninger:

- P264: Vask grundigt efter håndtering.
- P270: Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt.
- P301+P312: I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller læge i tilfælde af ubehag.
- P330: Skyl munden.
- P501: Bortskaf indholdet og/eller beholderen i henhold til lokale, regionale, nationale og/eller internationale regler.

Sikkerhedsdatablade (SDS) kan fås efter anmodning. Kontakt teknisk support i **Afsnit 16** for flere oplysninger.

## 6 Tilhørende produkter og forbrugsartikler

### *Positivt kontrolmateriale*

- **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG S2A-positiv controlsæt (SpeedX, kat.nr. S2A-95004)

### *Almindelige forbrugsvarer til laboratorier*

- Handsker og rene kitler
- Vortexmixer
- Centrifuge til laboratoriebord til 1,5 mL rør
- Mikropipetter, som dækker området 10-100 µL
- Steril, aerosolfri for, DNase/RNase-fri pipettespidser
- Sterile overførselspipetter, der kan overføre en volumen på mindst 1 mL

### *Til GeneXpert<sup>®</sup>-instrumentet*

- GeneXpert<sup>®</sup>-instrumentsystem: GeneXpert<sup>®</sup>-instrument, computer med GeneXpert<sup>®</sup>-software version 4.7b eller højere
- Stregkodelæser

For GeneXpert Infinity-48s eller Infinity-80:

- Xpertise-softwareversion 6.4b eller nyere

### *Prøvetagningsenheder*

- Xpert<sup>®</sup>-sæt til vaginal/endocervikal prøvetagning (Cepheid, kat.nr. SWAB/A-50)
- Xpert<sup>®</sup>-podningssæt til prøvetagning (Cepheid, kat.nr. SWAB/G-50)
- Xpert<sup>®</sup>-sæt til urinprøvetagning (Cepheid, kat.nr. URINE/A-50)
- Steril kop til urinprøvetagning.
- Almindelig FLOQSwab<sup>™</sup> i 3 mL UTM<sup>™</sup> medie (Copan kat.nr. 346C eller 306C (USA))
- Cobas<sup>®</sup> PCR-medie (Roche, kat.nr. 06466281190)
- Tørpodning, resuspenderet i 3 mL PBS.



## 7 Procedureoversigt

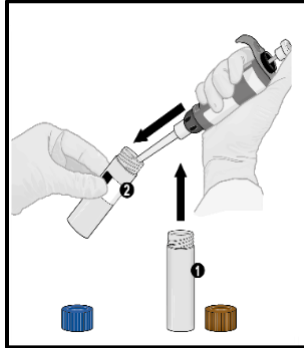
Figur 3. Procedureoversigt

### Klargøringsområde for blanding

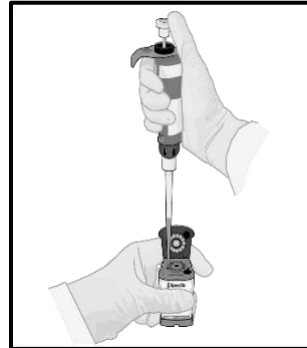
Påfør strejkodeetiket



Klargør reaktionsblanding

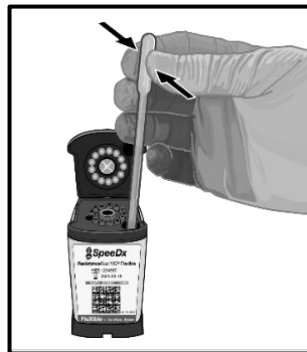


Tilføj reaktionsblanding

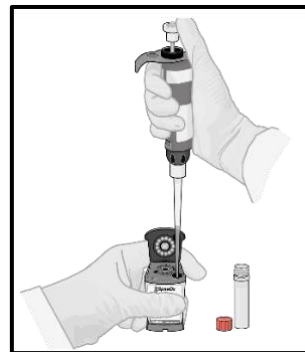


### Område til prøveklargøring/tilførsel

Tilføj prøve



Tilføj intern kontrol

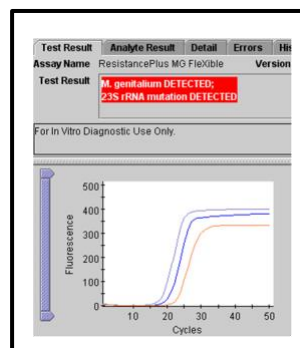


### Termocyklerområde

Udfør kørsel



Resultater



## 8 Detaljeret procedure

**Bemærk:** Navne på medfølgende reagenser angives i kursiv og efterfølges af farven på rørets hætte i parentes.

### 8.1 Prøveindsamling, transport og opbevaring

Urin fra mænd og kvinder, vaginal-, cervikal-, rektal-, uretralpoding fra symptomatiske og asymptomatiske patienter bør indsamles, transporteres og opbevares ved brug af standard laboratorietechnikker eller i henhold til prøvetagningssettets instruktioner.

#### 8.1.1 Godkendte prøvetagningsenheder

Utilstrækkelig eller ukorrekt prøvetagning, opbevaring og transport vil sandsynligvis føre til falske prøvesvar. Undervisning i korrekt prøvetagning er stærkt anbefalet for at sikre prøvens kvalitet og stabilitet.

Prøvetagningsenheder, der er godkendt med **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG *Flexible*-sættet, er anført nedenfor med en kort vejledning mht. instruktioner til prøvetagning, -håndtering og -transport fra enhedens producent. Disse instruktioner har ikke til hensigt at erstatte eller træde i stedet for eventuelle instruktioner, som producenten tilvejebringer. Der henvises altid til instruktionerne fra prøvetagningsenhedens producent i forbindelse med korrekte prøvetagningsmetoder.

Før ibrugtagning af en prøvetagningsmetode skal uddannet personale sikre korrekt forståelse af enheden og metoden. Gennemgå som det mindste testbeskrivelsen for følgende: angivelse af prøvetype, tilstrækkelig volumen, procedure(r), nødvendigt prøvetagningsmateriale, klargøring af patient samt korrekte håndterings- og opbevaringsinstruktioner.

#### 8.1.2 Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert<sup>®</sup> Vaginal/Endocervical Specimen Collection (Cepheid, Cat no. SWAB/A-50)

##### 8.1.2.1 Indsamling, transport og opbevaring af vaginal podningsprøve

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af vaginale podningsprøver fra kvinder med sættet Xpert<sup>®</sup> Vaginal/Endocervical Specimen Collection (Cepheid, Kat.-nr. SWAB/A-50)

1. Åbn og adskil den yvendige emballage (som indeholder sættet med to æsker) og identificér den store rengøringsrondel og bortskaf denne.
2. Åbn den æske, som indeholder Xpert Swab Transport Reagent-rør med pink hætte og individuelt indpakket podepind. Sæt røret til side, før prøveindsamlingen påbegyndes.
3. Åbn podepindens folieemballage ved at trække toppen af folien fra hinanden.
4. Udtag podepinden og sørg for ikke at røre ved spidsen eller lægge den ned. Hvis den bløde spids berøres, eller podepinden lægges ned eller tabes, skal du bede om et nyt indsamlingssæt.
5. Hold podepinden i hånden og placér tommel og pegefinger midt på podepindens skaft.
6. Indfør forsigtigt podepinden omkring 5 cm i vagina og rotér podepinden blidt i 10 til 30 sekunder. Sørg for, at podepinden berører vaginas væg, så podepinden optager fugtighed.
7. Træk forsigtigt podepinden ud.
8. Behold podepinden i hånden og skru samtidig hættens af Xpert Swab Transport Reagent-røret.
9. Spild ikke rørets indhold. Hvis rørets indhold spildes, skal du bede om et nyt indsamlingssæt.
10. Placér med det samme podepinden til prøveindsamlingen i transportreagensrøret.
11. Find delekærven på podepindens skaft. Bræk forsigtigt skaftet af mod siden af røret ved delekærven og bortskaf den øverste del af podepindens skaft. Sørg omhyggeligt for, at der ikke spildes indhold i form af stænk.
12. Skru hættens på transportreagensrøret igen og sørg for, at hættens sidder sikkert fast.
13. Vend røret op og ned eller ryst det blidt 3-4 gange, så materialet på podepinden frigives. Undgå skumdannelse.
14. Markér transportrøret med identifikationsoplysninger, herunder dato for indsamling, som påkrævet.
15. Desinficér og bortskaf alle prøver, reagenser og andet potentielt kontamineret materiale i overensstemmelse med lokale og statslige bestemmelser.
16. Xpert Swab Transport Reagent rør kan transporteres og opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.

##### 8.1.2.2 Indsamling, transport og opbevaring af endocervikale podningsprøver

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af vaginale podningsprøver fra kvinder med sættet Xpert<sup>®</sup> Vaginal/Endocervical Specimen Collection (Cepheid, Kat.-nr. SWAB/A-50)

1. Åbn sættet Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen Collection.

