



ResistancePlus[®] MG

Multipleksowy test real-time PCR przeznaczony do identyfikacji bakterii *Mycoplasma genitalium* i wykrywania mutacji powiązanych z opornością na azytromycynę

CE₀₁₂₃ IVD UK
CA

Produkt	Platforma	Rozmiar (liczba reakcji)	Nr katalogowy
ResistancePlus [®] MG FleXible	Systemy GeneXpert [®] (I, II, IV, XVI) i Infinity- (48s, 80)	10	REF S2A-2000410



MedEnvoy
Princesa Margrietplantsoen 33 – Suite 123
2595 AM Haia
Os Países Baixos



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

WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO

Produkt nie jest przeznaczony do sprzedaży w Stanach Zjednoczonych

Spis treści

1	Przeznaczenie.....	4
2	Informacje ogólne i objaśnienie działania testu	4
2.1	Opis patogenu	4
2.2	Zasada procedury	4
2.3	Zasada działania techniki	5
3	Zawartość zestawu	7
4	Transport i przechowywanie.....	7
5	Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	7
5.1	Ogólne.....	7
5.2	Kwestie laboratoryjne	8
5.3	Postępowanie z próbkami	8
5.4	Oznaczenie/odczynnik	8
5.5	Środki ostrożności dotyczące bezpieczeństwa.....	8
6	Powiązane produkty i materiały eksploatacyjne	9
7	Omówienie procedury	10
8	Szczegółowa procedura.....	11
8.1	Pobranie, transport i przechowywanie próbek.....	11
8.1.1	Zatwierdzone przyrządy do pobierania próbek	11
8.1.2	Zestaw do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/A-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek	11
8.1.3	Zestaw do pobierania wymazów Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/G-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek.....	12
8.1.4	Zestaw do pobierania próbek moczu Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. URINE/A-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek.....	13
8.1.5	Sterylny pojemnik na mocz – pobieranie, transport i przechowywanie próbek	13
8.1.6	Zestaw do pobierania wymazów Regular FLOQSwab™ w 3 mL pożywki UTM™ (Copan, nr kat. 346C lub 306C (USA)) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek.....	14
8.1.7	Pożywka Cobas® PCR (Roche, nr kat. 06466281190) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek.....	14
8.1.8	Sucha wymazówka zawieszona w 3 mL PBS – pobieranie, transport i przechowywanie próbek	14
8.2	Przygotowanie mieszaniny reakcyjnej MG Flexible	14
8.3	Dodanie próbki.....	17
9	Programowanie aparatu.....	19
9.1	Importowanie pliku ADF do oprogramowania.....	19
9.2	Uruchamianie testu	20
10	Kontrola jakości.....	22
11	Instrukcje dotyczące zestawu <i>ResistancePlus</i> ® MG S2A Positive Control	22
11.1	Instrukcje użycia.....	22
11.1.1	Przygotowanie próbki kontroli pozytywnej za pomocą mikropipetora	22
11.1.2	Przygotowanie próbki kontroli pozytywnej za pomocą pipety transferowej	23
12	Interpretacja wyników.....	23
13	Przykładowe wyniki	25
14	Ograniczenia.....	31
15	Parametry skuteczności	32
15.1	Skuteczność kliniczna	32
15.2	Skuteczność analityczna	33
15.2.1	Odtwarzalność.....	33
15.2.2	Czułość analityczna.....	37
15.2.3	Inkluzywność.....	37

15.2.4	Reaktywność krzyżowa z innymi mutacjami 23S rRNA	37
15.2.5	Swoistość kliniczna.....	38
15.2.6	Substancje potencjalnie interferujące	39
15.2.7	Badanie zanieczyszczeń w wyniku przeniesienia	40
16	Obsługa klienta i wsparcie techniczne.....	41
17	Piśmiennictwo	42
18	Słowniczek	43

1 Przeznaczenie

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible to jakościowy multipleksowy test real-time PCR do diagnostyki *in vitro* przeznaczony do identyfikacji bakterii *M. genitalium* i wykrywania mutacji genu 23S rRNA (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, zgodnie z numeracją *Escherichia coli*), które powiązane z opornością bakterii na azytromycynę (antybiotyk makrolidowy). Oznaczenie to jest przeznaczone do wspomagania diagnostyki bakterii *M. genitalium* i wykrywania mutacji powiązanych z opornością bakterii *M. genitalium* na azytromycynę. Z wyników oznaczenia należy korzystać w połączeniu z danymi klinicznymi oraz wynikami innych testów laboratoryjnych.

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible można wykonywać na następujących typach próbek pobranych od pacjentów objawowych lub bezobjawowych: moczu pobrany od kobiet i mężczyzn, wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z odbytu, wymaz z cewki moczowej.

Wyniki negatywne nie wykluczają zakażenia bakterią *M. genitalium* i nie gwarantują wrażliwości bakterii na azytromycynę, gdyż mogą istnieć inne mechanizmy oporności, które uniemożliwiają prowadzenie skutecznej terapii.

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible jest przeznaczone do użytku w środowisku profesjonalnym, takim jak szpitale lub laboratoria referencyjne lub państwowe. Oznaczenie nie jest przeznaczone do samodzielnego wykonywania testów przez pacjenta ani do użytku w środowisku domowym lub w miejscach kontaktu z pacjentem (Point-of-Care).

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible jest wykonywane w systemach GeneXpert[®].

2 Informacje ogólne i objaśnienie działania testu

2.1 Opis patogenu

M. genitalium to niewielka bakteria wykrywana w ludzkim układzie moczowo-płciowym, którą powiązano z szeregiem zakażeń przenoszonych drogą płciową (sexually transmitted infections, STIs). Zakażenie tą bakterią jest drugą najczęstszą przyczyną nierzęzątkowego zapalenia cewki moczowej (non-gonococcal urethritis, NGU) u mężczyzn i odpowiada za około 15–40% przypadków tej choroby¹. Powiązano je także z zapaleniem gruczołu krokowego, zapaleniem najądrza oraz zapaleniem żołędzi prącia i napletka². Zakażenie tą bakterią występujące u kobiet powiązane z zapaleniem szyjki macicy, zapaleniem narządów miednicy mniejszej (pelvic inflammatory disease, PID), w tym zapaleniem endometrium (zapalenie błony śluzowej macicy) oraz zapaleniem jajowodów^{2,3,4}.

Azytromycyna to antybiotyk często stosowany do leczenia zakażeń bakterią *M. genitalium* oraz do leczenia zakażeń STI, takich jak NGU oraz zapalenie szyjki macicy, na podstawie obserwowanych objawów. Azytromycyna należy do klasy antybiotyków makrolidowych, a jej działanie polega na połączeniu się z podjednostką 23S rRNA w celu inhibicji syntezy białek. Mutacje punktowe w genie 23S rRNA bakterii *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C i A2059C (zgodnie z numeracją *E. coli*), powiązane z nieskutecznością leczenia i/lub opornością na azytromycynę w warunkach *in vitro*^{5,6}. Najczęściej występujące mutacje to A2058G i A2059G⁷.

2.2 Zasada procedury

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible to multipleksowy test real-time PCR do diagnostyki *in vitro* przeznaczony do identyfikacji bakterii *M. genitalium* i wykrywania mutacji genu 23S rRNA (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, zgodnie z numeracją *Escherichia coli*), które powiązane z opornością bakterii na azytromycynę (antybiotyk makrolidowy). Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible jest wykonywane w systemach GeneXpert[®] firmy Cepheid.

Systemy GeneXpert[®] firmy Cepheid umożliwiają oczyszczanie próbki, amplifikację kwasu nukleinowego, wykrywanie sekwencji za pomocą reakcji real-time PCR i raportowanie wyników. Na system składa się aparat i komputer osobisty z fabrycznie zainstalowanym oprogramowaniem przeznaczonym do wykonywania oznaczeń i przeglądania wyników. Więcej informacji zawiera odpowiedni Podręcznik operatora systemu GeneXpert[®].

Do wykonania oznaczenia **ResistancePlus**[®] MG Flexible wymagana jest kasetka Flexible jednorazowego użytku, do której użytkownik dodaje próbkę i mieszaninę do reakcji PCR, a następnie wkłada kasetkę do aparatu.

Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG Flexible zawiera kontrolę wewnętrzną przeznaczoną do monitorowania skuteczności izolacji i inhibicji reakcji PCR. Internal Control Cells (Komórki do kontroli wewnętrznej) zawierają matrycę DNA przeznaczoną do kontroli wewnętrznej. Matryca ta jest dodawana do próbki i jest wraz z nią izolowana i amplifikowana w reakcji real-time PCR. Interpretacja wyników uzyskanych za pomocą oznaczenia **ResistancePlus**[®] MG Flexible przebiega w sposób zautomatyzowany w systemie GeneXpert[®] Dx lub oprogramowaniu Infinity Xpertise przy użyciu zmierzonych sygnałów fluorescencyjnych i wbudowanych algorytmów obliczeniowych w celu wykrycia bakterii *M. genitalium* i mutacji 23S rRNA.

W oznaczeniu **ResistancePlus**[®] MG Flexible wykorzystywane są startery **PlexPrime**[®] przeznaczone do czułej i swoistej amplifikacji docelowych mutacji 23S rRNA oraz enzymy **PlexZyme**[®] przeznaczone do czułego i swoistego wykrywania docelowych sekwencji za pomocą multipleksowej reakcji real-time PCR.

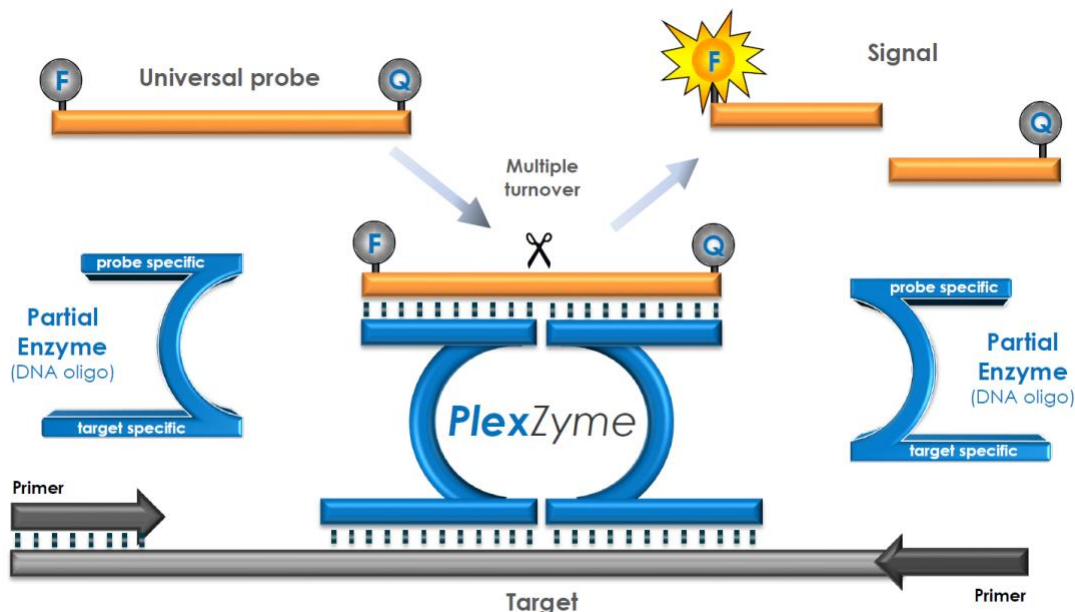
2.3 Zasada działania techniki

Reakcję real-time PCR (qPCR) można wykonywać w celu amplifikacji i wykrycia określonych docelowych kwasów nukleinowych patogenów. Technika **PlexPCR**[®] to technika real-time PCR, w której wykorzystywane są enzymy **PlexZyme**[®] przeznaczone do wykrywania i zgłaszania amplifikacji produktu poprzez wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego (**Ryc. 1**). Starterów **PlexPrime**[®] można użyć do swoistej amplifikacji sekwencji zawierającej mutację, a następnie wykrycia ich za pomocą swoistego dla mutacji enzymu **PlexZyme**[®] (**Ryc. 2**).

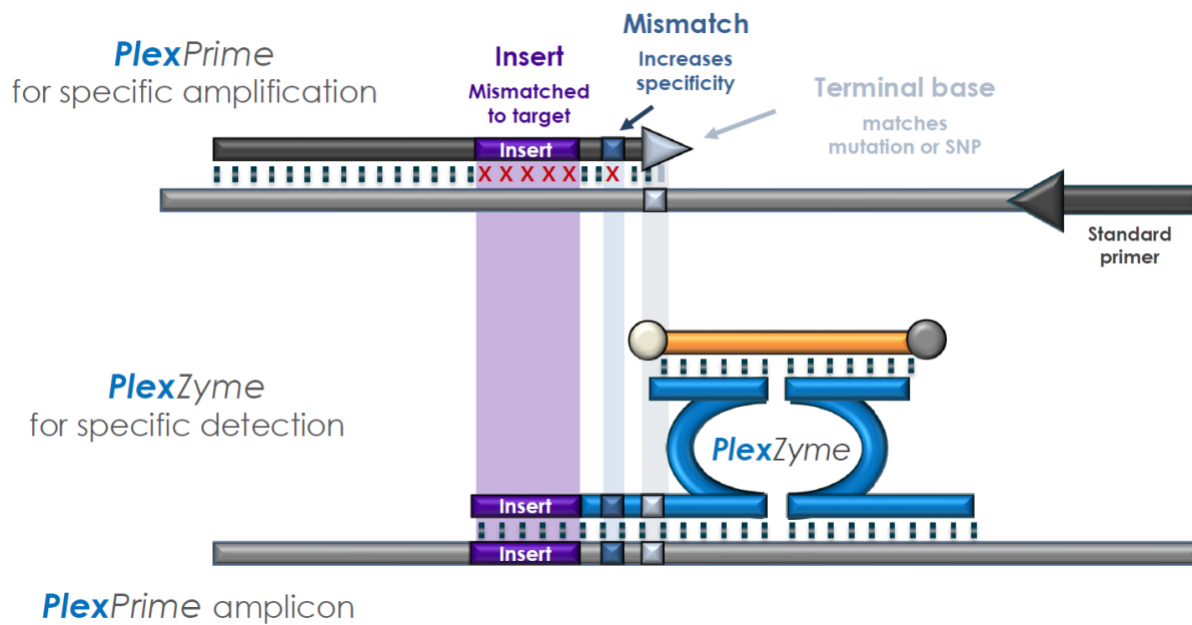
Enzymy **PlexZyme**[®] to katalityczne kompleksy DNA złożone z dwóch oligonukleotydów DNA nazywane „enzymami cząstkowymi”. Każdy enzym cząstkowy zawiera region swoisty względem docelowego produktu, centrum katalityczne i uniwersalny region przyłączania sondy. W obecności docelowego produktu dwa enzymy cząstkowe łączą się ze sobą, tworząc aktywny enzym **PlexZyme**[®], który ma aktywność katalityczną i może przeciąć wyznakowaną sondę. Przecięcie sondy powoduje oddzielenie fluoroforu i barwnika wygaszającego, co prowadzi do emisji sygnału fluorescencyjnego. Sygnały te można monitorować w czasie rzeczywistym. Enzymy **PlexZyme**[®] zapewniają większy stopień swoistości niż inne techniki wykrywania — do wykrycia produktu docelowego wymagane są dwa enzymy cząstkowe. Enzymy **PlexZyme**[®] charakteryzują się również dużą liczbą obrotów, a podczas każdego cyklu PCR mogą przeciąć wiele sond, dzięki czemu generowany jest silny i czuły sygnał. Oznaczenia **PlexZyme**[®] są wysoce czułe i swoiste, a także doskonale nadają się do multipleksowego wykrywania patogenów.

