



ResistancePlus® 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® MG	LC480 II z 480	100	REF 20001L-01
ResistancePlus® MG	LC480 II z 480	25	REF 2000125
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	100	REF 2000201
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	25	REF 2000225
ResistancePlus® MG ₍₆₇₅₎	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	100	REF 2000301
ResistancePlus® MG ₍₆₇₅₎	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	25	REF 2000325

Tilbehørsprodukter – Analysesoftware

ResistancePlus® MG (LC480)	REF 99003
ResistancePlus® MG (z480)	REF 99018
ResistancePlus® MG (7500)	REF 99002
ResistancePlus® MG (CFX)	REF 99008
REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)	REF 99023
REFLEX ResistancePlus® MG (z480)	REF 99024
REFLEX ResistancePlus® MG (7500)	REF 99026
REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)	REF 99025



MedEnvoy
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123
2595 AM Haag
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

KUN TIL PROFESSIONEL ANVENDELSE

Ikke beregnet til salg i USA

Indhold

1	Produktbeskrivelse	5
2	Tilsigtet anvendelse	5
3	Oplysninger om patogener	5
4	Kittets indhold	6
5	Forsendelse og opbevaring	7
6	Advarsler og forsigtighedsregler	8
6.1	Generelt	8
6.2	Laboratorium	8
6.3	Prøvehåndtering	8
6.4	Assay	8
6.5	Sikkerhedsforanstaltninger	8
6.6	Assay-plugins: Advarsler/forsigtighedsregler/begrænsninger	8
7	Tilknyttede produkter og forbrugsvarer	9
8	Princippet for teknologien	11
9	Overblik over proceduren	13
10	Detaljeret procedure	14
10.1	Indsamling af prøver, transport og opbevaring	14
10.1.1	Valideret prøveindsamlingsudstyr	14
10.1.2	Indsamling, transport og opbevaring af ren urin	14
10.1.3	Indsamling, transport og opbevaring af tørre podepinde	14
10.1.4	Indsamling, transport og opbevaring af multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat.-nr. 9K12-01)	14
10.1.5	Indsamling, transport og opbevaring af Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.-nr. 301040)	15
10.1.6	Indsamling, transport og opbevaring af Aptima® Multitest Swab Specimen Collection Kit (Hologic, kat.-nr. PRD-03546)	15
10.1.7	Indsamling, transport og opbevaring af DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced podepinde (deltalab, kat.-nr. 304278)	16
10.1.8	Indsamling, transport og opbevaring af Vacumed® Urine uden konserveringsmiddel (FL medical, kat.-nr. 44950)	16
10.1.9	Indsamling, transport og opbevaring af Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™-medie (Copan kat.-nr. 359C)	16
10.1.10	Indsamling, transport og opbevaring af cobas® PCR-medie (Roche, kat.nr. 06466281190)	16
10.1.11	Validerede prøveekstrakter	16
10.2	Prøvebehandling	17
10.3	Intern kontrol (IC)	17
10.3.1	Intern kontrol på MagNA Pure 96	17
10.3.2	Intern kontrol på MICROLAB STARlet IVD	18
10.3.3	Intern kontrol på QIASymphony® SP	18
10.3.4	Intern kontrol på easyMAG®	18
10.4	Forberedelse af realtids-PCR	19
10.4.1	Master Mix-forberedelse	20
10.4.2	Master Mix-stabilitet	20
10.5	Forberedelse af PCR med ekstraherede nukleinsyrer (reflex-arbejdsgang)	20
11	Programmering og analyse	21
12	Fortolkning af resultater	22
13	Begrænsninger	23
14	Kvalitetskontrol	23

15	ResistancePlus® MG Positive Control-instruktioner	24
15.1	Brugsanvisning.....	24
16	Ydeevnekarakteristika.....	25
16.1	Klinisk ydeevne	25
16.1.1	Klinisk studie 1	25
16.1.2	Klinisk studie 2	26
16.1.3	Klinisk studie 3	26
16.1.4	Klinisk studie 4	28
16.1.5	Klinisk studie 5	29
16.1.6	Klinisk studie 6	31
16.1.7	Klinisk studie 7	32
16.2	Analytisk ydeevne	33
16.2.1	Reproducerbarhed og repeterbarhed.....	33
16.2.2	Analytisk følsomhed	36
16.2.3	Analytisk specificitet	36
16.2.4	Potentielt interfererende stoffer.....	37
16.2.5	Krydsreaktivitet over for andre 23S rRNA-mutationer.....	39
17	Kundesupport og teknisk support	39
18	Referencer	40
19	Appendix 1: LightCycler® 480 instrument II.....	41
19.1	Programmering af LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II).....	41
19.2	Colour Compensation (farvekompensation) for LightCycler® 480 Instrument II	45
19.3	Fortolkning af resultater	46
20	Appendix 2: cobas z 480-analyser	47
20.1	Programmering af cobas z 480-analyser	47
20.2	Colour Compensation (farvekompensation) for cobas z 480-analyser	51
20.3	Fortolkning af resultater	52
21	Appendix 3: Applied Biosystems® 7500 Fast.....	53
21.1	Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast.....	53
21.2	Fortolkning af resultater	55
22	Appendix 4: Applied Biosystems 7500 Fast Dx	56
22.1	Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	56
22.2	Fortolkning af resultater	60
23	Appendix 5: Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-Time PCR System.....	61
23.1	Programmering af CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-time PCR System.....	61
23.2	Fortolkning af resultater	63
24	Appendix A: Resultatfortolkning	64
24.1	FastFinder-platform – Minimums IT-krav	64
24.2	Device set up (opsætning af enhed) (ny bruger eller ny enhed)	65
24.2.1	Farvekompensation	65
24.3	Assay-plug-in (ny bruger)	66
24.4	Navngivning af prøver	66
24.5	Tilføjelse af lotnumre for blandinger.....	67

24.6	Analyse	67
24.7	Resultater.....	69
24.8	Referencekurve.....	70
24.9	Oversigt over resultater	71
24.10	Eksport af resultater	71
24.11	Eksempel på grafer for kontrol.....	72
24.11.1	<i>M. M genitalium</i> , 23S rRNA-mutantkontrol (Pa)	72
24.11.2	<i>M. M genitalium</i> , 23S rRNA-vildtypekontrol (Pb)	72
24.11.3	<i>M. genitalium</i> -negativ kontrol (N) (negativ prøve).....	73
24.12	Eksempler	73
24.12.1	Eksempel 1. Høj kopi <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtypeprøve	73
24.12.2	Eksempel 2. Lav kopi <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtypeprøve	74
24.12.3	Eksempel 3. Høj kopi <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutantprøve	74
24.12.4	Eksempel 4. Lav kopi <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutantprøve	74
24.12.5	Eksempel 5. Negativ prøve.....	75
24.12.6	Eksempel 6. Ugyldig prøve	75
24.12.7	Eksempel 7. Prøver der skal afklares – negativt signal	75
24.12.8	Eksempel 8. Prøver der skal afklare – Inkonklusivt signal	77
25	Ordliste	78

1 Produktbeskrivelse

ResistancePlus® MG-kittet påviser samtidigt *M. genitalium* og 4 mutationer på position 2058 og 2059 i 23S rRNA-genet (*E. coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (makrolidbaseret antibiotikum). **ResistancePlus®** MG-kittet er et 1-brønds real-tids PCR-multiplex, der består af 3 udlæsninger. Udlæsning 1 angiver tilstedeværelsen eller fraværet af *M. genitalium* gennem påvisning af MgPa-genet; udlæsning 2 angiver tilstedeværelsen af en A2058G-, A2059G-, A2058T- eller A2058C-mutation i 23S rRNA-genet; og udlæsning 3 er en intern kontrol til overvågning af ekstraktionseffektivitet og qPCR-hæmning. **ResistancePlus®** MG-kittet gør brug af **PlexZyme®** og **PlexPrime®** til at sikre specificitet og bedre multiplexing-kapacitet. Assayet er valideret med prøver, der blev ekstraheret med MagNA Pure 96 System (Roche), MICROLAB STARlet IVD (Hamilton), QIAasymphony® SP (QIAGEN), NUCLISENS® easyMAG® (Biomérieux) og realtids-påvisning på Roche LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II), cobas z 480-analysator (z480), Applied Biosystems® 7500 Fast (7500 Fast), Applied Biosystems® 7500 Fast Dx (7500 Fast Dx) og realtids-PCR-påvisningssystemerne Bio-Rad CFX96™ Dx (CFX96 Dx) og CFX96 Touch™ (CFX96 Touch).

2 Tilsigtet anvendelse

ResistancePlus® MG-kittet er en kvalitativ multiplexet *in vitro* diagnostisk real-tids PCR-test til identifikation af *M. genitalium* og påvisning af 4 mutationer i 23S rRNA-genet (A2058G, A2059G, A2058T og A2058C, *Escherichia coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (makrolidbaseret antibiotikum). Den er beregnet til at hjælpe med at diagnosticere *M. genitalium* og påviser mutationer, der er forbundet med azithromycinresistens i *M. genitalium*, og skal bruges sammen med kliniske og andre laboratorieoplysninger.

ResistancePlus® MG-kittet kan bruges med følgende prøvetyper: urin fra mænd og kvinder samt vaginalpudninger fra symptomatiske og asymptomatiske patienter.

Negative resultater udelukker ikke infektioner med *M. genitalium* og giver ikke bekræftelse af azithromycin-følsomhed, da der kan være andre mekanismer for behandlingssvigt.

ResistancePlus® MG-kittet er beregnet til at blive brugt i et erhvervsmæssigt miljø som hospitaler, reference- eller statslaboratorier. Det er ikke beregnet til selvtestning, hjemmebrug eller point-of-care-tests.

3 Oplysninger om patogener

M. genitalium er en lille bakterie, som findes i menneskets urogenitalsystem. *M. genitalium* er blevet sat i forbindelse med en række seksuelt overførte infektioner (STI'er). Hos mænd er det den næsthypigste årsag til non-gonorrøisk uretrit (NGU) og er også forbundet med prostatitis, epididymitis og balanitis, inflammation af glans penis og forhud¹. Hos kvinder er det forbundet med cervicitis, underlivsbetændelse (PID), herunder endometritis (betændelse i livmoderslimhinden) og salpingitis (betændelse i æggelederne)^{1,2,3}.

Azithromycin er almindeligt anvendt til behandling af *M. genitalium* og til syndrombehandling af seksuelt overførte infektioner som NGU og cervicitis. Azithromycin tilhører makrolidklassen af antibiotika og virker ved at binde sig til 23S rRNA for at hæmme proteinsyntesen. Punktmutationer på 23S rRNA-genet hos *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C og A2059C (*E. coli*-nummerering) er blevet forbundet med behandlingssvigt og/eller *in vitro*-resistens over for Azithromycin^{4,5}. De mest almindelige mutationer er A2058G og A2059G, der bidrager med 89% af makrolidresistensmutationerne ifølge et nyligt studie⁶.

4 Kittets indhold

Tabel 1. Indhold af ResistancePlus® MG.sæt

Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Kat. nr. 20001L-01 (100 reaktioner)	Kat. nr. 2000125 (25 reaktioner)
Blå	Plex Mastermix (Plex -masterblanding), 2x	Masterblanding, der indeholder nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, MgCl ₂ , DNA-polymerase og buffer	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brun	MG+23S Mix (MG+23S-blanding), 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Hvid	Control Mix 1 (Kontrolblanding 1), 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay for LC480 II og z 480	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rød	Internal Control cells (Interne kontrolceller) [#]	Interne kontrolceller indeholdende DNA-skabelon til intern kontrol til at monitorere ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nuclease Free Water (Nukleasefrit vand)	Vand af PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

[#] Skabelonrør skal opbevares adskilt fra oligoblandinger, dvs. i rummet til håndtering af skabeloner eller nukleinsyre

[^] Oligonukleotider er PCR-primerpar (inklusive **PlexPrime**®-primers), **PlexZyme**®-enzymers og fluorescensprober

Tabel 2. Indhold af kittet ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎

Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Kat.-nr. 2000201 (100 reaktioner)	Kat.-nr. 2000225 (25 reaktioner)
Blå	Plex Mastermix, 2x	Mastermix, der indeholder de nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, MgCl ₂ , DNA-polymerase og buffer.	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brun	MG+23S Mix, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Hvid	Kontrolmix 2, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay af 7500 Fast og 7500 Fast Dx	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rød	Interne kontrolceller [#]	Interne kontrolceller indeholdende intern kontrol-DNA-skabelon til overvågning af ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasefrit vand	Vand, PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

[#] Opbevar skabelonrør separat fra oligoblandinger, dvs. skabelon- eller nukleinsyrehåndteringsrum

[^] Oligonukleotider er PCR-primerpar (herunder **PlexPrime**® primers), **PlexZyme**®-enzymers og fluorescensprober.

Tabel 3. Indhold af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎

Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Kat.-nr. 2000301 (100 reaktioner)	Kat.-nr. 2000325 (25 reaktioner)
Blå	Plex Mastermix, 2x	Mastermix, der indeholder de nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, MgCl ₂ , DNA-polymerase og buffer.	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brun	MG+23S Mix, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Hvid	Kontrolmix 3, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay på CFX96 Dx og CFX96 Touch	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rød	Interne kontrolceller [#]	Interne kontrolceller indeholdende intern kontrol-DNA-skabelon til overvågning af ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasefrit vand	Vand, PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

[#]Opbevar skabelonrør separat fra oligoblandinger, dvs. skabelon- eller nukleinsyrehåndteringsrum

[^]Oligonukleotider er PCR-primerpar (herunder **PlexPrime**[®] primere), **PlexZyme**[®] enzymer og fluorescensprober.

5 Forsendelse og opbevaring

- Komponenterne i **ResistancePlus**[®] MG-kittet forsendes på tørre eller isgelpakker. Alle komponenter skal opbevares ved -25 °C til -15 °C efter modtagelsen. Det anbefales at begrænse fryse-/optøningscyklusser til 15.
- Når kittet opbevares under de anbefalede forhold og håndteres korrekt, bevares aktiviteten indtil den udløbsdato, der er angivet på etiketten. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Enhver alvorlig hændelse skal indberettes til SpeedX via tech@speedx.com.au

6 Advarsler og forsigtighedsregler

6.1 Generelt

- Kun til *in vitro*-diagnostisk brug.
- Læs omhyggeligt disse instruktioner inden brug. Følg nøje de beskrevne procedurer for at sikre, at testresultaterne er pålidelige. Enhver afvigelse fra disse procedurer kan påvirke testresultaterne.
- Brugere skal være tilstrækkeligt oplært i brugen af **ResistancePlus**[®] MG-assayet.
- Enhver alvorlig hændelse skal indberettes til producenten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

6.2 Laboratorium

- Det anbefales at udføre prøveforberedelse/ekstraktion, mastermix-forberedelse, prøvetilføjelse og termocykling i rumligt adskilte områder. Som et minimum bør PCR-instrumentet ideelt set være i et rum, der er adskilt fra de områder, hvor reaktionerne forberedes.
- Det anbefales at følge de rutinemæssige forholdsregler i laboratoriet. Brug passende personlige værnemidler som handsker, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel, når du håndterer reagenser.
- Der kan være patogene organismer til stede i kliniske prøver. Du skal behandle alle biologiske prøver som potentielt smittefarlige og følge din institutions sikkerhedsprocedurer for håndtering af kemikalier og biologiske prøver.
- Følg din institutions procedurer for bortskaffelse af farligt affald, så prøver, reagenser og andre potentielt forurenede materialer bortskaffes på korrekt vis.

6.3 Prøvehåndtering

- Prøverne skal indsamles, transporteres og opbevares ved hjælp af standard laboratorietechnikker eller i henhold til instruktionerne i indsamlingskittet.

6.4 Assay

- Grundlæggende forholdsregler til forebyggelse af kontaminering af PCR-reaktioner omfatter brug af sterile filterpipettespidser, brug af en ny pipettespids for hver pipettering og adskillelse af arbejds gange.
- PCR-tests er tilbøjelige til at blive kontamineret af forudgående PCR-produkter. Åbn aldrig reaktionsbeholdere, når en PCR er afsluttet.
- Assay-reagenser indeholder IDTE-buffer, som kan forårsage alvorlig øjenirritation. Det anbefales, at anvendelsen sker i et område med god udluftning, og at der bruges passende personlige værnemidler som handsker, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel, når der håndteres reagenser.

6.5 Sikkerhedsforanstaltninger

- Sikkerhedsdatablade (SDS) findes på Roche Dialog (eLabDoc). Der rettes henvendelse til tech@speedx.com.au for yderligere oplysninger.

6.6 Assay-plugins: Advarsler/forsigtighedsregler/begrænsninger

- SpeedX-softwaren kan kun kontrollere analysen af rådata, der genereres fra testkittet, når den bruges sammen med det respektive PCR-instrument. Den kontrollerer ikke forberedelsen af prøver, reaktioner, programmering af udstyr eller behandlingsgennemførelse.
- Brugere skal være tilstrækkeligt oplært i brugen af **ResistancePlus**[®] MG-analysesoftwaren, og adgangen skal være begrænset til hver enkelt tildelt bruger.
- Det anbefales at implementere brugergodkendelsesadgang og cybersikkerhedskontroller såsom antivirussoftware eller brug af en firewall i det IT-system og den infrastruktur, der bruger softwaren.
- Hvis du opdager en cybersikkerhedshændelse som f.eks. uautoriseret adgang og ransomware-angreb, bedes du kontakte tech@speedx.com.au for yderligere support.

7 Tilknyttede produkter og forbrugsvarer

Positivt kontrolmateriale

- **ResistancePlus®** MG-positivt controlsæt (SpeedX, kat.nr. 95001)

Generelle forbrugsvarer til laboratoriet

- Handsker og rene laboratoriekitter
- Vortexmixer
- Bordcentrifuge til 0,5 mL- og 1,5 mL-rør
- Mikropipetter
- Sterile aerosol-resistente pipettespidser
- 0,5 mL-rør og 1,5 mL-rør (PCR-kvalitet)
- 2,0 mL-rør (til fortynding af interne kontrolceller)

Til MagNA Pure 96 Instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Rør til intern kontrol) (Roche, kat. nr. 00374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Roche, kat. nr. 06543588001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume Kit (Roche, kat. nr. 06374891001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (ekstern) (Roche, kat. nr. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Roche, kat. nr. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 µL (Roche, kat. nr. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (Roche, kat. nr. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Roche, kat. nr. 06241638001)

Til MICROLAB STARlet Instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit (384T) kit (Seegene, kat. nr. 744300.4.UC384)
- 2,0 mL rør

Til QIAAsymphony® SP-instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- Prøveklargøringskassetter, 8 brønde (Qiagen, kat. nr. 997002)
- Overtræk til 8 stænger (Qiagen, kat. nr. 997004)
- Filterspidser, 200 µL og 1500 µL (Qiagen, kat. nr. 990332 og 997024)
- 2 mL-rør (Sarstedt, kat. nr. 72.639 eller 72.694)
- 14 mL polystyrenrør (Corning, kat. nr. 352051)
- DSP Virus/Pathogen Mini Kit (QIAGEN, kat. nr. 937036)

For NucliSENS® easyMAG® instrument

- 1x fosfatbufferet saltvand (PBS)
- NucliSENS® easyMAG® Lysis Buffer 4X1L (Biomerieux, kat. nr. 280134)
- NucliSENS® easyMAG® Lysis Buffer 2ML 48T (Biomerieux, kat. nr. 200292)
- NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica (Biomerieux, kat. nr. 280133)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 1 (Biomerieux, kat. nr. 280130)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 2 (Biomerieux, kat. nr. 280131)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 3 (Biomerieux, kat. nr. 280132)
- NucliSENS® easyMAG® Disposables (Biomerieux, kat. nr. 280135)

Til LightCycler® 480 Instrument II og cobas z 480 analyser

- **PlexPCR®** Colour Compensation (CC)-sæt (SpeedX, kat. nr. 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (Roche, kat. nr. 04729692001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (Roche, kat. nr. 04729757001)

For Applied Biosystems® 7500 Fast og 7500 Fast Dx

- MicroAmp® Optical 96-well reaction plates (ThermoFisher Scientific, kat. nr. 4316813)
- MicroAmp® Optical Adhesive Film (ThermoFisher Scientific, kat. nr. 4360954)

For Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-time PCR Detection System

- Multiplate™ 96-well PCR plates (Bio-Rad, kat. nr. MLP9601)
- Microseal® 'B' PCR Plate Sealing Film, adhesive, optical (Bio-Rad, kat. nr. MSB1001)

Prøvetagningsenheder

- Multi-Collect prøvetagningssæt (Abbott, Cat no 9K12-01)
- Aptima® urinprøvetagningssæt (Hologic, kat.nr. 301040)
- Aptima® unisex pødeprøvetagningssæt (Hologic, kat.nr. 301041)
- DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocked swab (deltalab, kat.nr. 304278)
- Vacumed® urin uden konserveringsmiddel (FL medical, kat.nr. 44950)
- Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™ medie (Copan kat.nr. 359C)
- cobas® PCR-medie (Roche, kat.nr. 06466281190)

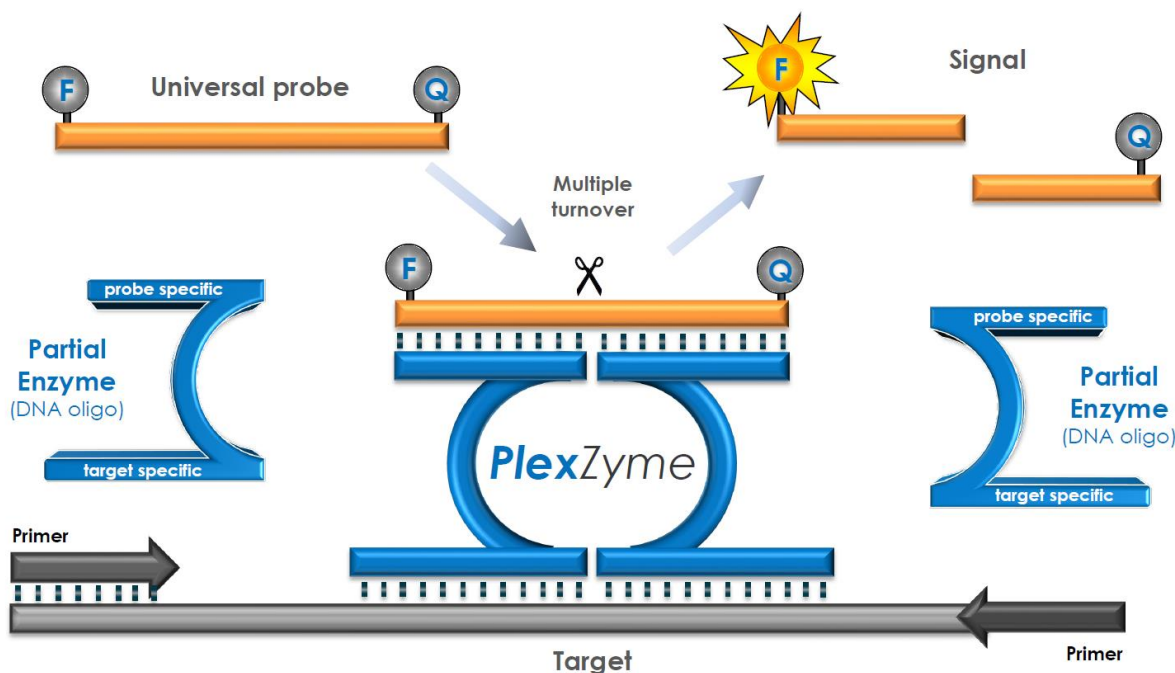
8 Princippet for teknologien

Realtids-PCR (qPCR) kan anvendes til amplifikation og påvisning af specifikke målnukleidsyrer fra patogener. **PlexPCR**[®] er en qPCR-teknologi, der anvender **PlexZyme**[®]-enzymet til at påvise og rapportere det amplificerede produkt ved at generere et fluorescenssignal (**Figur 1**). **PlexPrime**[®]-primere til specifik amplifikation af mutantsekvenser, som er forbundet med mutantspecifik **PlexZyme**[®]-påvisning (**Figur 2**).