2. Før indsamling af den endocervikale prøve med sættet Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen Collection fjernes overskydende slimhinde fra livmoderhalsens åbning med den store individuelt pakkede rengøringsrondel. Træk folien delvist af den store rengøringsrondel og tag rondellen ud. Rengør livmoderhalsens åbning og omkringliggende slimhinde og bortskaf derefter rondellen.  
Bemærk: Hvis der indsamles flere prøver, skal overskydende slimhinde kun fjernes én gang.
3. Åbn den æske, som indeholder Xpert Swab Transport Reagent-rør med pink hætte og individuelt indpakket podepind. Sæt røret til side, før du fortsætter.
4. Åbn podepindens folieemballage ved at trække toppen af folien fra hinanden.
5. Udtag podepinden og sørg for ikke at røre ved spidsen eller lægge den ned. Hvis den bløde spids berøres, eller podepinden lægges ned eller tabes, skal du bede om et nyt indsamlingssæt.
6. Indfør podepinden i endocervikalkanalen.
7. Rotér podepinden blidt i 10 til 30 sekunder i endocervikalkanalen for at sikre passende prøvetagning.
8. Træk forsigtigt podepinden ud.
9. Behold podepinden i hånden og skru samtidig hættens af Xpert CT/NG Swab Transport Reagent-røret.
10. Spild ikke rørets indhold. Hvis rørets indhold spildes, skal du bede om et nyt indsamlingssæt.
11. Find delekærven på podepindens skaft. Bræk forsigtigt skaftet af mod siden af røret ved delekærven og bortskaf den øverste del af podepindens skaft. Sørg omhyggeligt for, at der ikke spildes indhold i form af stænk.
12. Skru hættens på transportreagensrøret igen og sørg for, at hættens sidder sikkert fast.
13. Vend røret op og ned eller ryst det blidt 3-4 gange, så materialet på podepinden frigives. Undgå skumdannelse.
14. Markér transportrøret med identifikationsoplysninger, herunder dato for indsamling, som påkrævet.
15. Desinficér og bortskaf alle prøver, reagenser og andet potentielt kontamineret materiale i overensstemmelse med lokale og statslige bestemmelser.
16. Xpert Swab Transport Reagent-røret kan transporteres og opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.

#### 8.1.3 Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert® Swab Specimen Collection (Cepheid, Kat.-Nr. SWAB/G-50)

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af podningsprøver fra mænd og kvinder med sættet Xpert® Swab Specimen Collection (Cepheid, Kat.-nr. SWAB/G-50)

1. Åbn sættet Xpert Swab Specimen Collection.
2. Åbn og adskil den udvendige emballage (som indeholder sættet med to æsker), og identificér den store rengøringsrondel og bortskaf denne.
3. Åbn podepindens folieemballage ved at trække toppen af folien fra hinanden.
4. Udtag podepinden og sørg for ikke at røre ved spidsen eller lægge den ned. Hvis den bløde spids berøres, eller podepinden lægges ned eller tabes, skal du anvende et nyt sæt Xpert Swab Specimen Collection.
5. Indfør forsigtigt podepinden omkring 1 cm bag den anale sphincter (så fiberspidserne ikke længere er synlige) og rotér blidt.
6. Behold podepinden i hånden og skru samtidig hættens af Xpert Swab Transport Reagent-røret.
7. Spild ikke rørets indhold. Hvis rørets indhold spildes, skal du anvende et nyt indsamlingssæt.
8. Placér med det samme podepinden i transportreagensrøret.
9. Find delekærven på podepindens skaft. Bræk forsigtigt skaftet af mod siden af røret ved delekærven og bortskaf den øverste del af podepindens skaft. Sørg omhyggeligt for, at der ikke spildes indhold i form af stænk. Ved eksponering vaskes med vand og sæbe.
10. Skru hættens på transportreagensrøret igen og sørg for, at hættens sidder godt fast.
11. Vend røret op og ned eller ryst det blidt 3-4 gange, så materialet på podepinden frigives. Undgå skumdannelse.
12. Markér transportrøret med identifikationsoplysninger, herunder dato for indsamling, som påkrævet.
13. Xpert Swab Transport Reagent-rør kan transporteres og opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 60 dage.

#### 8.1.4 Indsamling, transport og opbevaring af sættet Xpert Urine Specimen Collection (Cepheid, Kat.-nr. URINE/A-50)

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af urinprøver fra mænd og kvinder med sættet Xpert® Urine Specimen Collection (Cepheid, Kat.-Nr. URINE/A-50)

1. Patienten bør ikke have ladet vandet i mindst 1 time før prøveindsamlingen. Kvindelige patienter må ikke rengøre området omkring kønslæberne før indsamling af prøven. Mænd må ikke rengøre spidsen af penis før indsamling af prøven.
2. Anmod patienten om at levere den første urinstråle (cirka 20 til 50 mL af den første urin) i et urinopsamlingsbæger uden konserveringsmidler. Indsamling af større mængder urin kan føre til prøvefortynding, som kan nedsætte testens følsomhed.
3. Det skal sikres, at urinen er godt blandet i urinopsamlingsbægeret før overførsel af en prøve til Xpert Urine Transport Reagent-røret.
4. Åbn emballagen til engangsoverførselspipetten, som medfølger med sættet.

5. Fjern hættten fra Xpert Urine Transport Reagent-røret og fra urinopsamlingsbægeret.
6. Indfør overførselspipetten i urinopsamlingsbægeret, så spidsen er tæt ved bægerets bund. Overfør cirka 7 mL urin til Xpert Urine Transport Reagent-røret ved hjælp af engangsoverførselspipetten. Den korrekte mængde urin er overført, når niveauet når den sorte linje på etiketten på Xpert Urine Transport Reagent-røret.
7. Sæt hættten på Xpert Urine Transport Reagent-røret og sørg for, at hættten sidder sikkert fast.
8. Vend røret op og ned 3-4 gange for at sikre, at prøve og reagens er blandet godt.
9. Sæt hættten omhyggeligt på urinopsamlingsbægeret igen.
10. Markér transportrøret med identifikationsoplysninger, herunder dato for indsamling, som påkrævet. Sørg for ikke at overdække fyldelinjen på Xpert Urine Transport Reagent-røret.
11. Urin fra kvinder kan transporteres og opbevares i Xpert Urine Transport Reagent-rør ved 2 °C til 30 °C i op til 3 dage eller ved 2 °C til 15 °C i op til 45 dage.
12. Urin fra mænd kan transporteres og opbevares i Xpert Urine Transport Reagent-rør ved 2 °C til 30 °C i op til 45 dage.

#### 8.1.5 Indsamling, transport og opbevaring af sterilt urinopsamlingsbæger

Et sterilt urinopsamlingsbæger kan anvendes til indsamling af rene urinprøver. På grund af variabiliteten henvises til fremstillers indlægsseddel angående egnede indsamlingsmetoder. Der skal anvendes standardlaboratorietechnikker til transport og opbevaring.

#### 8.1.6 Indsamling, transport og opbevaring af Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ medie (Copan, Kat.-nr. 346C eller 306C (USA))

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af vaginale podningsprøver fra kvinder med Regular FLOQSwab™ i 3 mL UTM™ medie (Copan, Kat.-nr. 346C eller 306C (USA))

1. Åbn æsken med UTM-sættet, og tag det mellemste testrør og den vedlagte pose med den sterile podepind ud.
2. Tag den sterile podepind ud af posen og indsaml den kliniske prøve. For at forebygge risikoen for kontaminering skal det sikres, at podepindens spids kun kommer i kontakt med stedet for prøvetagningen.
3. Skru efter indsamling af prøven hættten af testrøret og sørg for ikke at spilde mediet.
4. Indsæt podepinden i testrøret, så delekærven er på niveau med testrørets åbning.
5. Bøj og bræk podepinden over ved delekærven, imens testrøret holdes væk fra dit ansigt. Bortskaf den overskydende del.
6. Skru hættten fast på testrøret og forsegl det hermetisk.
7. Prøven i UTM-mediet skal oparbejdes inden for 48 timer fra indsamlingstidspunktet, og testrøret skal opbevares ved 2-25 °C.
8. Før oparbejdning vortexes i 20 sekunder for at understøtte prøvefrigørelse fra podepinden og homogenisering af mediet.

#### 9.1.7 Indsamling, transport og opbevaring af cobas® PCR-medie (Roche, Kat.-nr. 06466281190)

Nedenfor er en sammenfattende beskrivelse af indsamling og transport af urin fra mænd og kvinder i cobas® PCR-medie (Roche, Cat no 06466281190).

1. Bland og overfør urinen til cobas® PCR-medierør med en engangspipette (medfølger ikke). Bemærk: Urin kan opbevares ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer før overførsel til cobas® PCR-medierør
2. Den korrekte mængde urin er overført, når væskniveauet er mellem de to sorte linjer på rørets etiket
3. Påsæt igen omhyggeligt hættten på cobas® PCR-medierør
4. Vend røret op og ned 5 gange, så indholdet blandes. Prøven er nu klar til transport og testning
5. cobas® PCR-medierør med den stabiliserede urinprøve kan opbevares og transporteres ved 2 °C til 30 °C.

#### 9.1.8 Indsamling, transport og opbevaring af tørre podepinde, resuspenderet i 3 mL PBS

Tørre podepinde kan anvendes til forskellige kliniske prøver og patientindsamlingsprøver. På grund af variabiliteten henvises til fremstillers indlægsseddel angående passende prøvetyper og korrekte indsamlingsmetoder.