Startery **PlexPrime**[®] mają trzy regiony czynnościowe. Długi region 5' służy do zakotwiczenia startera w określonym miejscu, a krótki region 3' służy do selektywnego wydłużania sekwencji od zmutowanej zasady. Pomędzy regionami 5' i 3' znajduje się sekwencja insercyjna, która służy jako struktura pomostowa wprowadzająca sekwencję niezależną od sekwencji docelowej do powstałego amplikonu i zwiększająca presję selekcyjną regionu 3'. W celu przeprowadzenia reakcji multipleksowej każdy starter **PlexPrime**[®] został zaprojektowany w taki sposób, aby był swoisty względem sekwencji zawierającej określoną mutację i zawierał unikalną sekwencję insercyjną. Podczas amplifikacji powstają więc odrębne amplikony odpowiadające danym mutacjom. W przeciwieństwie do innych technik wykrywania opartych na sondach enzym **PlexZyme**[®] może działać wraz ze starterem **PlexPrime**[®] w celu rozpoznania określonego amplikonu zawierającego zmutowaną zasadę i wprowadzoną sekwencję insercyjną. Unikalne połączenie starterów **PlexPrime**[®] sprzężonych z enzymami **PlexZyme**[®] umożliwia swoistą amplifikację sekwencji zawierających mutację oraz czułe i swoiste wykrywanie sekwencji w reakcji multipleksowej.

Ryc. 1. Schemat wykrywania przy użyciu enzymów **PlexZyme**[®] i uniwersalnej emisji sygnału



Ryc. 2. Schemat wykrywania przy użyciu startera *PlexPrime*[®] sprzężonego z enzymami *PlexZyme*[®]. Starter *PlexPrime*[®] swoiście amplifikuje sekwencję zawierającą mutację, a enzymy *PlexZyme*[®] swoiście wykrywają amplikon.



3 Zawartość zestawu

Liczba testów: 10 reakcji

Tabela 1. Zawartość zestawu <i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible					
Nr opakowania	Nr części	Kolor zatyczki	Spis treści	Opis	Ilość
1	2000410-R	Niebieski	Plex Mastermix (Mieszanina Plex Mastermix), 2x	Mieszanina Mastermix zawierająca składniki wymagane do przeprowadzenia reakcji qPCR, w tym deoksynukleotydy dNTP, polimerazę DNA i bufor	1 x 44 µL
		Brązowy	MG+23S Mix (Mieszanina MG+23S), 20x	Mieszanina zawierająca oligonukleotydy [^] przeznaczone do amplifikacji i wykrywania mutacji 23S rRNA bakterii <i>M. genitalium</i> i kontroli wewnętrznej	1 x 50 µL
		Czerwony	Internal Control Cells (Komórki do kontroli wewnętrznej) [#]	Komórki do kontroli wewnętrznej zawierające matrycę DNA do kontroli wewnętrznej przeznaczoną do monitorowania wydajności izolacji i amplifikacji	1 x 100 µL
		ND.	<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible labels (Etykiety do testów <i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible) [*]	Etykiety kaset zawierające kod kreskowy swoisty dla serii, numer serii głównej, datę ważności i informacje o pliku ADF	10 etykiet
		ND.	MG Flexible Mix label (Etykieta mieszaniny MG Flexible)	Etykieta przeznaczona do identyfikacji przygotowanej mieszaniny reakcyjnej MG Flexible (do opcjonalnego użytku)	1 etykieta
2	2000410-CART	ND.	<i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible Cartridge (Kaseta <i>ResistancePlus</i> [®] MG Flexible)	Kaseta jednorazowego użytku przeznaczona do obróbki próbki, amplifikacji i wykrywania kwasów nukleinowych	10 kaset

[#] Probówki z matrycą należy przechowywać w innym miejscu niż probówki z mieszaninami oligonukleotydów, tj. w pokoju przeznaczonym do wykonywania czynności z użyciem matrycy lub kwasów nukleinowych

[^] Oligonukleotydy to pary starterów PCR (w tym startery *PlexPrime*[®]), enzymy *PlexZyme*[®] i sondy fluorescencyjne

^{*} **Nie wyrzucać etykiet kaset**

4 Transport i przechowywanie

- Odczynniki do badań (zawarte w opakowaniu nr 1) zestawów *ResistancePlus*[®] MG Flexible są transportowane w opakowaniach z suchym lodem lub żelem lodowym. Po odbiorze składniki oznaczenia należy przechowywać w temperaturze -25°C do -15°C. Zalecane jest ograniczenie liczby cykli zamrażania/rozmarzania do mniej niż 8. W **sekcji 8.2** określono warunki przechowywania i podano zalecenia dotyczące zamrażania/rozmarzania mieszaniny reakcyjnej MG Flexible.
- Kasety *ResistancePlus*[®] MG Flexible należy transportować i przechowywać w temperaturze 2°C–28°C.
- Zestaw przechowywany w zalecanych warunkach i używany w prawidłowy sposób zachowuje aktywność do daty ważności podanej na etykiecie. Nie używać po upływie daty ważności.
- Wszelkie poważne zdarzenia należy zgłaszać do firmy SpeedX na adres tech@speedx.com.au

5 Ostrzeżenia i środki ostrożności

5.1 Ogólne

- Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Przed użyciem należy uważnie przeczytać niniejszą Instrukcję użycia. Aby zapewnić wiarygodność wyników testów, należy ściśle przestrzegać opisanych procedur. Wszelkie odstępstwa od tych procedur mogą negatywnie wpłynąć na skuteczność testu.

- Użytkownicy muszą odbyć odpowiednie szkolenie z obsługi oznaczenia **ResistancePlus[®]** MG Flexible.
- Wszelkie poważne zdarzenia należy zgłaszać producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę.

5.2 Kwestie laboratoryjne

- Podstawowe środki ostrożności zapobiegające zanieczyszczeniu reakcji PCR obejmują używanie sterylnych końcówek do pipet z filtrem do przygotowania mieszaniny do reakcji PCR, używanie nowej końcówki do pipety do każdej czynności pipetowania oraz wykonywanie określonych czynności w specjalnie wyznaczonych do tego celu, odrębnych miejscach.
- Zalecane jest przygotowywanie mieszaniny Mastermix, dodawanie próbek i wykonywanie cykli termicznych w odrębnych miejscach. Minimalnym wymogiem, który należy spełnić, jest umieszczenie aparatu PCR w innym pomieszczeniu, niż pomieszczenie w którym przygotowywane są reakcje.
- Zalecane jest przestrzeganie standardowych środków ostrożności obowiązujących w laboratorium. Podczas postępowania z odczynnikami należy nosić odpowiednie środki ochrony osobistej, takie jak rękawiczki, okulary ochronne i fartuch laboratoryjny.
- W próbkach klinicznych oraz w zużytych kasetach mogą być obecne organizmy patogenne. Wszystkie próbki biologiczne i zużyte kasety należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur bezpieczeństwa w zakresie postępowania z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.
- Należy przestrzegać obowiązujących w placówce procedur utylizacji odpadów w celu prawidłowej utylizacji zużytych kaset.

5.3 Postępowanie z próbkami

- Próbkę należy pobierać, transportować i przechowywać zgodnie ze standardowymi technikami laboratoryjnymi lub zgodnie z instrukcjami zestawu do pobierania próbek.

5.4 Oznaczenie/odczynnik

- Wieko kasety można otwierać wyłącznie na czas dodawania mieszaniny reakcyjnej i próbki.
- Nie używać kaset, które wyglądają na uszkodzone, upuszczone, wstrząśnięte lub wykazują oznaki wycieku lub krystalizacji odczynnika.
- Etykiety z identyfikatorem próbki nie należy naklejać na wieko kasety ani na etykietę z kodem kreskowym.
- Nie używać kaset z uszkodzoną probówką reakcyjną.
- Każda kaseeta jest przeznaczona wyłącznie do jednorazowego użytku. Nie używać ponownie kaset, które wykorzystano do przetwarzania.
- Nie używać odczynników, kaset i etykiet o różnych numerach serii głównej.
- Odczynniki do oznaczeń zawierają bufor IDTE, który może powodować poważne podrażnienie oczu. Zaleca się, aby używać odczynników w dobrze wentylowanym pomieszczeniu, a podczas pracy z odczynnikami nosić odpowiednie środki ochrony indywidualnej, takie jak rękawiczki, okulary ochronne i fartuch laboratoryjny.

5.5 Środki ostrożności dotyczące bezpieczeństwa



OSTRZEŻENIE — odczynnik do lizy (zawarty w kasecie) zawiera tiocyjanian guanidyny

Klasa zagrożenia:

- Toksyczność ostra, droga pokarmowa: 4.
- Łagodne podrażnienie skóry: 3.
- Łagodne podrażnienie oczu: 2B.

Zwroty określające zagrożenie:

- H302: Działa szkodliwie w przypadku połknięcia.
- EUH301: W kontakcie z kwasami uwalnia toksyczne gazy.

Zwroty wskazujące środki ostrożności:

- P264: Umyć dokładnie ręce po użyciu.

- P270: Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas używania produktu.
- P301+P312: W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.
- P330: Przełukać usta.
- P501: Zawartość i/lub pojemnik należy utylizować zgodnie z przepisami lokalnymi, regionalnymi, krajowymi i/lub międzynarodowymi.

Karty charakterystyki (Safety Data Sheets, SDS) są dostępne na życzenie. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z serwisem technicznym — dane kontaktowe przedstawiono w **sekcji 16**.

6 Powiązane produkty i materiały eksploatacyjne

Materiał kontroli dodatniej

- Zestaw kontroli dodatniej **ResistancePlus**® MG S2A (SpeedX, nr kat. S2A-95004)

Ogólny sprzęt laboratoryjny

- Rękawiczki i czyste fartuchy laboratoryjne
- Wytrząsarka
- Wirówka laboratoryjna na próbki o pojemności 1,5 mL
- Mikropipety umożliwiające dozowanie płynu w zakresie 10–100 µL
- Jałowe, wolne od DNaz/RNaz końcówki do pipet z barierą aerozolową
- Sterylne pipety transferowe umożliwiające przenoszenie cieczy o objętości co najmniej 1 mL

W przypadku aparatu GeneXpert®

- System GeneXpert®: aparat GeneXpert®, komputer z oprogramowaniem GeneXpert® w wersji 4.7b lub wyższej
- Skaner kodów kreskowych

W przypadku aparatu GeneXpert Infinity-48s lub Infinity-80:

- Oprogramowanie Xpertise w wersji 6.4b lub wyższej

Materiał kontroli ujemnej

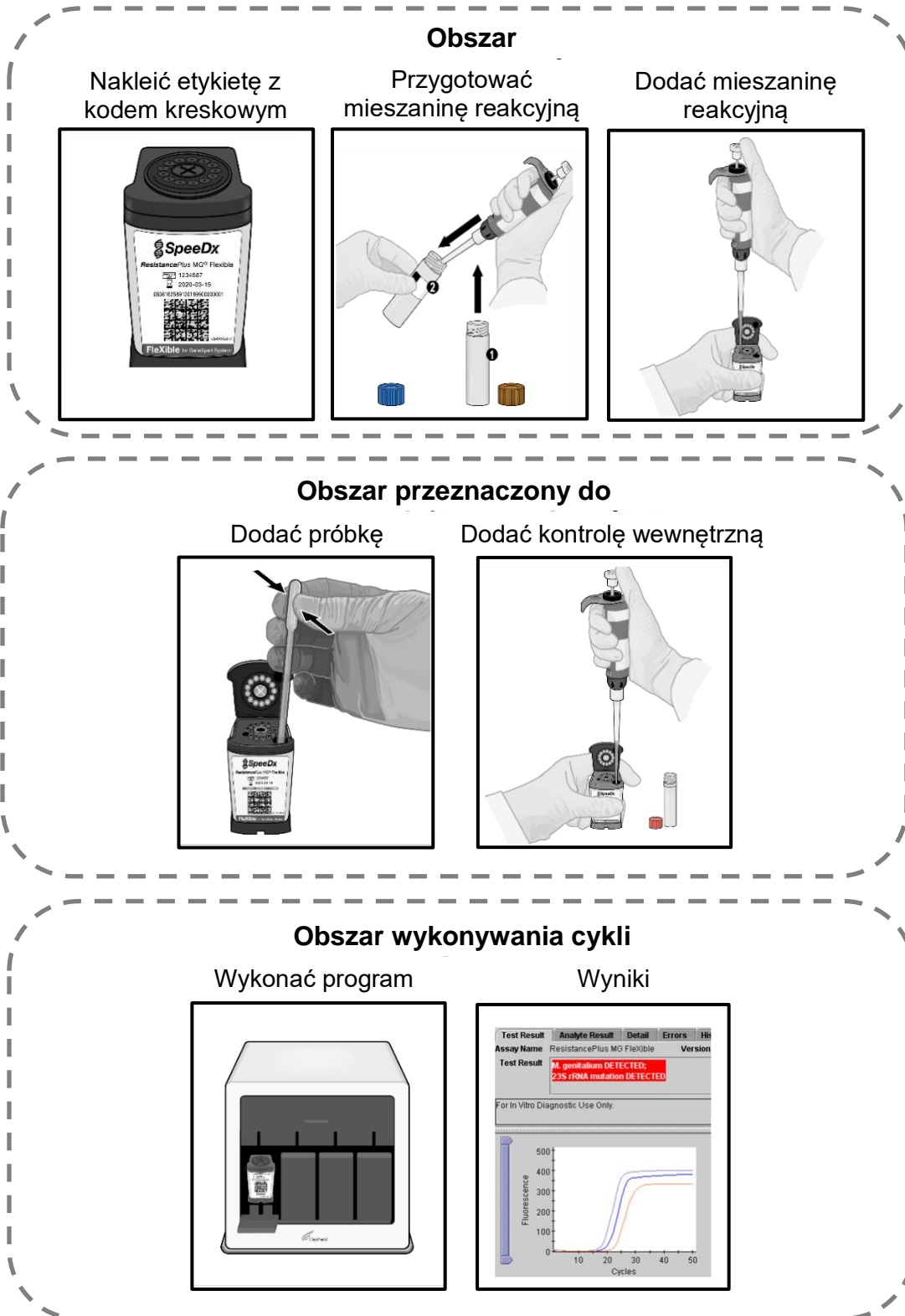
- Próbka ze znanym wynikiem ujemnym (dostarczona przez użytkownika końcowego) (próbka ze znanym wynikiem ujemnym to kontrola ujemna procesu, czyli wcześniej przebadana macierz lub próbka z wynikiem ujemnym, którą można wykorzystać w całym procesie w celu upewnienia się, że ekstrakcja i amplifikacja przebiegły prawidłowo, ponieważ zawiera kontrolę wewnętrzną).