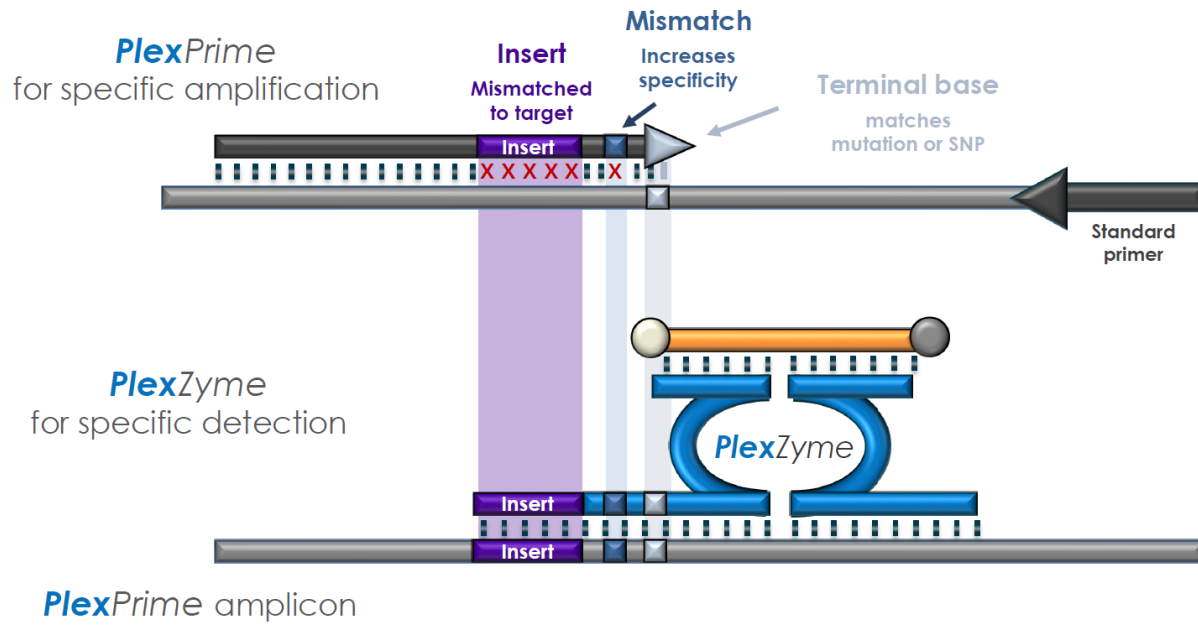
PlexZyme[®]-enzymet er katalytiske DNA-komplekser sammensat af to DNA-oligoer, der omtales som "Partielle enzymer". Hvert partielt enzym har en mål-specifik region, en katalytisk kerne og en region til binding af en universalprobe. Når målproduktet er til stede, bindes de to partielle enzymer ved siden af hinanden og danner det aktive **PlexZyme**[®], som har katalytisk aktivitet til at spalte en mærket probe. Spaltning adskiller fluorofor- og dæmpningsfarvestofferne, så der fremkommer et fluorescenssignal, som kan overvåges i realtid. **PlexZyme**[®]-enzymet har yderligere specificitet i forhold til alternative påvisningsteknologier, da der kræves binding af to partielle enzymer for at foretage påvisning. **PlexZyme**[®]-enzymet er desuden et enzym med multiple reaktioner, og der kan spalttes flere prober under hver PCR-cyklus, hvilket resulterer i et stærkt og følsomt signal. **PlexZyme**[®]-assays er yderst følsomme samt specifikke og er meget velegnet til den multiplexede påvisning af patogener.

PlexPrime[®]-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 mutantbasen. En indsættelsessekvens ligger mellem 5'- og 3'-regionerne og fungerer som en forbindelsesstruktur, der indsætter en mål-uafhængig sekvens i den resulterende amplicon og øger det selektive tryk fra 3'-regionen. I multiplex er hver **PlexPrime**[®]-primer designet til at være rettet mod en specifik mutantbase og inkorporerer en unik indsættelsessekvens, hvilket frembringer særlige mutantampliconsekvenser. I modsætning til andre probe-baserede påvisningsteknologier kan **PlexZyme**[®]-enzymet overlappes med **PlexPrime**[®]-primeren og rettes mod den specifikke mutantamplicon, der indeholder mutantbasen og den inkorporerede indsættelsessekvens. Den unikke kombination af **PlexPrime**[®]-primere forbundet med **PlexZyme**[®]-enzymet gør det muligt at foretage specifik amplifikation af mutantsekvenser og følsom og specifik påvisning i multiplex.

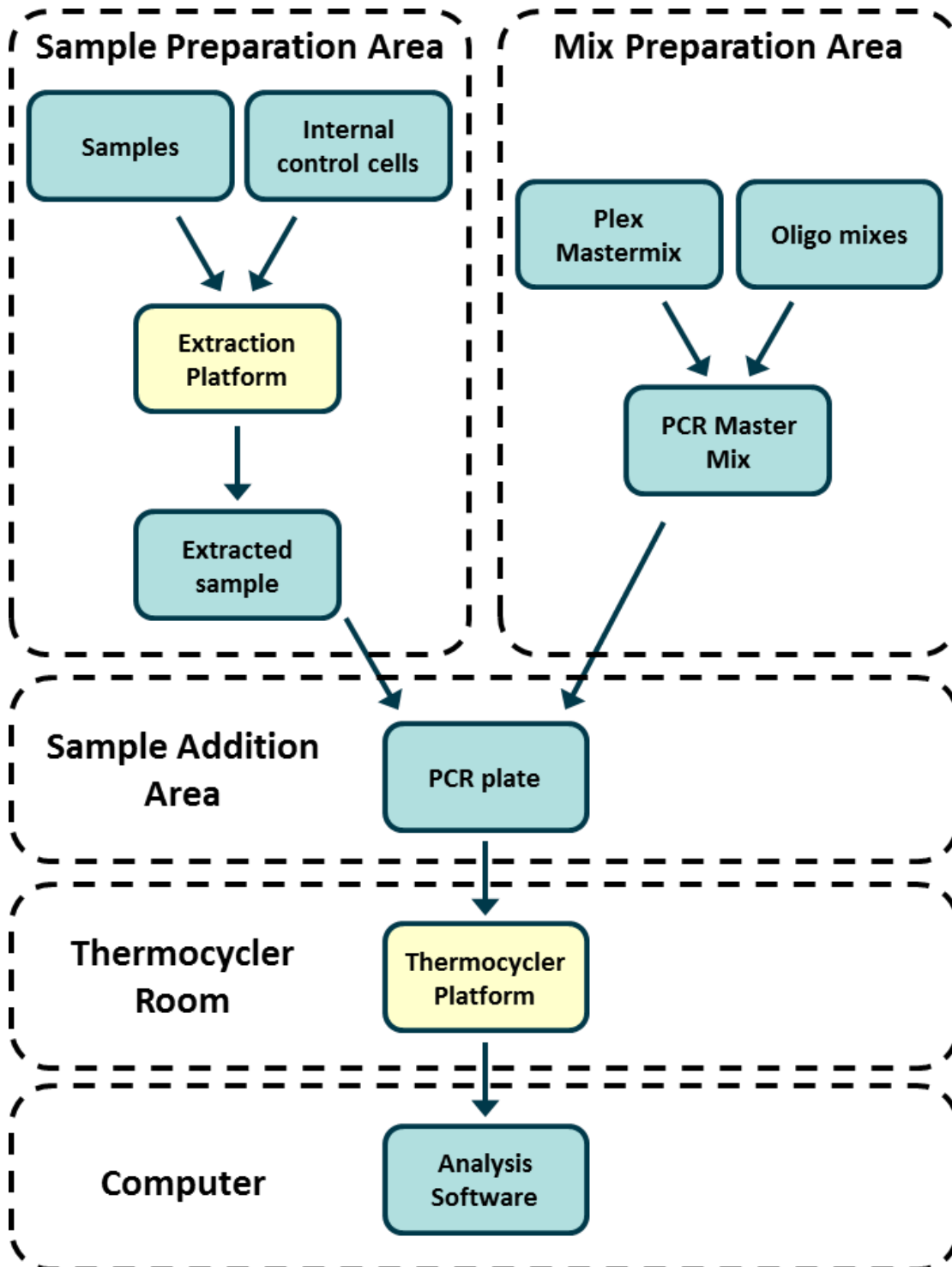
Figur 1. Skematisk fremstilling af **PlexZyme**[®]-påvisning og universel signalering



Figur 2. Skematisk fremstilling af *PlexPrime*[®] primer kombineret med *PlexZyme*[®] påvisning. *PlexPrime*[®] primeren amplificerer specifikt mutantsekvensen, og *PlexZyme*[®] enzymerne påviser specifikt ampliconet.



9 Overblik over proceduren



10 Detaljeret procedure

Bemærk: De medfølgende reagenser er angivet i kursiv, og farven på rørets hætte er angivet i parentes.

10.1 Indsamling af prøver, transport og opbevaring

Urin fra mænd, urin fra kvinder og vaginale podninger fra symptomatiske eller asymptomatiske patienter skal indsamles, transporteres og opbevares ved hjælp af standard laboratorietechnikker eller i henhold til instruktionerne i indsamlingsskittet.

10.1.1 Valideret prøveindsamlingsudstyr

Utilstrækkelig eller u hensigtsmæssig indsamling, opbevaring og transport af prøver vil sandsynligvis give falske testresultater. Omhyggelig træning i prøvetagning anbefales på det kraftigste for at sikre prøvekvalitet og stabilitet.

Prøveindsamlingsudstyr, der er blevet valideret med **ResistancePlus**® MG-kittet, er opført nedenfor med en kort vejledning angående instruktionerne fra producenten af udstyret om indsamling, håndtering og transport. Disse instruktioner har ikke til hensigt at erstatte eller tilsidesætte eventuelle instruktioner fra producenten. Læs altid instruktionerne fra producenten af prøveindsamlingsudstyret angående korrekte indsamlingsmetoder.

Før en indsamlingsmetode anvendes, skal det sikres, at oplært personale har korrekt forståelse af udstyret og metoden. Gennemgå som minimum testbeskrivelsen for følgende: angivelse af prøvetype, tilstrækkelig mængde, procedure(r), nødvendige indsamlingsmaterialer, patientforberedelse og korrekte håndterings- og opbevaringsinstruktioner.

10.1.2 Indsamling, transport og opbevaring af ren urin

1. Det anbefales at bruge et klart, sterilt urinopsamlingsbæger uden konserveringsmidler eller transportmedier til patientens egenopsamling.
2. Patienten skal opsamle 20-50 mL urin fra den første urinstråle og lukke eller skrue låget tæt på.
3. Det anbefales at lægge urinprøverne i dobbeltposer med absorberende puder til transport. Opbevaringstemperaturen for urinprøver afhænger af den planlagte behandlingstid.

10.1.3 Indsamling, transport og opbevaring af tørre pødepinde

Tørre pødepinde kan bruges til vaginale pødepindeprøver indsamlet af klinikere og patienter. Da der findes mange forskellige, henvises til producentens indlægsseddel angående passende indsamlingsmetoder.

10.1.4 Indsamling, transport og opbevaring af multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat.-nr. 9K12-01)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af urin- og vaginalpodninger med multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat. nr. 9K12-01).

10.1.4.1 Indsamling, transport og opbevaring af urinprøver

1. Patienten bør ikke have ladet vandet i mindst en time før prøveindsamlingen.
2. Kassér pødepinden til prøveindsamling. Den er ikke nødvendig til indsamling af urinprøver.
3. Patienten skal bruge et urinopsamlingsbæger og opsamle de første 20 til 30 mL af den udtømte urin (den første del af urinstrålen).
4. Skru hættten på transportrøret af, og pas på ikke at spilde transportbufferen indeni.
5. Håndter hættten og røret forsigtigt for at undgå kontaminering.
6. Brug plastoverførselspipetten til at overføre urin fra opsamlingsbægeret til transportrøret, indtil væskniveauet i røret er inden for det klare påfyldningsvindue på transportrørets etiket. Ellers skal der opsamles en ny prøve. Undgå overfyldning. Det kan være nødvendigt med lidt mere end ét fuldt tryk på overførselspipettens bold for at overføre den nødvendige mængde urinprøve.
7. Sæt forsigtigt hættten på transportrøret igen. Kontrollér, at hættten slutter tæt.
8. Mærk transportrøret med prøveidentifikationsoplysninger, herunder indsamlingsdato, ved hjælp af en selvklæbende etiket. Sørg for, at påfyldningsvinduet på transportrøret ikke tildækkes.
9. Efter opsamling transporteres og opbevares transportrøret ved 2 °C til 30 °C i op til 14 dage. Hvis der er behov for længere opbevaring, opbevares det ved -10 °C eller koldere i op til 90 dage.

10.1.4.2 Indsamling, transport og opbevaring af vaginalpodningsprøver

1. Kassér engangsoverførselspipetten; den er ikke nødvendig til indsamling af vaginalpodningsprøver.
2. Tag den sterile podedepind ud af emballagen, og sørg for ikke at røre ved podedepindens spids eller lægge den ned på en overflade.
3. Før podedepindens hvide spids ca. 5 cm ind i skedeåbningen.
4. Drej podedepinden forsigtig i 15 til 30 sekunder mod siderne af skeden.
5. Træk podedepinden forsigtigt ud.
6. Håndter hættten og røret forsigtigt for at undgå kontaminering.
7. Skru hættten af transportrøret, og placer straks podedepinden i transportrøret, så den hvide spids vender nedad.
8. Bræk forsigtigt podedepinden af ved delekærven på skaftet; vær forsigtig, så det undgås, at indholdet sprøjter ud.
9. Sæt hættten på transportrøret igen. Kontrollér, at hættten slutter tæt.
10. Mærk transportrøret med prøveidentifikationsoplysninger, herunder indsamlingsdato, ved hjælp af en selvklæbende etiket.
11. Efter opsamling transporteres og opbevares transportrøret ved 2 °C til 30 °C i op til 14 dage. Hvis der er behov for længere opbevaring, opbevares det ved -10 °C eller koldere i op til 90 dage.

10.1.5 Indsamling, transport og opbevaring af Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.-nr. 301040)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af urinprøver fra mænd og kvinder med Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.-nr. 301040). Bemærk, at den kliniske ydeevne af denne opsamlingsenhed kun er blevet demonstreret med prøver, der er ekstraheret med MagNA Pure 96 Instrument og MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Large Volume Kit. Se afsnit 10.2 og afsnit 16.1.5 for yderligere oplysninger.

1. Det anbefales at bruge et klart, sterilt urinopsamlingsbæger uden konserveringsmidler eller transportmedier til patientens egenopsamling.
2. Patienter anvises til at afgive 20-30 mL af den første urinstråle i det udleverede urinopsamlingsbæger. Kvindelige patienter bør ikke rengøre området omkring skamlæberne, før prøven afgives.
3. Brug den pipette og det transportrør, der følger med Aptima® Urine Collection Kit, og overfør 2 mL urin med pipetten til prøvetransportrøret, når låget er taget af. Urinmængden er korrekt, når den er inden for de sorte fyldningslinjer på urintransportrøret. Urinen skal overføres fra det klare sterile urinbæger til Aptima urinprøverrøret inden for 24 timer efter indsamlingen.
4. Sæt låget godt fast på urintransportrøret igen.
5. Efter opsamling skal behandlede urinprøver i Aptima-urinprøvetransportrør transporteres og opbevares ved 2 °C til 30 °C og derefter opbevares ved 2 °C til 30 °C, indtil de testes. Læs producentens instruktioner angående oplysninger om opbevaringsoptimering.

10.1.6 Indsamling, transport og opbevaring af Aptima® Multitest Swab Specimen Collection Kit (Hologic, kat.-nr. PRD-03546)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af urin og vaginalpodninger med Aptima® Multitest Swab Specimen Collection Kit (Hologic, kat.-nr. PRD-03546). Bemærk, at den kliniske ydeevne af denne opsamlingsenhed kun er blevet demonstreret med prøver, der er ekstraheret med MagNA Pure 96 Instrument og MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Large Volume Kit. Se afsnit 10.2 og afsnit 16.1.5 for yderligere oplysninger.

10.1.6.1 Indsamling, transport og opbevaring af vaginalpodningsprøver

1. Åbn emballagen med podedepinden delvist. Tag podedepinden ud. Rør ikke ved den bløde spids, og læg ikke podedepinden på en overflade. Hvis den bløde spids berøres, eller hvis podedepinden lægges på en overflade eller tabes, skal der anvendes et nyt new Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.
2. Hold fast på podedepinden ved at placere tommel- og pegefinger midt på podedepindens skaft, så delekærven er dækket. Hold ikke fast på den del af podedepindens skaft, der er længst væk fra delekærven.
3. Indfør forsigtigt podedepinden i skeden ca. 5 cm forbi skedeindgangen, og drej forsigtigt podedepinden med uret i 10 til 30 sekunder. Sørg for, at podedepinden berører skedens vægge, så fugten absorberes af podedepinden, og træk derefter podedepinden ud uden at berøre huden.
4. Mens podedepinden beholdes i samme hånd, skrues hættten af røret. Spild ikke rørets indhold. Hvis rørets indhold spildes, skal du anvende et nyt Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.
5. Put med det samme podedepinden i transportrøret med delekærven øverst i røret.
6. Bræk forsigtigt podedepindens skaft ved delekærven, ved at presse skaftet mod rørets side.
7. Kassér omgående den øverste del af podedepindens skaft.
8. Skru hættten godt fast på røret. Efter opsamling transporteres og opbevares podedepinden i transportrøret til podedepinden ved 2 °C til 30 °C, indtil den testes.

10.1.7 Indsamling, transport og opbevaring af DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced podepinde (deltalab, kat.-nr. 304278)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af vaginalpodninger med DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced podepinde (deltalab, kat.-nr. 304278).

1. Åbn emballagen med begge hænder ved at trække i hver sin side.
2. Bevæg røret forsigtigt.
3. Åbn flowpakningen og indsaml prøven med podepinden.
4. Åbn røret med den anden hånd, og placer podepinden i røret, så den er dækket af mediet.
5. Tilpas podepindens delekærv til rørets top ved at presse podepinden let nedad. Knæk podepinden ved delekærven ved at trykke den mod rørets indvendige side.
6. Kassér det tiloversblevne skaft, skru hættens godt fast og ryst prøven, så den elueres ind i mediet.
7. Efter opsamling transporteres og opbevares podepinden i transportrøret til podepinden ved 4 °C til 25 °C, indtil den testes.

10.1.8 Indsamling, transport og opbevaring af Vacumed® Urine uden konserveringsmiddel (FL medical, kat.-nr. 44950)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af urinprøver fra mænd og kvinder med Vacumed® Urine i indsamlingsrør uden konserveringsmiddel (FL medical, Kat.-nr. 44950).

1. Tag hættens af urinindsamlingsbeholderen og læg hættens omvendt på en ren overflade.
2. Berør ikke beholderens og hættens indvendige overflader.
3. Indsaml urinprøven. Fyld beholderen op til 3/4 af dens kapacitet.
4. Sæt hættens på og drej den fast mod uret, så den forsegles.
5. Ryst forsigtigt prøven.
6. Løft beskyttelsesmærkaten delvist (fjern den ikke helt).
7. Indsæt prøverøret og påfør let tryk. Hold røret forbundet, indtil det er fyldt (flowophør).
8. Fjern prøverøret og sæt beskyttelsesmærkaten helt på igen.
9. Opbevar prøverøret ved 4 °C til 25 °C, indtil det testes.

10.1.9 Indsamling, transport og opbevaring af Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™-medie (Copan kat.-nr. 359C)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af vaginalpodninger fra kvinder med Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™-medie (Copan kat.-nr. 359C).