## 8.2 **Klargøring af MG Flexible-reaktionsblanding**

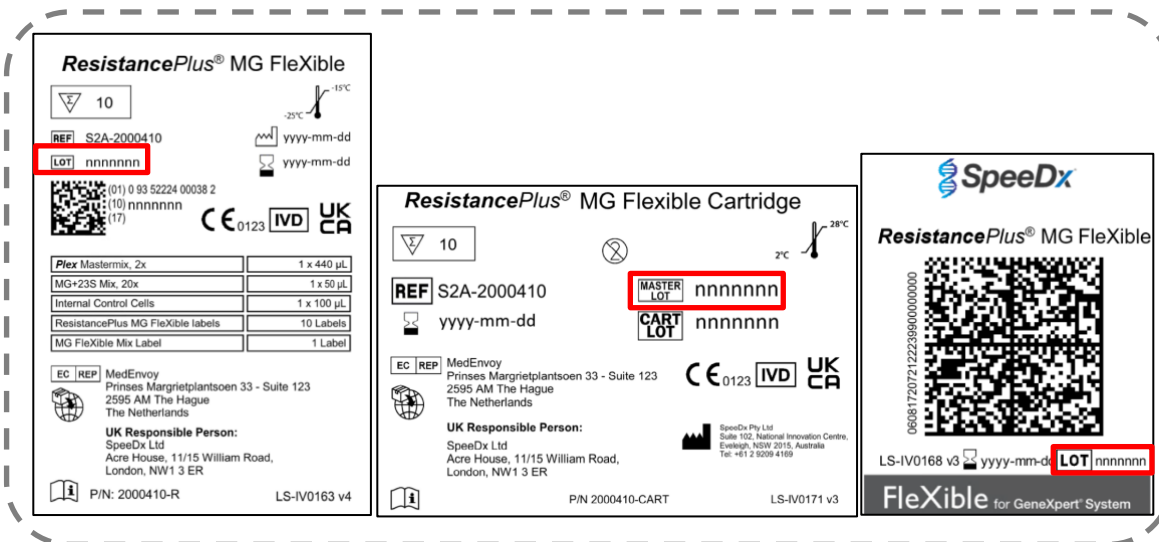
Se **Tabel 1** for en beskrivelse af sættets indhold.

**Bemærk:** Assay-opsætningen skal anvende samme Master Lot-nummer for æske 1 (assay-reagenser), æske 2 (kassetter) og **ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible**-etiketter (**Figur 4** vist med rød farve).

**Bemærk:** Undersøg kassetterne for integritet, og sørg for, at reaktionsrøret er intakt.

**Bemærk:** Kontrollér, at alle reagenser og kassetter er før udløbsdatoen, før brug og før etikettering af kassetten.

**Figur 4. MASTER LOT-numrene skal være de samme på æske 1 (venstre; ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible-assay-reagenser, P/N:2000410-R), æske 2 (midte; ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible-kassetter, P/N:2000410-CART) og ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible-etiketter (højre)**



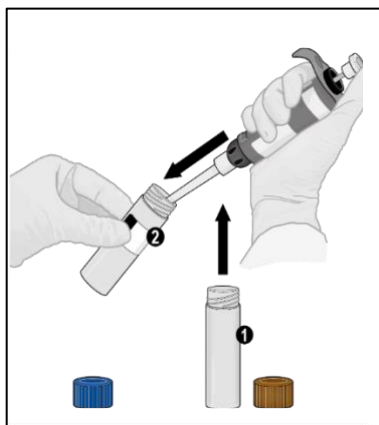
Fastgør **ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible**-etiket på kassetens forside som vist i **Figur 5**.

**Figur 5. Påsæt ResistancePlus<sup>®</sup> MG Flexible-etiket**



**Bemærk:** Før brug af reagenserne skal de optøs fuldstændigt, blandes grundigt ved kortvarig brug af vortexmixer og spindes ned

MG Flexible-reaktionsblandingen fremstilles ved at pipettere 44 µL **MG+23S Mix (BRUN)** i **Plex Mastermix-røret (BLÅT)** som vist i **Figur 6**. Denne reaktionsblanding er tilstrækkelig til 10 reaktioner.

**Figur 6. Fremstil MG FleXible-reaktionsblanding**

(Valgfrit) Ved opbevaring af resterende kombineret MG FleXible-reaktionsblanding kan indholdet blive i *Plex Mastermix*-røret (**BLÅT**), og røret kan ometiketteres med *MG FleXible Mix*-etiketten. Registrer fremstillingsdatoen på det relevante sted på etiketten.

- Den kombinerede MG FleXible-reaktionsblanding kan opbevares ved  $-25^{\circ}\text{C}$  til  $-15^{\circ}\text{C}$  i op til 8 uger. Det anbefales, at nedfrysning/optøning begrænses til under 8 gange.

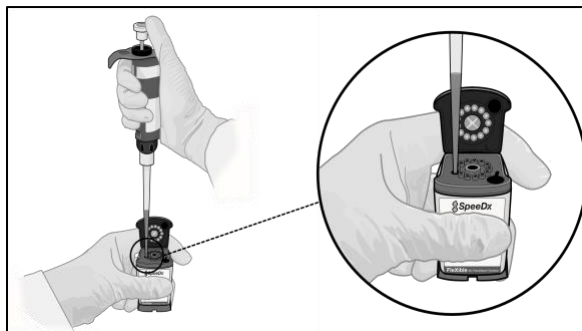
Sæt låget på *Plex Mastermix* røret (**BLÅT**), og stram det. Vortex og spin ned som vist i **Figur 7**.

**Figur 7. Vortex MG FleXible-reaktionsblanding**

Kassér *MG+23S Mix* rør(**BRUNT**).

Åbn kassetelåget.

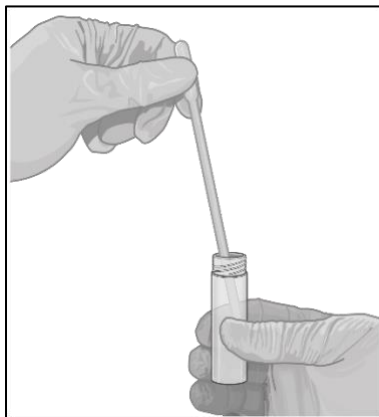
Pipetter 44  $\mu\text{L}$  af den kombinerede MG FleXible-reaktionsblanding i reaktionskammeret (lille åbning på venstre side af kassetten som vist i **Figur 8**). Indsæt spidsen lodret og længst muligt ind i kammeret, før opløsningen presses ud. Bank bunden af kassetten let mod bordet for at få opløsningen til at sætte sig.

**Figur 8. Indfør MG FleXible-reaktionsblandingen i reaktionskammeret**

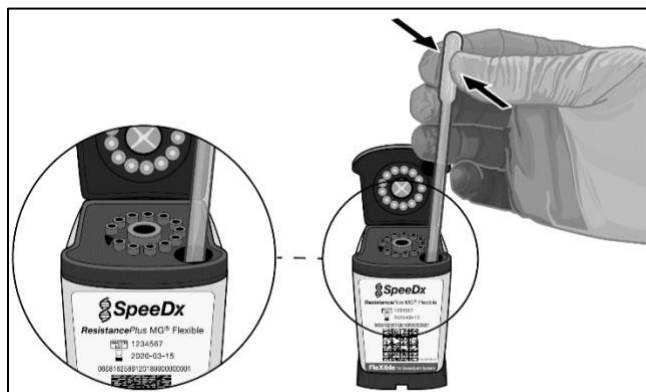
### 8.3 Tilføjelse af prøve

**Bemærk:** Brug kun overføringspipetter til tilføring af prøve i kassetten.

Åbn løget på prøverøret, tryk ballonen på overføringspipetten, indsæt pipetten i prøverøret, og let langsomt presset på ballonen for at fylde overføringspipetten op til 1 mL mærket på pipette skaftet. Den opsugede prøve må ikke indeholde luftbobler (Figur 9).

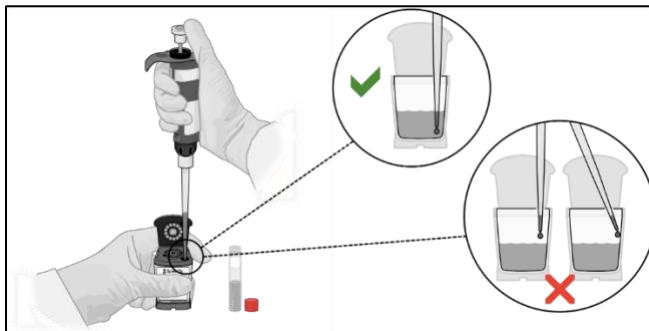
**Figur 9. Opsøg prøven i overføringspipetten**

Dispenser prøven fra overføringspipette i prøvekammeret på kassetten (stor åbning på nederste højre side af kassetten) vist i Figur 10.

**Figur 10. Tilfør prøven til prøvekammeret**

Tilsæt 10 µL interne kontrolceller (**RØD**) i prøvekammeret som vist i **Figur 11**. Sørg for, at spidsen er nedsænket i prøven før udpresning af *interne kontrolceller*. Kassetten må ikke blandes eller rystes.

**Figur 11. Tilsæt interne kontrolceller**



Luk kassetten låg som vist i **Figur 12**.

**Figur 12. Luk låget**



**Bemærk:** Indføring i kassetten skal foretages inden for 30 minutters klargøring.



## 9 Programmering af instrumentet

**ResistancePlus® MG FleXible-assayet skal køres på et GeneXpert®-instrumentsystem med brug af GeneXpert®-software version 4.7b eller højere, eller Xpertise-software version 6.4b eller nyere.**

**ResistancePlus MG FleXible-assay-definitionsfilen (ADF) skal importeres i softwaren, før testen køres første gang.**

**Bemærk:** Trinnene nedenfor er baseret på GeneXpert®-software version 4.7b og kan afvige, hvis systemets standardarbejdsflow er blevet ændret af systemadministratoren

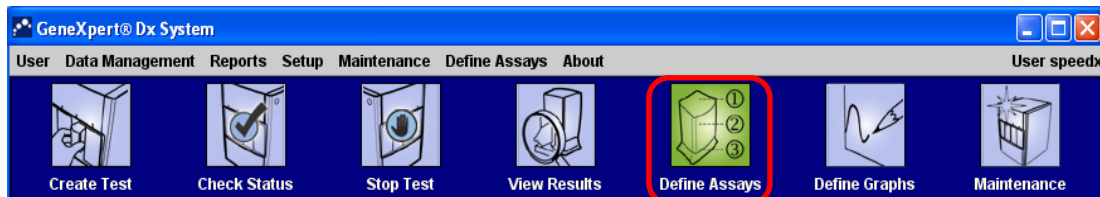
### 9.1 Import af ADF til softwaren

I hovedmenuen for GeneXpert® Dx-softwaren

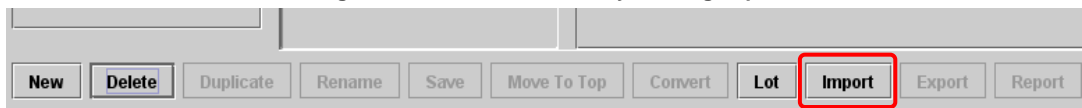
Vælg **Define Assays** (Figur 13)