Przyrządy do pobierania próbek

- Zestaw Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/A-50)
- Zestaw Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/G-50)
- Zestaw Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. URINE/A-50)
- Jałowy kubeczek do pobierania moczu
- Standardowa wymazówka FLOQSwab™ w 3 mL podłoża UTM™ (Copan, nr kat. 346C lub 306C (USA))
- Podłoże Cobas® PCR (Roche, nr kat. 06466281190)
- Sucha wymazówka, zawieszona w 3 mL buforu PBS

7 Omówienie procedury

Ryc. 3. Omówienie procedury



8 Szczegółowa procedura

Uwaga: Nazwy dostarczonych odczynników są zapisane kursywą; w nawiasie po nazwie odczynnika podany jest kolor zatyczki probówki.

8.1 Pobranie, transport i przechowywanie próbek

Mocz mężczyzn i kobiet, wymaz z pochwy, wymaz z kanału szyjki macicy, wymaz z odbytu, wymaz z cewki moczowej, od pacjentów objawowych i bezobjawowych należy pobierać, transportować i przechowywać, przestrzegając standardowych technik laboratoryjnych lub zgodnie z instrukcją zestawu do pobierania.

8.1.1 Zatwierdzone przyrządy do pobierania próbek

Pobranie, przechowywanie i transport próbek w nieodpowiedni lub niewłaściwy sposób może skutkować uzyskaniem fałszywych wyników testów. W celu zapewnienia jakości i stabilności próbki wysoce zalecane jest odpowiednie przeszkolenie w zakresie pobierania próbek.

Poniżej wymieniono przyrządy do pobierania próbek, które przetestowano z zestawem **ResistancePlus**[®] MG Flexible, wraz z krótkimi wskazówkami dotyczącymi instrukcji producenta przyrządu w zakresie pobierania, obsługi i transportu. Instrukcje te nie mają na celu zastąpienia ani unieważnienia żadnych instrukcji przekazanych przez producenta. Zawsze należy zapoznać się z instrukcjami producenta przyrządu do pobierania próbek dotyczącymi właściwych metod pobierania.

Przed zastosowaniem jakiegokolwiek metody pobierania próbek przeszkolony personel musi się upewnić, że właściwie rozumie działanie danego przyrządu i sposób jego użycia. Minimalnym wymogiem jest zapoznanie się z opisem testu i zwrócenie uwagi na następujące kwestie: opis rodzaju próbki, wystarczająca objętość próbki, procedury, materiały niezbędne do pobrania próbki, przygotowanie pacjenta oraz instrukcje dotyczące właściwego postępowania i przechowywania.

8.1.2 Zestaw do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/A-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

8.1.2.1 Pobieranie, transport i przechowywanie wymazów z pochwy

Poniżej podsumowano instrukcje pobierania i transportu wymazów z pochwy pobranych od kobiet za pomocą zestawu do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert[®] Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/A-50).

1. Otworzyć zewnętrzne z odrywaną folią (zawierające zestaw dwuczęściowy), odszukać większą wymazówkę do oczyszczania, a następnie wyrzucić opakowanie.
2. Otworzyć opakowanie zawierające probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent z różową zakrętką i indywidualnie zapakowaną wymazówkę. Odłożyć probówkę na bok przed rozpoczęciem pobierania próbki.
3. Otworzyć opakowanie wymazówki, odklejając górną część opakowania.
4. Wyjąć wymazówkę, uważając, aby nie dotknąć końcówki. Nie odkładać wymazówki. W przypadku dotknięcia miękkiej końcówki, odłożenia wymazówki lub jej upuszczenia należy poprosić o nowy zestaw do pobierania wymazów.
5. Chwycić wymazówkę dłonią tak, aby kciuk i palec wskazujący znajdowały się na środku trzonka wymazówki.
6. Ostrożnie wprowadzić wymazówkę do pochwy na głębokość około 5 cm i delikatnie obracać nią przez 10 do 30 sekund. Upewnić się, że wymazówka dotyka ścian pochwy, aby odpowiednio wchłonęła wydzielinę.
7. Ostrożnie wyjąć wymazówkę.
8. Trzymając wymazówkę w tej samej dłoni, odkręcić nakrętkę z probówki z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent.
9. Uważać, aby nie rozlać zawartości probówki. W przypadku rozlania zawartości probówki należy poprosić o nowy zestaw do pobierania wymazów.
10. Natychmiast umieścić wymazówkę w probówce z odczynnikiem do transportu wymazów.
11. Znaleźć linię przełamania na trzonku wymazówki. Ostrożnie odłamać trzonek wymazówki, dociskając go do boku probówki przy linii przełamania i wyrzucić górną część trzonka wymazówki. Uważać, aby nie rozlać zawartości.
12. Założyć zakrętkę na probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów i mocno zakręcić.
13. Odwrócić lub delikatnie wstrząsnąć probówką 3–4 razy, aby strącić materiał z wymazówki. Nie dopuścić do spienienia.
14. Oznaczyć probówkę transportową informacjami identyfikującymi próbkę, w tym datą pobrania, zgodnie z wymogami.

15. Odkazić i zutylizować wszystkie próbki, odczynniki oraz inne potencjalnie skażone materiały zgodnie z lokalnymi, stanowymi i krajowymi przepisami.
16. Probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent należy transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni.

8.1.2.2 Pobieranie, transport i przechowywanie wymazów z szyjki macicy

Poniżej podsumowano instrukcje pobierania i transportu wymazów z szyjki macicy pobranych od kobiet za pomocą zestawu do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/A-50).

1. Otworzyć zestaw do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit.
2. Przed pobraniem wymazu z szyjki macicy za pomocą zestawu do pobierania wymazów z pochwy/szyjki macicy Xpert CT/NG Vaginal/Endocervical Specimen Collection Kit należy usunąć nadmiar śluzu z ujścia szyjki macicy i otaczającej błony śluzowej za pomocą dużej, indywidualnie zapakowanej wymazówki do oczyszczania. Częściowo otworzyć opakowanie większej wymazówki do oczyszczania i ją wyjąć. Oczyszczyć ujście szyjki macicy i otaczającą błonę śluzową, a następnie wyrzucić wymazówkę.
Uwaga: w przypadku pobierania wielu próbek nadmiar śluzu należy usunąć tylko raz.
3. Otworzyć opakowanie zawierające probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent z różową zakrętką i indywidualnie zapakowaną wymazówkę. Odłożyć probówkę na bok przed kontynuowaniem.
4. Otworzyć opakowanie wymazówki, odrywając górną część opakowania.
5. Wyjąć wymazówkę, uważając, aby nie dotknąć końcówki. Nie odkładać wymazówki. W przypadku dotknięcia miękkiej końcówki, odłożenia wymazówki lub jej upuszczenia należy poprosić o nowy zestaw do pobierania wymazów.
6. Wprowadzić wymazówkę do kanału szyjki macicy.
7. Delikatnie obracać wymazówką w kanale szyjki macicy w prawo przez 10 do 30 sekund, aby pobrać odpowiednią ilość próbki.
8. Ostrożnie wyjąć wymazówkę.
9. Trzymając wymazówkę w tej samej dłoni, odkręcić zakrętkę probówki z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert CT/NG Swab Transport Reagent.
10. Uważać, aby nie rozlać zawartości probówki. W przypadku rozlania zawartości probówki należy poprosić o nowy zestaw do pobierania wymazów.
11. Znaleźć linię przełamania na trzonku wymazówki. Ostrożnie odłamać trzonek wymazówki, dociskając go do boku probówki przy linii przełamania i wyrzucić górną część trzonka wymazówki. Uważać, aby nie rozlać zawartości.
12. Założyć zakrętkę na probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów i mocno zakręcić.
13. Odwrócić lub delikatnie wstrząsnąć probówką 3–4 razy, aby strącić materiał z wymazówki. Nie dopuścić do spienienia.
14. Oznaczyć probówkę transportową informacjami identyfikującymi próbkę, w tym datą pobrania, zgodnie z wymaganiami.
15. Odkazić i zutylizować wszystkie próbki, odczynniki oraz inne potencjalnie skażone materiały zgodnie z lokalnymi, stanowymi i krajowymi przepisami.
16. Probówkę z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent należy transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni.

8.1.3 Zestaw do pobierania wymazów Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/G-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Poniżej podsumowano instrukcje dotyczące pobierania i transportu wymazów z odbytu pobranych od mężczyzn i kobiet za pomocą zestawu do pobierania wymazów Xpert® Swab Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. SWAB/G-50).

1. Otworzyć zestaw do pobierania wymazów Xpert Swab Specimen Collection Kit.
2. Otworzyć zewnętrzne opakowanie z odrywaną folią rozrywane (zawierające zestaw dwuczęściowy), zidentyfikować większą wymazówkę do oczyszczania, a następnie wyrzucić opakowanie.
3. Otworzyć opakowanie z wymazówką, częściowo odrywając górną część opakowania.
4. Wyjąć wymazówkę, uważając, aby nie dotknąć końcówki. Nie odkładać wymazówki. W przypadku dotknięcia miękkiej końcówki, odłożenia lub upuszczenia wymazówki należy użyć nowego zestawu do pobierania wymazów Xpert Swab Specimen Collection Kit.
5. Ostrożnie wprowadzić wymazówkę na głębokość około 1 cm za zwieracz odbytu (tak, aby końcówki włókien nie były już widoczne) i delikatnie nią obracać.

6. Trzymając wymazówkę w tej samej dłoni, odkręcić nakrętkę z próbówki z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent.
7. Uważać, aby nie rozlać zawartości próbówki. W przypadku rozlania zawartości próbówki należy użyć nowego zestawu do pobierania wymazów.
8. Natychmiast umieścić wymazówkę w próbówce z odczynnikiem do transportu wymazów.
9. Znaleźć linię przełamania na trzonku wymazówki. Ostrożnie odłamać trzonek wymazówki, dociskając go do boku próbówki przy linii przełamania i wyrzucić górną część trzonka wymazówki. Uważać, aby nie rozlać zawartości. W razie kontaktu zmyć wodą z mydłem.
10. Założyć zakrętkę na próbówkę z odczynnikiem do transportu wymazów i mocno zakręcić.
11. Odwrócić lub delikatnie wstrząsnąć próbówką 3–4 razy, aby strącić materiał z wymazówki. Nie dopuścić do spienienia.
12. Oznaczyć próbówkę transportową informacjami identyfikującymi próbkę, w tym datą pobrania, zgodnie z wymaganiami.
13. Wymazy w próbówce z odczynnikiem do transportu wymazów Xpert Swab Transport Reagent należy przewozić i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 60 dni.

8.1.4 Zestaw do pobierania próbek moczu Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. URINE/A-50) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Poniżej podsumowano instrukcje dotyczące pobierania i transportu próbek moczu pobranych od mężczyzn i kobiet za pomocą zestawu do pobierania próbek moczu Xpert® Urine Specimen Collection Kit (Cepheid, nr kat. URINE/A-50).

1. Pacjent nie powinien oddawać moczu przez co najmniej 1 godzinę przed pobraniem próbki. Pacjenci nie powinni myć okolicy sromu przed pobraniem próbki. Pacjenci płci męskiej nie powinni myć żołędzi prącia przed pobraniem próbki.
2. Należy poinstruować pacjenta, aby zebrał pierwszą porcję oddanego moczu (około 20 do 50 mL początkowego strumienia moczu) do pojemnika na mocz niezawierającego żadnych środków konserwujących. Pobranie większej ilości moczu może spowodować rozcieńczenie próbki, co może zmniejszyć czułość testu.
3. Upewnić się, że mocz jest dobrze wymieszany w pojemniku na mocz przed przeniesieniem próbki do próbówki z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent.
4. Otworzyć opakowanie jednorazowej pipety do przenoszenia dołączonej do zestawu.
5. Odkręcić zakrętkę próbówki z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent oraz zakrętkę pojemnika na mocz.
6. Włożyć pipetę do przenoszenia do pojemnika na mocz tak, aby jej końcówka znajdowała się blisko dna pojemnika. Za pomocą jednorazowej pipety do przenoszenia przenieść około 7 mL moczu do próbówki z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent. Jeśli poziom moczu sięga czarnej przerywanej linii na etykietce próbówki z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent, dodano prawidłową objętość moczu.
7. Założyć zakrętkę na próbówkę z odczynnikiem do transportu moczu Xpert Urine Transport Reagent i mocno zakręcić.
8. Odwrócić próbówkę z odczynnikiem 3–4 razy, aby się upewnić, że próbka i odczynnik są dobrze wymieszane.
9. Założyć zakrętkę na pojemnik na mocz i mocno zakręcić.
10. Oznaczyć próbówkę transportową informacjami identyfikującymi próbkę, w tym datą pobrania, zgodnie z wymogami. Uważać, aby nie zasłonić linii napełniania na próbówce z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent.
11. Próbki moczu kobiet należy transportować i przechowywać w próbówce z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 3 dni lub w temperaturze od 2°C do 15°C przez okres do 45 dni.
12. Próbki moczu mężczyzn należy transportować i przechowywać w próbówce z odczynnikiem do transportu próbek moczu Xpert Urine Transport Reagent w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 45 dni.