1. Åbn UTM-kittets emballage og tag testrøret med medie og den indvendige pose med den sterile podepind ud.
2. Tag den sterile podepind ud af posen og indsaml den kliniske prøve. For at undgå risikoen for kontaminering skal det sikres at podepindens spids kun kommer i kontakt med stedet for prøvetagningen.
3. Når prøven er indsamlet, skrues hættens af testrøret. Vær forsigtig, så der ikke spildes noget af mediet.
4. Indfør podepinden i testrøret, indtil delekærven er på niveau med testrørets åbning.
5. Bøj og knæk podepinden ved delekærven, mens testrøret holdes væk fra ansigtet. Kassér den overskydende del.
6. Skru hættens på røret igen og forseg den hermetisk.
7. Prøven indeholdt i UTM skal behandles inden for 48 timer fra indsamlingen, og testrøret skal opbevares ved 2-25 °C.
8. Før behandling vortexes i 20 sekunder for at fremme prøvefrigivelsen fra podepinden og homogenisering af mediet.

10.1.10 Indsamling, transport og opbevaring af cobas® PCR-medie (Roche, kat.nr. 06466281190)

Nedenfor opsummeres vejledningen til indsamling og transport af urinprøver fra mænd og kvinder med cobas® PCR-medie (Roche, kat.-nr. 06466281190).

1. Bland og overfør urinen til cobas® PCR-mediets rør med en engangspipette (medfølger ikke). Bemærk: urin kan opbevares ved 2°C til 30°C i op til 24 timer før overførslen til cobas® PCR-mediets rør.
2. Den korrekte mængde urin er tilføjet, når væskenniveauet er mellem de to sorte linjer på rørets etiket.
3. Sæt hættens godt fast på cobas® PCR-mediets rør igen.
4. Vend røret på hovedet 5 gange for at blande indholdet. Prøven er nu klar til transport og testning.
5. cobas® PCR-mediets rør med den stabiliserede urinprøve transporteres og opbevares ved 2 °C til 30 °C.

10.1.11 Validerede prøveekstrakter

Prøveekstrakter valideret til brug omfatter:

- cobas® x480 (fra CT/NG-protokol)

Se **afsnit 10.5** angående oplysninger om forberedelse af PCR med ekstraherede nukleinsyrer (reflex-arbejdsgang).

10.2 Prøvebehandling

ResistancePlus® MG-kittet er blevet valideret med følgende ekstraktionsinstrumenter i **Tabel 4**.

Se **afsnit 10.3** angående instruktioner i brug af intern kontrol.

Tabel 4. Validerede ekstraktionsprotokoller				
Instrument	Ekstraktionskit	Prøvemængde	Protokol	Elueringsmængde
MagNA Pure 96 ^a	MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Small Volume Kit	200 µL	Pathogen Universal 200	50 µL eller 100 µL
MagNA Pure 96 ^a	MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Large Volume Kit	1000 µL [^]	Viral NA Universal LV 1000 3.1	100 µL
MICROLAB STARlet IVD ^b	STARMag 96 x 4 Universal Cartridge kit (Seegene)	200 µL	10 µl fortyndede interne kontrolceller tilføjet pr. prøve Vælg 'Pause before PCR setup' for kun at udføre prøveekstraktion	100 µL
QIAasymphony SP ^c	DSP Virus/Pathogen Mini Kit	200 µL	Complex200_V6_DSP	110 µL
NucliSENS® easyMAG ^d	NucliSENS® easyMAG® reagenser	200 µL podedipind	Generic 2.01; "On-board"-arbejdsgang	100 µL
		1000 µL urin	Generic 2.01; "Off-board"-arbejdsgang	100 µL

^a Se i 10.3.1, hvordan intern kontrol anvendes med MagNA Pure 96

^b Se i 10.3.2, hvordan intern kontrol anvendes med STARlet IVD

^c Se i 10.3.3, hvordan intern kontrol anvendes med QIAasymphony SP

^d Se i 10.3.4, hvordan intern kontrol anvendes med NucliSENS® easyMAG®

[^] Den kliniske ydeevne for prøver indsamlet med Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.-nr. 301040), Aptima® Unisex Swab Specimen Collection Kit (Hologic, kat.-nr. 301041) og Aptima® Multitest Swab Specimen Collection Kit (Hologic, kat.-nr. PRD-03546) er kun blevet vist med denne ekstraktionsprotokol. Se afsnit 16.1.5 for yderligere oplysninger.

10.3 Intern kontrol (IC)

Kittet indeholder en intern kontrol til at overvåge ekstraktionseffektiviteten og qPCR-hæmning. Det interne kontrolassay leveres som et **Kontrol-Mix(HVID)** og **interne kontrolceller (RØD)**. **Kontrol-Mix** tilføjes til PCR Master Mix (). De **interne kontrolceller** indeholder den interne kontrol-DNA-skabelon. De **interne kontrolceller** fortyndes og behandles som angivet nedenfor for specifikke ekstraktionsinstrumenter. Den interne kontrol-DNA-skabelon ekstraheres derfor sammen med prøven og amplificeres samtidig i reaktionen.

10.3.1 Intern kontrol på MagNA Pure 96

Fortynd de **interne kontrolceller (RØD)** 1 i 200 i 1x PBS (**Tabel 5**). Juster mængden som påkrævet ved brug af prøvefortyndingsfaktoren (se ekstraktionskittets manual angående minimumsmængden, der kræves for antallet af prøver). De fortyndede interne kontrolceller fyldes i det interne kontrolrør på MagNA Pure 96:

- Til MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Small Volume Kit (Pathogen Universal 200-protokol) tilføjes der automatisk 20 µL til hver prøve (standard).
- For MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Large Volume Kit (Viral NA Universal LV 1000 3.1 protokol) deles prøvemængden og behandles i to separate brønde i MagNA Pure 96-behandlingskassetten. Der tilføjes automatisk i alt 40 µL fortyndede interne kontrolceller til hver prøve (20 µL pr. brønd i behandlingskassetten).

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

Tabel 5. Fortynding af interne kontrolceller til MagNA Pure 96 (1 i 200 fortynding)			
Interne kontrolceller (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet mængde (µL)	Mængde tilføjet til prøve (µL)
18	3582	3600	20

10.3.2 Intern kontrol på MICROLAB STARlet IVD

Fortynd de *interne kontrolceller* (**RØD**) 1 i 20 i 1x PBS (**Tabel 6**). Juster mængden som påkrævet ved brug af prøvfortyndingsfaktoren (se ekstraktionskittets manual angående minimumsmængden, der kræves for antallet af prøver). De fortyndede interne kontrolceller fyldes i et 2 mL-rør og placeres på reagensstativet, og der tilsættes automatisk 10 µL til hver prøve.

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

Tabel 6. Fortynding af interne kontrolceller til MICROLAB STARlet IVD (1 i 20 fortynding)			
Interne kontrolceller (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet mængde (µL)	Mængde tilføjet til prøve (µL)
50	950	1000	10

10.3.3 Intern kontrol på QIASymphony® SP

Fortynd de *interne kontrolceller* (**RØD**) 1 i 50 i 1x PBS (**Tabel 7**). Tilpas mængden som påkrævet ved at anvende samme fortyndelsesfaktor i henhold til det krævede antal prøver.

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

Tabel 7. Fortynding af interne kontrolceller til QIASymphony® SP (1 i 50 fortynding)		
Interne kontrolceller (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet mængde (µL)
40	1950	2000

De fortyndede interne kontrolceller bruges derefter til at forberede en intern kontrol-bærer RNA-buffer-AVE-blanding, som vist **Tabel 8** nedenfor. Juster mængden som påkrævet ved brug af samme prøvfortyndingsfaktor til det påkrævede antal prøver (se ekstraktionskittets manual angående minimumsmængden til det krævede antal prøver). Den interne kontrol-bærer RNA-buffer-AVE-blanding bør forberedes, umiddelbart før kørslen startes.

Den interne kontrol-bærer RNA-buffer-AVE-blanding fyldes i et rør, som placeres i en rør-bærer og sættes i spor A i prøveskuffen på QIASymphony® SP. Til hver prøve tilføjes 120 µL af blandingen (standard).

Tabel 8. Forberedelse af intern kontrol-bærer RNA-buffer-AVE-blanding til QIASymphony SP					
Rørtype	Antal prøver	Mængde af fortyndede IC-celler (µL)	Stam-bærer-RNA (µL)	Buffer AVE (µL)	Samlet mængde (µL)
-	1	10	3	107	120
2 mL	1 + udtømt urinmængde [^]	40	12	428	480
14 mL	1 + udtømt urinmængde [#]	60	18	642	720

[^] 2 mL-rør kræver 3 yderligere prøver (360 µL) for at tage højde for tomrumsmængden

[#] 14 mL-rør kræver 5 yderligere prøver (600 µL) for at tage højde for tomrumsmængden

10.3.4 Intern kontrol på easyMAG®

Fortynd de *interne kontrolceller* (**RØD**) 1 i 200 i 1x PBS (**Tabel 9**). Juster mængden som nødvendigt med samme fortyndingsfaktor. Forbered en 'for-blanding' af fortyndede interne kontrolceller og NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica for det krævede antal prøver (**Tabel 10**). 100 µL for-blandet silica som krævet pr. prøve.

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

Tabel 9. Fortynding af interne kontrolceller til NucliSENS® easyMAG® (1 i 200 fortynding)

Interne kontrolceller (RØD) (µL)	1x PBS (µL)	Samlet mængde (µL)	Fortyndingsfaktor
10	1990	2000	200

Tabel 10. For-blanding af NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica og fortyndede interne kontrolceller

Antal prøver	Mængde af fortyndede IC-celler (µL)	Mængde magnetisk silica (µL)	Mængde tilføjet til prøve (µL)
1	50	50	100

Der anvendes "On-board"- eller "off-board"-arbejdsgang alt efter prøvetypen. "Off-board"-arbejdsgang anvendes til optimal gendannelse af nukleinsyre fra urinprøver. Se brugermanualen til NucliSENS® easyMAG® angående yderligere oplysninger.

"On-board"-arbejdsgang (podepinde)

Overfør prøverne til prøvebeholderen.

Sæt prøvebeholdere på easyMAG.

Programmér følgende ekstraktionsanmodninger:

Protokol: Generic 2.0.1 (for softwareversion 2.0)

Matrix: Andet

Mængde (ml): 0,200

Eluat (µl): 100 µL

Type: Primær

Efter on-board-lysis tilføjes 100 µL silica for-blanding til hver prøve.

Fortsæt ekstraktionsprocessen.

"Off-board"-arbejdsgang (urin)

Spin kort NucliSENS Lysis Buffer-røret ned og tilføj 1000 µL urin. Vortex røret.

Lad blandingen stå ved rumtemperatur i 10 min.

Efter lysis overføres lysater til prøvebeholderen og sættes på easyMAG

Tilføj 100 µl silica for-blanding til hver prøve.

Programmér følgende ekstraktionsanmodninger:

Protokol: Generic 2.0.1 (for softwareversion 2.0)

Matrix: Andet

Mængde (ml): 1,000

Eluat (µl): 100 µL

Type: Lyseret

Fortsæt ekstraktionsprocessen.

10.4 Forberedelse af realtids-PCR

Bemærk: Reagenser skal optøes helt før brug og blandes grundigt ved at vortexe dem kortvarigt

Se **Tabel 1 - Tabel 3** angående beskrivelse af kittets indhold.

10.4.1 Master Mix-forberedelse

Tilbered Master Mix som beskrevet i **Tabel 11**.

Til en reaktionsmængde på 20 µL kræves 15 µL Master Mix og 5 µL prøve. Pipetter Master Mix på PCR-pladen og tilføj den ekstraherede prøve til reaktionen.

Ved hver kørsel bør en NTC (No template control) inkluderes. Til NTC-reaktionen tilføjes *nukleasefrit vand* (**NEUTRALT**) i stedet for prøvemateriale.

Forsegl pladen, centrifuger og overfør til termocykleren.

Tabel 11. Master Mix		
Reagens	Koncentration	Mængde pr. 20 µL reaktion (µL)
Nukleasefrit vand (NEUTRALT)	Ikke relevant	3,0
Plex Mastermix (BLÅ)	2x	10,0
MG+23S Mix (BRUN)	20x	1,0
Kontrolmix [*] (HVID)	20x	1,0
Samlet mængde (µL)		15,0
Tilføj 5 µL prøvemateriale, så der opnås en endelig mængde på 20 µL		

^{*} Kontrolmix indeholdt i hvert kit er specifikt for PCR-instrumentet, der anvendes. Se i **Tabel 1 - Tabel 3** hvilken kontrolmix, der skal anvendes

10.4.2 Master Mix-stabilitet

Master Mix kan forberedes i en stor mængde og opbevares ved -20°C i op til 4 uger eller opbevares ved 4°C i op til en uge.

10.5 Forberedelse af PCR med ekstraherede nukleinsyrer (reflex-arbejdsgang)

Nukleinsyreekstrakter, der opnås uden, at der tilføjes *interne kontrolceller* (**RØD**) til prøverne, kan testes ved anvendelse af **ResistancePlus**® MG-kittet.

Denne fremgangsmåde bør kun følges for ekstrakter som:

Tidligere er blevet testet på en anden assay-platform under overholdelse af producentens brugsanvisning, og hvor den tidligere udført test genererede et gyldigt resultat.

Mastermix bør forberedes i henhold til **afsnit 10.4.1**. I forbindelse med reflex-testning er den interne kontrol ikke til stede i prøveudtrækket. Kontrolmix skal dog inkluderes som beskrevet i afsnit **10.4.1**.

Se **Tabel 1 - Tabel 3** angående beskrivelse af kittets indhold.

Tilbered reaktionsblandingen som beskrevet i **Tabel 11**. Til en reaktionsmængde på 20 µL kræves 15 µL Master Mix og 5 µL prøve. Pipetter Master Mix på PCR-pladen og tilføj den ekstraherede prøve til reaktionen.

Ved hver kørsel bør en NTC (No template control) inkluderes. Til NTC-reaktionen tilføjes *nukleasefrit vand* (**NEUTRALT**) i stedet for prøvemateriale. Forsegl pladen, centrifuger og overfør til termocykleren.

11 Programmering og analyse

Detaljerne for programmering og analyse er beskrevet i **afsnit 19 - afsnit 23**.

ResistancePlus® MG-kittet har tre kanaler til påvisning af *M. genitalium*, 23S rRNA-mutation og intern kontrol (**Tabel 12**).

ResistancePlus® MG-softwaren er begrænset til analyse af resultater svarende til nukleinsyreekstrakter, der er opnået ved at tilføje *interne kontrolceller (RØD)* til prøverne.

Til nukleinsyreekstrakter, der opnås uden, at der tilføjes *interne kontrolceller (RØD)* til prøverne, skal REFLEX **ResistancePlus®** MG-softwaren anvendes. REFLEX **ResistancePlus®** MG-softwaren har to kanaler til påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutation (**Tabel 13**).

Denne fremgangsmåde bør kun følges for ekstrakter som:

Tidligere er blevet testet på en anden assay-platform under overholdelse af producentens brugsanvisning, og hvor den tidligere udført test genererede et gyldigt resultat.

Tabel 12. Kanaler til ResistancePlus® MG-mål

Instrument	Kanal A	Kanal B	Kanal C
	<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation	Intern kontrol
LC480 II	465-510	533-580	533-640
z 480	465-510	540-580	540-645
7500 Fast og 7500 Fast Dx	FAM	JOE	TAMRA
CFX96 Dx og CFX Touch	FAM	HEX	Quasar 705

Tabel 13. Kanaler til ResistancePlus® MG-mål ved reflex-arbejdsgang

Instrument	Kanal A	Kanal B
	<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation
LC480 II	465-510	533-580
z 480	465-510	540-580
7500 Fast og 7500 Fast Dx	FAM	JOE
CFX96 Dx og CFX Touch	FAM	HEX

12 Fortolkning af resultater

Til datafortolkning er **ResistancePlus**® MG-analysesoftwaren nødvendig. Mens **PlexPrime**® primere giver større specificitet i forhold til andre allerspecifikke primere, er der set nogen ikke-specifik amplifikation fra 23S rRNA-mutantassay i prøver, der indeholder en høj koncentration af *M. genitalium* vildtype 23S rRNA. **ResistancePlus**® MG -analysesoftwaren automatiserer datafortolkningen af amplifikationsresultater og strømliner arbejdsgangen. Instruktioner om brugen af analysesoftwaren findes i **afsnit 24**.

Se **Tabel 14** angående den passende analysesoftware for hvert realtids-PCR-instrument. Analysesoftwaren kan leveres på forespørgsel. Der rettes henvendelse til tech@speedx.com.au for yderligere oplysninger.

Tabel 14. ResistancePlus ® MG-analysesoftware		
Kat.-nr.	Analysesoftware*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus ® MG (LC480)	LC480 II
99018	ResistancePlus ® MG (z 480)	z 480
99002	ResistancePlus ® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus ® MG (z 480)	CFX96 Dx og CFX96 Touch
99023	REFLEX ResistancePlus ® MG (LC480)	LC480 II
99024	REFLEX ResistancePlus ® MG (z480)	z 480
99026	REFLEX ResistancePlus ® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99025	REFLEX ResistancePlus ® MG (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

* Se webstedet <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> for at sikre, at du anvender den nyeste version af analysesoftwaren

13 Begrænsninger

- **ResistancePlus®** MG-assay er rettet mod *MgPa*-genet for *M. genitalium* og mutationer på position 2058 og 2059 i 23S-rRNA-genet (A2058G, A2059G, A2058T and A2058C, *E. coli*-nummerering), der er forbundet med resistens over for azithromycin (makrolidbaseret antibiotikum).
- **ResistancePlus®** MG-assay har vist krydsreaktion med *M. genitalium*, 23S rRNA A2059C- mutantsekvenser.
- Studier af den kliniske ydeevne for **ResistancePlus®** MG, der beskrives i afsnit 16.1, omfatter tests med urin fra mænd, urin fra kvinder og vaginalpodninger. Yderligere prøvetyper, herunder rektal-, cervikal-, endocervikal-, urinrørs-, penis-, penile meatal- og svælgpodninger, er også blevet testet, men der er i øjeblikket begrænsede data, der understøtter brugen af disse prøvetyper.
- **ResistancePlus®** MG-assay må kun udføres af personale, der er oplært i proceduren samt under overholdelse af denne brugsanvisning.
- Pålidelige resultater er afhængige af passende transport, opbevaring og behandling af prøverne. Manglende overholdelse af de korrekte procedurer i et af disse trin kan føre til forkerte resultater.
- **ResistancePlus®** MG-assay er et kvalitativt assay og leverer ikke kvantitative værdier eller oplysninger om organismebelastningen.
- Resultaterne af testen skal sammenholdes med den kliniske historie, epidemiologiske data, laboratoriedata og alle andre data, som klinikerne har til rådighed.
- Forekomsten af *M. genitalium* og makrolidresistens vil påvirke de positive og negative prædiktive værdier for assayet.
- Påvisning af antibiotikaresistensmarkører korrelerer muligvis ikke med det fænotypiske genudtryk.
- Terapeutisk svigt eller succes kan ikke afgøres på baggrund af assay-resultaterne, da nukleinsyre kan persistere efter passende antimikrobiel behandling.
- Negative resultater udelukker ikke muligheden for infektion på grund af forkert prøveudtagning, tekniske fejl, tilstedeværelse af hæmmere, forveksling af prøver eller lavt antal organismer i den kliniske prøve.
- Negative resultater for resistensmarkørerne betyder ikke, at de påviste mikroorganismer er modtagelige, da der kan være resistensmarkører, som ikke måles af assayet, eller andre potentielle mekanismer for antibiotikaresistens.
- Falsk positive resultater kan opstå på grund af krydskontaminering med målorganismer, deres nukleinsyrer eller det amplificerede produkt.

14 Kvalitetskontrol

ResistancePlus® MG-kittet indeholder en intern kontrol til at overvåge ekstraktionseffektiviteten og qPCR-hæmning (**afsnit 10.3**)

Når der udføres reflex-testning tilføjes de interne kontrolceller til **ResistancePlus®** MG-kittet ikke i ekstraktionsprocessen. Reflex-testning kan kun udføres på prøver, der tidligere er fundet gyldige med et andet system, hvilket sikrer, at ekstraktionseffektivitet og qPCR-hæmning er blevet overvåget.

ResistancePlus® MG Positive Control-kittet (kat.-nr. 95001) anbefales som materiale til positivkontrol for nukleinsyreamplifikation. Se **afsnit 15** angående instruktioner om brug af **ResistancePlus®** MG Positive Controls. Det anbefales at anvende en kendt negativ prøve som negativ kontrol.

15 ResistancePlus® MG Positive Control-instruktioner

ResistancePlus® MG Positive Control-kittet indeholder materiale til positivkontrol af *M. genitalium* 23S rRNA-mutanter og en *M. genitalium* vildtype 23S rRNA (**Tabel 15**).

Tabel 15. Indhold af ResistancePlus® MG Positive Control-kit (kat.-nr. 95001)			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Mængde (10 reaktioner)
Neutral	MG, 23S rRNA vildtype	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA vildtype	1 x 50 µL
Grøn	MG, 23S rRNA A2058G	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058G-mutation	1 x 50 µL
Rød	MG, 23S rRNA A2059G	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2059G-mutation	1 x 50 µL
Blå	MG, 23S rRNA A2058T	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058T-mutation	1 x 50 µL
Gul	MG, 23S rRNA A2058C	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058C-mutation	1 x 50 µL

15.1 Brugsanvisning

Forbered qPCR-reaktioner som beskrevet i **afsnit 10.4** og anvend positiv kontrol som prøve.

Til datafortolkning er **ResistancePlus®** MG-analysesoftwaren nødvendig. Se **afsnit 24.11** angående eksempler på resultater.