Vælg **Import** (Figur 14)

Figur 13. Hovedmenu – vælg Define Assays

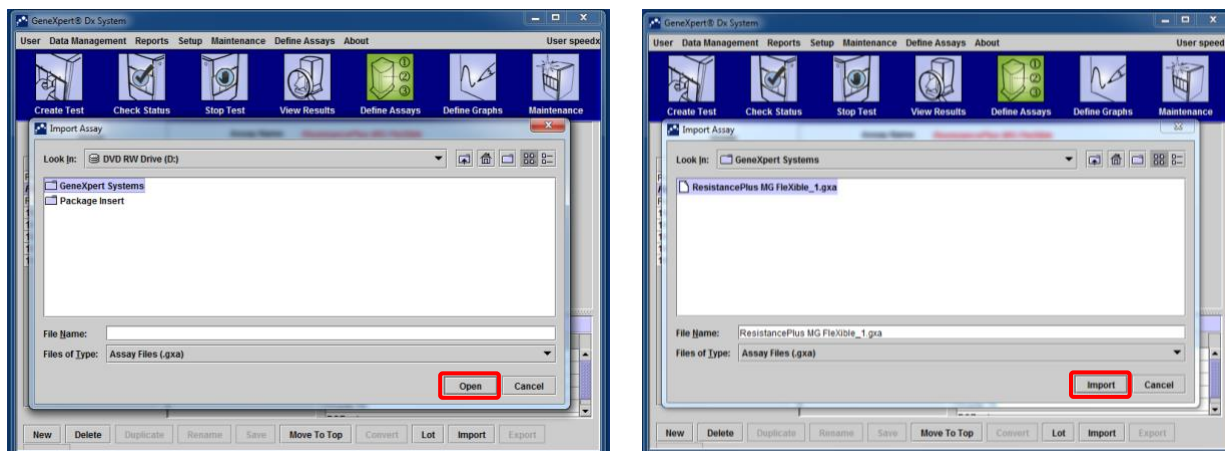


Figur 14. Menuen Define assays – vælg import



I vinduet **Import Assay** skal du gå til placeringen af ADF og vælge **Import** (Figur 15)

Figur 15. Find ADF-placeringen (venstre), og importer assay (højre)



I Infinity Xpertise-softwareen vælges ikonet **Home** for at vise Xpertise-softwareens startarbejdsområde.

Vælg knappen **Setup**

I opsætningsmenuen vælges **Manage Assays**

I arbejdsområdet Manage Assays klikkes på **Import**. Dialogboksen Import Assay vises.

Naviger til ADF-placeringen, og klik på knappen **Open** i Import Assay-dialogboksen.

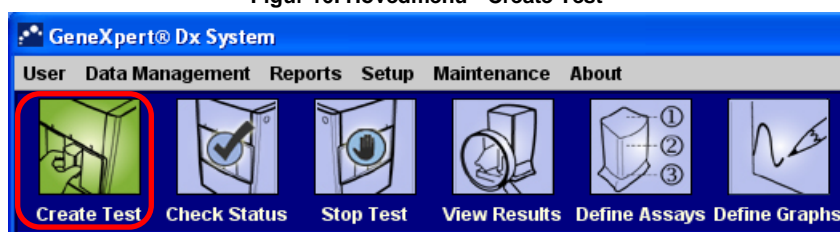
## 9.2 Start af testen

**Bemærk:** Trinnene nedenfor kan afvige, hvis systemadministratoren har ændret standardarbejdsflowet i systemet.

I hovedmenuen for GeneXpert® Dx-softwareen

Vælg **Create Test** (GeneXpert Dx **Figur 16**) eller vælg **Orders** og **Order Test** (Infinity Xpertise)

**Figur 16. Hovedmenu - Create Test**



I vinduet Create Test i GeneXpert® Dx-softwareen (**Figur 17**) eller i arbejdsområdet Order Test i Infinity Xpertise-softwareen:

Indtast **Patient ID** (valgfrit) ved scanning eller indtastning

Indtast **Sample ID** ved scanning eller indtastning

Vælg **Scan Cartridge Barcode**

Scan stregkoden på **ResistancePlus®** MG Flexible-etiketten. Ved hjælp af informationen i stregkoden udfylder softwaren automatisk felterne for følgende:

- Vælg Assay
- Reagens Lot-ID
- Kasette-SN
- Udløbsdato

**Bemærk:** Hvis stregkoden på **ResistancePlus®** MG Flexible-etiketten ikke scannes, skal du kontakte teknisk support (**Afsnit 16**) for anvisninger om, hvordan der kan fortsættes.

For **Select Assay**

Kontrollér, at **Name** vises som '**ResistancePlus MG Flexible**'

Sådan startes testen på GeneXpert® Dx-instrumentet:

Klik på **Select Module**, og vælg det ønskede modul

Vælg **Start Test** (indtast adgangskode, hvis det kræves)

Et blinkende grønt lys angiver det valgte modul

Indfør kassetten med reaktionsrøret pegende mod bagsiden af modulet

Luk modul døren

Det grønne lys holder op med at blinke og forbliver tændt for at angive, at testen kører

Sådan startes testen på GeneXpert® Infinity-instrumentet:

Vælg **Submit** (indtast adgangskode, hvis det kræves)

Placer kassetten på transportbåndet

Infinity-instrumentet indlæser automatisk kassetten og kører testen

Når testen er afsluttet:

For GeneXpert® Dx-instrumentet:

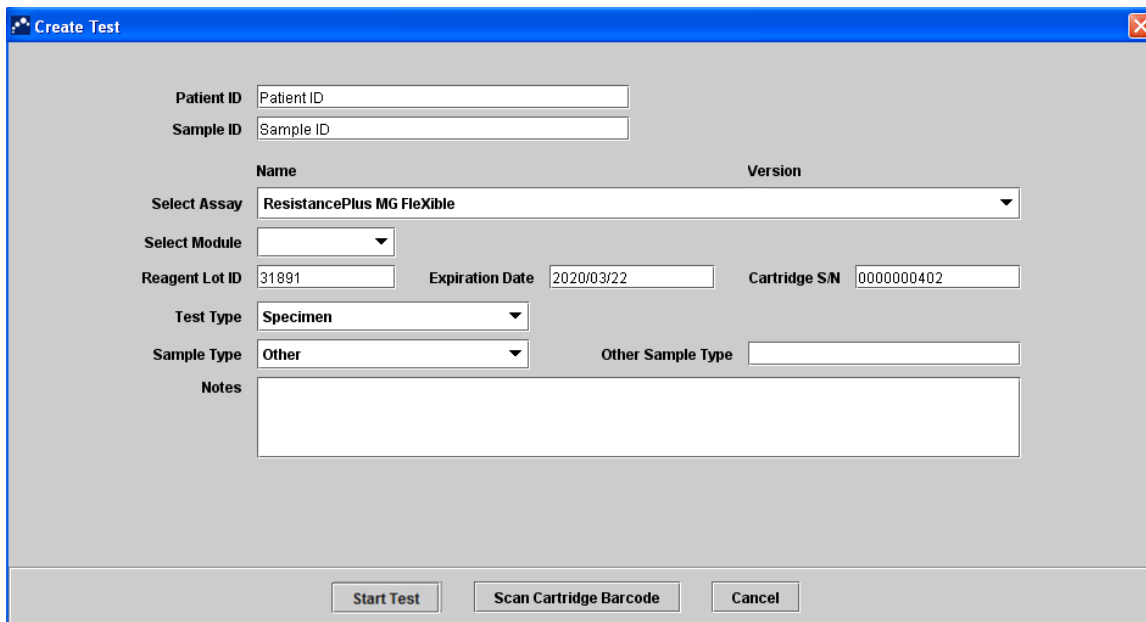
Lyset slukkes, og døren åbnes

Kassetter skal fjernes manuelt og skal bortskaffes med brug af passende procedurer for bortskaffelse af farligt affald

Til GeneXpert Infinity-instrumentet

Den anvendte kassette placeres automatisk i affaldsbeholderen

Figur 17. Vinduet 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 menu)
- Reagent Lot ID: 31891
- Expiration Date: 2020/03/22
- Cartridge S/N: 0000000402
- Test Type: Specimen
- Sample Type: Other
- Other Sample Type: (input field)
- Notes: (text area)

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

## 10 Kvalitetskontrol

Hver test inkluderer en intern kontrol og en probecheck-kontrol (PCC).

De interne kontrolmonitorer (IC) overvåger ekstraktionens effektivitet og PCR-hæmning. De *interne kontrolceller* er *Escherichia coli*-celler, som indeholder den interne DNA-kontrolskabelon, der tilføjes prøven og co-ekstraheres og co-amplificeres i reaktionen. IC'en er gyldig, hvis den opfylder godkendelseskriterierne. Til en analyt negativ-prøve skal IC være gyldig, for at prøven kan bestemmes som en gyldig negativ. For en analyt positiv-prøve påvirker IC-området ikke det samlede testresultat.

Før starten af PCR udføres en probecheck af GeneXpert-systemet. Fluorescenssignalet måles for at monitorere blandingstilføring, fyldning af reaktionsrør, probeintegritet samt farvestabilitet. Et probecheck er bestået, hvis det opfylder de validerede modtagelseskriterier.