8.1.5 Sterylny pojemnik na mocz – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Na potrzeby pobierania czystych próbek moczu można użyć sterylnego pojemnika na mocz. Ze względu na zmienność należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania producenta, aby uzyskać informacje na temat odpowiednich metod pobierania. Podczas transportu i przechowywania należy stosować standardowe techniki laboratoryjne.

8.1.6 Zestaw do pobierania wymazów Regular FLOQSwab™ w 3 mL pożywki UTM™ (Copan, nr kat. 346C lub 306C (USA)) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Poniżej podsumowano instrukcje dotyczące pobierania i transportu wymazów z pochwy pobranych od kobiet za pomocą zestawu Regular FLOQSwab™ w 3 mL pożywki UTM™ (Copan, nr kat. 346C lub 306C (USA)).

1. Otworzyć opakowanie zestawu UTM i wyjąć probówkę z pożywką oraz wewnętrzny woreczek zawierający sterylną wymazówkę.
2. Wyjąć sterylną wymazówkę z woreczka i pobrać próbkę kliniczną; w celu zapobieżenia ryzyku zanieczyszczenia uważać, aby nie dotykać końcówką wymazówki niczego poza miejscem pobrania próbki.
3. Po pobraniu próbki odkręcić i zdjąć nakrętkę z probówki, uważając, aby nie rozlać pożywki.
4. Włożyć wymazówkę do probówki, aż punkt przełamania znajdzie się na poziomie otworu probówki.
5. Zgiąć i odłamać wymazówkę w punkcie przełamania, trzymając probówkę z dala od twarzy; zbędną część wyrzucić.
6. Założyć nakrętkę na probówkę i szczelnie ją zamknąć.
7. Przetworzyć próbkę umieszczoną w pożywce UTM w ciągu 48 godzin od pobrania, przechowując probówkę w temperaturze 2–25°C.
8. Przed przetworzeniem worteksować przez 20 sekund, aby wspomóc uwalnianie próbki z wymazówki i homogenizację pożywki.

8.1.7 Pożywka Cobas® PCR (Roche, nr kat. 06466281190) – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Poniżej podsumowano wytyczne dotyczące pobierania i transportu próbek moczu pobranych od kobiet i mężczyzn w pożywkach cobas® PCR (Roche, nr kat. 06466281190).

1. Wymieszać i przenieść mocz do probówki z pożywką cobas® PCR Media za pomocą jednorazowej pipety (brak w zestawie). Uwaga: mocz można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez maksymalnie 24 godziny przed przeniesieniem go do probówki z pożywką cobas® PCR Media.
2. Jeśli poziom płynu znajduje się pomiędzy dwiema czarnymi liniami na etykiecie probówki, dodano prawidłową objętość moczu.
3. Szczelnie zakręcić probówkę z pożywką cobas® PCR Media.
4. Odwrócić probówkę 5 razy w celu wymieszania. Próbka jest teraz gotowa do transportu i badania.
5. Probówkę z pożywką cobas® PCR Media zawierającą ustabilizowaną próbkę moczu należy transportować i przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C.

8.1.8 Sucha wymazówka zawieszona w 3 mL PBS – pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Suchych wymazówek można używać w przypadku różnych próbek pobieranych przez lekarzy i pacjentów. Ze względu na zmienność należy zapoznać się z ulotką dołączoną do opakowania producenta, aby uzyskać informacje na temat odpowiednich rodzajów próbek i metod pobierania.

8.2 Przygotowanie mieszaniny reakcyjnej MG FleXible

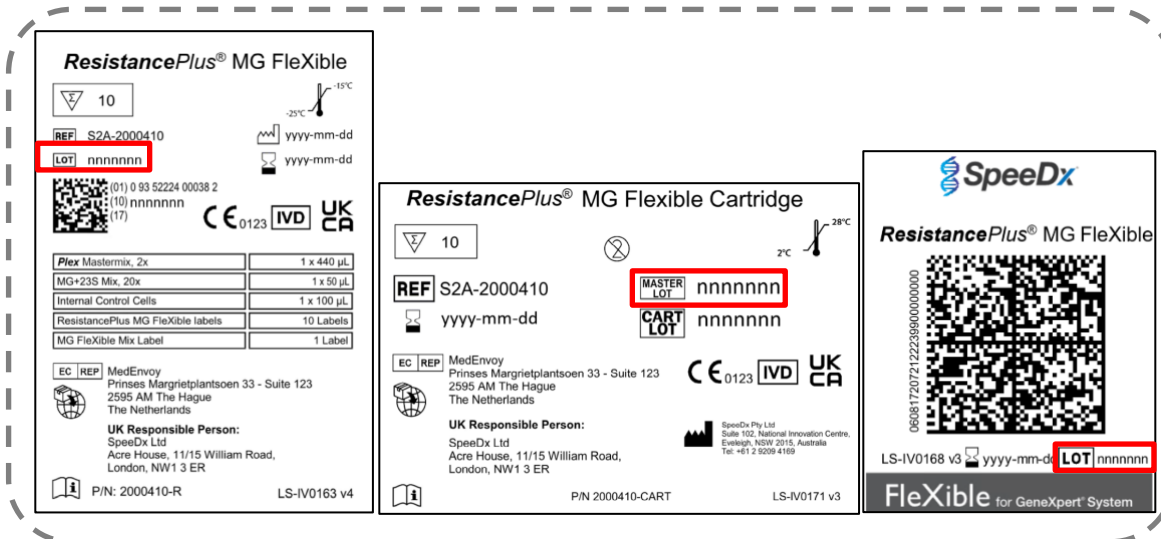
Opis składników zestawu przedstawiono w tabeli **Tabela 1**.

Uwaga: Numer serii głównej dla produktów używanych do wykonania oznaczenia musi być taki sam dla produktów z opakowania nr 1 (odczynniki przeznaczone do wykonania oznaczenia), dla produktów z opakowania nr 2 (kasety) oraz dla etykiet **ResistancePlus®** MG FleXible (numer serii głównej oznaczono na **Ryc. 4** kolorem czerwonym).

Uwaga: Sprawdzić integralność kaset i upewnić się, że probówka reakcyjna jest nienaruszona.

Uwaga: Przed użyciem i oznaczeniem kaset upewnić się, że nie upłynęła data ważności żadnego z odczynników i kaset.

Ryc. 4. Numer MASTER LOT (Seria główna) musi być taki sam na opakowaniu nr 1 (po lewej stronie; odczynniki przeznaczone do wykonania oznaczenia *ResistancePlus*[®] MG FleXible, nr części: 2000410-R), na opakowaniu nr 2 (pośrodku; kasety *ResistancePlus*[®] MG FleXible, nr części: 2000410-CART) i na etykietach *ResistancePlus*[®] MG FleXible (po prawej stronie)

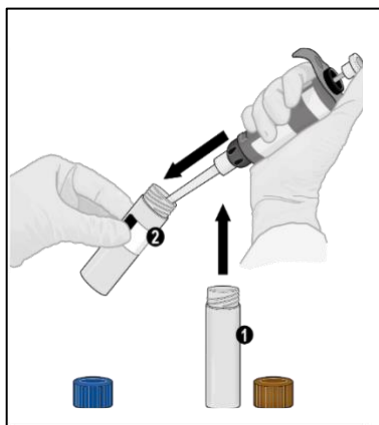


Ryc. 5. Nakleić etykietę *ResistancePlus*[®] MG FleXible



Uwaga: Przed użyciem odczynników należy je całkowicie rozmrozić i dokładnie wymieszać, krótko wytrząsając i odwirowując

W celu przygotowania mieszaniny reakcyjnej MG FleXible należy przenieść za pomocą pipety 44 µL *mieszaniny MG+23S (BRAZOWY)* do próbki *mieszaniny Plex Mastermix (NIEBIESKI)* w sposób przedstawiony na Ryc. 6. Mieszanina reakcyjna wystarcza na 10 reakcji.

Ryc. 6. Przygotować mieszaninę reakcyjną MG FleXible

(Opcjonalnie) W celu przechowania pozostałości przygotowanej mieszaniny reakcyjnej MG FleXible należy pozostawić ją w probówce z mieszaniną **Plex Mastermix (NIEBIESKI)** i nakleić na probówkę etykietę mieszaniny MG FleXible. Zapisać datę przygotowania mieszaniny w odpowiednim miejscu na etykiecie.

- Przygotowaną mieszaninę reakcyjną MG FleXible można przechowywać w temperaturze -25°C do -15°C do 8 tygodni. Zalecane jest ograniczenie liczby cykli zamrażania/rozmarzania do mniej niż 8.

Założyć i dobrze docisnąć wieczko probówki z mieszaniną **Plex Mastermix (NIEBIESKI)**. Wyrząsać i odwirować zawartość probówki w sposób przedstawiony na **Ryc. 7**.

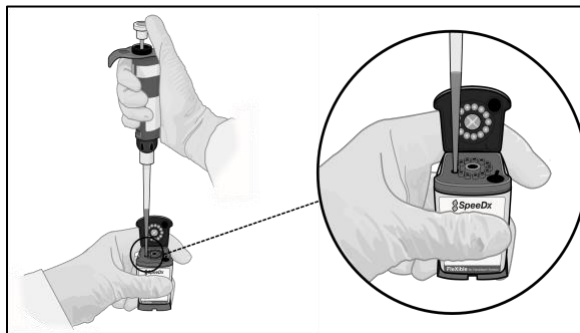
Ryc. 7. Wyrząsać mieszaninę reakcyjną MG FleXible

Wyrzucić probówkę mieszaniny MG+23S (**BRAZOWY**).

Otworzyć wieczko kasety.

Przenieść za pomocą pipety 44 µL mieszaniny reakcyjnej MG FleXible do komory reakcyjnej (mały otwór po lewej stronie kasety, patrz **Ryc. 8**). Pionowo włożyć końcówkę pipety na maksymalną głębokość, a następnie wypuścić z niej roztwór. Delikatnie ostukać dno kasety o stół laboratoryjny, aby roztwór spłynął na dno.

Ryc. 8. Podać mieszaninę reakcyjną MG Flexible do komory reakcyjnej

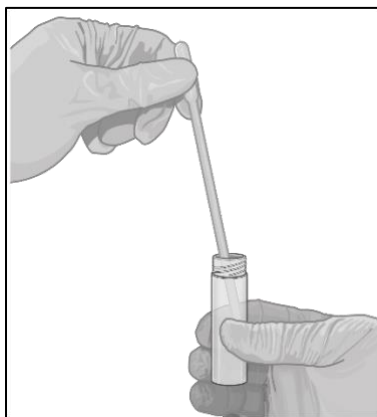


8.3 Dodanie próbki

Uwaga: W celu dodania próbki do kasety należy używać wyłącznie pipet transferowych.

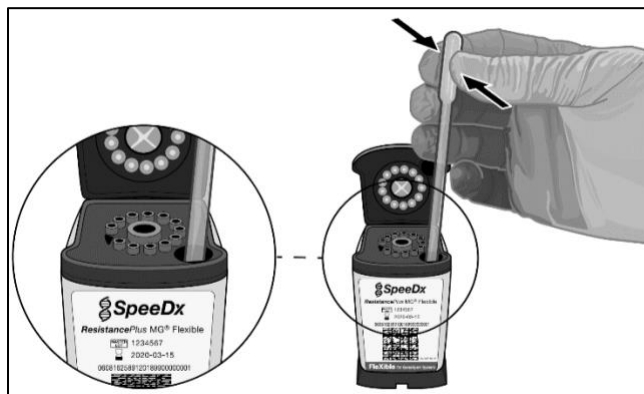
Otworzyć wieczko probówki z próbką, ścisnąć główkę pipety transferowej, włożyć pipetę do probówki z próbką i powoli zmniejszać nacisk na główkę pipety transferowej, aby napełnić pipetę transferową płynem do znacznika wskazującego 1 mL na trzonku pipety. Zaaspirowana próbka nie powinna zawierać pęcherzyków powietrza (**Ryc. 9**).

Ryc. 9. Zaaspirować próbkę do pipety transferowej



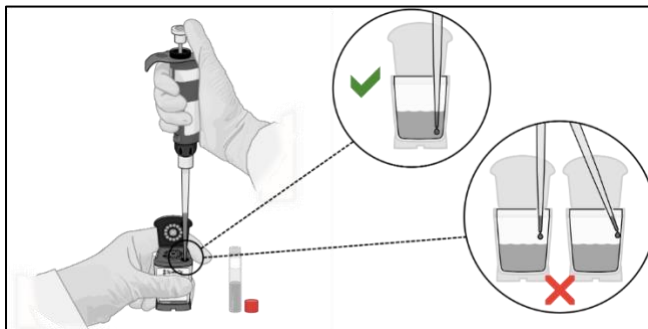
Podać próbkę z pipety transferowej do komory próbki w kasecie (duży otwór w prawym dolnym rogu kasety), patrz **Ryc. 10**.

Ryc. 10. Dodać próbkę do komory próbek



Dodać 10 μ L komórek do kontroli wewnętrznej (Internal Control Cells) (**CZERWONY**) do komory próbek w sposób przedstawiony na **Ryc. 11**. Przed wypuszczeniem komórek do kontroli wewnętrznej *Internal Control Cells* z pipety, należy upewnić się, że końcówka pipety jest zanurzona w próbce. Nie mieszać ani nie wytrząsać zawartości kasety.

Ryc. 11. Dodać komórki do kontroli wewnętrznej (Internal Control Cells)



Zamknąć wieczko kasety w sposób przedstawiony na **Ryc. 12**.

Ryc. 12. Zamknąć wieczko



Uwaga: Kasetę należy załadować do aparatu w ciągu 30 minut od jej przygotowania.

9 Programowanie aparatu

Oznaczenie **ResistancePlus® MG Flexible** należy wykonywać na systemie GeneXpert® przy użyciu oprogramowania GeneXpert® w wersji 4.7b lub wyższej lub oprogramowania Infinity Xpertise w wersji 6.4b lub wyższej.