16 Ydeevnekarakteristika

16.1 Klinisk ydeevne

16.1.1 Klinisk studie 1

Et prospektivt-retrospektivt klinisk studie blev udført på Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australia. Der blev indsamlet prøver fra maj 2016 til juni 2016, og på grundlag af kliniske laboratorieresultater 144 prøver blev udvalgt til inklusion i studiet. De 144 prøver omfattede 84 urinprøver fra mænd, 33 urinprøver fra kvinder, 14 vaginalpodninger og 13 dybe vaginalpodninger. For at bestemme ydeevnen for **ResistancePlus**® MG-kittet, blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med kliniske laboratorieresultater fra et veletableret 16S rRNA qPCR, der blev anvendt til rutinediagnostik på RWH⁷, og 23S rRNA-mutantpåvisning blev sammenlignet med Sanger-sekventering⁸. **ResistancePlus**® MG-kittet blev anvendt på LC480 II, efter prøveekstraktion på MagNA Pure 96 Instrument ved anvendelse af MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit med protokollen Universal Pathogen 200. Til påvisning af *M. genitalium* blev der anvendt en sammensat reference for uoverensstemmende prøver ved anvendelse af en tredje qPCR-reaktion målrettet mod MgPa-genet⁹. Til påvisning af 23S rRNA-mutanter blev Sanger-sekventering antaget som sandt resultat. Afklarede resultater samt følsomhed og specificitet for **ResistancePlus**® MG kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutant vises i **Tabel 16**. To prøver blev udelukket, da det interne kontrolresultat var ugyldigt (1 urinprøve fra hhv. en mand og en kvinde). Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 17**. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i **Tabel 18**.

Tabel 16. Klinisk evaluering af ResistancePlus ® MG-kittet (klinisk studie 1)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning 16S rRNA qPCR		23S rRNA-mutantpåvisning Sekvensering		
		Positiv	Negativ		Mutant	Vildtype
ResistancePlus ® MG	Positiv	83	0	Mutant påvist	52	2
	Negativ	1	58 [^]	Mutant ikke påvist	2	21
Følsomhed		98,8 % (95 % KI 93,5-100,0 %)		Følsomhed	96,3 % (95 % KI 87,3-99,6 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,8-100,0 %)		Specificitet	91,3 % (95 % KI 72,0-98,9 %)	

95 % KI - 95 % konfidensinterval; Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

[^] **ResistancePlus**® MG-kittet påviste 1 ægte *M. genitalium*-negativ ved hjælp af sammensat reference. Tabellen viser afklarede resultater

Tabel 17. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve [^] (klinisk studie 1)			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	28/28	8/10 ¹	41/42 ¹
Urin fra kvinder	12/13	11/11	4/6 ²
Vaginalpodning	8/8	1/1	2/2 ³
Dyb vaginalpodning	9/9	1/1	4/4 ⁴

Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

[^] 2 urinprøver fra kvinder, 3 urinprøver fra mænd, 1 vaginalpodning udelukket grundet sekvenseringssvigt, så mutantstatus ikke kunne bestemmes

¹ Urin fra mænd 2 *M. genitalium* vildtype fejlagtigt benævnt som påvist *M. genitalium*-mutant, 18 A2058G, 20 A2059G, 3 A2058T korrekt påvist; 1 A2058G fejlagtigt benævnt *M. genitalium* ikke påvist

² Urin fra kvinder 1 A2058G, 3 A2059G korrekt påvist; 2 A2059G fejlagtigt benævnt påvist *M. genitalium*, mutant ikke påvist

³ Vaginalpodning 2 A2059G korrekt påvist

⁴ Dyb Vaginalpodning 3 A2058G, 1 A2059G korrekt påvist

Tabel 18. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 1)

Referenceresultat [^]	ResistancePlus [®] MG-resultat
Vildtype	21/33 ¹
A2058G	22/23 ²
A2059G	26/28 ³
A2058T	3/3

[^] kun for positive *M. genitalium*-prøver

¹Vildtype 2 urinprøver fra mænd fejlagtigt benævnt som påvist *M. genitalium*-mutant

² A2058G: 1 urinprøve fra mænd fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* ikke påvist

³ A2059G: 2 urinprøver fra kvinder fejlagtigt benævnt som *M. genitalium*-mutant ikke påvist

16.1.2 Klinisk studie 2

En undergruppe af de ekstraherede prøver fra studie 1 blev kørt på ABI 7500 Fast. Resultaterne blev sammenlignet med de kliniske resultater fra 16S rRNA qPCR (Twin 2011) og Sanger-sekventering (Twin 2012). Uoverensstemmende prøver til påvisning af *M. genitalium* blev gentestet med 16S rRNA qPCR (Twin 2011) på grund af mistanke om nedbrydning af prøven. Afklarede resultater samt følsomhed og specificitet for kittet ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutant vises i Tabel 19. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes.

Tabel 19. Klinisk evaluering af kittet ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ (klinisk studie 2)

		<i>M. genitalium</i> -påvisning 16S rRNA qPCR				23S rRNA-mutantpåvisning Sekvensering	
		Positiv	Negativ			Mutant	Vildtype
ResistancePlus [®] MG	Positiv	79	0 [^]	Mutant påvist		47	1
	Negativ	2	43 [#]	Mutant ikke påvist		4	19
Følsomhed		97,5 % (95 % KI 91,4-99,7 %)		Følsomhed		92,2 % (95 % KI 81,1-97,8 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 91,8-100,0 %)		Specificitet		95,0 % (95 % KI 75,1-99,9 %)	

95 % KI - 95 % konfidensinterval; Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

[^]Kittet ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ påviste 1 ægte *M. genitalium*-positiv ved hjælp af referencetest. Tabellen viser afklarede resultater

[#]Kittet ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ påviste 10 ægte *M. genitalium*-negativ ved hjælp af referencetest. Tabellen viser afklarede resultater

16.1.3 Klinisk studie 3

Der blev udført et retrospektivt klinisk studie på Canterbury Health Laboratories (CHL), Christchurch, New Zealand på karakteriserede, arkiverede prøver fra tidsrummet 2010-2016 og indsamlet med multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott). De 137 prøver bestod af 110 urinprøver fra mænd, 11 urinprøver fra kvinder, 15 vaginalpodninger, 1 urinrørs-/vaginalpodning og 1 vaginal/cervikalpodning. For at bestemme ydeevnen af ResistancePlus[®] MG-kittet blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med det kliniske laboratorieresultat fra en veletableret MgPa qPCR, som også bruges til rutinediagnostik på CHL (Jensen 2004), og 23S rRNA-mutantpåvisning blev sammenlignet med Sanger-sekventering (Jensen 2008). ResistancePlus[®] MG-kittet blev anvendt på LC480 II efter prøveekstraktion på MagNA Pure 96 Instrument ved anvendelse af MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Small Volume Kit med protokollen Universal Pathogen 200. Til påvisning af *M. genitalium* blev den rutinemæssige MgPa-test gentaget for uoverensstemmende prøver. Til påvisning af 23S rRNA-mutanter blev Sanger-sekventering antaget som sandt resultat. Følsomhed og specificitet for ResistancePlus[®] MG-kittet til påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutanter er vist i Tabel 20. En prøve blev udelukket, da resultatet af den interne kontrol var ugyldigt. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i Tabel 21. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i Tabel 22.

Tabel 20. Klinisk evaluering af <i>ResistancePlus</i> ® MG-kittet (klinisk studie 3)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning 16S rRNA qPCR			23S rRNA-mutantpåvisning Sekvensering	
		Positiv	Negativ		Mutant	Vildtype
<i>ResistancePlus</i> ® MG	Positiv	76	0	Mutant påvist	52	1
	Negativ	3	57 [^]	Mutant ikke påvist	5	19
Følsomhed		96,2 % (95 % KI 89,3-99,2 %)		Følsomhed	91,2 % (95 % KI 80,7-97,1 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,7-100,0 %)		Specificitet	95,0 % (95 % KI 75,1-99,9 %)	

95 % KI - 95 % konfidensinterval; Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

[^] Tabel viser afklarede resultater

Tabel 21. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 3)			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	45/45	17/18 ¹	38/45 ¹
Urin fra kvinder	4/4	1/1	6/6 ²
Vaginalpodning	6/6	1/1	8/8 ³
Urinrørs-/vaginalpodning	1/1	0/0	0/0
Vaginal-/cervicalpodning	1/1	0/0	0/0

Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

¹ Urin fra mænd 1 *M. genitalium* vildtype fejlagtigt benævnt som påvist *M. genitalium*-mutant, 4 A2058G, 32 A2059G, 1 A2058T korrekt påvist; 1 A2058C og 1 A2059G fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* ikke påvist, 3 A2058G og 2 A2059G fejlagtigt benævnt som *M. genitalium*-mutant ikke påvist.

²Urin fra kvinder: 2 A2058G, 4 A2059G korrekt påvist

³Vaginalpodning 1 A2058G, 7 A2059G korrekt påvist

Tabel 22. <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 3)	
Referenceresultat [^]	<i>ResistancePlus</i> [®] MG-resultat
Vildtype	19/20 ¹
A2058G	7/10 ²
A2059G	43/45 ³
A2058T	1/1
A2058C	1/1

[^] kun for positive *M. genitalium*-prøver

¹Vildtype 1 urinprøve fra mænd fejlagtigt benævnt som påvist *M. genitalium*-mutant

² A2058G: 3 urinprøver fra mænd fejlagtigt benævnt som *M. genitalium*-mutant ikke påvist

³ A2059G: 2 urinprøver fra mænd fejlagtigt benævnt som *M. genitalium*-mutant ikke påvist

16.1.4 Klinisk studie 4

Et retrospektivt klinisk studie blev udført på Vall d'Hebron University Hospital (HUVH), Barcelona, Spanien, for at evaluere ydeevnen af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ til påvisning af *M. genitalium*- og azithromycinresistensassocierede mutationer i retrospektive prøver indsamlet mellem december 2017 og april 2018. Prøverne blev indsamlet med DeltaSwab ViCUM[®] (Deltalab, Spanien) til podninger eller Vacumed[®] Urine (FL medical, Italien) til urin. De 86 prøver bestod af 46 urinprøver og 40 vaginalpodninger. Prøverne blev ekstraheret med STARlet IVD (Hamilton) og kørt på CFX96 Dx-instrumentet (Bio-Rad). For at vurdere ydeevnen blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med Allplex[™] STI Essential (Seegene) samt med *ResistancePlus*[®] MG-kittet (SpeedX) på LC480 II for både påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-status. Følsomheden og specificiteten af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ til påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med Allplex[™] STI Essential (Seegene) er vist i **Tabel 23** Sensitiviteten og specificiteten af *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ sammenlignet med *ResistancePlus*[®] MG er som vist i **Tabel 24**. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 25**.

Tabel 23. Sammenligning af kittet <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ med Allplex [™] STI essential (klinisk studie 4)			
		<i>M. genitalium</i> -påvisning Allplex [™] STI Essential	
		Positiv	Negativ
<i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎	Positiv	40	0
	Negativ	0	46
Følsomhed		100,0 % (95 % KI 91,2-100,0 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3-100,0 %)	

Tabel 24. Klinisk evaluering af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ (klinisk studie 4)

		<i>M. genitalium</i> -påvisning <i>ResistancePlus</i> [®] MG (LC480 II)		23S rRNA-mutantpåvisning [#] <i>ResistancePlus</i> [®] MG (LC480 II)	
		Positiv	Negativ	Mutant påvist	Mutant ikke påvist
<i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎	Positiv	40	0	Mutant påvist	20
	Negativ	0	46	Mutant ikke påvist	1
Følsomhed		100,0 % (95 % KI 91,2-100,0 %)		Følsomhed	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3-100,0 %)		Specificitet	
				100,0 % (95 % KI 83,2-100,0 %)	

95 % KI - 95 % konfidensinterval; Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

[#] 1 prøve udelukket fra analysen da den blev sekvenseret som blandet vildtype og mutant

Tabel 25. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 4)

Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	26/26	5/5	15/15
Vaginalpodning	20/20	15/15	5/5

16.1.5 Klinisk studie 5

Der blev udført et retrospektivt klinisk studie på Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australien med Aptima[®] indsamlet urin og podepinde i tidsrummet juni 2017 til november 2017. Matchede patientprøver blev indsamlet som ren urin (rutineprøve) eller med Aptima[®] Urine Specimen Collection Kit (Hologic), eller som tør podepind (rutineprøve) eller med Aptima[®] Unisex Swab Specimen Collection Kit (Hologic). De 147 prøver bestod af 122 urinprøver og 25 vaginalpodninger. For at bestemme ydeevnen af Aptima[®] indsamlede prøver med *ResistancePlus*[®] MG-kittet blev påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutant sammenlignet med de kliniske diagnostiske resultater opnået fra *ResistancePlus*[®] MG-kittet (SpeedX) ved hjælp af rutineprøven. Testning af Aptima[®] indsamlede prøver blev udført på LC480 II efter prøveekstraktion på MagNA Pure 96 Instrument ved anvendelse af MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Small Volume Kit med protokollen Universal Pathogen 1000. Kliniske diagnostiske resultater fra RWH, opnået fra en matchende diagnostisk prøve testet med *ResistancePlus*[®] MG-kittet (SpeedX), blev antaget som sandt resultat for *M. genitalium*. Til påvisning af 23S rRNA-mutanter blev resultatet sammenlignet med det diagnostiske resultat og Sanger-sekventering.

Følsomhed og specificitet for *ResistancePlus*[®] MG-kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 26**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 27**.

Tabel 26. Klinisk evaluering af *ResistancePlus*® MG-kittet (klinisk studie 5)

		<i>M. genitalium</i> -påvisning <i>ResistancePlus</i> ® MG (rutineprøve)				23S rRNA-mutantpåvisning <i>ResistancePlus</i> ® MG (rutineprøve)	
		Positiv	Negativ			Mutant	Vildtype
<i>ResistancePlus</i> ® MG (med 1 ml Aptima-prøve)	Positiv	77	3	Mutant påvist		51	0
	Negativ	3	64	Mutant ikke påvist		2	24
Følsomhed		96,3 % (95 % KI 89,4-99,2 %)		Følsomhed		96,2 % (95 % KI 87,0-99,5 %)	
Specificitet		95,5 % (95 % KI 87,5-99,1 %)		Specificitet		100,0 % (95 % KI 86,0-100,0 %)	

Tabel 27. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 5)

Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin	50/52 ¹	21/22 ¹	45/48 ¹
Vaginalpodning	14/15 ²	3/4 ²	6/6

Mutant - 23S rRNA-mutation på positionerne A2058G, A2059G, A2058T og A2058C (*E. coli*-nummerering); Vildtype - fravær af mutation på disse positioner

¹urin: 2 *M. genitalium*-negative fejlagtigt benævnt som hhv. *M. genitalium* vildtype og mutant; 1 *M. genitalium* vildtype fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* negativ; 2 *M. genitalium*-mutanter fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* vildtype, 1 *M. genitalium*-mutant fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* negativ

²Vaginalpodning: 1 *M. genitalium* negativ fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* vildtype; 1 *M. genitalium* vildtype fejlagtigt benævnt som *M. genitalium* negativ

16.1.6 Klinisk studie 6

Et retrospektivt klinisk studie blev udført på University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Australien med cobas® x480-ekstrakter fra urin- og pødeprøver indsamlet fra februar 2017 til februar 2019. Prøverne blev indsamlet som ren urin eller med cobas® PCR media collection kit (Roche) og ekstraheret på instrumentet cobas® x480 (cobas® 4800, Roche) ved hjælp af protokollen "Full Workflow" og protokollen "CT/NG" uden tilsætning af SpeedX interne kontrolceller .. De 109 ekstrakter bestod af 10 vaginalpodninger, 5 dybe vaginalpodninger samt 84 urinprøver fra mænd og kvinder.

For at bestemme ydeevnen af cobas® ekstrakter med kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med det rutinemæssige diagnostiske resultat (MgPa PCR-assay (Trembizki *et al.*, 2017)), og påvisning af 23S rRNA-mutanter blev sammenlignet med Sanger-sekventering. Kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ blev kørt på ABI 7500 Fast Dx. Følsomhed og specificitet for kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 28**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 29**. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i **Tabel 30**.

Tabel 28. Klinisk evaluering af kittet ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎ (klinisk studie 6)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning MgPa qPCR		23S rRNA-mutantpåvisning Sanger-sekventering		
		Positiv	Negativ		Mutant	Vildtype
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	Positiv	54	0	Mutant påvist	37 [^]	0
	Negativ	1	51	Mutant ikke påvist	0	17
Følsomhed		98,2 % (95 % KI 90,3-100,0 %)		Følsomhed		
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,0-100,0 %)		Specificitet		

[^] 1 vaginalprøve gav et sekvenseringsresultat som blandet vildtype/A2059G, hvilket blev korrekt identificeret som en mutant af assayet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎

Tabel 29. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 6) [*]			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	42/42	13/13	26/27 ¹
Urin fra kvinder	6/6	1/1	3/3 ²
Vaginalpodning	1/1	1/1	7/7 ³
Dyb vaginalpodning	2/2	2/2	1/1 ⁴

^{*} 3 prøver blev udelukket grundet sekvenseringssvigt, så sand 23S-status ikke kunne bestemmes, herunder: 2 urinprøver og 1 vaginalprøve

¹Urin fra mænd: 8 A2058G, 3 A2058T og 15 A2059G korrekt identificeret; 1 A2058T fejlagtigt identificeret som *M. genitalium* ikke påvist

²Urin fra kvinder: 2 A2058G og 1 A2059G korrekt identificeret

³ Vaginalpodning 3 A2058G, 2 A2058T og 1 A2059G korrekt identificeret; [^] 1 vaginalpodning blev identificeret som blandet VT/A2059G

⁴ Dyb Vaginalpodning 1 A2059G korrekt identificeret

Tabel 30. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 6)

Referenceresultat [^]	ResistancePlus [®] MG-resultat
Vildtype	17/17
A2058G	13/13
A2059G	19/19 ¹
A2058T	5/5
A2058C	-

[^] kun for positive *M. genitalium*-prøver¹ A2059G: 1 vaginalpodepind blandet vild-type/A2059G korrekt identificeret som *M. genitalium*, 23S-mutation påvist.

16.1.7 Klinisk studie 7

Der blev gennemført et retrospektivt klinisk studie på Microbiological Diagnostic Unit Public Health Unit (MDU), Victoria, Australien, med tørre podedinde og ren urin, indsamlet i tidsrummet oktober 2018 til januar 2019. Prøverne bestod af 19 vaginalpodninger, 2 dybe vaginalpodninger samt 44 urinprøver.

ResistancePlus[®] MG-kittet blev anvendt på LC480 II efter prøveekstraktion på QIASymphony SP (QIAGEN) instrument ved anvendelse af DSP Virus/Pathogen Mini kit og protokollen Complex200_V6_DSP protocol. Resultater blev sammenlignet med rutinediagnostiske resultater fra **ResistancePlus[®]** MG-kittet (SpeedX) ved brug af prøver ekstraheret på MagNA Pure 96 Instrument (MP96). For uoverensstemmende resultater blev der gennemført en 16S rRNA qPCR-test (Twin 2011) for påvisning af *M. genitalium*, og Sanger-sekventering (Twin 2012) blev gennemført for 23S rRNA-mutantpåvisning. Følsomhed og specificitet for **ResistancePlus[®]** MG-kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 31**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 32**.

Tabel 31. Klinisk evaluering af ResistancePlus[®] MG-kittet (klinisk studie 7)

		<i>M. genitalium</i> -påvisning ResistancePlus [®] MG (MP96)				23S rRNA-mutantpåvisning ResistancePlus [®] MG (MP96)	
		Positiv	Negativ			Mutant	Vildtype
ResistancePlus[®] MG (QIASymphony SP)	Positiv	36	0	Mutant påvist		16	1
	Negativ	1	27	Mutant ikke påvist		1	18
Følsomhed		97,3 % (95 % KI 85,8-99,9 %)		Følsomhed		94,1 % (95 % KI 71,3-99,9 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 87,2-100,0 %)		Specificitet		94,7 % (95 % KI 74,0-99,9 %)	

Tabel 32. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 7) [#]			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	17/17	9/9	12/14 ¹
Urin fra kvinder:	1/1	1/2 ²	1/1
Vaginalpodning	8/8 [#]	7/7	3/3
Dyb vaginalpodning	1/1	1/1	-

[#] 1 vaginalpodning blev udelukket, da den fremkom med ugyldigt resultat med **ResistancePlus**[®] MG-kittet

¹Urin fra mænd: 1 *M. genitalium* 23S rRNA-mutant blev fejlagtigt identificeret som *M. genitalium* ikke påvist; 1 *M. genitalium* 23S rRNA-mutant blev fejlagtigt identificeret som *M. genitalium* påvist, 23S-mutation ikke påvist

²Urin fra kvinder: 1 prøve fejlagtigt identificeret som påvist *M. genitalium*, 23S rRNA-mutation påvist

16.2 Analytisk ydeevne

16.2.1 Reproducerbarhed og repeterbarhed

Reproducerbarhed og repeterbarhed af **ResistancePlus**[®] MG-kittet på LC480 II blev vurderet ved hjælp af en kvantificeret syntetisk skabelon for *M. genitalium* MgPa og 23S rRNA-mål (A2058G, A2059G, A2058T og A2058C) ved 10.000 og 3x LOD-kopier pr. reaktion ved hjælp af 6 replikater (medmindre andet er angivet). Eksperimenterne blev udført på LC480 II.

For at bestemme lot-til-lot-variationen blev der testet to lots, som blev kørt på én maskine af én operatør (**Tabel 33**). De to lots viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,35-2,37 % for alle mål.

Tabel 33. Lot-til-lot-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	16,9	0,15	0,89	12/12
MgPa 30 kopier	25,5	0,52	2,05	12/12
A2058G 10.000 kopier	20,4	0,48	2,37	12/12
A2058G 36 kopier	27,8	0,43	1,54	12/12
A2059G 10.000 kopier	18,0	0,06	0,35	12/12
A2059G 30 kopier	25,6	0,50	1,94	12/12
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,09	0,46	12/12
A2058T 30 kopier	26,2	0,30	1,14	12/12
A2058C 10.000 kopier	17,7	0,13	0,75	12/12
A2058C 30 kopier	25,4	0,29	1,15	12/12

For at bestemme dag-til-dag-variabilitet blev test udført over tre dage af én operatør på samme maskine (**Tabel 34**). De tre kørsler viste god reproducerbarhed mellem forskellige dage med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,88-2,31 % for alle mål.