Eksterne kontroller (positive og negative kontroller) skal udføres i henhold til institutionens protokoller. **ResistancePlus®** MG S2A Positive Control-sættet anbefales som positivt kontrolmateriale til nukleinsyreampifikation. Se **Afsnit 11** for anvisninger om brug af **ResistancePlus®** MG S2A Positive Controls. Det anbefales at anvende en kendt negativ prøve som negativ kontrol.

## 11 Anvisninger om ResistancePlus® MG S2A Positive Control

ResistancePlus® MG S2A Positive Control-sættet indeholder positivt kontrolmateriale for *M. genitalium* 23S rRNA-mutanter og *M. genitalium* 23S rRNA-vildtype (Tabel 2).

Tabel 2. Sættets indhold for ResistancePlus® MG S2A Positive Control-sæt			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Quantity (Mængde)
Hvid	MG, 23S rRNA wild type (MG, 23S rRNA vildtype)	Positiv kontrolskabelon til detektion af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA vildtype	2 x 100 µL
Grøn	MG, 23S rRNA A2058G	Positiv kontrolskabelon til detektion af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058G-mutation	2 x 100 µL
Orange	MG, 23S rRNA A2059G	Positiv kontrolskabelon til detektion af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2059G-mutation	2 x 100 µL
Blå	MG, 23S rRNA A2058T	Positiv kontrolskabelon til detektion af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058T-mutation	2 x 100 µL
Gul	MG, 23S rRNA A2058C	Positiv kontrolskabelon til detektion af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058C-mutation	2 x 100 µL
Neutral	Dilution Buffer (Fortyndingsbuffer)	Fortynder	10 x 1 mL

### 11.1 Brugsanvisning

**Bemærk:** Før brug af reagenserne skal de optøs fuldstændigt, blandes grundigt ved kortvarig brug af vortexmixer og spindes ned.

Klargør MG Flexible-reaktionsblandingen som beskrevet i **Afsnit 8.2**.

#### 11.1.1 Klargøring af positiv kontrolprøve med en mikropipette

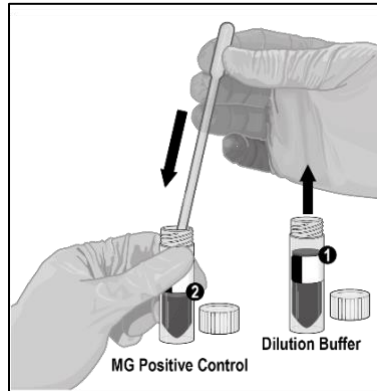
- Pipetter 1 mL fortyndingsbuffer (**NEUTRAL**) i et positivt kontrolrør (f. eks. *MG, 23S rRNA-vildtype (HVID)*).
- Sæt låget på igen, og spænd det. Vortex og spin ned.
- Tilsæt 1 mL fortyndet, positiv kontrolprøve til en kassette som beskrevet i **Afsnit 8.3**.
- Start den positive kontroltest som beskrevet i **Afsnit 9.2**.

#### 11.1.2 Klargøring af positiv kontrolprøve med en overføringspipette

- Åbn låget på fortyndingsbuffer-røret (**NEUTRAL**). Tryk ballonen på overføringspipetten sammen, sæt langsomt spidsen ned i Fortyndingsbuffer-røret til cirka en fjerdedel fra bunden. Slip **forsigtigt** presset på ballonen for at fylde overføringspipetten, mens spidsen langsomt bevæges til bunden af røret (**Figur 18**). Sørg for, at overføringspipetten er fyldt op til omkring 1 mL-mærket.
- Indsæt overføringspipetten i det positive kontrolrør (f. eks. *MG, 23S rRNA-vildtype (HVID)*), så den rører ved den indvendige væg, og frigiv **forsigtigt** fortyndingsbufferen fra overføringspipetten. Fjern overføringspipetten fra røret.
- Pres på overføringspipettens ballon, indsæt langsomt spidsen af overføringspipetten i den fortyndede positive kontrol under væskeoverfladen, og slip **forsigtigt** presset på ballonen, mens spidsen langsomt bevæges til bunden af røret. Sørg for, at overføringspipetten er fyldt op til omkring 1 mL-mærket.
- Dispenser 1 mL fortyndet positiv kontrolprøve til en kassette som beskrevet i **Afsnit 8.3**.
- Start den positive kontroltest som beskrevet i **Afsnit 9.2**.

Se **Afsnit 13** for eksempler på resultater.

Figur 18. Tilsæt 1 mL fortyndingsbuffer til MG Positive Control



## 12 Fortolkning af resultater

Fortolkningen af resultaterne fra *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG FlexiBle-assay automatiseres af GeneXpert<sup>®</sup> systemsoftwaren ud fra målte fluorescenssignaler og integrerede beregningsalgoritmer.

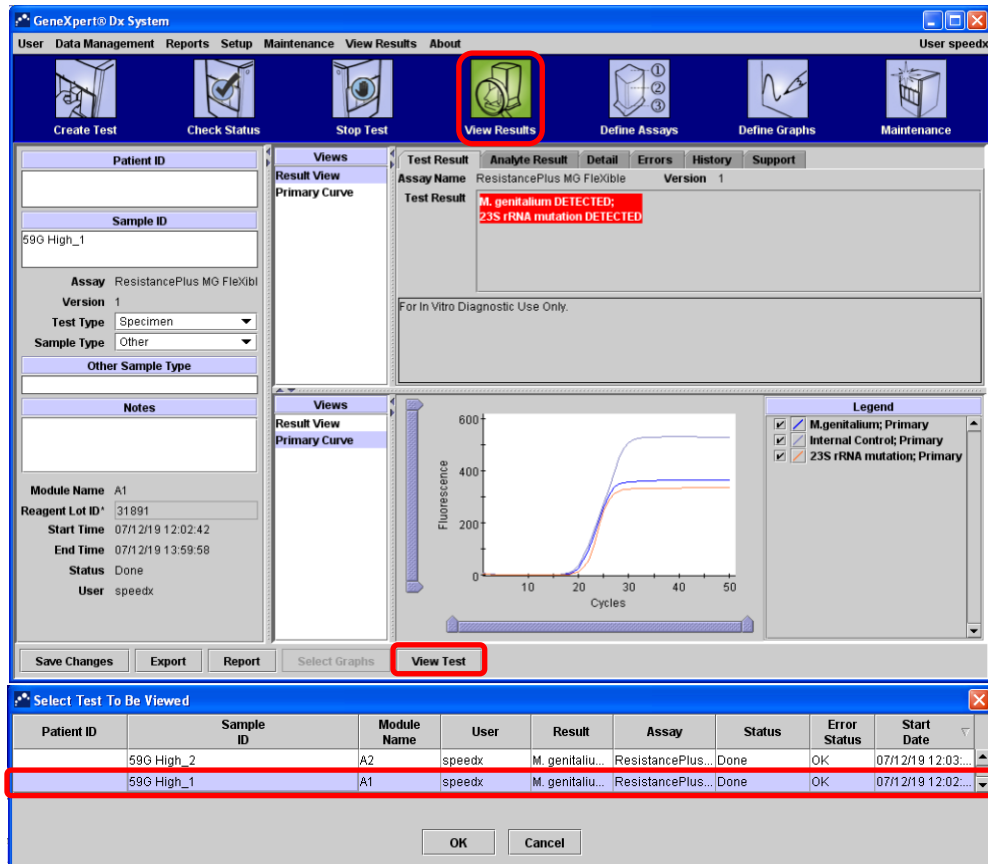
I hovedmenuen for GeneXpert<sup>®</sup> Dx-softwaren

Vælg **View Results** (Figur 19) > Vælg **View Test**

I vinduet **Select Test to Be Viewed**

Vælg den ønskede test, og vælg **OK**

Figur 19. View Results (visningen kan variere afhængigt af brugeropsætningen)



The screenshot displays the GeneXpert Dx System interface. The 'View Results' button in the top toolbar is highlighted with a red box. The main window shows the following details:

- Assay Name:** ResistancePlus MG FlexiBle
- Version:** 1
- Test Type:** Specimen
- Sample Type:** Other
- Test Result:** M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED
- Graph:** A line graph showing fluorescence intensity over cycles (0 to 50). The y-axis ranges from 0 to 600. Three curves are shown: M. genitalium (blue), Internal Control (green), and 23S rRNA mutation (red).
- Legend:**
  - M.genitalium; Primary
  - Internal Control; Primary
  - 23S rRNA mutation; Primary

Below the main window, the 'Select Test To Be Viewed' window is open, showing a table of test results. The selected test is highlighted in red:

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 vinduet **View Results**

I **Views** > Vælg **Result View**

- > Vælg fanen **Test Result** for at vise samlet testresultat
- > Vælg fanen **Analyte Result** for at vise værdier for alle analytter

I **Views** > Vælg **Primary curve** for at vise amplifikationskurven

I Infinity Xpertise-softwareen vælges knappen **Results**. Resultatmenuen vises.

I resultatmenuen vælges knappen **View Results**. Vinduet View Results vises.

I vinduet View Results

- > Vælg fanen **Test Result** for at vise samlet testresultat
- > Vælg fanen **Analyte Result** for at vise værdier for alle analytter
- > Vælg **Amplification Curve** for at se amplifikationskurver

**BEMÆRK:** Det anbefales kraftigt, at amplifikationskurver gennemgås for alle positive prøver.

### 13 Eksempler på resultater

Følgende eksempler viser det samlede testresultat fra fanen Testresultat samt amplifikationskurver og analyt-Cts fra fanen Analytresultat i vinduet Vis resultater i GeneXpert® Dx softwaren.