Przed wykonaniem testu po raz pierwszy należy zaimportować do oprogramowania plik definicji oznaczenia ResistancePlus MG Flexibile Assay Definition File (ADF).

Uwaga: Opisane poniżej kroki dotyczą oprogramowania GeneXpert® w wersji 4.7b i mogą się różnić, jeśli domyślny przepływ pracy systemu został zmieniony przez administratora systemu

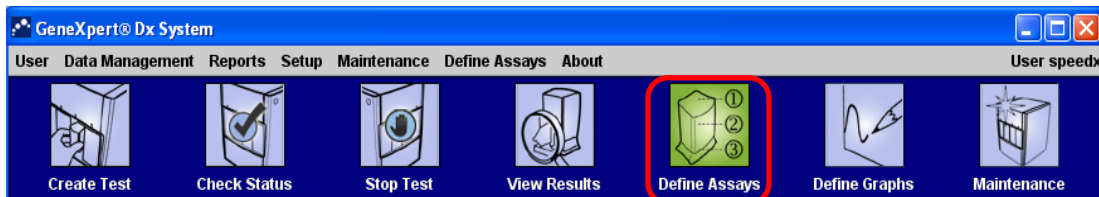
9.1 Importowanie pliku ADF do oprogramowania

W menu głównym oprogramowania GeneXpert® Dx

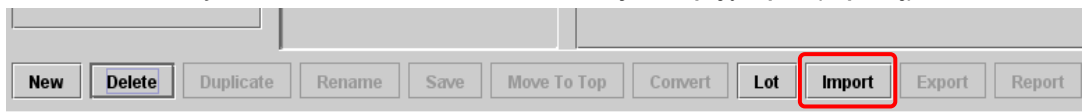
Wybrać opcję **Define Assays** (Zdefiniuj oznaczenia) (Ryc. 13)

Wybrać opcję **Import** (Importuj) (Ryc. 14)

Ryc. 13. Menu główne — wybrać opcję Define Assays (Zdefiniuj oznaczenia)

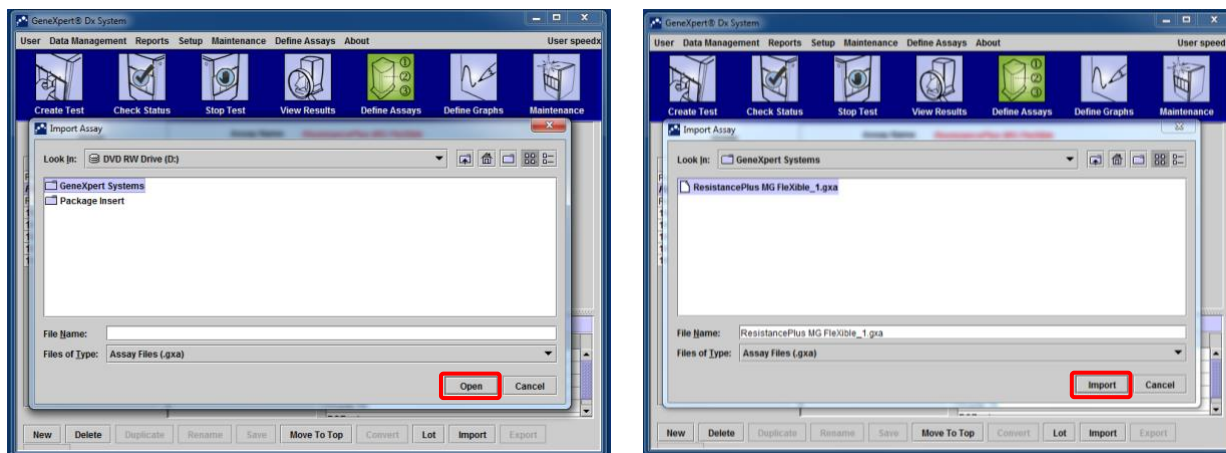


Ryc. 14. Menu definiowania oznaczeń — wybrać opcję Import (Importuj)



W oknie **Import Assay** (Importuj oznaczenie) przejść do lokalizacji pliku ADF, a następnie wybrać opcję **Import** (Importuj) (Ryc. 15)

Ryc. 15. Przejść do lokalizacji pliku ADF (po lewej), a następnie zaimportować oznaczenie (po prawej)



W przypadku oprogramowania Infinity Xpertise wybrać ikonę **Home** (Strona główna), aby wyświetlić główny obszar roboczy oprogramowania Xpertise

Wybrać przycisk **Setup** (Konfiguracja)

W menu Setup (Konfiguracja) wybrać opcję **Manage Assays** (Zarządzaj oznaczeniami)

W obszarze roboczym Manage Assays (Zarządzaj oznaczeniami) kliknąć opcję **Import** (Importuj). Zostanie wyświetlone okno dialogowe Import Assay (Importuj oznaczenie).

Przejsć do lokalizacji pliku ADF, a następnie kliknąć przycisk **Open** (Otwórz) w oknie dialogowym Import Assay (Importuj oznaczenie).

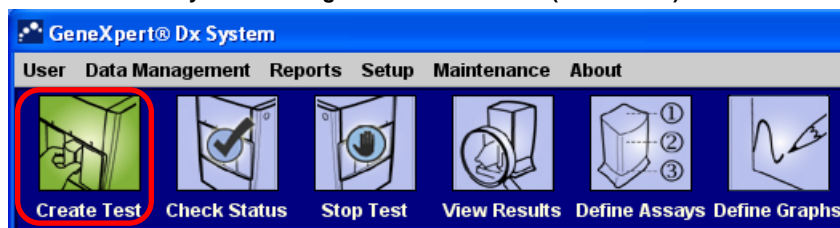
9.2 Uruchamianie testu

Uwaga: Opisane poniżej kroki mogą się różnić, jeśli domyślny przepływ pracy systemu został zmieniony przez administratora systemu.

W menu głównym oprogramowania GeneXpert® Dx

Wybrać opcję **Create Test** (Utwórz test) (GeneXpert Dx **Ryc. 16**) lub wybrać opcję **Orders** (Zlecenia), a następnie opcję **Order Test** (Zleć test) (Infinity Xpertise)

Ryc. 16. Menu główne — Create Test (Utwórz test)



W oknie Create Test (Utwórz test) oprogramowania GeneXpert® Dx software (**Ryc. 17**) lub w obszarze roboczym Order Test (Zleć test) oprogramowania Infinity Xpertise:

Wprowadzić **Patient ID** (Id. pacjenta) (opcjonalnie), skanując je lub wpisując je za pomocą klawiatury

Wprowadzić **Sample ID** (Id. próbki), skanując je lub wpisując je za pomocą klawiatury

Wybrać opcję **Scan Cartridge Barcode** (Skanuj kod kreskowy kasety)

Zeskanować kod kreskowy znajdujący się na etykiecie kasety **ResistancePlus®** MG FleXible. Oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola, korzystając z informacji zakodowanych w kodzie kreskowym:

- Select Assay (Wybierz oznaczenie);
- Reagent Lot ID (Id. serii odczynnika);
- Cartridge SN (Nr seryjny kasety);
- Expiration Date (Data ważności).

Uwaga: Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego znajdującego się na etykiecie kasety **ResistancePlus®** MG FleXible należy skontaktować się z serwisem technicznym (**sekcja 16**), aby uzyskać instrukcje dotyczące dalszego postępowania.

W przypadku pola **Select Assay** (Wybierz oznaczenie)

Sprawdzić, czy w obszarze **Name** (Nazwa) widoczna jest nazwa „**ResistancePlus MG FleXible**”

Aby uruchomić test w aparacie GeneXpert® Dx:

Kliknąć opcję **Select Module** (Wybierz moduł), a następnie wybrać wymagany moduł

Wybrać opcję **Start Test** (Uruchom test) (wprowadzić hasło, jeśli jest wymagane)

Na wybranym module będzie migać zielona dioda

Załadować kasetę z probówką reakcyjną skierowaną do tylnej części modułu

Zamknąć drzwiczki modułu

Zielona dioda przestanie migać; będzie świecić ciągłym światłem, wskazując, że wykonywany jest test

Aby uruchomić test w aparacie GeneXpert® Infinity:

Wybrać opcję **Submit** (Prześlij) (wprowadzić hasło, jeśli jest wymagane)

Umieścić kasetę na pasie przenośnika

Aparat Infinity automatycznie załaduje kasetę i wykona test

Po ukończeniu testu:

W przypadku aparatu GeneXpert® Dx:

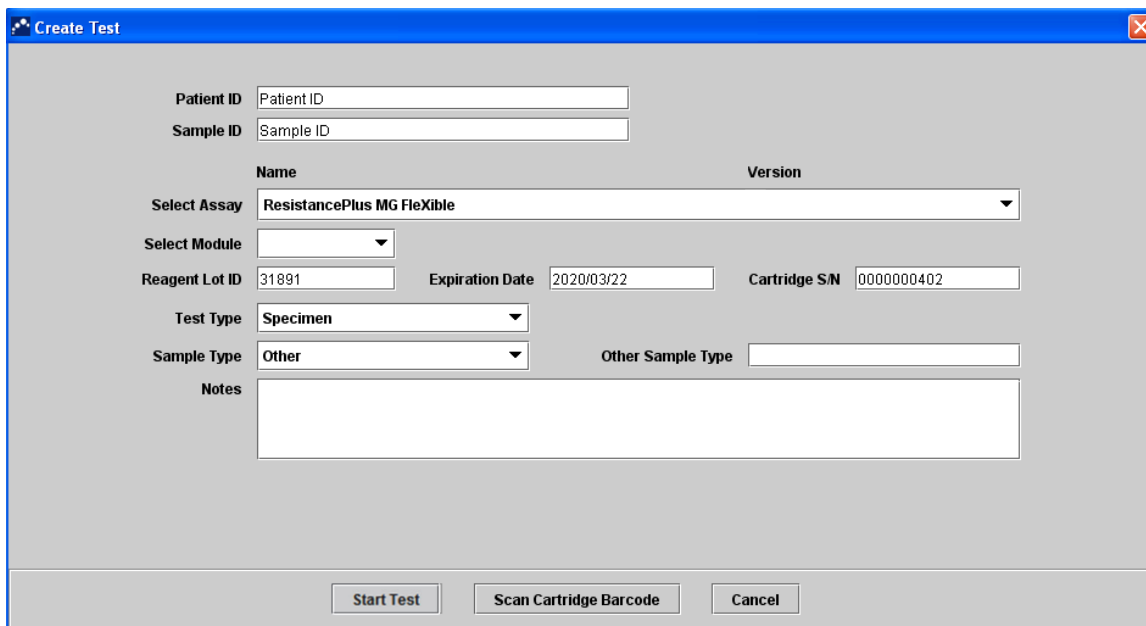
Dioda zgaśnie, a drzwiczki otworzą się

Kasety należy wyciągać ręcznie i utylizować zgodnie z odpowiednimi procedurami utylizacji odpadów stwarzających zagrożenie

W przypadku aparatu GeneXpert Infinity

Zużyte kasety zostaną automatycznie umieszczone w pojemniku na odpady

Ryc. 17. Okno Create Test (Utwórz test)



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

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

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

10 Kontrola jakości

Każdy test zawiera kontrolę jakości i kontrolę sond Probe Check Control (PCC).

Kontrola jakości (Internal Control, IC) służy do monitorowania skuteczności izolacji i inhibicji reakcji PCR. *Internal Control Cells* (Komórki do kontroli wewnętrznej) to komórki bakterii *Escherichia coli*, które zawierają matrycę DNA przeznaczoną do kontroli wewnętrznej. Matryca ta jest dodawana do próbki i jest wraz z nią izolowana i amplifikowana w reakcji. Kontrola IC jest ważna, jeśli spełnia kryteria akceptacji. Aby próbkę ujemną względem analitu można było uznać za ważną, kontrola IC musi być ważna dla tej próbki. W przypadku próbki pozytywnej względem analitu zakres IC nie wpływa na ogólny wynik testu.

Przed rozpoczęciem reakcji PCR aparat GeneXpert przeprowadza kontrolę sond. Sygnał fluorescencyjny jest mierzony w celu monitorowania próbki pod kątem dodania mieszaniny, napełnienia probówki reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola sond kończy się powodzeniem, jeśli spełnia zwalidowane kryteria akceptacji.

Kontrole zewnętrzne (kontrole ujemne i pozytywne) należy wykonywać zgodnie z protokołami obowiązującymi w placówce. Zestaw **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control to produkt zalecany do stosowania jako materiał kontroli pozytywnej pod kątem amplifikacji kwasów nukleinowych. Instrukcje korzystania z kontroli pozytywnych **ResistancePlus**[®] MG S2A przedstawiono w **sekcji 11**. Zalecane jest używanie próbki, dla której otrzymano wynik ujemny, jako kontroli ujemnej.

11 Instrukcje dotyczące zestawu **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control

Zestaw **ResistancePlus**[®] MG S2A Positive Control zawiera materiał kontroli pozytywnej pod kątem obecności bakterii *M. genitalium* z mutacją 23S rRNA i bakterii *M. genitalium* z 23S rRNA typu dzikiego (**Tabela 2**).

Tabela 2. Składniki zestawu ResistancePlus [®] MG S2A Positive Control			
Kolor zatyczki	Spis treści	Opis	Ilość
Biały	MG, 23S rRNA wild type (MG, 23S rRNA typu dzikiego)	Matryca kontroli pozytywnej przeznaczona do wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA typu dzikiego	2 x 100 µL
Zielony	MG, 23S rRNA A2058G	Matryca kontroli pozytywnej przeznaczona do wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA z mutacją A2058G	2 x 100 µL
Pomarańczowy	MG, 23S rRNA A2059G	Matryca kontroli pozytywnej przeznaczona do wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA z mutacją A2059G	2 x 100 µL
Niebieski	MG, 23S rRNA A2058T	Matryca kontroli pozytywnej przeznaczona do wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA z mutacją A2058T	2 x 100 µL
Żółty	MG, 23S rRNA A2058C	Matryca kontroli pozytywnej przeznaczona do wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA z mutacją A2058C	2 x 100 µL
Neutralny	Dilution Buffer (Bufor do rozcieńczeń)	Rozcieńczalnik	10 x 1 mL

11.1 Instrukcje użycia

Uwaga: Przed użyciem odczynników należy je całkowicie rozmrozić i dokładnie wymieszać, krótko wytrząsając i odwirowując.