Tabel 34. Dag-til-dag-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	17,0	0,18	1,09	18/18
MgPa 30 kopier	25,6	0,59	2,31	18/18
A2058G 10.000 kopier	20,2	0,37	1,83	18/18
A2058G 36 kopier	27,9	0,51	1,84	18/18
A2059G 10.000 kopier	18,1	0,24	1,34	18/18
A2059G 30 kopier	25,7	0,32	1,23	18/18
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,23	1,22	18/18
A2058T 30 kopier	26,3	0,31	1,17	18/18
A2058C 10.000 kopier	17,8	0,16	0,88	18/18
A2058C 30 kopier	25,5	0,31	1,22	18/18

For at bestemme kørsel-til-kørsel-variabilitet blev tre qPCR-kørsler sammenlignet, kørt på samme dag af samme operatør (**Tabel 35**). De tre kørsler viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,40-3,20 % for alle mål.

Tabel 35. Kørsel-til-kørsel-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	17,0	0,07	0,40	18/18
MgPa 30 kopier	25,7	0,47	1,83	18/18
A2058G 10.000 kopier	19,8	0,63	3,20	18/18
A2058G 36 kopier	27,5	0,51	1,85	18/18
A2059G 10.000 kopier	18,4	0,11	0,61	18/18
A2059G 30 kopier	25,7	0,39	1,52	18/18
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,22	1,18	18/18
A2058T 30 kopier	26,4	0,42	1,59	18/18
A2058C 10.000 kopier	17,8	0,08	0,46	18/18
A2058C 30 kopier	25,5	0,31	1,22	18/18

For at bestemme operatør-variabilitet blev to kørsler fra to operatører sammenlignet (**Tabel 36**). De to kørsler fra forskellige operatører viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,54-1,62 % for alle mål.

Tabel 36. Operatør-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	16,8	0,12	0,73	12/12
MgPa 30 kopier	25,3	0,41	1,61	12/12
A2058G 10.000 kopier	20,2	0,24	1,21	12/12
A2058G 36 kopier	27,9	0,45	1,62	12/12
A2059G 10.000 kopier	17,9	0,10	0,58	12/12
A2059G 30 kopier	25,5	0,39	1,53	12/12
A2058T 10.000 kopier	18,6	0,10	0,54	12/12
A2058T 30 kopier	26,1	0,31	1,20	12/12
A2058C 10.000 kopier	17,7	0,13	0,71	12/12
A2058C 30 kopier	25,2	0,27	1,06	12/12

For at bestemme instrument-variabilitet blev to kørsler på to maskiner udført af samme operatør sammenlignet (**Tabel 37**). De to kørsler fra forskellige instrumenter viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,30-2,62 % for alle mål.

Tabel 37. Instrument-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	16,7	0,10	0,60	12/12
MgPa 30 kopier	25,4	0,67	2,62	12/12
A2058G 10.000 kopier	20,0	0,07	0,33	12/12
A2058G 36 kopier	27,8	0,51	1,82	12/12
A2059G 10.000 kopier	17,8	0,05	0,30	12/12
A2059G 30 kopier	25,3	0,36	1,41	12/12
A2058T 10.000 kopier	18,5	0,09	0,50	12/12
A2058T 30 kopier	25,9	0,30	1,16	12/12
A2058C 10.000 kopier	17,6	0,13	0,75	12/12
A2058C 30 kopier	25,3	0,36	1,44	12/12

For at bestemme variabilitet inden for kørsler blev tre eksperimenter, der var indstillet separat af samme operatør og kørte samme mål på samme plade, sammenlignet (**Tabel 38**). De tre kørsler viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,57-3,12 % for alle mål.

Tabel 38. Variabilitet inden for kørsler

	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	17,3	0,36	2,09	18/18
MgPa 30 kopier	25,9	0,81	3,12	18/18
A2058G 10.000 kopier	20,2	0,11	0,57	18/18
A2058G 36 kopier	28,0	0,65	2,31	18/18
A2059G 10.000 kopier	17,9	0,15	0,83	18/18
A2059G 30 kopier	25,8	0,38	1,46	18/18
A2058T 10.000 kopier	18,8	0,12	0,66	18/18
A2058T 30 kopier	26,8	0,38	1,41	18/18
A2058C 10.000 kopier	17,8	0,15	0,83	18/18
A2058C 30 kopier	25,5	0,36	1,41	18/18

16.2.2 Analytisk følsomhed

Den analytiske følsomhed for **ResistancePlus**® MG-kittet på LC480 II blev bestemt ved at køre begrænsede fortyndingsserier ved hjælp af en kvantificeret syntetisk skabelon for *M. genitalium* MgPa og 23S rRNA-mål (A2058G, A2059G, A2058T og A2058C). Følsomheden for hvert mål blev bestemt som antallet af kopier pr. reaktion med ≥ 95 % påvisning vist i **Tabel 39**.

Tabel 39. Analytisk følsomhed

	Analytisk følsomhed (kopier/reaktion)
MgPa	10
A2058G	12
A2059G	10
A2058T	10
A2058C	10

16.2.3 Analytisk specificitet

Dette studie blev udført for at evaluere **ResistancePlus**® MG-kittet, når ikke-målorganismer er til stede i høje koncentrationer. Et panel af 65 mikroorganismer (4 vira, 2 protozoer, 4 svampe og 55 bakterier), der repræsenterer patogener eller flora, der almindeligvis findes i det urogenitale system, eller som er nært beslægtede med *M. genitalium*, blev evalueret. Hver bakteriestamme blev testet med 1×10^6 genomer/ml, medmindre andet er angivet. Virusstammer blev testet ved 1×10^5 genomer/ml, medmindre andet er angivet. Alle andre organismer blev testet ved de angivne koncentrationer. Alle organismer blev kvantificeret ved hjælp af qPCR, undtagen dem, der blev kvantificeret som kolonidannende enheder (CFU) eller plakdannende enheder (PFU) (Error! Reference source not found.). Alle mikroorganismer blev testet tre gange. Alle testede mikroorganismer blev fortyndet i negativ klinisk matrix (enten urin eller vaginalpodepind).

Resultaterne viste, at ingen af disse organismer gav falsk positive resultater i de *M. genitalium*-negative matricer (Error! Reference source not found.).

Der blev desuden udført en *in silico*-analyse for at vurdere, om oligonukleotiderne i **ResistancePlus**® MG-assay kunne amplificere og påvise nukleinsyresekvenser fra ikke-målorganismer, der var tilgængelige i BLAST. Der blev ikke fundet nogen signifikante interaktioner.

Tabel 40. Mikroorganismer testet for analytisk specificitet

Organisme	Koncentration (genomer/mL)	Organisme	Koncentration (genomer/ml)	Organisme	Koncentration (genomer/mL)
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁶	HIV-1 [^]	1 x 10 ³	<i>Mycoplasma pirum</i> (2) [*]	1 x 10 ⁶
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 ⁶	HPV type 18 (HeLa cells) [^]	1 x 10 ⁵	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (6) [*]	1 x 10 ⁶
<i>Bacterioides fragilis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma primatum</i>	1 x 10 ⁶
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma salivarium</i>	1 x 10 ⁶
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 ⁶	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁵	<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 ⁶	<i>Pentatrichomonas hominis</i> [#]	1 x 10 ⁵
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 ⁶	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁶
<i>Candida parapsilosis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁶	<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶
<i>Candida tropicalis</i>	1 x 10 ⁵	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 ⁶	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁵
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 ⁵	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁶
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma alvi</i>	1 x 10 ⁶	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma amphoriforme</i> (2) [*]	1 x 10 ⁶	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma arginini</i>	1 x 10 ⁶	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma buccale</i>	1 x 10 ⁶	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 ⁶
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma fermentans</i>	1 x 10 ⁶	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁶
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	1 x 10 ⁴	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁶
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶	<i>Trichomonas vaginalis</i> [#]	1 x 10 ⁵
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma lipophilum</i>	1 x 10 ⁴	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁵
Herpes simplex virus I	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma orale</i>	1 x 10 ⁶		
Herpes simplex virus II	1 x 10 ⁶	<i>Mycoplasma penetrans</i>	1 x 10 ⁶		

* antal i parentes angiver antallet af testede stammer

[^] kvantificeret som PFU/ml

[#] kvantificeret som CFU/ml

16.2.4 Potentielt interfererende stoffer

Der blev gennemført et studie om interfererende stoffer for at undersøge, om stoffer eller forhold, der kan være til stede i urin- eller vaginalpodningsprøver, kan påvirke ydeevnen af **ResistancePlus**® MG assay. Panelet bestod af endogene stoffer som blod, mucin, leukocytter og medicin (receptpligtig og håndkøb), der kan bruges til behandling af urogenitale tilstande. Alle stoffer blev evalueret ved hjælp af den interne kontrol, som overvåger ekstraktion og qPC-hæmning. Alle prøver blev testet i tre gange. Stofferne blev fortyndet i en negativ klinisk matrix (enten urin eller vaginalpodning) efter behov.

Resultaterne viste, at ingen af stofferne og betingelserne forstyrrede påvisningen af den interne kontrol eller gav falsk positive resultater.

Resultater er sammenfattet i **Tabel 41** og **Tabel 42**.

Tabel 41. Potentielt interfererende stoffer i urinprøver

Klasse/stof	Produktnavn	Testkoncentration
Fuldblod	--	1 % v/v
Sæd	--	5,0 % v/v
Mucus	Mucin	0,8 % w/v
Antibiotika	Azithromycin	1,8 mg/mL
	Doxycyclin	3,6 mg/mL
Analgetika	Aspirin	40 mg/mL
	Paracetamol	3,2 mg/mL
Intravaginale hormoner	--	7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/mL beta-estradiol
Leukocytter	--	10 ⁵ celler/mL
Albumin	Bovint serumalbumin	10 mg/mL
Glucose	--	10 mg/mL
Sur urin (pH 4,0)	Urin + N-acetyl-L-cystein	pH 4,0
Alkalisk urin (pH 9,0)	Urin + ammoniumcitrat	pH 9,0
Bilirubin	--	1 mg/ml

Tabel 42. Potentielt interfererende stoffer i vaginalpodninger

Klasse/stof	Produktnavn	Testkoncentration
Blood	--	60 % v/v
Sædvæske	--	5,0 % v/v
Mucus	Mucin	0,8 % w/v
Receptfri vaginalprodukter og kontræptika	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
	Vagisil Sensitive Skin Formula Maximum Strength Anti-Itch Creme with Oatmeal (1.0 oz)	0,25 % w/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0.2 oz x 8 pack)	0,25 % w/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,25 % w/v
	Summer's Eve Medicated Douche	0,25 % v/v
Deodoranter og pudder	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25 % v/v
Hæmoridecreme	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25 % w/v
Receptpligtige lægemidler	Metronidazole Vaginal Gel, 0.75%	0,25 % w/v
	Estrace® (estradiol vaginal cream, USP 0.01%)	0,25 % w/v
Leukocytter	--	10 ⁵ celler/ml
Intravaginale hormoner	--	7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-estradiol

16.2.5 Krydsreaktivitet over for andre 23S rRNA-mutationer

ResistancePlus® MG-kittets krydsreaktivitet blev vurderet ved hjælp af kvantificeret syntetisk skabelon for *M. genitalium* MgPa- og 23S rRNA-mål (A2059C) ved 10.000 og 45 kopier pr. reaktion. Resultaterne viste, at **ResistancePlus®** MG-testen krydsreagerer med *M. genitalium* A2059C 23S rRNA-mål med en score på 100 %.

17 Kundesupport og teknisk support

Kontakt teknisk support for spørgsmål vedrørende opsætning af reaktioner, cyklingsforhold og andre forespørgsler.

Tel: +61 2 9209 4169, Email: tech@speedx.com.au

18 Referencer

1. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24:498–514.
2. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. *Mycoplasma genitalium*: should we treat and how? Clin Infect Dis. 2011 Dec;53 Suppl 3:S129-42.
3. Cazanave C, Manhart LE, Bébér C. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 2012 Sep;42(9):381-92.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Twin J, Taylor N, Garland SM, Hocking JS, Walker J, Bradshaw CS, Fairley CK, Tabrizi SN. Comparison of two *Mycoplasma genitalium* real-time PCR detection methodologies. J Clin Microbiol. 2011 Mar;49(3):1140-2.
8. Twin J, Jensen JS, Bradshaw CS, et al. Transmission and selection of macrolide resistant *Mycoplasma genitalium* infections detected by rapid high resolution melt analysis. PLoS One 2012; 7: e35593.
9. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. Use of Taqman 5' nuclease real-time PCR for quantitative detection of *Mycoplasma genitalium* DNA in males with and without urethritis who were attendees at a sexually transmitted disease clinic. J Clin Microbiol. 2004 42:683-692.

19 Appendix 1: LightCycler® 480 instrument II

Følgende oplysninger er baseret på LightCycler® 480 Software (version 1.5).

ResistancePlus® MG-sættet indeholder farver til LightCycler® 480 Instrument II. **PlexPCR®** Colour Compensation-sættet (Cat no 90001) skal køres og anvendes til LC480 II-analyse (se afsnit 19.2). Dette sæt kan leveres efter anmodning.

19.1 Programmering af LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)

Detection Format (påvisningsformat)

Opret et brugerdefineret **Detection Format** (påvisningsformat)

Åbn **Tools (Værktøjer) > Detection Formats (påvisningsformater)**

Opret et nyt påvisningsformat og navn '**SpeedX PlexPCR**' (kan oprettes under genereringen af SpeedX Colour Compensation (farvekomensation)-fil) (se Figur 3).

For **Filter Combination Selection** (valg af filterkombination) vælges følgende (excitering-emission):

Tabel 43. Filterkombinationer [^]						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

[^] Disse filterkombinationer er standardnavnene for kanalerne

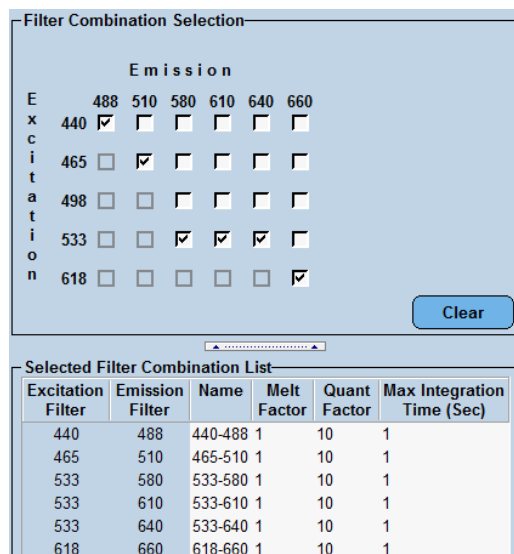
Sæt **Selected Filter Combination List** (listen over valgte filterkombinationer) for alle kanaler til:

Melt Factor (smeltefaktor): 1

Quant Factor (kvantefaktor): 10

Max Integration Time (sec) (maks. integrationstid (sek.)): 1

Figur 3. Brugertilpasset SpeedX-påvisningsformat



Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (Sec)
440	488	440-488	1	10	1
465	510	465-510	1	10	1
533	580	533-580	1	10	1
533	610	533-610	1	10	1
533	640	533-640	1	10	1
618	660	618-660	1	10	1

Instrument Settings (instrumentindstillinger)

Opret et brugerdefineret **Detection Format** (påvisningsformat)

Åbn **Tools (Værktøjer) > Instruments (instrumenter)**

For **Instrument Settings** (instrumentindstillinger) > vælges **Barcode Enabled** (stregkode aktiveret)

Experiment setup (opsætning af eksperiment)

Vælg **New Experiment** (nyt eksperiment)

På fanen **Run Protocol** (kør protokol)

Til **Detection Format** (påvisningsformat) vælges den brugertilpassede '**SpeedX PlexPCR**' (Figur 4)

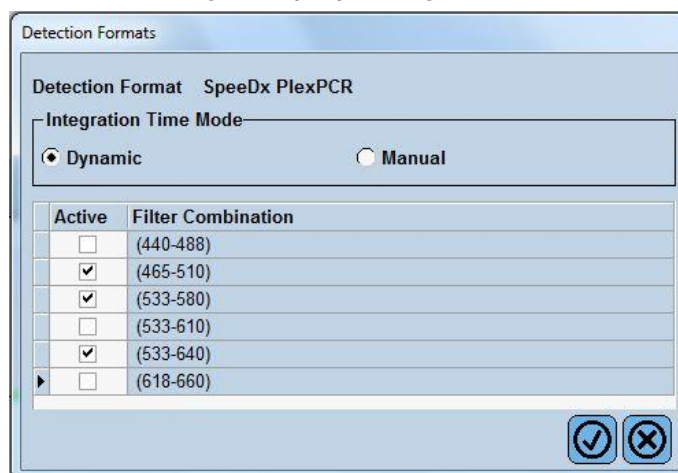
Vælg **Brugerdefineret** >

Vælg **Integration Time Mode** (tilstanden Integrationstid) > **Dynamic** (dynamisk)

Vælg følgende aktive **Filter Combinations** (filterkombinationer) vist i **Tabel 44**

Tabel 44. Kanaler til <i>ResistancePlus</i> ® MG -mål		
<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation	Intern Control (intern kontrol)
465-510	533-580	533-640

Figur 4. Tilpas påvisningsformat



For at aktivere automatisk prøvepåvisning i analysesoftwaren, tildel navnemærker til brøndene på pladen

Åbn **Sample Editor** (prøveeditor)-modulet

Vælg en brønd

Rediger **Sample Name** (prøvenavn) til at matche navnemærker defineret i Assays-modulet i analysesoftwaren (se **afsnit 24.4**)

Prøver mærkes med *Præfiks_Suffiks* (som vist i **Tabel 45** og **Figur 5**) f.eks. Pa_MG

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 45. Prøvenavnemærker til analysesoftware			
Prøvetype	Præfiks (i analysesoftware)	_Suffiks (i analysesoftware)	Sample name (prøvenavn) (i LC480)
Almindelig prøve	S	_MG	S_MG
Negativ kontrol	N	_MG	N_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figur 5. Sample Editor (prøveeditor) – Tildeling af navnemærker til brønde

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name
A12	465-510 (465-510)			S_MG
A12	533-580 (533-580)			S_MG
A12	533-640 (533-640)			S_MG
B12	465-510 (465-510)			Pa_MG
B12	533-580 (533-580)			Pa_MG
B12	533-640 (533-640)			Pa_MG
C12	465-510 (465-510)			Pb_MG
C12	533-580 (533-580)			Pb_MG
C12	533-640 (533-640)			Pb_MG
G8	465-510 (465-510)			N_MG
G8	533-580 (533-580)			N_MG
G8	533-640 (533-640)			N_MG

I **Reaction Volume** (reaktionsvolumen) til > 20 µL

Opret følgende program (vist i nærmere detaljer I **Figur 6 – Figur 9**):

Tabel 46. Thermocycling Program (program for termocykling)				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp rate (°C/s) (rampefrekvens C/s)*
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	4.4
Touchdown cycling (sænkning af cykling) ^o : Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus	10	95°C	5 s (sek.)	4.4
		61°C – 56,5°C ^o	30 s	2.2
Kvantificeringscyklus ⁺ : Erhvervelse/registrering	40	95°C	5 s (sek.)	4.4
		52°C ⁺	40 s	2.2
Cooling (afkøling)	1	40°C	30 s	2.2

* Standard rampefrekvens (plade med 96 brønde)

^o **Trinstørrelse:** -0,5°C/Cycle, **Andet mål:** 56°C

⁺ **Analysetilstand:** Kvantificering, **Erhvervelsetilstand:** Enkelt

Figur 6. Program for termocykling – Aktivering af polymerase

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

Instrument: 30231 / Not Connected Database: Research Database (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

Setup Detection Format SpeedX PlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Polymerase activation Temperature Targets							
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figur 7. Thermocycling program (program for termocykling) – Touchdown cycling (sænkning af cykling)

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

Instrument: 30231 / Not Connected Database: Research Database (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

Setup Detection Format SpeedX PlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Touchdown cycling Temperature Targets							
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	50	0.5	0	0

Figur 8. Thermocycling program (program for termocykling) – Quantification cycling (kvantifikationscykling)

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

Instrument: 30231 / Not Connected Database: Research Database (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

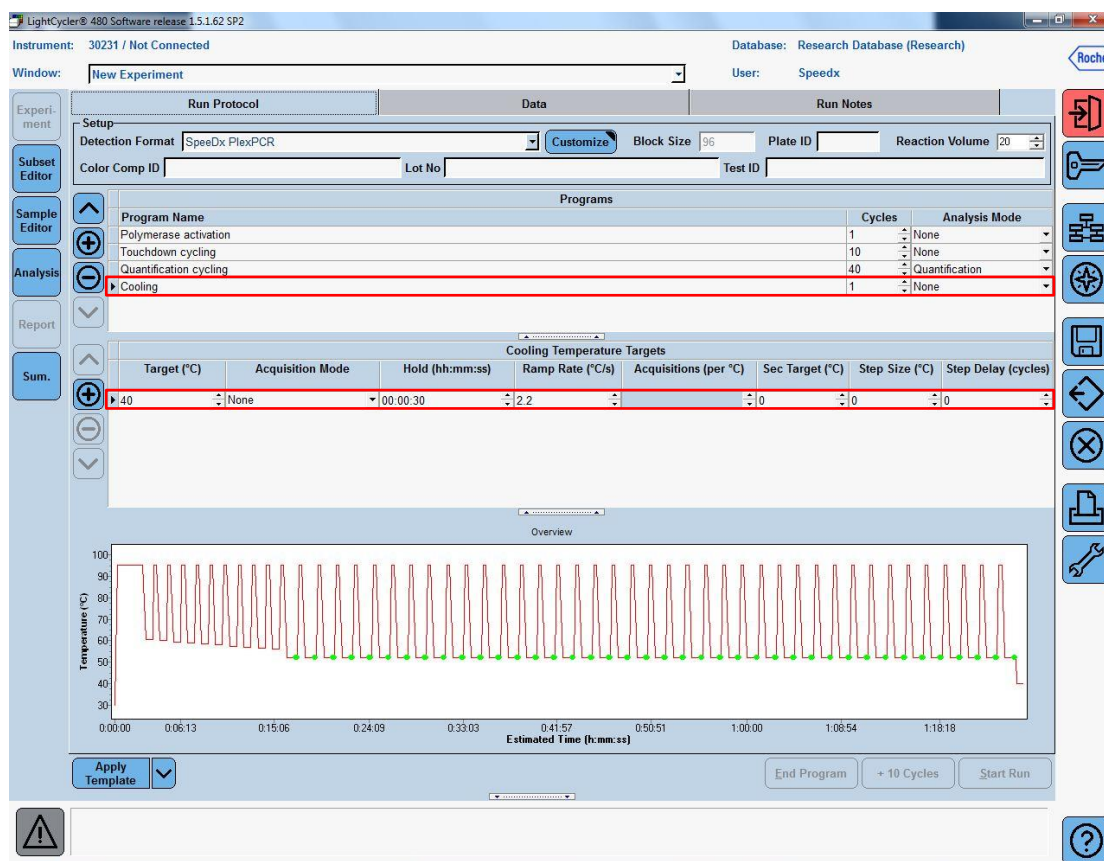
Setup Detection Format SpeedX PlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Quantification cycling Temperature Targets							
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figur 9. Program for termocykling – Cooling (afkøling)



> Startforløb

Når cyklusprogrammet er færdigt, skal der eksporteres en .ixo- fil til analyse i **ResistancePlus®** MG (LC480) -analysesoftware.