#### Eksempel 1. *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantprøve

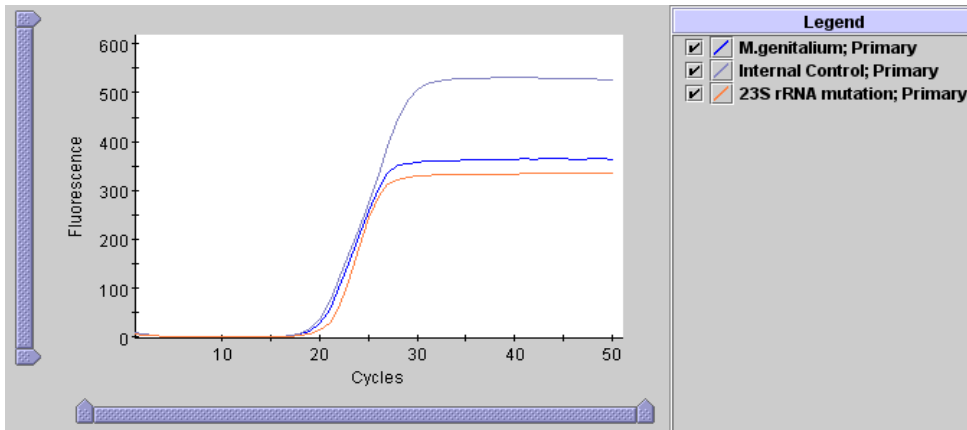
##### Result View > fanen Test Result

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

##### Result view > fanen 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



Test Result	Fortolkning
<b>M. genitalium PÅVIST; 23S rRNA-mutation PÅVIST</b>	<p><i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutation mål-DNA påvist</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR-amplifikation af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutationsmål give Cts inden for det gyldige område</li> <li>• Intern kontrol: Ikke relevant (NA), når <i>M. genitalium</i> er påvist</li> <li>• Probecheck: BESTÅET; alle probecheck-resultater består</li> </ul>

## Eksempel 2. *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtypeprøve

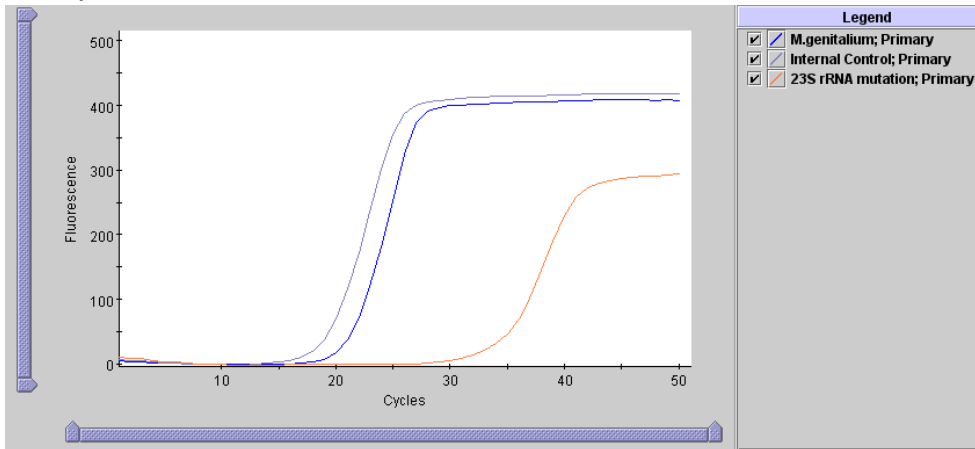
### Result View > fanen Test Result

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

### Result view > fanen 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



Test Result	Fortolkning
<b>M. genitalium PÅVIST;</b> <b>23S rRNA-mutation IKKE PÅVIST</b>	<p><i>M. genitalium</i> DNA påvist; 23S rRNA-mutation mål-DNA ikke påvist</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR-amplifikation af <i>M. genitalium</i>-mål giver en Ct inden for det gyldige område; 23S rRNA-mutantmål er fraværende eller ikke inden for det gyldige område</li> <li>• Intern kontrol: Ikke relevant (NA), når <i>M. genitalium</i> er påvist</li> <li>• Probecheck: BESTÅET; alle probecheck-resultater bestået</li> </ul>



### Eksempel 3. *M. genitalium* negativ prøve

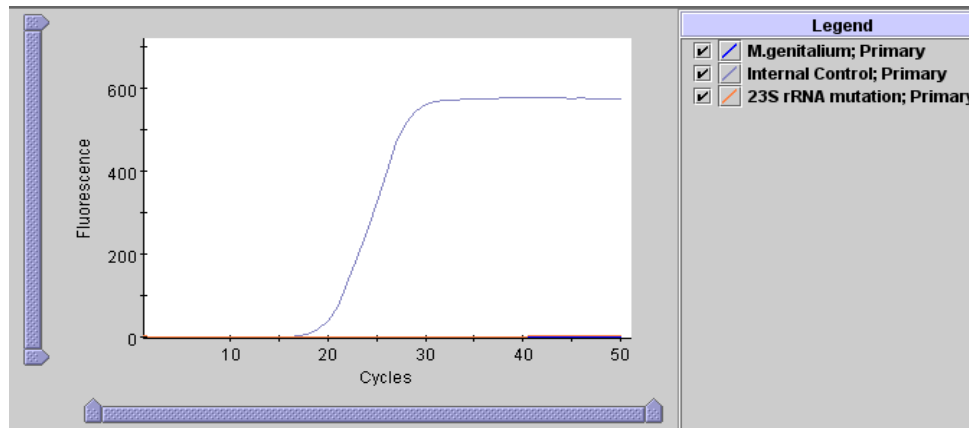
#### Result View > fanen Test Result

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

#### Result view > fanen 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



Test Result	Fortolkning
<b>M. genitalium IKKE PÅVIST;</b> <b>23S rRNA-mutation IKKE PÅVIST</b>	<i>M. genitalium</i> mål-DNA ikke påvist <ul style="list-style-type: none"> <li><i>M. genitalium</i> mål fraværende eller uden for det gyldige område</li> <li>Intern kontrol: BESTÅET; PCR-amplifikation af intern kontrol giver en Ct inden for det gyldige område</li> <li>Probecheck: BESTÅET; alle probecheck-resultater bestået</li> </ul>

#### Eksempel 4. Ugyldig prøve

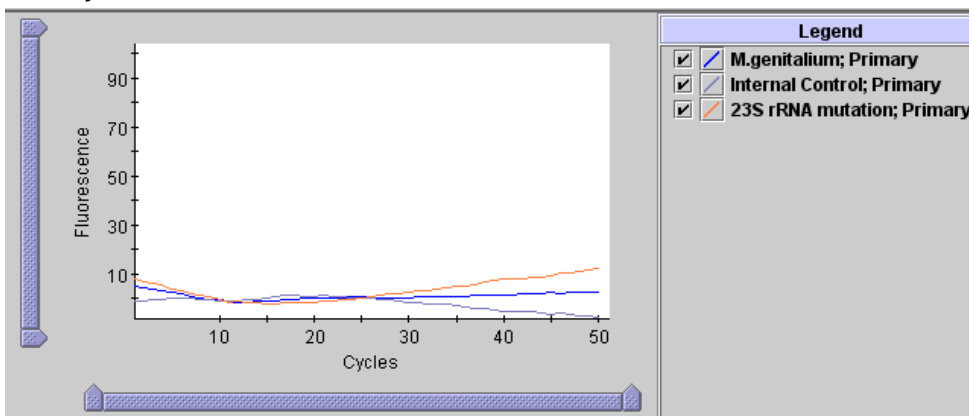
##### Result View > fanen Test Result

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

##### Result view > fanen 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



Test Result	Fortolkning
UGYLDIG	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutation mål-DNA kan ikke bestemmes. <b>Gentag testen</b> med den originale prøve, og fortsæt fra <b>Afsnit 8.2</b>. Hvis den gentagne test ikke producerer et gyldigt resultat, skal en ny prøve indsamles for test.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Intern kontrol: MYSLYKKET; Resultat af intern kontrol er fraværende, eller Ct er ikke inden for det gyldige område</li> <li>Probecheck: BESTÅET; alle probecheck-resultater består</li> </ul>

## Eksempel 5. Fejlresultat

## Result View &gt; fanen 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.					

## Result view &gt; fanen 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	

Test Result	Fortolkning
FEJL	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutation mål-DNA kan ikke bestemmes. <b>Gentag testen</b> med den originale prøve, og fortsæt fra <b>Afsnit 8.2</b>. Hvis den gentagne test ikke producerer et gyldigt resultat, skal en ny prøve indsamles for test.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Intern kontrol: NO RESULT</li> <li>Probecheck: MISLYKKET*; alle eller et af probecheck-resultaterne mislykket. Probecheck kan være mislykket, fordi reaktionsblandingen blev fremstillet forkert, eller reaktionskammeret var blevet fyldt forkert, eller der blev påvist et problem med blandingens integritet.</li> </ul> <p>* Hvis probecheck er bestået, er fejlen forårsaget af en fejl i en systemkomponent, påvisning af signaltab eller anden fejl</p>

## Eksempel 6. No result

## Result View &gt; fanen 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.					

Test Result	Fortolkning
NO RESULT	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutation mål-DNA kan ikke bestemmes. <b>Gentag testen</b> med den originale prøve, og fortsæt fra <b>Afsnit 8.2</b>. Hvis den gentagne test ikke producerer et gyldigt resultat, skal en ny prøve indsamles for test.</p> <p>Der var indsamlet utilstrækkelige data til at kunne producere et resultat (f.eks. stoppede operatøren en test, der var i gang, eller der opstod en komponentfejl).</p>