Przygotować mieszaninę reakcyjną MG FleXible zgodnie z opisem w **sekcji 8.2**.

11.1.1 Przygotowanie próbki kontroli pozytywnej za pomocą mikropipetora

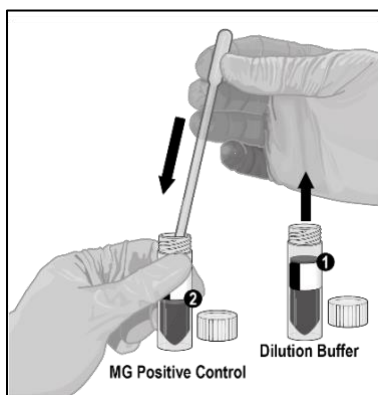
- Za pomocą pipety przenieść 1 mL *buforu do rozcieńczeń* (**NEUTRALNY**) do probówki z kontrolą pozytywną (np. *MG, 23S rRNA typu dzikiego* (**BIAŁY**)).
- Założyć i dobrze docisnąć wieczko probówki. Wytrząsać i odwirować zawartość probówki.
- Dodać 1 mL rozcieńczonej próbki kontroli pozytywnej do kasety w sposób opisany w **sekcji 8.3**.
- Uruchomić test kontroli pozytywnej w sposób opisany w **sekcji 9.2**.

11.1.2 Przygotowanie próbki kontroli pozytywnej za pomocą pipety transferowej

- Otworzyć wieczko próbki z *buforem do rozcieńczeń (NEUTRALNY)*. Ścisnąć główkę pipety transferowej i powoli włożyć końcówkę pipety do próbki z *buforem do rozcieńczeń* na wysokość około jednej czwartej od dna. **Delikatnie** zmniejszać nacisk na główkę pipety transferowej, powoli przesuwając końcówkę do dna próbki, aby pobrać płyn do pipety (**Ryc. 18**). Upewnić się, że napełniono pipetę transferową do znacznika wskazującego 1 mL.
- Włożyć pipetę transferową do próbki z kontrolą pozytywną (np. *MG, 23S rRNA typu dzikiego (BIAŁY)*), tak aby dotykała ścianki wewnętrznej, a następnie **delikatnie** wypuścić *bufor do rozcieńczeń* z pipety transferowej. Wyjąć pipetę transferową z próbki.
- Ścisnąć główkę pipety transferowej i powoli włożyć końcówkę pipety do rozcieńczonej kontroli pozytywnej, tak aby końcówka znajdowała się pod poziomem płynu, a następnie **delikatnie** zmniejszać nacisk na główkę pipety transferowej, powoli przesuwając końcówkę do dna próbki. Upewnić się, że napełniono pipetę transferową do znacznika wskazującego 1 mL.
- Dodać 1 mL rozcieńczonej próbki kontroli pozytywnej do kasety w sposób opisany w **sekcji 8.3**.
- Uruchomić test kontroli pozytywnej w sposób opisany w **sekcji 9.2**.

Przykładowe wyniki przedstawiono w **sekcji 13**.

Ryc. 18. Dodać 1 mL buforu do rozcieńczeń do kontroli pozytywnej MG



12 Interpretacja wyników

Wyniki oznaczenia *ResistancePlus® MG FleXible* są interpretowane automatycznie przez oprogramowanie systemu *GeneXpert® System* na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencyjnych i wbudowanych algorytmów obliczeniowych.

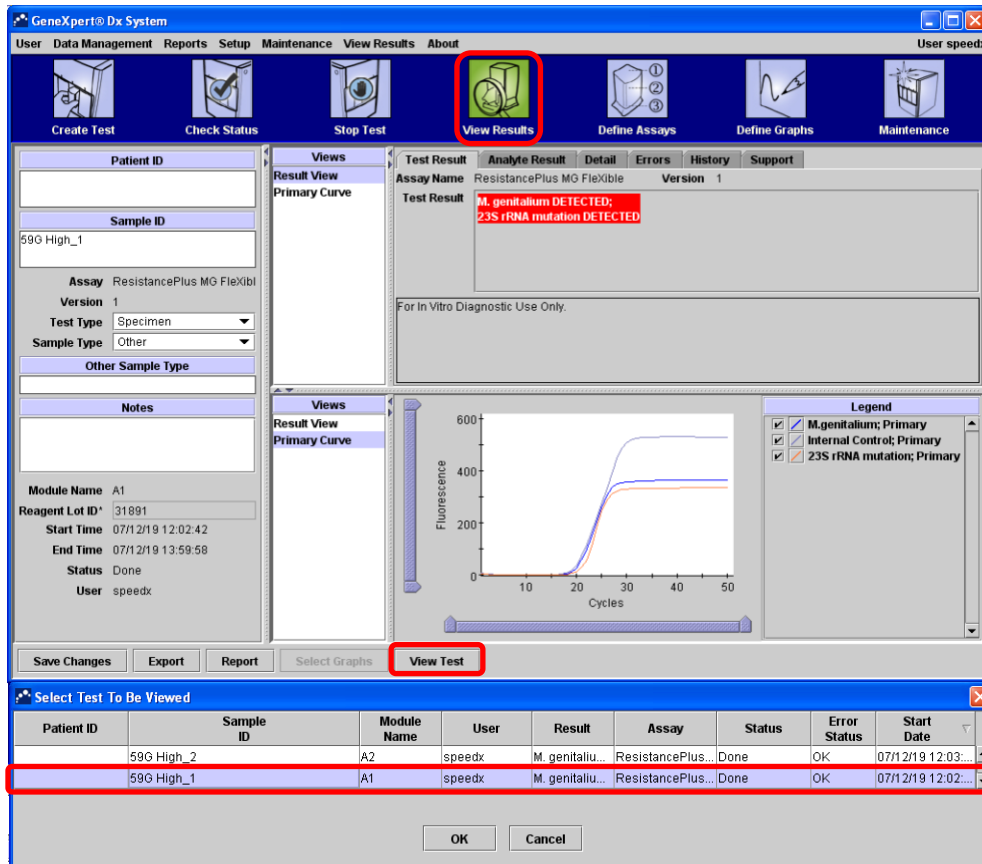
W menu głównym oprogramowania *GeneXpert® Dx*

Wybrać opcję **View Results** (Przeglądaj wyniki) (**Ryc. 19**) > wybrać opcję **View Test** (Przeglądaj test)

W oknie **Select Test to Be Viewed** (Wybierz test do przejrzenia)

Wybrać żądany test, a następnie wybrać opcję **OK**

Ryc. 19. View Results (Przeglądaj wyniki) (zawartość ekranu może się różnić w zależności od konfiguracji użytkownika)



W oknie **View Results** (Przeglądaj wyniki)

W obszarze **Views** (Widok) > wybrać opcję **Result View** (Widok wyników)

> wybrać kartę **Test Result** (Wynik testu), aby wyświetlić ogólny wynik testu

> wybrać kartę **Analyte Result** (Wynik analitu), aby wyświetlić wartości Ct dla wszystkich analitów

W obszarze **Views** (Widok) > wybrać opcję **Primary curve** (Krzywa pierwotna), aby wyświetlić krzywą amplifikacji

W oprogramowaniu Infinity Xpertise wybrać przycisk **Results** (Wyniki). Zostanie wyświetlone menu Results (Wyniki).

W menu Results (Wyniki) wybrać przycisk **View Results** (Przeglądaj wyniki). Zostanie wyświetlone menu View Results (Przeglądaj wyniki).

W oknie View Results (Przeglądaj wyniki)

> wybrać kartę **Test Result** (Wynik testu), aby wyświetlić ogólny wynik testu

> wybrać kartę **Analyte Result** (Wynik analitu), aby wyświetlić wartości Ct dla wszystkich analitów

> wybrać kartę **Amplification Curve** (Krzywa amplifikacji), aby wyświetlić krzywe amplifikacji

UWAGA: Wysoce zalecane jest przejrzanie wszystkich krzywych amplifikacji wygenerowanych dla próbek pozytywnych.

13 Przykładowe wyniki

Na poniższych przykładach przedstawiono ogólny wynik testu na karcie Test Result (Wynik testu), krzywe amplifikacji i wartość Ct analizów z karty Analyte Result (Wynik analitu) w oknie View Results (Zobacz wyniki) w oprogramowaniu GeneXpert® Dx.

Przykład 1. *M. genitalium*, próbka ze zmutowanym 23S rRNA

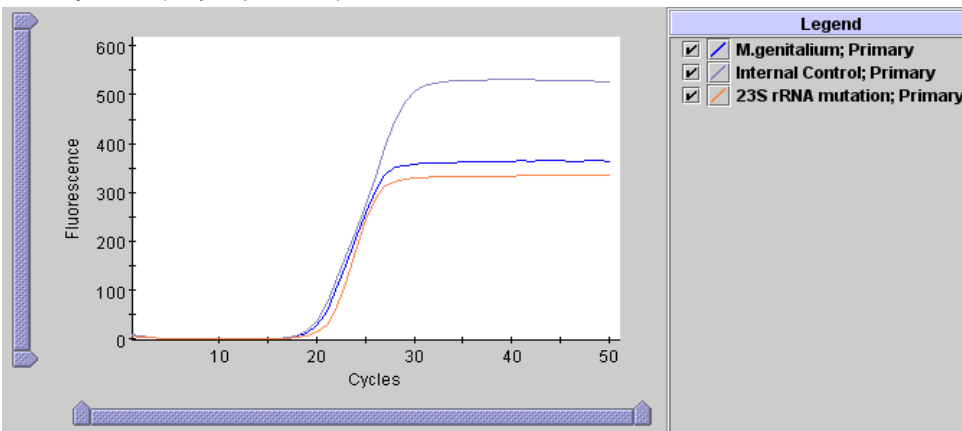
Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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: 5px;"> M. genitalium DETECTED; 23S rRNA mutation DETECTED </div>			
For In Vitro Diagnostic Use Only.					

Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Analyte Result (Wynik analitu)

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 (Krzywa pierwotna)



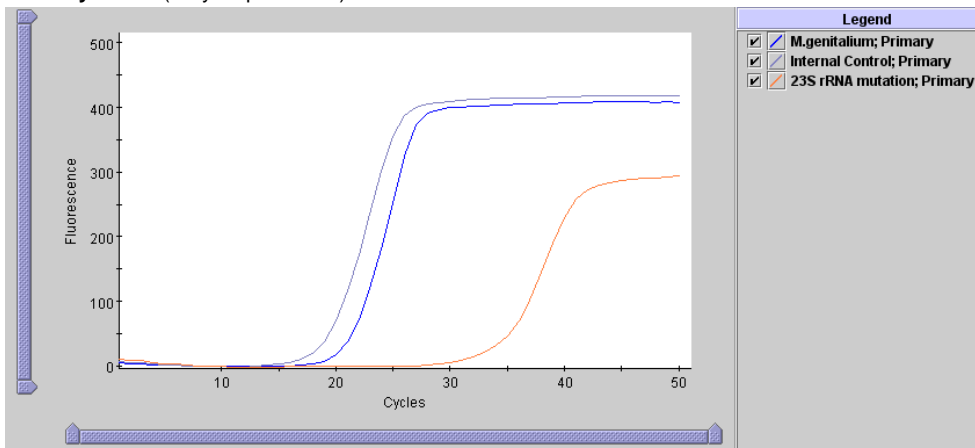
Wynik testu	Interpretacja
<p>M. genitalium DETECTED (M. genitalium — WYKRYTO); 23S rRNA mutation DETECTED (mutacja 23S rRNA — WYKRYTO)</p>	<p>Wykryto obecność bakterii <i>M. genitalium</i> i docelowego DNA mutacji 23S rRNA</p> <ul style="list-style-type: none"> W wyniku amplifikacji kwasu nukleinowego bakterii <i>M. genitalium</i> i mutacji docelowych 23S rRNA metodą PCR uzyskano wartości Ct w zakresie ważnych wartości Kontrola wewnętrzna: Nie dotyczy (NA (ND.)), jeśli wykryto obecność bakterii <i>M. genitalium</i> Kontrola sond: PASS (POWODZENIE); wszystkie wyniki kontroli sond są prawidłowe

Przykład 2. *M. genitalium*, próbka z 23S rRNA typu dzikiego
Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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

Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Analyte Result (Wynik analitu)

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 (Krzywa pierwotna)


Wynik testu	Interpretacja
M. genitalium DETECTED (M. genitalium — WYKRYTO); 23S rRNA mutation NOT DETECTED (mutacja 23S rRNA — NIE WYKRYTO)	<p>Wykryto docelowe DNA bakterii <i>M. genitalium</i>; nie wykryto docelowego DNA mutacji 23S rRNA</p> <ul style="list-style-type: none"> W wyniku amplifikacji docelowego kwasu nukleinowego bakterii <i>M. genitalium</i> metodą PCR uzyskano wartości Ct w zakresie ważnych wartości; docelowa mutacja 23S rRNA nie została wykryta lub nie mieści się w zakresie ważnych wartości Kontrola wewnętrzna: Nie dotyczy (NA (ND.)), jeśli wykryto obecność bakterii <i>M. genitalium</i> Kontrola sond: PASS (POWODZENIE); wszystkie wyniki kontroli sond są prawidłowe

Przykład 3. Próbką negatywna pod względem bakterii *M. genitalium*

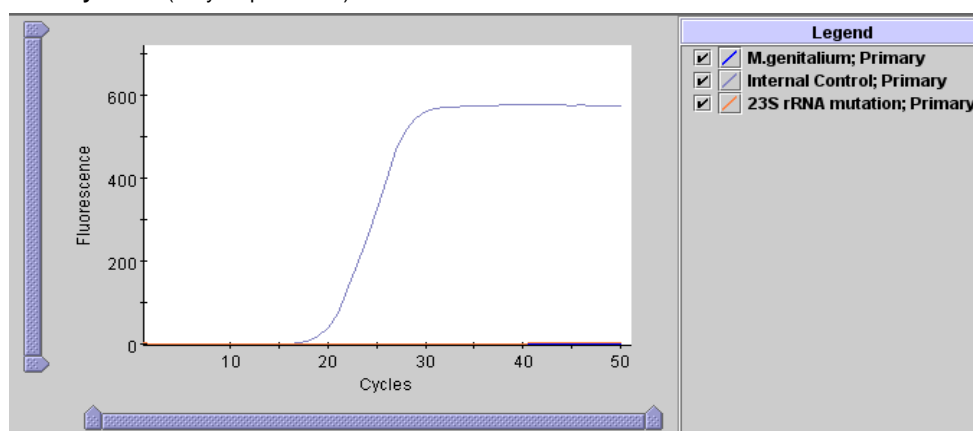
Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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

Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Analyte Result (Wynik analitu)

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 (Krzywa pierwotna)



Wynik testu	Interpretacja
M. genitalium NOT DETECTED (M. genitalium — NIE WYKRYTO); 23S rRNA mutation NOT DETECTED (mutacja 23S rRNA — NIE WYKRYTO)	Nie wykryto docelowego DNA bakterii <i>M. genitalium</i> <ul style="list-style-type: none"> Brak docelowego kwasu nukleinowego bakterii <i>M. genitalium</i> lub wartość poza zakresem ważnych wartości Kontrola wewnętrzna: POWODZENIE; w wyniku amplifikacji kontroli wewnętrznej metodą PCR uzyskano wartości Ct w zakresie ważnych wartości Kontrola sond: PASS (POWODZENIE); wszystkie wyniki kontroli sond są prawidłowe

Przykład 4. Nieważna próbka

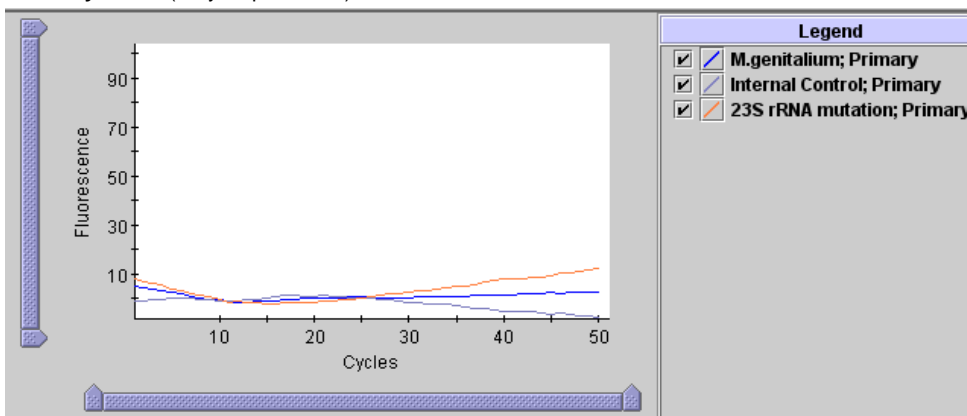
Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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 (Przeglądaj wyniki) > karta Analyte Result (Wynik analitu)

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 (Krzywa pierwotna)



Wynik testu	Interpretacja
INVALID (NIEWAŻNY)	<p>Nie można ustalić obecności lub braku obecności bakterii <i>M. genitalium</i> i docelowego DNA mutacji 23S rRNA. Powtórz test, używając próbki pierwotnej i wykonać kroki od sekcji 8.2. Jeśli dla powtórzenia testu nie zostanie uzyskany ważny wynik, należy pobrać nową próbkę w celu ponownego wykonania testu.</p> <ul style="list-style-type: none"> Kontrola wewnętrzna: FAIL (NIEPOWODZENIE); brak wyniku dla kontroli wewnętrznej lub wartość Ct poza zakresem wartości ważnych Kontrola sond: PASS (POWODZENIE); wszystkie wyniki kontroli sond są prawidłowe

Przykład 5. Wynik błędny

Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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 (Przeglądaj wyniki) > karta Analyte Result (Wynik analitu)

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	

Wynik testu	Interpretacja
ERROR (BŁĄD)	<p>Nie można ustalić obecności lub braku obecności bakterii <i>M. genitalium</i> i docelowego DNA mutacji 23S rRNA. Powtórzyć test, używając próbki pierwotnej i wykonać kroki od sekcji 8.2. Jeśli dla powtórzenia testu nie zostanie uzyskany ważny wynik, należy pobrać nową próbkę w celu ponownego wykonania testu.</p> <ul style="list-style-type: none"> Kontrola wewnętrzna: NO RESULT (BRAK WYNIKU) Kontrola sond: FAIL (NIEPOWODZENIE)*; wszystkie lub jeden wyników kontroli sond zakończony niepowodzeniem. Kontrola sond mogła zakończyć się niepowodzeniem z powodu nieprawidłowego przygotowania mieszaniny reakcyjnej lub nieprawidłowego napełnienia komory reakcyjnej lub w wyniku wykrycia problemu z integralnością. <p>* Jeśli kontrola sond została zakończona powodzeniem, błąd może wynikać, na przykład, z powodu awarii elementu systemu lub wykrycia zaniku sygnału</p>

Przykład 6. No result (Brak wyniku)

Result view (Przeglądaj wyniki) > karta Test Result (Wynik testu)

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.					

Wynik testu	Interpretacja
NO RESULT (BRAK WYNIKU)	<p>Nie można ustalić obecności lub braku obecności bakterii <i>M. genitalium</i> i docelowego DNA mutacji 23S rRNA. Powtórzyć test, używając próbki pierwotnej i wykonać kroki od sekcji 8.2. Jeśli dla powtórzenia testu nie zostanie uzyskany ważny wynik, należy pobrać nową próbkę w celu ponownego wykonania testu.</p> <p>Zebrano niewystarczającą ilość danych do wygenerowania wyniku testu (np. operator przerwał trwający test lub wystąpiła awaria elementu systemu).</p>

14 Ograniczenia

- Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG FleXible wykrywa gen *MgPa* bakterii *M. genitalium* i mutacje w pozycjach 2058 i 2059 genu 23S rRNA (A2058G, A2059G, A2058T, A2058C, zgodnie z numeracją *E. coli*), które powiązane z opornością bakterii na azytromycynę (antybiotyk makrolidowy).
- Wykazano, że oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG FleXible nie reaguje krzyżowo z sekwencjami zawierającymi mutacje A2059C genu 23S rRNA bakterii *M. genitalium*.
- Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG FleXible powinno być wykonywane wyłącznie przez personel przeszkolony w wykonywaniu tej procedury, zgodnie z niniejszą instrukcją obsługi.
- Wiarygodność wyników jest uzależniona od warunków transportu, przechowywania i przetwarzania próbek. Nieprzestrzeganie odpowiednich procedur na którymkolwiek z wymienionych powyżej etapów może doprowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników.
- Oznaczenie **ResistancePlus**[®] MG FleXible to oznaczenie jakościowe. Nie udostępnia ono wartości ilościowych lub informacji na temat obciążenia bakteryjnego.
- W przypadku próbek moczu, w których obecna jest krew (>0,4% v/v) lub bilirubina (>0,18 mg/mL), można zaobserwować interferencje w oznaczeniu.
- Wyniki uzyskane za pomocą tego testu należy interpretować w kontekście historii klinicznej pacjenta, danych epidemiologicznych, danych laboratoryjnych oraz wszelkich innych danych, do których ma dostęp lekarz.
- Częstość występowania bakterii *M. genitalium* i oporność na antybiotyki makrolidowe wpłynie na dodatnie i ujemne wartości predykcyjne określone dla oznaczenia.
- Wykrycie markerów oporności na antybiotyki może nie korelować z fenotypową ekspresją genu.
- Na podstawie wyników oznaczenia nie można stwierdzić niepowodzenia lub powodzenia terapii, ponieważ kwas nukleinowy może utrzymywać się po wdrożeniu odpowiedniej terapii przeciwbakteryjnej.
- Negatywne wyniki nie wykluczają możliwości zakażenia z powodu niewłaściwego pobrania próbki, błędu technicznego, obecności inhibitorów, pomylenia próbek lub małej ilości mikroorganizmów w próbce klinicznej.
- Negatywne wyniki dla markerów oporności nie wskazują na podatność wykrytych mikroorganizmów na dane antybiotyki, ponieważ mogą one posiadać markery oporności, których nie mierzy oznaczenie, lub inne potencjalne mechanizmy oporności na antybiotyki.
- W wyniku zanieczyszczenia krzyżowego przez mikroorganizmy docelowe, ich kwasy nukleinowe lub amplifikowany produkt może dojść do wygenerowania fałszywie pozytywnych wyników.

15 Parametry skuteczności

15.1 Skuteczność kliniczna

Przeprowadzono prospektywno-retrospektywne badanie kliniczne w laboratorium STD, Uniwersytet Alabamy, Birmingham, Alabama, USA. Próbkę pobierano od września 2018 r. do marca 2019 r. i przeprowadzono opracowany wewnętrznie test real-time PCR pod kątem genu *pdhD* *M. genitalium* (wykonywano w placówce Johns Hopkins Center for the Development of Point-of-Care Sexually Transmitted Diseases, Baltimore, Maryland, USA). Do badania włączono 21 próbek pozytywnych względem bakterii *M. genitalium* i 54 próbki negatywne względem bakterii *M. genitalium*. Na 76 próbek składało się 38 próbek męskiego moczu (pobranymi za pomocą zestawu Xpert® Urine Specimen Collection) oraz 38 wymazów z pochwy (pobranymi za pomocą zestawu Xpert® Vaginal/Endocervical Specimen Collection). W celu oceny skuteczności zestawu **ResistancePlus**® MG Flexible wyniki uzyskane pod względem obecności bakterii *M. genitalium* porównano z wynikami testu real-time PCR pod kątem genu *pdhD*, a wyniki uzyskane dla mutacji 23S rRNA porównano z wynikami sekwencjonowania Sangera. **Tabela 3** zawiera dane dotyczące czułości i swoistości zestawu **ResistancePlus**® MG Flexible do wykrywania bakterii *M. genitalium* i mutacji 23S rRNA. Oznaczenie **ResistancePlus**® MG Flexible zgłosiło wynik nieważny dla jednej próbki (wymaz z pochwy); wynik ten wykluczono z analizy. W analizie pod kątem wykrycia mutacji 23S rRNA uwzględniono wyłącznie próbki, dla których można było określić status mutacji. **Tabela 4** zawiera dane z analizy wyników na podstawie typu próbki. **Tabela 5** zawiera dane z analizy mutacji 23S rRNA.

Tabela 3. Ocena kliniczna zestawu ResistancePlus ® MG Flexible						
		Metoda referencyjna wykrywania bakterii <i>M. genitalium</i> (qPCR pod kątem genu <i>pdhD</i>)		Metoda referencyjna wykrywania mutacji 23S rRNA (sekwencjonowanie Sangera)		
		Pozytywny względem MG	Negatywny względem MG		Mutant	Typ dziki
ResistancePlus MG Flexible	Pozytywny względem MG	21	2	Mutant	13	0
	Negatywny względem MG	0	52	Nie wykryto mutacji	1	7
	Ogółem	21	54	Ogółem	14	7
Czułość		100,0% (95-procentowy CI 83,9–100,0%)		Czułość	92,9% (95-procentowy CI 66,1–99,8%)	
Swoistość		96,3% (95-procentowy CI 87,3–98,7%)		Swoistość	100,0% (95-procentowy CI 59,0–100,0%)	

Tabela 4. Analiza wyników klinicznych na podstawie typu próbki [#]			
Próbka	Oczekiwany Negatywny względem MG	Oczekiwany Pozytywny względem MG, 23S rRNA typu dzikiego	Oczekiwany Pozytywny względem MG, zmutowany 23S rRNA
Mocz pobrany od mężczyzn	33/33	1/1	3/4 ¹
Wymaz z pochwy pobrany od kobiet	22/22	6/6	10/10

[#] Próbkę włączono do analizy, jeśli uzyskano dla nich ważny wynik za pomocą obu testów referencyjnych i zestawu **ResistancePlus**® MG Flexible

¹ Dla 1 próbki uzyskano nieprawidłowy wynik: wykryto bakterię *M. genitalium*, nie wykryto mutacji 23S rRNA

Tabela 5. Analiza wyników klinicznych na podstawie mutacji 23S rRNA	
Wynik uzyskany za pomocą metody referencyjnej	Wynik oznaczenia <i>ResistancePlus</i> ® MG Flexible
Typ dziki	7/7
A2059G	8/8
A2058G	5/6 ¹

¹ Dla 1 próbki uzyskano nieprawidłowy wynik: wykryto bakterię *M. genitalium*, nie wykryto mutacji 23S rRNA

15.2 Skuteczność analityczna

15.2.1 Odtwarzalność

Przeprowadzono badanie odtwarzalności wyników uzyskanych za pomocą zestawu *ResistancePlus*® MG Flexible między ośrodkami badawczymi, aparatami, seriami, operatorami, reakcjami i dniami przy użyciu paneli przygotowanych z macierzy próbek moczu i wymazów z pochwy. Testy wykonywano w dwóch ośrodkach. Każdy panel zawierał trzy powtórzenia członka panelu badanego przy stężeniu 3x LOD. Każdy panel zawierał trzy próbki negatywne. Testy paneli wykonywano dwa razy dziennie w ciągu trzech nie następujących po sobie dni przez trzech operatorów, co daje łącznie 54 obserwacje na jednego członka panelu (3 powtórzenia na jedną reakcję x 2 reakcje x 3 dni x 3 operatorów = 54 obserwacje). Do badania użyto co najmniej trzech serii zestawu *ResistancePlus*® MG Flexible.

Do analizy zgodności procentowej każdej sekwencji docelowej wykrywanej przez zestaw *ResistancePlus*® MG Flexible, osobno dla każdego typu panelu, włączono wszystkie ważne reakcje testowe.

Wyniki badania odtwarzalności wykonywanego na panelach próbek moczu: Zgodność procentowa dla wszystkich próbek wyniosła 100% (Tabela 6). W wyniku analizy składowych wariacji (Tabela 7 – Tabela 9) wartości Cq wykonanej na pozytywnych członkach panelu uzyskano ogólne zakresy CV od 0,00% do 4,07%, od 0,54% do 4,23% i od 0,25% do 6,04% odpowiednio dla genu MgPa, kontroli wewnętrznej (IC) i 23S.

Wyniki badania odtwarzalności wykonywanego na panelach próbek wymazów z pochwy: Zgodność procentowa dla wszystkich próbek wyniosła 100% (Tabela 10). W wyniku analizy składowych wariacji (Tabela 11 – Tabela 13) wartości Cq wykonanej na pozytywnych członkach panelu uzyskano ogólne zakresy CV od 0,10% do 2,69%, od 0,02% do 2,57% i od 0,18% do 2,86% odpowiednio dla genu MgPa, kontroli wewnętrznej (IC) i 23S.