Vælg **Export** (eksporter)

Gem den på et sted, der let kan identificeres

19.2 Colour Compensation (farvekompensation) for LightCycler® 480 Instrument II

BEMÆRK: **PlexPCR®** Colour Compensation (farvekompensation)-sættet (kat. nr. 90001) skal køres og anvendes til LC480 II-analyse. Dette sæt kan leveres efter anmodning.

Til analyse ved hjælp af softwaren skal prøvenavnet for farvekompensationsreaktionerne mærkes som vist i **Tabel 47**.

Når cyklusprogrammet er færdigt, skal der eksporteres en .ixo- fil til analyse i **ResistancePlus®** MG (LC480) -analysesoftware.

Vælg **Export** (eksporter)

Gem den på et sted, der let kan identificeres, under navnet "**SpeedX PlexPCR**"

Tabel 47. Prøvenavn for farvekompensationsreaktioner for analysesoftware

Reactions (reaktioner)							
	BLANK (TOM)	488 mix (blanding)	510 mix	580 mix	610 mix	640 mix	660 mix
Dominant Channel (dominerende kanal)	Water (vand)	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660
Sample Name (prøvenavn)	BLANK (TOM)	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

19.3 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **ResistancePlus**® MG (LC480) analysesoftware. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 24** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus**® MG (LC480) analysesoftware anvendes.

20 Appendix 2: cobas z 480-analyser

Følgende oplysninger er baseret på cobas z 480-analyser Software (LightCycler 480 SW UDF 2.1.0). Kontakt din Roche-repræsentant for support i forbindelse med adgang til UDF-softwaren på din cobas z 480-analyser.

ResistancePlus® MG-sættet indeholder farvestoffer til cobas z 480-analyser. **PlexPCR®** Colour Compensation-sættet (Cat no 90001) skal køres og anvendes til z 480-analyse (se **afsnit 20.2**). Dette sæt kan leveres efter anmodning.

20.1 Programmering af cobas z 480-analyser

Detection Format (påvisningsformat)

Opret et brugerdefineret **Detection Format** (påvisningsformat)

Åbn **Tools (Værktøjer) > Detection Formats (påvisningsformater)**

Opret et nyt påvisningsformat og navn '**SpeedX PlexPCR**' (kan oprettes under genereringen af SpeedX Colour Compensation (farvekompensation)-fil) (se **Figur 10**).

For **Filter Combination Selection** (valg af filterkombination) vælges følgende (excitering-emission):

Tabel 48. Filterkombinationer[^]

z 480	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670

[^] Disse filterkombinationer er standardnavnene for kanalerne

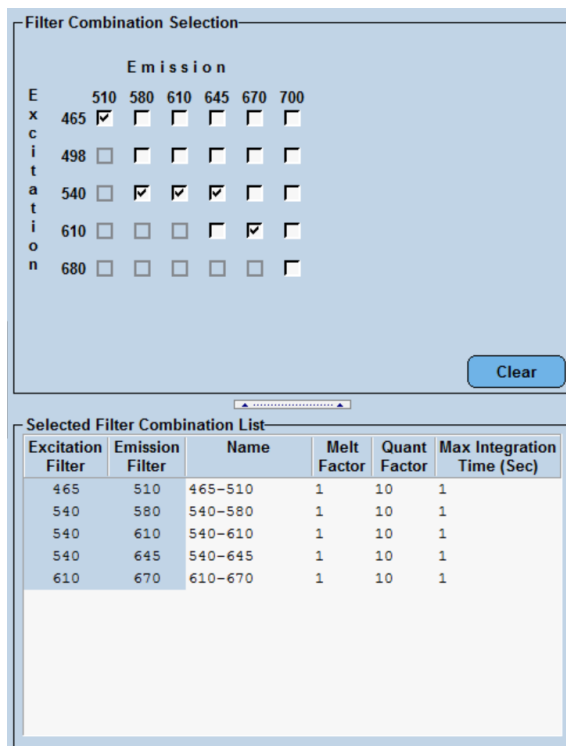
Sæt **Selected Filter Combination List** (listen over valgte filterkombinationer) for alle kanaler til:

Melt Factor (smeltefaktor): 1

Quant Factor (kvantefaktor): 10

Max Integration Time (sec) (maks. integrationstid (sek.)): 1

Figur 10. Brugertilpasset SpeedX-påvisningsformat



Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (Sec)
465	510	465-510	1	10	1
540	580	540-580	1	10	1
540	610	540-610	1	10	1
540	645	540-645	1	10	1
610	670	610-670	1	10	1

Instrument Settings (instrumentindstillinger)

Opret et brugerdefineret **Detection Format** (påvisningsformat)

Åbn **Tools (Værktøjer) > Instruments (instrumenter)**

For **Instrument Settings** (instrumentindstillinger) > vælges **Barcode Enabled** (stregkode aktiveret)

Experiment setup (opsætning af eksperiment)

Vælg **New Experiment** (nyt eksperiment)

På fanen **Run Protocol** (kør protokol)

Til **Detection Format** (påvisningsformat) vælges den brugertilpassede '**SpeedX PlexPCR**' (Figur 11)

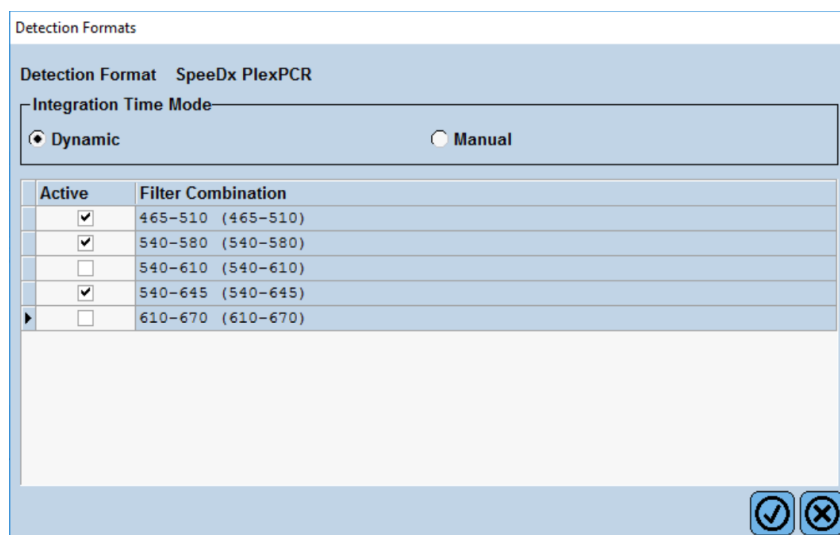
Vælg **Brugerdefineret >**

Vælg **Integration Time Mode** (tilstanden Integrationstid) > **Dynamic** (dynamisk)

Vælg følgende aktive **Filter Combinations** (filterkombinationer) vist i **Tabel 49**

Tabel 49. Kanaler til ResistancePlus® MG -mål		
<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation	Intern Control (intern kontrol)
465-510	540-580	540-645

Figur 11. Tilpas påvisningsformat



Active	Filter Combination
☒	465-510 (465-510)
☒	540-580 (540-580)
☐	540-610 (540-610)
☒	540-645 (540-645)
☐	610-670 (610-670)

For at aktivere automatisk prøvopåvisning i analysesoftware, tildel navnemærker til brøndene på pladen

Åbn **Sample Editor** (prøveditor)-modulet

Vælg en brønd

Rediger **Sample Name** (prøvenavn) til at matche navnemærker defineret i Assays-modulet i analysesoftware (se **afsnit 24.4**)

Prøverne mærkes som *Præfix_Suffix* (som vist i **Tabel 50** og **Figur 12**) f.eks. Pa_MG

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 50. Prøvenavnemærker til analysesoftware			
Prøvetype	Præfiks (i analysesoftware)	_Suffiks (i analysesoftware)	Sample name (prøvenavn) (i z 480)
Almindelig prøve	S	_MG	S_MG
Negativ kontrol	N	_MG	N_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figur 12. Sample Editor (prøveeditor) – Tildeling af navnemærker til brønde

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name	Quantification Sample Type
A12	465–510 (465)	Blue		S_MG	Unknown
A12	540–580 (540)	Blue		S_MG	Unknown
A12	540–645 (540)	Blue		S_MG	Unknown
B12	465–510 (465)	Red		Pa_MG	Unknown
B12	540–580 (540)	Red		Pa_MG	Unknown
B12	540–645 (540)	Red		Pa_MG	Unknown
C12	465–510 (465)	Green		Pb_MG	Unknown
C12	540–580 (540)	Green		Pb_MG	Unknown
C12	540–645 (540)	Green		Pb_MG	Unknown
D12	465–510 (465)	Orange		N_MG	Unknown
D12	540–580 (540)	Orange		N_MG	Unknown
D12	540–645 (540)	Orange		N_MG	Unknown

Indstil **Reaction Volume** (reaktionsvolumen) til > 20 µL

Opret følgende program (vist i nærmere detaljer i **Figur 13 - Figur 16**):

Tabel 51. Thermocycling Program (program for termocykling)				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp rate (°C/s) (rampefrekvens C/s)*
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	4.4
Touchdown cycling (sænkning af cykling) [⊖] : Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus	10	95°C	5 s (sek.)	4.4
		61°C – 56,5°C [⊖]	30 s	2.2
Kvantificeringscyklus ⁺ : Erhvervelse/registrering	40	95°C	5 s (sek.)	4.4
		52°C ⁺	40 s	2.2
Cooling (afkøling)	1	40°C	30 s	2.2

* Standard rampefrekvens (plade med 96 brønde)

[⊖] Trinstørrelse: -0,5°C/Cycle, Andet mål: 56°C

⁺ Analysetilstand: Kvantificering, Erhvervelsestilstand: Enkelt

Figur 13. Program for termocykling – Aktivering af polymerase

LightCycler® 480 SW - User Defined Workflow for cobas z 480

Instrument: 54735 / Not Connected Database: June2020 (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

Setup Detection Format SpeedX FlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

Programs

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Polymerase activation Temperature Targets

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figur 14. Thermocycling program (program for termocykling) – Touchdown cycling (sækning af cykling)

LightCycler® 480 SW - User Defined Workflow for cobas z 480

Instrument: 54735 / Not Connected Database: June2020 (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

Setup Detection Format SpeedX FlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

Programs

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Touchdown cycling Temperature Targets

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	56	0.5	0	0

Figur 15. Thermocycling program (program for termocykling) – Quantification cycling (kvantifikationscykling)

LightCycler® 480 SW - User Defined Workflow for cobas z 480

Instrument: 54735 / Not Connected Database: June2020 (Research) User: Speedx

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

Setup Detection Format SpeedX FlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

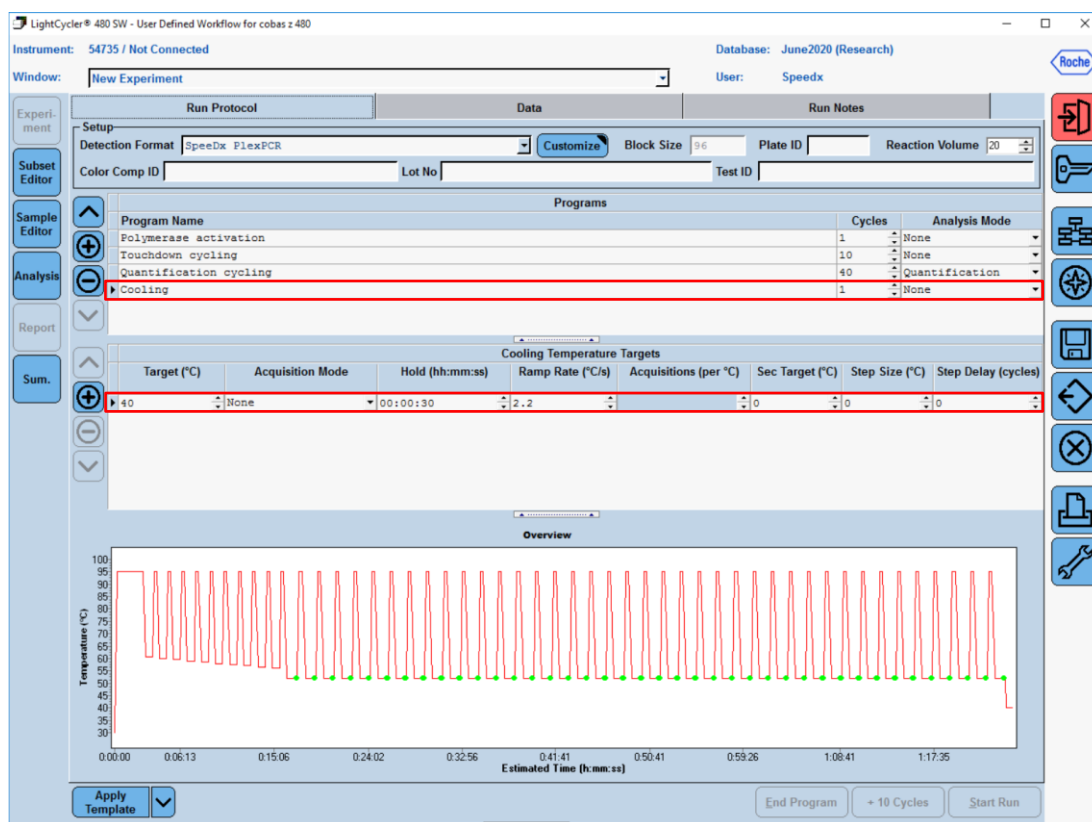
Programs

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

Quantification cycling Temperature Targets

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figur 16. Program for termocykling – Cooling (afkøling)



> Startforløb

Når cyklusprogrammet er færdigt, skal der eksporteres en .ixo- -fil til analyse i **ResistancePlus®** MG (z480) analysesoftware.

Vælg **Export** (eksporter)

Gem den på et sted, der let kan identificeres

20.2 Colour Compensation (farvekompensation) for cobas z 480-analyser

BEMÆRK: **PlexPCR®** Colour Compensation (farvekompensation)-sættet (kat. nr. 90001) skal køres og anvendes til z480-analyse. Dette sæt kan leveres efter anmodning.

Til analyse ved hjælp af softwaren skal prøvenavnet for farvekompensationsreaktionerne mærkes som vist i **Tabel 52**.

Når cyklusprogrammet er færdigt, skal der eksporteres en .ixo- -fil til analyse i **ResistancePlus®** MG (z480) analysesoftware.

Vælg **Export** (eksporter)

Gem den på et sted, der let kan identificeres, under navnet "**SpeedX PlexPCR**"

Tabel 52. Prøvenavn for farvekompensationsreaktioner for analysesoftware

Reactions (reaktioner)						
	BLANK (TOM)	510 mix	580 mix	610 mix	640 mix	660 mix
Dominant Channel (dominerende kanal)	Water (vand)	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670
Sample Name (prøvenavn)	BLANK (TOM)	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670

20.3 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **ResistancePlus[®]** MG (z480) analysesoftware. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 24** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus[®]** MG (z480) analysesoftware anvendes.

21 Appendix 3: Applied Biosystems® 7500 Fast

Følgende oplysninger er baseret på 7500 Software v2.3.

ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎-sættet indeholder farver til Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Der anvendes standardfarvekalibrationer til alle kanaler. Brugertilpasset kalibrering er ikke påkrævet.

21.1 Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast

Vælg **Advanced Setup** (avanceret opsætning)

I **Setup** (opsætning) > åbnes **Experiment Properties** (eksperimentegenskaber) og følgende vælges

Name the experiment (navngiv eksperimentet)

Instrument > 7500 Fast (96 brønde)

Type of experiment (eksperimenttype) > Quantitation (kvantificering) – Standard Curve (standardkurve)

Reagenser > Andre

Ramp Speed (rampehastighed) > Standard

I **Setup** (opsætning) > åbnes **Plate Setup** (opsætning af plade)

Under fanen **Define Targets and Samples** (definer mål og prøver) >

Define Targets (definer mål) som vist herunder (definer farver efter behov)

Tabel 53. Define Targets (definer mål)		
Target name (målnavn)	Reporter	Quencher (dæmpning)
MgPa	FAM	None (ingen)
23S rRNA-mutation	JOE	None (ingen)
IC	TAMRA	None (ingen)

For at aktivere automatisk prøvopvisning i analysesoftwaren skal der tildeles navnemærker til brøndene på pladen

I **Setup** (opsætning) > åbnes **Plate Setup** (opsætning af plade)

Under fanen **Define Targets and Samples** (definer mål og prøver) >

Define Samples (definer prøver)

Rediger **Sample Name** (prøvenavn) til at matche navnemærker defineret i Assays-modulet i analysesoftwaren (se **afsnit 24.4**)

Prøver mærkes med *Præfiks_Suffiks* (som vist i **Tabel 54** og **Figur 17**) f.eks. Pa_MG

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 54. Prøvenavnemærker til analysesoftware			
Prøvetype	Præfiks (i analysesoftware)	_Suffiks (i analysesoftware)	Sample name (prøvenavn) (i 7500 Fast)
Almindelig prøve	S	_MG	S_MG
Negativ kontrol	N	_MG	N_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figur 17. Sample Editor (prøveeditor) – Tildeling af navnemærker til brønde

Define Samples

Add New Sample

Add Saved Sample

Save Sample

Delete Sample

Sample Name

Pb_MG

S_MG

Pa_MG

N_MG

Under fanen **Assign Targets and Samples** (tildel mål og prøver) >

Vælg brønde, og tildel mål og prøver til de valgte brønde

Vælg **Passive reference** (passiv reference) > None (ingen)

Under **Setup** (opsætning) > Åbn **Run Method** (kørselsmetode)

Indstil **Reaktionsvolumen pr. brønd** > 20 µL

Opret følgende program (vist mere detaljeret i Graphical View (grafisk visning) (Figur 18 og Figur 19) og tabelvisning) **Figur 20**):

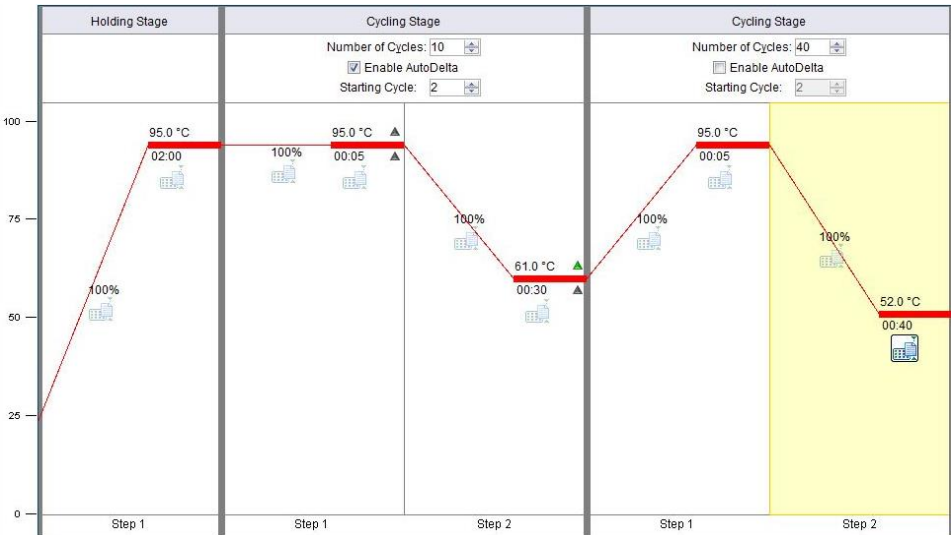
Tabel 55. Thermocycling Program (program for termocykling)				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp (rampe)*
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	100 %
Touch down cycling (sænkning af cykling): Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus [°]	10	95°C	5 s (sek.)	100 %
		61°C – 56,5°C [°]	30 s	100 %
Quantification cycling (kvantifikationscykling)*: Acquisition/Detection (opsamling/påvisning)	40	95°C	5 s (sek.)	100 %
		52°C ⁺	40 s	100 %

* Standard rampefrekvens

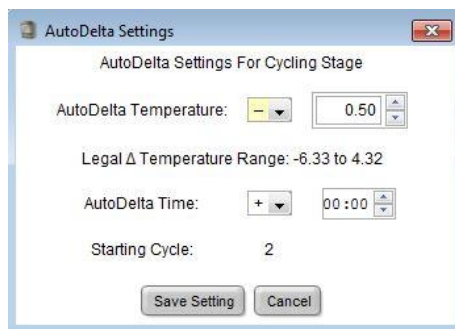
[°] Aktiver AutoDelta: -0,5°C/cyklus

⁺ Collect data on hold (indsaml tilbageholdte data)

Figur 18. Run Method (kørselsmetode) – Graphical View (grafisk visning)



Figur 19. Run method (kørselsmetode) – Graphical view (grafisk visning) – Enable AutoDelta (aktiver AutoDelta)



AutoDelta Settings For Cycling Stage

AutoDelta Temperature: 0.50

Legal Δ Temperature Range: -6.33 to 4.32

AutoDelta Time: 00:00

Starting Cycle: 2

Save Setting Cancel

Figur 20. Run method (kørselsmetode) – Tabular View (tabelvisning)

	Holding Stage	Cycling Stage		Cycling Stage	
		Number of Cycles: 10 ☒ Enable AutoDelta Starting Cycle: 2		Number of Cycles: 40 ☐ Enable AutoDelta Starting Cycle: 2	
Ramp Rate (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Temperature (°C)	95.0	95.0	61.0	95.0	52.0
Time	02:00	00:05	00:30	00:05	00:40
AutoDelta Temp		0.00	0.50		
AutoDelta Time		00:00	00:00		
Collect Data on Ramp					
Collect Data on Hold					
	Step 1	Step 1	Step 2	Step 1	Step 2

Under **Setup** (opsætning) > Åbn **Run Method** (kørselsmetode)

Vælg **Start Run** (start kørsel)

21.2 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **ResistancePlus®** MG (7500) analysesoftware. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 24** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus®** MG (7500) analysesoftware anvendes.