## 14 Begrænsninger

- **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-assayet retter sig mod *MgPa*-genet for *M. genitalium* og mutationer i positionerne 2058 og 2059 i 23S rRNA-genet (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, *E. coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (makrolidbaseret antibiotikum).
- **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-assayet har vist sig at krydsreagere med *M. genitalium*, 23S rRNA A2059C mutantsekvenser.
- **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-assayet må kun udføres af personale, der er uddannet i proceduren, og skal udføres i overensstemmelse med denne brugsanvisning.
- Pålidelige resultater afhænger af adækvat indsamling, opbevaring, transport og behandling af prøverne. Manglende overholdelse af de korrekte procedurer i ethvert af disse trin kan føre til fejlagtige resultater.
- **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-assayet er et kvalitativt assay og leverer ikke kvantitative værdier eller oplysninger om belastning af organismen.
- Ved urinprøver kan der observeres assay-interferens ved tilstedeværelse af blod (>0,4 % v/v) eller bilirubin (>0,18 mg/mL).
- Resultaterne fra testen skal ses i sammenhæng med de kliniske, epidemiologiske data, laboratoriedata og andre data, der er tilgængelige for klinikerens.
- Prævalensen af *M. genitalium* og macrolidresistensen vil påvirke assayets positive og negative prædiktive værdier.
- Påvisning af antibiotikaresistensmarkører korrelerer ikke nødvendigvis med fænotypiske genudtryk.
- Behandlingens virkning eller manglende virkning kan ikke afgøres på baggrund af assay-resultaterne, da der fortsat kan være nukleinsyre efter korrekt antimikrobiel behandling.
- Negative resultater udelukker ikke muligheden for infektion på grund af forkert prøveindsamling, tekniske fejl, tilstedeværelse af inhibitorer, ombytning af prøver eller lave antal organismer i den kliniske prøve.
- Negative resultater for resistensmarkører giver ingen indikation for modtageligheden af de påviste mikroorganismer, da der kan være resistensmarkører eller andre potentielle mekanismer for antibiotikaresistens, som ikke måles af assayet.
- Falsk positive resultater kan skyldes krydskontaminering af målorganismer, deres nukleinsyrer eller amplificeret produkt.

## 15 Præstationskarakteristika

### 15.1 Klinisk præstation

Et prospektivt-retrospektivt klinisk studie blev udført ved STD Laboratory, University of Alabama, Birmingham, Alabama, USA. Der blev indsamlet prøver i perioden september 2018 - marts 2019, og baseret på en intern *M. genitalium* pdhD realtids-PCR (udført på Johns Hopkins Center for the Development of Point-of-Care Sexually Transmitted Diseases, Baltimore, Maryland, USA), blev 21 *M. genitalium*-positive og 54 konsekutive *M. genitalium*-negative udvalgt til at indgå i studiet. De 76 prøver bestod af 38 mandlige urinprøver (indsamlet i Xpert® Urine Specimen Collection-sæt) og 38 vaginalpodninger (indsamlet i Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection-sæt). For at bestemme præstationen af **ResistancePlus® MG Flexible**-sættet blev *M. genitalium*-påvisning sammenlignet med pdhD realtids-PCR-resultatet, og 23S rRNA-mutantpåvisning blev sammenlignet med Sanger-sekvensering. Følsomheden og specificiteten af **ResistancePlus® MG Flexible**-sættet til påvisning af *M. genitalium* og 23S-mutant er vist i **Tabel 3**. En prøve (vaginalpodning) blev rapporteret som ugyldig af **ResistancePlus® MG Flexible** og blev udelukket fra analysen. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfatter kun prøver, hvor mutantstatus kan bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype er vist i **Tabel 4**. 23S rRNA-mutationsanalyse er vist i **Tabel 5**.

		Reference <i>M. genitalium</i> -påvisning (pdhD qPCR)		Reference 23S rRNA mutant-påvisning (Sanger-sekvensering)		
		MG-positiv	MG-negativ	Mutant	Vildtype	
<b>ResistancePlus MG Flexible</b>	MG-positiv	21	2	Mutant	13	0
	MG-negativ	0	52	Mutant ikke påvist	1	7
	I alt	21	54	I alt	14	7
<b>Følsomhed</b>		100,0% (95% CI 83,9 – 100,0%)		<b>Følsomhed</b>	92,9 % (95% CI 66,1 – 99,8%)	
<b>Specificitet</b>		96,3% (95% CI 87,3 – 98,7%)		<b>Specificitet</b>	100,0 % (95 CI 59,0 – 100,0%)	

Prøve	Forventet MG-negativ	Forventet MG-positiv, 23S rRNA vildtype	Forventet MG-positiv, 23S rRNA mutant
Urin fra mænd	33/33	1/1	3/4 <sup>1</sup>
Vaginal podning, kvinder	22/22	6/6	10/10

\* Prøver blev medtaget i analysen, hvis de havde et gyldigt resultat fra både referencetest og **ResistancePlus® MG Flexible**

<sup>1</sup> 1 prøve blev fejlagtigt kaldt *M. genitalium*-påvist, 23S rRNA-mutant ikke påvist

Referenceresultat	<b>ResistancePlus® MG Flexible</b> -resultat
Vildtype	7/7
A2059G	8/8
A2058G	5/6 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> 1 prøve blev fejlagtigt kaldt *M. genitalium*-påvist, 23S rRNA-mutant ikke påvist

## 15.2 Analytisk præstation

### 15.2.1 Reproducerbarhed

Et reproducerbarhedsstudie blev gennemført på tværs af testanlæg, instrumenter, lots, operatører, kørsler og dage for **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-sættet med brug af paneler klargjort fra urin- og vaginalpodningsmatrix. Test blev foretaget på to anlæg. Hvert panel indeholdt tre replikater af et panelelement testet ved 3x LOD. Hvert panel indeholder tre negative prøver. Panelerne blev testet to gange dagligt i tre ikke på hinanden følgende dage af tre operatører, hvilket gav i alt 54 observationer pr. panelelement (3 replikater pr. kørsel x 2 kørsler x 3 dage x 3 operatører = 54 observationer). Mindst tre lots af **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-sættet indgik i studiet.

Alle gyldige testkørsler blev medtaget i analyserne af procentoverensstemmelsen for hvert mål af **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Flexible-sæt, separat for hver paneltype.

**Reproducerbarhedsresultater ved urinpaneler:** Procentoverensstemmelsen for alle prøver var 100% (Tabel 6). Analyse af varianskomponenter (Tabel 7 – Tabel 9) for Cq-værdierne udført på positive panelelementer gav samlede CV-intervaller fra 0,00% til 4,07%, 0,54% til 4,23% og 0,25% til 6,04% for henholdsvis MgPa-, IC-, og 23S-mål.

**Reproducerbarhedsresultater ved vaginalpodning:** Procentoverensstemmelsen for alle prøver var 100% (Tabel 10). Analyse af varianskomponenter (Tabel 11 – Tabel 13) for Cq-værdierne udført på positive panelelementer gav samlede CV-intervaller fra 0,10% til 2,69 %, 0,02 % til 2,57 % og 0,18 % til 2,86 % for henholdsvis MgPa-, IC-, og 23S-mål.

Tabel 6. Urinprøver: Procentoverensstemmelse						
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Sted 1 (GeneXpert XVI)		Sted 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Samlet overensstemmelse ud fra mål	
	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhed (%)	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhed (%)	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhed (%)
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

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

Tabel 7. Urinprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for MgPa-målet													
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N <sup>a</sup>	Overensstemmelse (%)	Middeleværdi i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	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	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 8. Urinprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for 23S rRNA-mutationsmålet**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA- type	n/N <sup>a</sup>	Overensst emmelse (%)	Midde lværd i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 9. Urinprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for IC-målet**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA- type	n/N <sup>a</sup>	Overensst emmelse (%)	Midde lværd i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	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

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 10. Vaginalpodningsprøver: Procentoverensstemmelse**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Sted 1 (GeneXpert XVI)		Sted 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Samlet overensstemmelse ud fra mål	
	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhe d (%)	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhe d (%)	n/N <sup>a</sup>	Træfsikkerhed (%)
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

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 11. Vaginalpodningsprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for MgPa-målet**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N <sup>a</sup>	Overensstemmelse (%)	Middeleværd i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	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	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 12. Vaginalpodningsprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for 23S rRNA-mutationsmålet**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N <sup>a</sup>	Overensstemmelse (%)	Middeleværd i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>M. genitalium</i> negativ	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver

**Tabel 13. Vaginalpodningsprøver: Oversigt over reproducerbarhedsdata for IC-målet**

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	n/N <sup>a</sup>	Overensstemmelse (%)	Middeleværd i Cq	Mellem lots		Mellem dage		Mellem operatører		Mellem kørsler		Mellem instrumenter	
				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
Vildtype	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

<sup>a</sup> n/N = antal korrekt identificerede prøver/samlet antal testede prøver



### 15.2.2 Analytisk følsomhed

Repræsentative *M. genitalium*-stammer, der blev anvendt til vurdering af analytisk sensitivitet (påvisningsgrænse eller LOD). Hver *M. genitalium*-stamme blev fortyndet i en matrix af negativ urinprøve og negativ vaginalpodningsprøve. LOD defineres som den laveste koncentration (udtrykt som antal genomer pr. prøve), som reproducerbart kan skelnes fra negative prøver med 95 % konfidens.

Resultaterne for hver *M. genitalium*-stamme er vist i **Tabel 14**.