Tabela 6. Próbkę moczu: Zgodność procentowa						
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	Ośrodek 1 (GeneXpert XVI)		Ośrodek 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Zgodność ogółem wg sekwencji docelowej	
	n/N ^a	Procent trafień (%)	n/N ^a	Procent trafień (%)	n/N ^a	Procent trafień (%)
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 = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 7. Próbkę moczu: Podsumowanie danych odtwarzalności dla genu docelowego MgPa

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	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
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 8. Próbkę moczu: Podsumowanie danych odtwarzalności dla docelowej mutacji 23S rRNA

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 9. Próbki moczu: Podsumowanie danych odtwarzalności dla docelowej sekwencji IC

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	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
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	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 = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 10. Próbki wymazów z pochwy: Zgodność procentowa

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	Ośrodek 1 (GeneXpert XVI)		Ośrodek 2 (GeneXpert Infinity-48s)		Zgodność ogółem wg sekwencji docelowej	
	n/N ^a	Procent trafień (%)	n/N ^a	Procent trafień (%)	n/N ^a	Procent trafień (%)
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 = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 11. Próbki wymazów z pochwy: Podsumowanie danych odtwarzalności dla genu docelowego MgPa

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	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
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 12. Próbkki wymazów z pochwy: Podsumowanie danych odtwarzalności dla docelowej mutacji 23S rRNA

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	54/54	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

^a n/N = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

Tabela 13. Próbkki wymazów z pochwy: Podsumowanie danych odtwarzalności dla docelowej sekwencji IC

<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	n/N ^a	Zgodność (%)	Średnia wartość Cq	Między seriami		Między dniami		Między operatorami		Między reakcjami		Między aparatami	
				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
Typ dziki	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
Negatywny względem bakterii <i>M. genitalium</i>	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 = liczba prawidłowo zidentyfikowanych próbek/liczba badanych próbek ogółem

15.2.2 Czulość analityczna

W celu oceny czulości analitycznej (granicy wykrywalności, LOD) użyto reprezentatywnych szczepów bakterii *M. genitalium*. Każdy ze szczepów bakterii *M. genitalium* rozcieńczono w macierzy negatywnej próbki moczu i negatywnej próbki wymazu z pochwy. Granica LOD jest definiowana jako najniższe stężenie (wyrażone jako liczba genomów na próbkę), które można w sposób odtwarzalny odróżnić od próbek negatywnych przy poziomie ufności 95%.

Tabela 14 zawiera wyniki dla każdego szczepu bakterii *M. genitalium*.

Tabela 14. Granica LOD dla każdej mutacji docelowej oznaczanej za pomocą zestawu <i>ResistancePlus</i> [®] MG FleXible			
Typ 23S rRNA bakterii <i>M. genitalium</i>	Szczep	Mocz	Wymaz z pochwy
		LOD (l. genomów na próbkę)	LOD (l. genomów na próbkę)
WT	G37	157	157
A2058C	M6302	317	317
A2059G	M6593	147	220
A2058G	M6604	387	387
A2058T	M6926	151	151

15.2.3 Inkluzywność

Przeprowadzono badanie inkluzywności w celu zbadania reaktywności zestawu *ResistancePlus*[®] MG FleXible z 8 szczepami bakterii *M. genitalium*. Izolaty bakterii *M. genitalium* reprezentowały różne mutacje 23S rRNA z różnych lokalizacji geograficznych (izolaty pochodziły z następujących krajów, z liczbą szczepów podaną w nawiasie: Australia (2), Dania (3), Norwegia (1), Wielka Brytania (1), USA (1)). Każdy ze szczepów rozcieńczono w macierzy negatywnej próbki moczu i negatywnej próbki wymazu z pochwy. Wszystkie izolaty przebadano w stężeniu 2x LOD w trzech powtórzeniach przy użyciu jednej serii zestawu *ResistancePlus*[®] MG FleXible. Wszystkie szczepy zostały poprawnie wykryte.

Tabela 15 zawiera podsumowanie wyników.

Tabela 15. Szczepy bakterii <i>M. genitalium</i> przebadane pod kątem inkluzywności	
<i>M. genitalium</i> 23S rRNA typu dzikiego	Szczep
Typ dziki	M2300
	M2321
	M2341
	M30 Early
A2058G	M6271
A2059G	M6303
	M6320
A2058C	M6848

15.2.4 Reaktywność krzyżowa z innymi mutacjami 23S rRNA

Syntetyczny konstrukt DNA zawierający gen docelowy MgPa i mutację docelową A2059C 23S rRNA bakterii *M. genitalium* przetestowano w 5000 kopiach w tle 35 ng DNA wejściowego na próbkę. Uzyskane wyniki wskazują, że test *ResistancePlus*[®] MG FleXible reaguje krzyżowo z mutacją docelową A2059C 23S rRNA bakterii *M. genitalium* przy procencie trafień >90%. Nie oceniono skuteczności analitycznej testu *ResistancePlus*[®] MG FleXible do wykrywania tej mutacji.

15.2.5 Swoistość kliniczna

Przeprowadzono badanie w celu oceny reaktywności krzyżowej z zestawem **ResistancePlus**[®] MG Flexible, gdy mikroorganizmy inne niż mikroorganizm docelowy są obecne w dużych stężeniach. Oceniono panel 42 mikroorganizmów składających się z bakterii, wirusów, grzybów i pierwotniaków reprezentujących patogeny lub florę powszechnie występującą w układzie moczowo-pciowym lub blisko powiązaną z bakterią *M. genitalium*. Każdy szczep bakteryjny badano przy stężeniu 1×10^6 genomów/mL, o ile nie określono inaczej. Szczepy wirusowe badano przy stężeniu 1×10^5 genomów/mL, o ile nie określono inaczej. Wszystkie pozostałe mikroorganizmy badano przy podanych stężeniach. Wszystkie bakteryjne i wirusowe mikroorganizmy oznaczono ilościowo, wykonując test qPCR, z wyjątkiem tych, których stężenia podano w jednostkach tworzących kolonię (CFU) lub w jednostkach tworzących łysinki (PFU) (Tabela 16). Wszystkie mikroorganizmy przebadano w trzech powtórzeniach pod kątem reaktywności krzyżowej z zestawem **ResistancePlus**[®] MG Flexible. Wszystkie badane mikroorganizmy rozcieńczono w negatywnej macierzy klinicznej (mocz).

Otrzymane wyniki wskazują, że żaden z mikroorganizmów nie wygenerował fałszywie pozytywnego wyniku w macierzy próbki moczu negatywnej pod względem bakterii *M. genitalium* (Tabela 16).

Przeprowadzono także analizę *in silico* w celu oceny, czy oligonukleotydy obecne w zestawie **ResistancePlus**[®] MG Flexible mogą powodować amplifikację i detekcję sekwencji kwasów nukleinowych mikroorganizmów innych niż mikroorganizmy docelowe; sekwencje przeanalizowano za pomocą narzędzia BLAST. Nie wykryto żadnych istotnych interakcji.

Tabela 16. Mikroorganizmy badane w celu określenia swoistości klinicznej					
Mikroorganizm	Stężenie (genomy/mL)	Mikroorganizm	Stężenie (genomy/mL)	Mikroorganizm	Stężenie (genomy/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>	$1 \times 10^{5\wedge}$
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6	Wirus opryszczki pospolitej I	1×10^5	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1×10^6
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6	Wirus opryszczki pospolitej II	1×10^6	<i>Prevotella bivia</i>	1×10^6
<i>Candida albicans</i>	1×10^5	HPV typu 18 (komórki HeLa)	$1 \times 10^{5*}$	<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>	$1 \times 10^{5\wedge}$
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1×10^6	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1×10^5

* Oznaczone ilościowo w jednostkach PFU/mL

[^] Oznaczone ilościowo w jednostkach CFU/mL

15.2.6 Substancje potencjalnie interferujące

Przeprowadzono badanie substancji interferujących w celu określenia, czy substancje lub warunki, które mogą być obecne w próbkach klinicznych mogą wpływać na działanie zestawu **ResistancePlus[®] MG Flexible**. Panel składał się z substancji endogennych, takich jak krew, mucyna, leukocyty oraz leki (wydawane na receptę i bez recepty), które mogą być stosowane w leczeniu schorzeń układu moczowo-płciowego. Wszystkie substancje przebadano w obecności szczepu A2058G bakterii *M. genitalium* przy stężeniu 3x LOD lub bez tego szczepu. Wszystkie próbki badano w trzech powtórzeniach. Substancje zostały odpowiednio rozcieńczone w negatywnej macierzy klinicznej (mocz lub wymaz z pochwy).

Wyniki wskazują, że w podanych stężeniach żadna z substancji, z wyjątkiem bilirubiny, krwi pełnej i pudru do higieny intymnej Vagisil, i warunków nie powodowała interferencji z wykryciem reprezentatywnego szczepu A2058G bakterii *M. genitalium* ani nie dawała fałszywie pozytywnych wyników w macierzy negatywnej względem bakterii *M. genitalium*.

W przypadku próbek moczu można zaobserwować interferencje oznaczenia w obecności:

- krwi w stężeniu większym niż 0,4% v/v;
- bilirubiny w stężeniu większym niż 0,18 mg/mL.

W przypadku próbek wymazów z pochwy można zaobserwować interferencje oznaczenia w obecności:

- pudru do higieny intymnej Vagisil w stężeniu większym niż 0,1% w/v.

Wyniki podsumowano w tabelach **Tabela 17** i **Tabela 18**.

Tabela 17. Substancje potencjalnie interferujące obecne w próbkach moczu		
Klasa/substancja	Nazwa produktu	Badane stężenie
Krew pełna	-	0,4% v/v [^]
Sperma	-	5,0% v/v
Śluz	Mucyna	0,8% w/v
Antybiotyki	Azytromycyna	1,8 mg/mL
Środki przeciwbólowe	Paracetamol	3,2 mg/mL
Hormony wewnątrzpochwowe	Progesteron; estradiol	7 mg/mL progesteronu + 0,07 mg/ml beta estradiolu
Leukocyty	-	10 ⁵ komórek/mL
Albumina	Albumina surowicy bydłowej	10 mg/mL
Glukoza	-	10 mg/mL
Bilirubina	-	0,18 mg/mL *
Mocz kwaśny (pH 4,0)	Mocz + N-acetyl-L-cysteina	pH 4,0
Mocz zasadowy (pH 9,0)	Mocz + cytrynian amonu	pH 9,0

*interferencje można zaobserwować w próbkach zawierających bilirubinę w stężeniu większym niż 0,18 mg/mL

[^]interferencje można zaobserwować w próbkach zawierających więcej niż 0,4% krwi pełnej

Tabela 18. Substancje potencjalnie interferujące obecne w próbkach wymazów z pochwy

Klasa/substancja	Nazwa produktu	Badane stężenie
Produkty dopochwowe i antykoncepcyjne dostępne bez recepty	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 opakowań)	0,25% w/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,10% w/v*
Dezodoranty i pudry	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25% v/v
Maść na hemoroidy	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25% w/v
Leki wydawane tylko na receptę	Estrace® (estradiolowy krem dopochwowy, USP 0,01%)	0,25% w/v

*interferencje można zaobserwować w próbkach zawierających puder do higieny intymnej Vagisil w stężeniu większym niż 0,1% w/v

15.2.7 Badanie zanieczyszczeń w wyniku przeniesienia

Przeprowadzono badania mające na celu wykazanie, że jednorazowe kasety GeneXpert zapobiegają przenoszeniu zanieczyszczeń do próbek negatywnych badanych po wysoce pozytywnych próbkach w tym samym module GeneXpert. Badanie składało się z negatywnej próbki przetworzonej w tym samym module GeneXpert bezpośrednio po próbie o wysokim stężeniu bakterii MG (syntetyczne DNA; 10^6 kopii mutacji docelowej A2058C/mL). Próbki przebadano w dwóch modułach GeneXpert, wykonując łącznie 40 reakcji, które dały 20 wyników pozytywnych i 20 wyników negatywnych. Nie zaobserwowano wyników fałszywie pozytywnych w przypadku próbek negatywnych, co wskazuje na to, że zanieczyszczenie w wyniku przeniesienia nie występuje pomiędzy reakcjami wykonywanym w module GeneXpert.

16 Obsługa klienta i wsparcie techniczne

Przed skontaktowaniem się z działem wsparcia technicznego firmy Cepheid należy zebrać następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikat o błędzie (jeśli występuje)
- Wersja oprogramowania i, jeśli dotyczy, numer kodu Service Tag komputera

Tabela 19. Dane kontaktowe do działu wsparcia technicznego		
Region	Nr telefonu	E-mail
Australia i Nowa Zelandia	+1800 130 821 +0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Austria	+43 720 380 091	support@cepheideurope.com
Francja	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Niemcy	+49 21 513 280 100	support@cepheideurope.com
Włochy	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Hiszpania	+34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
Polska	+48 225 048 523	support@cepheideurope.com
Portugalia	+351 800 913 174	support@cepheideurope.com
Wielka Brytania	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Belgia, Holandia i Luksemburg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Pozostałe kraje Europy, Bliskiego Wschodu i Afryki	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe dla pozostałych działów wsparcia firmy Cepheid są dostępne pod adresem www.cepheid.com lub pod adresem www.cepheidinternational.com pod kartą **SUPPORT** (WSPARCIE). Wybrać opcję **Contact Us** (Skontaktuj się z nami).

17 Piśmiennictwo

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 Słowniczek



Zgodność z normami europejskimi dla zastosowań diagnostycznych *in vitro*



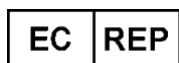
Numer katalogowy



Seria główna



Kod partii



Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej



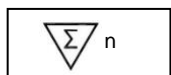
Producent



Data produkcji



Ograniczenia temperaturowe



Zawartość wystarczy do wykonania <n> oznaczeń



Data ważności



Ostrzeżenie



Nie używać ponownie



Zapoznać się z instrukcją użycia



Kontrola pozytywna

P/N

Numer części



Importer Europejski



Ocena zgodności w Wielkiej Brytanii

Produkty firmy SpeedX mogą być objęte jednym lub kilkoma lokalnymi lub zagranicznymi patentami. Szczegółowe informacje o patentach można znaleźć pod adresem www.plexpcr.com/patents.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] i **PlexZyme**[®] to znaki towarowe firmy SpeedX. Pozostałe prawa autorskie i znaki towarowe są własnością danego właściciela.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.