22 Appendix 4: Applied Biosystems 7500 Fast Dx

Følgende oplysninger er baseret på SDS Software v1.4.1 til 7500 Fast Dx.

ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎-sættet indeholder farver til Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast Dx. Der anvendes standardfarvekalibrationer til alle kanaler. Brugertilpasset kalibrering er ikke påkrævet.

22.1 Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Vælg Create New Document (opret nyt dokument)

I **New Document Wizard** (guiden nyt dokument) vælges følgende (**Figur 21**):

Assay > Standard Curve (standardkurve) (Absolute Quantification (absolut kvantificering))

Container (beholder) > 96-Well Clear

Template (skabelon) > Tomt dokument

Run mode (kørselstilstand) > Standard 7500

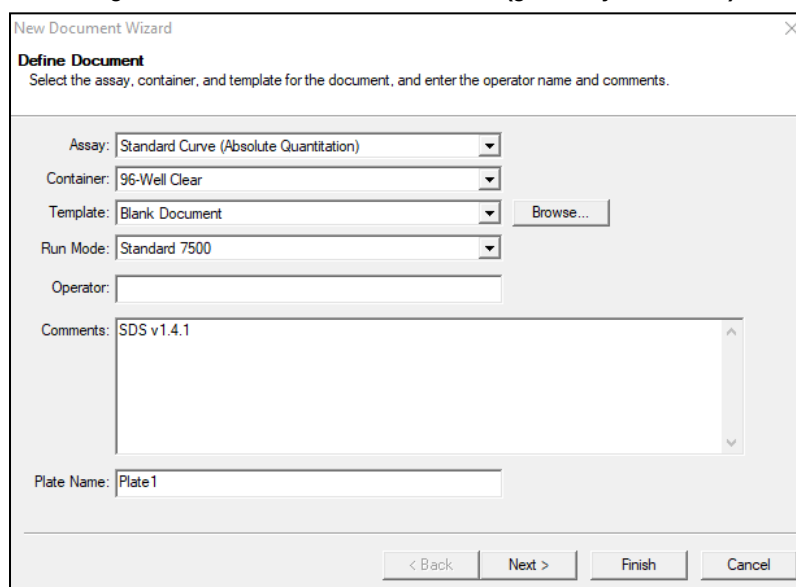
Operator (operatør) > Indtast operatørens navn

Comments (kommentarer) > Indtast eventuelle kommentarer eller yderligere bemærkninger til kørselsfilen

Plate Name (pladenavn) > Tildel et entydigt navn til kørselsfilen

Vælg **Next** (næste)

Figur 21. Vinduet New Document Wizard (guiden nyt dokument)



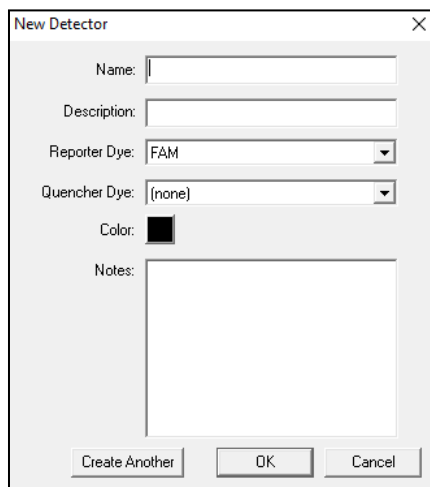
I **Select Detectors** (vælg detektorer) > vælg **New Detector** (ny detektor)

Definer detektorer som vist herunder (definer farver efter behov) (**Tabel 56** og **Figur 22**)

Tabel 56. Define detectors (definer detektorer)			
Detektorer	Detektornavn	Reporter dye	Quencher (dæmpning)
Detektor 1	MgPa	FAM	None (ingen)
Detektor 2	23S rRNA-mutation	JOE	None (ingen)
Detektor 3	IC	TAMRA	None (ingen)

Vælg **OK**

Figur 22. Vinduet Ny detektor



The 'New Detector' dialog box contains the following fields and controls:

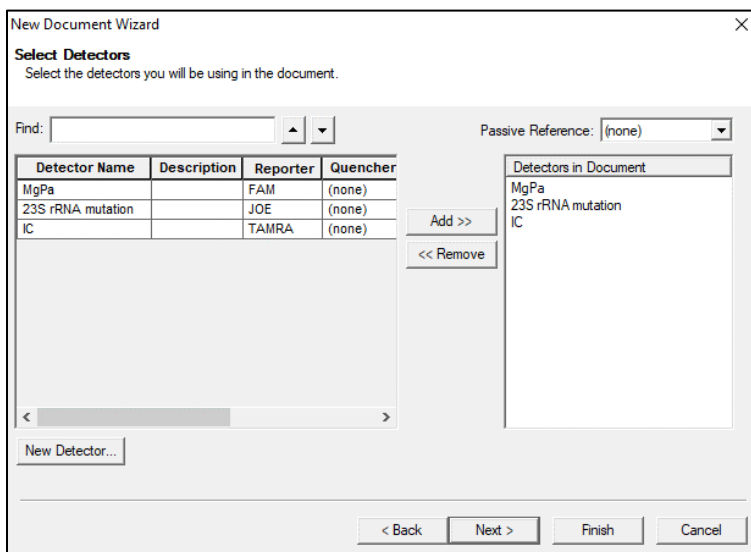
- Name: Text input field
- Description: Text input field
- Reporter Dye: Dropdown menu with 'FAM' selected
- Quencher Dye: Dropdown menu with '(none)' selected
- Color: Color selection button (black)
- Notes: Text area
- Buttons: 'Create Another', 'OK', and 'Cancel'

Vælg Detektorer (Figur 23)

Vælg detektorer, og **Add** (tilføj) til dokument

Vælg **Passive reference** (passiv reference) > **None** (ingen)

Figur 23. Vinduet Select Detectors (vælg detektorer)



The 'Select Detectors' dialog box includes the following elements:

- Find: Search input field
- Passive Reference: Dropdown menu with '(none)' selected
- Table of available detectors:

Detector Name	Description	Reporter	Quencher
MgPa		FAM	(none)
23S rRNA mutation		JOE	(none)
IC		TAMRA	(none)

- Buttons: 'Add >>' and '<< Remove' between the table and the 'Detectors in Document' list.
- Detectors in Document: List box showing 'MgPa', '23S rRNA mutation', and 'IC'.
- Buttons: '< Back', 'Next >', 'Finish', and 'Cancel' at the bottom.
- Link: 'New Detector...' at the bottom left.

I **Set Up** (opsæt) prøveplade >

Vælg brønde, og tildel 4 detektorer til de valgte brønde

- MgPa
- 23S rRNA-mutation
- IC

Vælg **Next** (næste)

For at aktivere automatisk prøvopvisning i analysesoftwaren, tildel navnemærker til brøndene på pladen

I **Setup** (opsæt) > Fanen **Plate** (plade)

Højreklik på brønden, og vælg **Well Inspector** (brøndinspektør) > Indtast **Sample Name** (prøvenavn)

Rediger **Sample Name** (prøvenavn) til at matche navnemærker defineret i Assays-modulet i analysesoftwaren (se **afsnit 24.4**)

Prøver mærkes med *Præfiks_Suffiks* (som vist i **Tabel 57** og **Figur 24**) f.eks. Pb_MG

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 57. Prøvenavnemærker til analysesoftware			
Prøvetype	Præfiks_ (i analysesoftware)	_Suffiks (i analysesoftware)	Sample name (prøvenavn) (i 7500 Fast Dx)
Almindelig prøve	S	_MG	S_MG
Negativ kontrol	N	_MG	N_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figur 24. Visningen Setup plate (opsæt plade) – Tildel navnemærker til brønde

Setup Plate				
	1	2	3	
A				
B		Pb_MG U U U		
C		Pa_MG U U U		
D		Pa_MG U U U		
E		S_MG U U U		
F		N_MG U U U		

Vælg **Next** (næste)

I fanen **Instrument**

I boksen **Settings** (indstillinger)

For **Sample Volume** (prøvevolumen) (µL): Indtast 20 µL

Opret følgende termocyklerprotokol (**Tabel 58** og **Figur 25** og **Figur 26**)

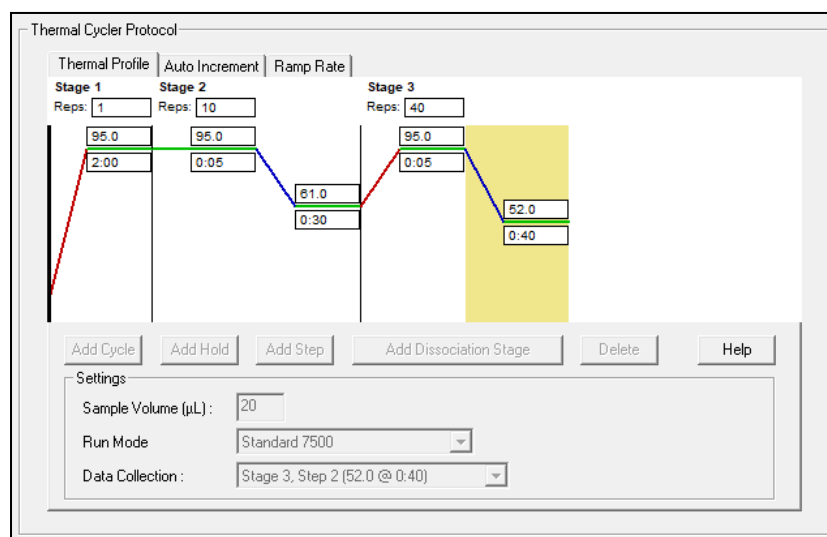
Tabel 58. Termocyklerprotokol				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp [‡]
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	100 %
Touch down cycling (sænkning af cykling): Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus [§]	10	95°C	5 s (sek.)	100 %
		61°C – 56,5°C [§]	30 s	100 %
Kvantificeringscyklus ⁺ : Erhvervelse/registrering	40	95°C	5 s (sek.)	100 %
		52°C ⁺	40 s	100 %

[‡] Standard rampefrekvens

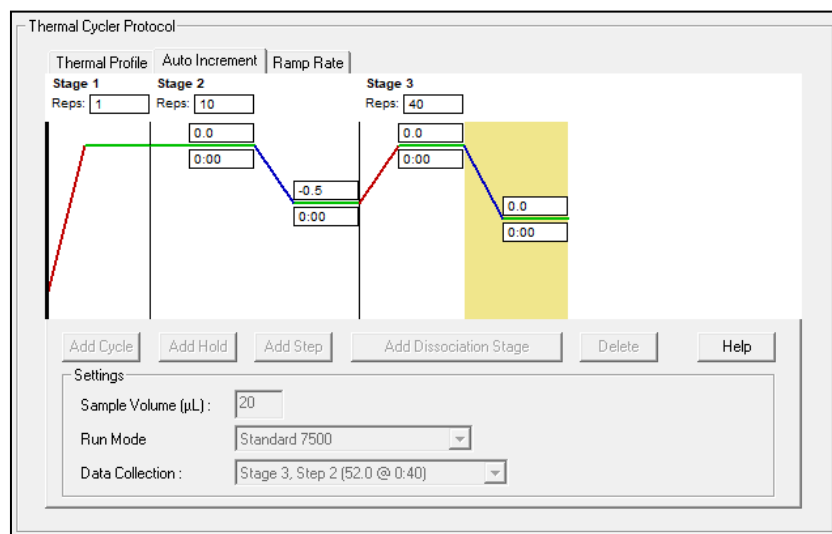
[§] Aktiver AutoDelta: -0,5°C/cyklus

⁺ Collect data on hold (indsaml tilbageholdte data)

Figur 25. Thermal cycler protocol (termocyklerprotokol) – Thermal profile (termisk profil)



Figur 26. Thermal cycler protocol (termocyklerprotokol) – Auto increment (automatisk forøgelse)



22.2 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **ResistancePlus**[®] MG (7500) analysesoftware. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 24** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus**[®] MG (7500) analysesoftware anvendes.

23 Appendix 5: Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-Time PCR System

Følgende oplysninger er baseret på Bio-Rad CFX Manager v3.1

ResistancePlus® MG₍₆₇₅₎-sættet indeholder farver til CFX96 Real-Time PCR System. Der anvendes standardfarvekalibrationer til alle kanaler. Brugertilpasset kalibrering er ikke påkrævet.

23.1 Programmering af CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-time PCR System

Vælg **View** (vis) > Åbn **Run Setup** (kørselsopsætning)

I **Run Setup** (kørselsopsætning) > fanen **Protocol** (protokol) > vælges **Create New** (opret ny)

I **Protokoleditor** (se Figur 27):

Indstil **Sample Volume** (prøvevolumen) > 20 µL

Opret følgende termocyklingsprogram, og gem det som '**SpeedX PCR**'. Denne protokol kan vælges til fremtidige kørsler.

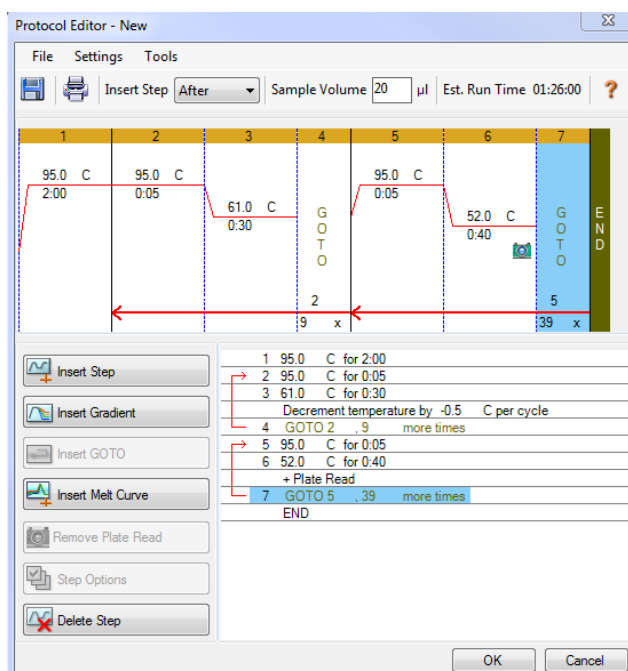
For Touch down-cykling skal man vælge trin 3 og vælge **Step options** (trinvalg) > Forøgelse: -0,5°C/cyklus (vist mere detaljeret i Figur 28).

Tabel 59. Thermocycling Program (program for termocyklings)			
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min
Touchdown cycling (sænkning af cykling) ^δ : Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus	10	95°C	5 s (sek.)
		61°C – 56,5°C ^δ	30 s
Kvantificeringscyklus ⁺ : Erhvervelse/registrering	40	95°C	5 s (sek.)
		52°C ⁺	40 s

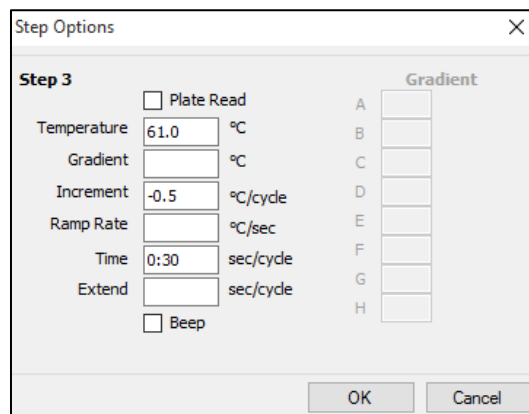
^δ Trinhandlinger > Forøgelse: -0,5°C/cyklus

⁺ Føj pladeaflysning til trin

Figur 27. Thermocycling Protocol – Graphical view (Protokol for termocyklings – grafisk visning)



Figur 28. Step options (trinvalgmuligheder)



I **Run Setup** (kørselsopsætning) > Fanen **Plate** (plade)

Vælg **Create New** (opret ny)

Vælg **Settings** (indstillinger) > **Plate Type** (pladetype) > Vælg **BR Clear** (BR klar)

Indstil **Scan mode** (scanningstilstand) > **All channels** (alle kanaler)

Vælg **Fluorophores** (fluoroforer) > FAM, HEX, Quasar 705 (se **Tabel 60**)

Vælg brønde, der indeholder prøver, tildel **Sample Type** (prøvetype), og afmærk **Load** (indlæs) for fluorofores (FAM, HEX, Quasar 705)

Gem pladen

Tabel 60. Kanaler til <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ -mål		
<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation	Intern control (intern kontrol)
FAM	HEX	Quasar 705

I **Run Setup** (kørselsopsætning) > Fanen **Start Run** (start kørsel)

Vælg en blok

Start Run (start kørsel)

For at aktivere automatisk prøvepåvisning i analysesoftwaren, tildel navnemærker til brøndene på pladen

Åbn modulet **Plate Setup** (pladeopsætning)

Vælg en brønd

Rediger **Sample Name** (prøvenavn) til at matche navnemærker defineret i Assays-modulet i analysesoftwaren (se **afsnit 24.4**)

Prøver mærkes med *Præfiks_Suffiks* (som vist i **Tabel 61** og **Figur 29**) f.eks. Pb_MG

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

Tabel 61. Prøvenavnemærker til analysesoftware			
Prøvetype	Præfiks_ (i analysesoftware)	Suffiks (i analysesoftware)	Sample name (prøvenavn) (i CFX96)
Almindelig prøve	S	_MG	S_MG
Negativ kontrol	N	_MG	N_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figur 29. Sample Editor (prøveeditor) – Tildeling af navnemærker til brønde

	1	2	3
A	Unk FAM HEX Quasar 705 S_MG		
B	Unk FAM HEX Quasar 705 Pa_MG		
C	Unk FAM HEX Quasar 705 Pb_MG		
D	Unk FAM HEX Quasar 705 N_MG		

23.2 Fortolkning af resultater

Datafortolkning kræver **ResistancePlus®** MG (CFX) analysesoftware. Analysesoftware kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Se **afsnit 24** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus®** MG (CFX) analysesoftware anvendes.

24 Appendix A: Resultatfortolkning

Datafortolkning kræver **ResistancePlus®** MG analysesoftware. Mens **PlexPrime®** primere giver højere specificitet end andre allel-specifikke primere, kan en vis ikke-specifik amplifikation fra 23S rRNA-mutationsassayet ses i prøver, der indeholder høje koncentrationer af *M. genitalium*-vildtype 23S rRNA. **ResistancePlus®** MG-analysesoftwaren automatiserer datafortolkningen af amplifikationsresultater og gør arbejdsflowet mere effektivt.

Se **Tabel 62** for den relevante analysesoftware til hvert realtids-PCR-instrument. Analysesoftwaren kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Tabel 62. ResistancePlus® MG-analysesoftware		
Kat. nr.	Analysis software (analysesoftware)*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus® MG (LC480)	LC480 II
99018	ResistancePlus® MG (z480)	z 480
99002	ResistancePlus® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus® MG (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch
99023	REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)	LC480 II
99024	REFLEX ResistancePlus® MG (z480)	z 480
99026	REFLEX ResistancePlus® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99025	REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

* Se websitet <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> for at sikre, at du bruger den nyeste version af analysesoftwaren

BEMÆRK: Følg standardlaboratoriepraksis for overførsel, rapportering og opbevaring af resultater for at forhindre tab af prøveoplysninger.

24.1 FastFinder-plattform – Minimums IT-krav

Analysesoftwaren er tilgængelig på FastFinder-plattformen (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Minimums IT-krav for installation af FastFinder-plattformen er opstillet nedenfor.

Krav til hardware

PC (Mac computere understøttes ikke)

Processor: 2 GHz, 2 GB RAM

Diskplads: 10Gb

Internetforbindelse Kabel eller DSL, proxy understøttes ikke

Min. skærmopløsning: 1366x768 pixels

Understøttet kundeoperativsystem

Operativsystem: Understøttede udgaver

Windows 10 32-bit og 64-bit

Windows 8.1 32-bit, 64-bit, og ARM

Windows 8 32-bit, 64-bit, og ARM

Windows 7 SP1 32-bit og 64-bit

Windows Vista SP2 32-bit og 64-bit

Understøttede browsere

Til FastFinder-brugere med administratorkonto kræves en af følgende browsere:

- Internet Explorer 11 eller nyere
- Microsoft Edge 25 eller nyere
- Firefox 45 eller nyere
- Google Chrome 47 eller nyere.

Det kan eventuelt køre på ældre versioner, men disse understøttes ikke officielt.

Softwarekrav

For at anvende FastFinder-softwaren kræves mindst .NET 4.6.1. Yderligere oplysninger om .NET framework findes på Microsoft Windows hjælpesider.

Antivirussoftware kan sætte FastFinder installationsprogrammet (UgenTec.FastFinder.Installer.exe) i karantæne. Tilføj denne fil til antivirus-hvidlisten. Eksempel: Symantec (Risk: WS.Reputation.1)

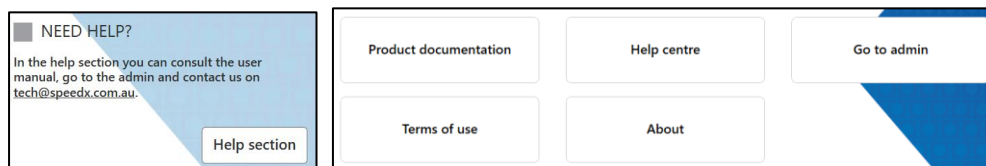
Krav til firewall

https-forbindelser bør tillades til *.fastfinderplatform.com:443

For yderligere detaljerede oplysninger om **FastFinder**-platformen, se **FastFinder-brugsanvisningen**, som findes under menuen **Hjælp**.