Tabel 14. LOD for hvert mål for <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Flexible-sættet			
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Stamme	Urin	Vaginalpodning
		LOD (genomer pr. prøve)	LOD (genomer pr. prøve)
WT	G37	157	157
A2058C	M6302	317	317
A2059G	M6593	147	220
A2058G	M6604	387	387
A2058T	M6926	151	151

### 15.2.3 Inklusivitet

Et inklusivitetsstudie blev udført for at teste reaktiviteten for *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-sættet med 8 stammer af *M. genitalium*. *M. genitalium*-isolaterne repræsenterede forskellige 23S rRNA-mutanter fra forskellige geografiske lokaliteter (isolaterne fra følgende lande, med antallet af stammer angivet i parentes: Australien (2), Danmark (3), Norge (1), Storbritannien (1), USA (1)). Hver stamme blev fortyndet i en matrix af negativ urinprøve og negativ vaginalpodningsprøve. Alle isolater blev testet ved en koncentration på 2x LOD i replikater af tre med anvendelse af ét lot af *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-sættet. Alle stammer blev påvist korrekt.

Resultaterne er opsummeret i **Tabel 15**.

Tabel 15. <i>M. genitalium</i> -stammer testet for inklusivitet	
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA-type	Stamme
Vildtype	M2300
	M2321
	M2341
	M30 Tidlig
A2058G	M6271
A2059G	M6303
	M6320
A2058C	M6848

### 15.2.4 Krydsreaktivitet for andre 23S rRNA-mutationer

En syntetisk DNA-konstruktion med *M. genitalium* MgPa og A2059C 23S rRNA-mål blev testet på 5000 kopier i en baggrund af 35 ng DNA-input pr. prøve. Resultaterne viste, at *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-testen krydsreagerer med *M. genitalium*, A2059C 23S-rRNA med en træfsikkerhed på > 90 %. Analytisk præstation for *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Flexible-testen vedrørende påvisning af denne mutation er ikke blevet evalueret.

### 15.2.5 Analytisk specificitet

Et studie blev udført for at evaluere krydsreaktivitet med **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-sættet, når ikke-målorganismer var til stede i høje koncentrationer. Et panel af 42 mikroorganismer bestående af bakterier, vira, svampe og protozoer, repræsenterende patogener eller flora, der almindeligvis er til stede i det urogenitale system, eller som er nært beslægtede med *M. genitalium*, blev evalueret. Hver bakteriestamme blev testet ved  $1 \times 10^6$  genomer/mL, medmindre andet er angivet. Virale stammer blev testet ved  $1 \times 10^5$  genomer/mL, medmindre andet er angivet. Alle andre organismer blev testet ved de angivne koncentrationer. Alle bakterie- og virusorganismer blev kvantificeret med brug af qPCR, undtagen dem, der er anført som kvantificeret med kolonidannende enheder (CFU) eller plaquedannende enheder (PFU) (Tabel 16). Alle mikroorganismer blev testet tre gange for krydsreaktivitet med **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-sættet. Alle testede mikroorganismer blev fortyndet i negativ klinisk matrix (urin).

Resultaterne viste, at ingen af disse organismer producerede falske positive resultater i den *M. genitalium*-negative urinmatrix (Tabel 16).

En *in silico*-analyse blev også udført for at evaluere, om oligonukleotider i **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-sættet kunne amplificere og påvise nukleinsyresekvenser fra ikke-målorganismer tilgængelige i BLAST. Ingen signifikante interaktioner blev påvist.

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

\* Kvantificeret som PFU/mL

<sup>Δ</sup> Kvantificeret som PFU/mL

### 15.2.6 Potentielt interfererende stoffer

En undersøgelse af interfererende stoffer blev udført for at undersøge, om stoffer eller tilstande, som kan være til stede i kliniske prøver, kan påvirke præstationen fra **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG FleXible-sættet. Panelet bestod af endogene stoffer såsom blod, mucin, leukocytter og medicin (receptpligtig og håndkøb), som kan bruges til behandling af urogenitale tilstande. Alle stoffer blev testet, hvor en repræsentativ *M. genitalium* A2058G-stamme ved 3x LOD var henholdsvis til stede og ikke til stede. Alle testprøver blev testet tre gange. Stofferne blev fortyndet i negativ klinisk matrix (enten urin eller vaginal podning) som relevant.

Undtagen for bilirubin, fuldblod og Vagisil Intimate Powder viste resultaterne, at ingen af stofferne og betingelserne med påvisningen af den repræsentative *M. genitalium* A2058G-stamme eller gav falske positive resultater i *M. genitalium*-negative matricer ved de angivne koncentrationer.

Ved urinprøver kan assay-interferens observeres ved tilstedeværelse af:

- Blod ved en koncentration større end 0,4 % v/v

- Bilirubin i en koncentration større end 0,18 mg/mL

Ved vaginalpodningsprøver kan assay-interferens observeres ved tilstedeværelse af:

- Vagisil Intimate Powder i koncentrationer over 0,1 % vægt/v

Resultaterne er opsummeret i **Tabel 17** og **Tabel 18**.

Tabel 17. Potentielt interfererende stoffer i urinprøver		
Klasse/stof	Produkt navn	Testkoncentration
Fuldblod	-	0,4% v/v <sup>^</sup>
Sæd	-	5,0% v/v
Slim	Mucin	0,8 % vægt/v
Antibiotikum	Azithromycin	1,8 mg/mL
Analgetikum	Paracetamol	3,2 mg/mL
Intravaginale hormoner	Progesteron; Estradiol	7 mg/mL Progesteron + 0,07 mg/mL Beta Estradiol
Leukocytter	-	10 <sup>5</sup> celler/mL
Albumin	Bovint serumalbumin	10 mg/mL
Glukose	-	10 mg/mL
Bilirubin	-	0,18 mg/mL*
Sur urin (pH 4,0)	Urin + N-acetyl-L-cystein	pH 4,0
Alkaliske urin (pH 9,0)	Urin + ammoniumcitrat	pH 9,0

\*interferens kan observeres i prøver, der indeholder mere end 0,18 mg/mL bilirubin

<sup>^</sup>interferens kan observeres i prøver, der indeholder mere end 0,4 % fuldblod

Tabel 18. Potentielt interfererende stoffer i vaginalpodninger		
Klasse/stof	Produkt navn	Testkoncentration
Vaginale produkter og prævention, som fås i håndkøb	Vagisil Anti-Itch Crème (1,0 oz)	0,25% vægt/v
	K-Y Jelly (4,0 oz)	0,25% vægt/v
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel	0,25% vægt/v
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1,5 oz)	0,25% vægt/v
	Vagi-gard douche	0,25% vægt/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0,2 oz x 8-pak)	0,25% vægt/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8,0 oz)	0,10% vægt/v*
Deodorant og puder	Summer's Eve Deodorant spray (2,0 oz)	0,25% v/v
Hæmorrhoidcreme	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25% vægt/v
Receptpligtig medicin	Estrace® (estradiol-vaginalcreme, USP 0.01%)	0,25% vægt/v

\*interferens kan observeres i prøver, der indeholder mere end 0,1% vægt/v Vagisil Intimate Powder

### 15.2.7 Studie af overført kontaminering

Et studie blev udført for at påvise, at GeneXpert-engangskassetter forhindrer overført kontaminering i negative prøver efter meget høje positive prøver i samme GeneXpert-modul. Studiet bestod af en negativ prøve behandlet i samme GeneXpert modul umiddelbart efter en prøve med høj MG-koncentration (syntetisk DNA;  $10^6$  kopier/mL af 2058C-mål). Prøverne blev testet i to GeneXpert moduler over i alt 40 kørsler, resulterende i 20 positive og 20 negative. Der blev ikke observeret nogen falske positive, hvilket indikerer, at der ikke opstår overført kontaminering fra kørsel til kørsel på GeneXpert.

## 16 Kundesupport og teknisk support

Før du kontakter Cepheid Teknisk Support, bedes du indsamle følgende oplysninger:

- Produktnavn
- Lotnummer
- Serienummer på instrumentet
- Fejlmeddelelse (hvis en sådan findes)
- Softwareversion og, hvis relevant, nummer på computerservicemærkat

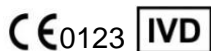
Tabel 19. Kontaktoplysninger for teknisk assistance		
Område	Telefon	E-mail
Australien og New Zealand	+1800 130 821 +0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Østrig	+43 720 380 091	support@cepheideurope.com
Frankrig	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Tyskland	+49 21 513 280 100	support@cepheideurope.com
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, Holland og Luxembourg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Andre europæiske, mellemøstlige og afrikanske lande	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com

Kontaktoplysninger for andre Cepheid-supportkontorer findes på [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) or [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) under fanen **SUPPORT**. Vælg **Kontakt os**.

## 17 Referencer

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 Ordliste



Europæisk  
overensstemmelse for *in*  
*vitro*-diagnostisk anvendelse



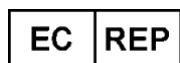
Katalognummer



Hovedlot



Batchkode



Autoriseret repræsentant i  
Det Europæiske Fællesskab



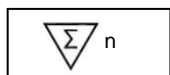
Producent



Fremstillingsdato



Temperaturbegrænsning



Indeholder tilstrækkeligt til  
<n> bestemmelser



Sidste anvendelsesdato



Advarsel



Må ikke genbruges



Se brugsanvisning



Positiv kontrol

P/N

Varenummer



Europæisk importør



Storbritanniens  
overensstemmelsesmærke

SpeedX-produkter kan dækkes af en eller flere lokale eller udenlandske patenter. Se [www.plexpcr.com/patents](http://www.plexpcr.com/patents) vedrørende uddybende patentoplysninger.

**PlexPCR**<sup>®</sup>, **ResistancePlus**<sup>®</sup>, **PlexPrime**<sup>®</sup> og **PlexZyme**<sup>®</sup> er varemærker tilhørende SpeedX. Andre ophavsrettigheder og varemærker tilhører de respektive ejere.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.