Sådan kommer du til hjælpemenuen

- Åbn startmenuen 
- Vælg  eller **Hjælpeafsnittet**, og vælg derefter **Produktdokumentation** efterfulgt af **Brugsanvisning**



24.2 Device set up (opsætning af enhed) (ny bruger eller ny enhed)

Se **FastFinder-brugsanvisningen** for detaljerede instruktioner i, hvordan enheden opsættes. Den er tilgængelig via menuen **Hjælp**
Åbn **FastFinder**

- Vælg **Enheder** på arbejdsflowlinjen
 - > Vælg **Add** (tilføj)
 - > Vælg en fil (kørselsfil) for den nye enhed
- Sådan ændres Current directory (aktuel mappe)
 - > Vælg **Browse** (gennemse), og vælg mappen med de relevante filer
 - > Vælg **Next** (næste)
- Tilføj oplysninger om enheden
 - > Vælg **Save** (gem)

24.2.1 Farvekomensation

BEMÆRK: Se **afanir 19.2** og **afanir 20.2** for yderligere oplysninger om Colour Compensation (farvekomensation)

For **LC480 II** og **z 480**-enheder skal der være tilføjet en farvekomensationsfil til enheden

- Vælg LC480 II eller z 480-enheden
 - > I afsnittet **Colour Compensation** (farvekomensation) vælges 

- > Vælg farvekompensationsfilen for enheden fra mappen
- Sådan ændres Current directory (aktuel mappe)
 - > Vælg **Browse** (gennemse), og vælg mappen med de relevante filer
- Vælg **Next** (næste)
- Vælg **ResistancePlus MG (LC480)**, **ResistancePlus MG (z480)**, **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)** eller **REFLEX ResistancePlus MG (z480)** fra listen for at linke til dette assay
- Vælg **Save** (gem)

Nye eller yderligere Colour Compensation (farvekompensation)-filer kan føjes til en enhed eller deaktiveres efter behov.

I afsnittet Colour Compensation (farvekompensation) for enheden

- Vælg ud for filnavnet 
- Vælg  for at aktivere eller deaktivere en farvekompensationsfil for et assay
- Vælg **Save** (gem)

24.3 Assay-plug-in (ny bruger)

Se **FastFinder-brugsanvisningen** for detaljerede instruktioner i, hvordan assays opsættes. Den er tilgængelig via menuen **Hjælp**

Åbn **FastFinder**

- Vælg **Assays** på arbejdsflowlinjen
- Vælg **Add** (tilføj)
 - > For LC480 II > Vælg **ResistancePlus MG (LC480)** fra listen
 - > For z 480 > Vælg **ResistancePlus MG (z480)** fra listen
 - > For 7500 Fast og 7500 Fast Dx > Vælg **ResistancePlus MG (7500)** fra listen
 - > For CFX96 Dx og CFX96 Touch > Vælg **ResistancePlus MG (CFX)** fra listen
 - > Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i z 480 (reflex-workflow)> Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)** fra listen
 - > Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i z 480 (reflex-workflow)> Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)** fra listen
 - > Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i 7500 Fast og 7500 Fast Dx (reflex-workflow)> Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)** fra listen
 - > Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i CFX96 Dx og CFX96 Touch (reflex-workflow)> Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)** fra listen
- Vælg **Add** (tilføj)

Aktivering eller deaktivering af versioner af assay-plug-in'en

- I General assay information (generelle assayoplysninger)
 - > Vælg  Versions (versioner)
 - > Vælg  for at aktivere eller deaktivere assayversionen
 - > Vælg **Save** (gem)

24.4 Navngivning af prøver

Der kan tildeles prøvenavnemærker til en assay-plug-in med henblik på at automatisere påvisning af brønde og prøvetyper til analyse.

Vælg **Assays** på arbejdsflowlinjen

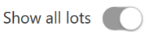
- Vælg under Prøvetypes navnemærker (præfiks) 
 - > Vælg  for tilføje et navnemærke til at angive prøve-type-navnemærker (negativ kontrol, positiv kontrol/s og almindelig prøve)
 - > Tilføj et ønsket ord, akronym eller bogstav i tekstfeltet
 - > Vælg **Save** (gem)
- Vælg under Blandingsdefinitions navnemærker (suffiks) 
 - > Vælg  for at tilføje et navnemærke til at definere blandingsnavnet
 - > Tilføj et ønsket ord, akronym eller bogstav i tekstfeltet
 - > Vælg **Save** (gem)
- Tildel samme navnemærke til de relevante brønde i instrumentsoftwaren (før eller efter kørslen er gennemført)
 - > For **LC480 II**, se **afsnit 19** eller for vejledning i programmering af prøvenavnemærker i kørselsfilen
 - > For **z 480** se **afsnit 20** for vejledning i programmering af prøvenavnemærker i kørselsfilen
 - > For **7500 Fast** se **afsnit 21** for vejledning i programmering af prøvenavnemærker i kørselsfilen
 - > For **7500 Fast Dx** se **afsnit 22** for vejledning i programmering af prøvenavnemærker i kørselsfilen
 - > For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** se **afsnit 23** for vejledning i programmering af prøvenavnemærker i kørselsfilen

BEMÆRK: Prøvenavnemærker skelner mellem store og små bogstaver. Navnemærker skal nøjagtigt matche dem, der er tildelt i kørselsfilen.

24.5 Tilføjelse af lotnumre for blandinger

Lotnumre for blandinger kan tildeles til assayet for at muliggøre reagensers sporbarhed

- Vælg **Assays** på arbejdsflowlinjen
 - > I **Assay Lot**: Vælg  for at tilføje et nyt lot, eller vælg  for at redigere et eksisterende lot
 - > Når lotnumrene er tilføjet, vil de blive tilgængelige i analysemodulet

Vælg   for at få vist alle lotnumre eller kun aktive lotnumre

24.6 Analyse

Vælg **Analyses** (analyser) i arbejdsflowlinjen for at starte en ny analyse

1 Select datafile

Søg efter den fil, der skal uploades til analyse fra en angiven mappe

- Sådan ændres **Current directory** (aktuel mappe)
 - > Vælg **Browse** (gennemse), og vælg mappen med de relevante filer
- Vælg kørsels (data)-filen fra listen
 - > Vælg **Next step** (næste trin)

2 Assign assay(s)

Tildel assayoplysningerne til pladen manuelt, hvis navngivning af prøver ikke er blevet opsat i modulet Assays

- For **LC480 II** > Vælg **ResistancePlus MG (LC480)**
- For **z 480** > Vælg **ResistancePlus MG (z480)**

- For **7500 Fast** og **7500 Fast Dx** > Vælg **ResistancePlus MG (7500)**
- For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **ResistancePlus MG (CFX)**
- Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i **LC480** (reflex-workflow) > Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)**
- Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i **z 480** (reflex-workflow) > Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)**
- Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i **7500 Fast** og **7500 Fast Dx** > Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)**
- Til analyse af prøver ekstraheret uden IC i **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)**
- Vælg brønde, og tildel dem som:
 - > Almindelig prøve (S)
 - > Negativ kontrol (N)
 - > Positiv kontrol (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)
 - > Positiv kontrol (MG, 23S rRNA vildtype) (Pb)
- Vælg **Next step** (næste trin)

Gemning af pladelayout som skabelon til fremtidig brug

- Vælg brønde, og tildel prøvetyper
 - > Vælg  for at gemme en skabelon
- Angiv skabelonnavn til fremtidig brug
 - > Vælg **Save** (gem)

Indlæsning af en tidligere gemt pladeskabelon

- Vælg  for at indlæse en pladeskabelon
 - > Vælg skabelon fra rullemenuen
 - > Markér feltet for at indlæse prøvetyper, der er angivet inden for pladeskabelonen
 - > Vælg **Load** (indlæs)

3 Configure assay(s)

- For **LC480 II** > Vælg **ResistancePlus MG (LC480)**
 - > Vælg den relevante farvekompensationsfil fra rullemenuen
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- For **z 480** > Vælg **ResistancePlus MG (z480)**
 - > Vælg den relevante farvekompensationsfil fra rullemenuen
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- For **7500 Fast** og **7500 Fast Dx** > Vælg **ResistancePlus MG (7500)**
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**

- For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **ResistancePlus MG (CFX)**
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- Til prøver ekstraheret uden IC (reflex-workflow) i **LC480 II** > Vælg **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)**
 - > Vælg den relevante farvekompensationsfil fra rullemenuen
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- Til prøver ekstraheret uden IC (reflex-workflow) i **z 480** > Vælg **REFLEX ResistancePlus MG (z480)**
 - > Vælg den relevante farvekompensationsfil fra rullemenuen
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- For prøver ekstraheret uden IC (reflex-workflow) i **7500 Fast** og **7500 Fast Dx** > Vælg **REFLEX ResistancePlus MG (7500)**
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**
- For prøver ekstraheret uden IC (reflex-workflow) i **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **REFLEX ResistancePlus MG (CFX)**
 - > Vælg **Assay Lot** fra rullemenuen
 - > Vælg **Analysér**

24.7 Resultater

Se **Tabel 63** for en oversigt over mulige rapporterede prøveresultater.

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

Sådan afklares eventuelle uklare resultater 

- Vælg fanen **Resolve** (afklar)
- Vælg prøven, der skal afklares
- Gennemse amplifikationskurver for uklare resultater
 - > Vælg for at indtegne en referencekurve på grafen
 - > Vælg for at indtegne en positiv kontrol på grafen
 - > Vælg for at indtegne en negativ kontrol på grafen
 - > Vælg ☒ for at bekræfte det foreslåede resultat, eller vælg  en anden valgmulighed
- Bekræft som **Negative** (negativt) eller **Inconclusive** (inkonklusivt), og tilføj bemærkninger

BEMÆRK: Ved inkonklusive prøver gentages ekstrahering og test én gang. Hvis prøveresultatet fortsat er inklusivt, skal der indsamles en ny prøve til gentagen test.

For at færdiggøre analysen og forhindre yderligere brugerredigeringer

- > Vælg **Authorise Analysis** (godkend analyse)
- > Vælg **Yes** (ja) for at bekræfte
- Sådan afvises eller genstartes en analyse
 - > Vælg **Restart Analysis** (genstart analyse) eller **Reject Analysis** (afvis analyse)
 - > Vælg valgmuligheden for at bekræfte

24.8 Referencekurve

En referencekurve kan gemmes og bruges til at sammenligne med prøver på den samme plade eller på tværs af forskellige plader

- Vælg den ønskede prøve i menuen **Brøndoplysninger** eller **Måloplysninger**
- I menuen for amplifikationsgrafene > Vælg 
 - > Vælg afkrydsningsfeltet for kanalen af interesse, og tilføj en etiket
 - > Vælg **Save** (gem) for at tilføje et signal som referencekurve

Referencekurven vil nu blive vist som tilknyttet assayet i menuen Assays og kan når som helst inaktiveres.

24.9 Oversigt over resultater

	Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier [^]	Samlede resultater
	A1	Prøve 1	ResistancePlus MG	Negativ	KANAL C: 25.31	Prøve 1 - Negativ M. M. genitalium ikke påvist, IC gyldig
	A2	Prøve 2	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 13.35 KANAL B: 24.22 KANAL C: 24.36	Prøve 2 - Positiv M. genitalium påvist, 23S rRNA mutation ikke påvist
	A3	Prøve 3	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 23.32 KANAL B: 31.64	Prøve 3 – Positiv M. genitalium påvist, 23S rRNA mutation ikke påvist
	A4	Prøve 4	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 21.32 KANAL B: 23.22 KANAL C: 24.30	Prøve 4 – positiv M. genitalium, 23S rRNA mutation påvist
	A5	Prøve 5	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 23.16 KANAL B: 24.31	Prøve 5 – positiv M. genitalium, 23S rRNA mutation påvist
	A6	Prøve 6	ResistancePlus MG	Ugyldig	KANAL C: 35.02	Prøve 6 - Ugyldig IC ugyldig, gentag test ¹
⚠	A7	Prøve 7 (Markeret til afklaring)	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 26.27 KANAL B: 28.11 ² KANAL C: 28.92	Prøve 7 - Positiv ² M. genitalium, 23S rRNA mutation påvist
🟡	A7	Prøve 7 (Afklar som inkonklusiv)	ResistancePlus MG	Ugyldig	KANAL A: 26.27 KANAL C: 28.92	Prøve 7 - Ugyldig ³ Inkonklusivt resultat, gentag testen ¹
	B2	Pa (Mutantpositiv kontrol)	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 25.01 KANAL B: 24.23	Pa - Positiv Positiv kontrol gyldig
	B3	Pb (Vildtype positiv kontrol)	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 25.90	Pb - Positiv Positiv kontrol gyldig
	B4	N (Negativ kontrol)	ResistancePlus MG	Negativ	KANAL C: 26.25	N - Negativ Negativ kontrol gyldig

[^] Se **Tabel 12** for kanalnavne for forskellige instrumenter

¹ Ved ugyldige og inkonklusive IC-prøver gentages ekstrahering og test

² En prøve med usikker Cq markeres til afklaring med ⚠

³ En prøve afklaret som værende inkonklusiv markeres med 🟡

24.10 Eksport af resultater

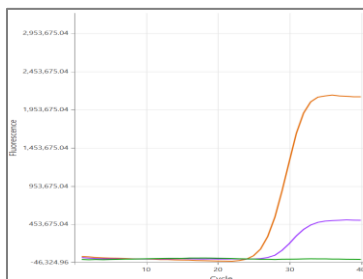
- Eksport af resultater
 - > Vælg **Exports** (eksporter) på arbejdsflowlinjen
 - > Eksporter en eller flere af følgende rapporttyper: **Cq-værdiliste (CSV)**, **Resultater (CSV)**, **Generisk amplifikation CSV** eller den relevante LIS-integrationsfil.
 - > Vælg **Exports** (eksporter)
- Download af eksporter
 - > Vælg **Reports** (rapporter) i arbejdsflowlinjen
 - > Vælg filerne, og gem dem
- Som alternativ kan der eksporteres en brugertilpasset rapport
 - > Eksporter **Amplification Curve Analysis (PDF)** (analyse af amplifikationskurve (PDF))
 - > Vælg de oplysninger, der ønskes inkluderet (grafer, auditspor, resultatoversigt)

- > Vælg de ønskede rapportindstillinger for at brugerdefinere prøverækkefølgen
- Vælg **Exports** (eksporter)
 - > Åbn den i **Report Viewer** (rapportvisning) for at vise, gemme og udskrive

24.11 Eksempel på grafer for kontrol

I de følgende eksempler vises amplifikationskurverne (baselinekorrigerede amplifikationskurver) og resultatoversigten fra **ResistancePlus MG (7500)**-analysesoftwaren for de forskellige kontrolprøvetyper.

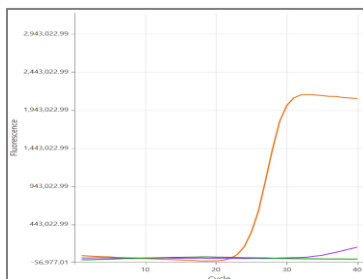
24.11.1 *M. M genitalium*, 23S rRNA-mutantkontrol (Pa)



KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
B1	Pa	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 26.36 KANAL B: 27.38	Pa - Positiv Positiv kontrol gyldig

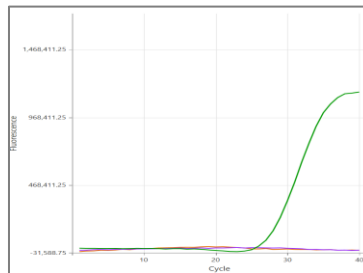
24.11.2 *M. M genitalium*, 23S rRNA-vildtypekontrol (Pb)



KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
D12	Pb	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 24.30 KANAL B: 34.29	Pb - Positiv Positiv kontrol gyldig

24.11.3 *M. genitalium*-negativ kontrol (N) (negativ prøve)



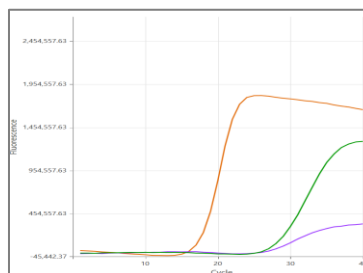
KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
D12	N	ResistancePlus MG	Negativ	KANAL C: 27.65	N - Negativ Negativ kontrol gyldig

24.12 Eksempler

I de følgende eksempler vises amplifikationskurverne (baselinekorrigerede amplifikationskurver) og resultatoversigten fra **ResistancePlus MG (7500)**-analysesoftwaren for forskellige prøver.

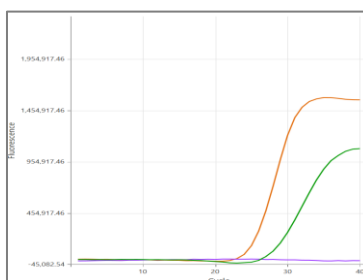
24.12.1 Eksempel 1. Høj kopi *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtypeprøve



KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
D2	Prøve 12	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 16.34 KANAL B: 26.59 KANAL C: 26.00	Prøve 12 - Positiv M. genitalium påvist, 23S rRNA mutation ikke påvist

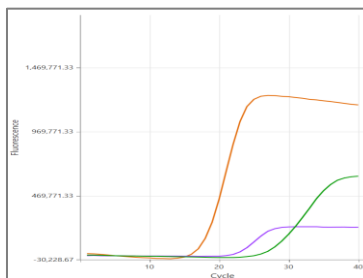
24.12.2 Eksempel 2. Lav kopi *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtypeprøve



KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
F1	Prøve 6	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 29.90 KANAL C: 28.11	Prøve 6 – positiv M. genitalium påvist, 23S rRNA mutation ikke påvist

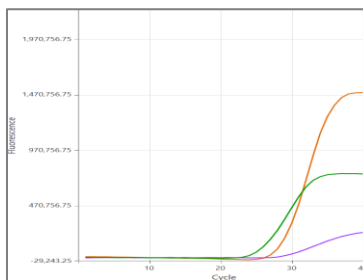
24.12.3 Eksempel 3. Høj kopi *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantprøve



KANAL A KANAL B KANAL C

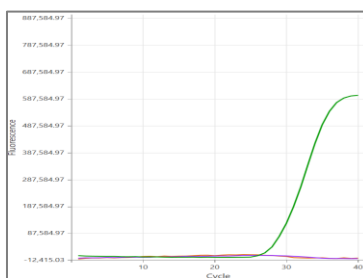
Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
G3	Prøve 9	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 18.08 KANAL B: 22.31 KANAL C: 28.03	Prøve 9 – Positiv M. genitalium, 23S rRNA mutation påvist

24.12.4 Eksempel 4. Lav kopi *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantprøve



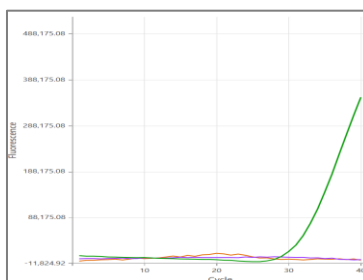
KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
E3	Prøve 21	ResistancePlus MG	Positiv	KANAL A: 29.08 KANAL B: 29.23 KANAL C: 26.13	Prøve 21 - Positiv M. genitalium, 23S rRNA mutation påvist

24.12.5 Eksempel 5. Negativ prøve

KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
E3	Prøve 73	ResistancePlus MG	Negativ	KANAL C: 29.23	Prøve 73 - Negativ M. M. genitalium ikke påvist, IC gyldig

24.12.6 Eksempel 6. Ugyldig prøve

KANAL A KANAL B KANAL C

Brønd	Navn	Assay	Resultat	Cq-værdier	Samlede resultater
E3	Prøve 35	ResistancePlus MG	Ugyldig	KANAL C: 31.16	Prøve 35 - Ugyldig IC invalid, repeat test (IC ugyldig, gentag test)

I dette eksempel er IC-signalet uden for kanalens cut-off-værdi. Ved IC ugyldig-prøver gentages ekstrahering og test.

24.12.7 Eksempel 7. Prøver der skal afklares – negativt signal

I dette eksempel er KANAL B (JOE) markeret til afklaring, og softwaren foreslår, at prøven er negativ (**Figur 30**).

Figur 30. Prøver der skal afklares som set i analysesoftwarens afklaringsmenu

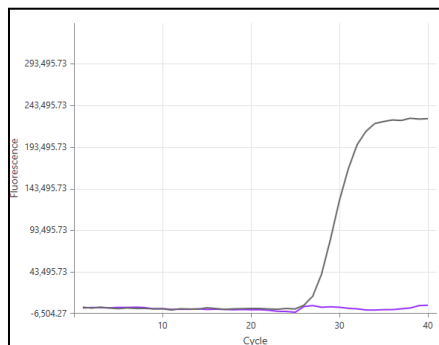
	Target	Channel	Cq	Curve result	Info	
	MgPa	FAM	21.32	Positive 	M. genitalium detected	
	23S rRNA mutation	JOE	—	Negative  	Mutant not detected	
	IC	TAMRA	27.31	Positive 		

For at bestemme, hvordan afklaringen skal foretages, kan der indtegnes en anden prøve eller kontrol til signalsammenligning

- Vælg for at indtegne en positiv referencekurve (tidligere gemt) for KANAL B (JOE)
- Vælg for at indtegne en positiv kontrol fra kørslen

- Vælg for at indtegne en negativ kontrol fra kørslen

KANAL B



Ved eftersyn af amplifikationskurverne (vist herover) ses det, at der ikke er nogen amplifikation i kanalen.

Resultatet afklares ved at vælge ☒ -ikonet for at bekræfte softwarens forslag om en negativ prøve. Det løste resultat vises i **Figur 31** nedenfor.

Figur 31. Afklaret resultat som set i analysesoftwarens afklaringsmenu

Target	Channel	Cq	Result	Info	
MgPa	FAM	21.32	Positive	M. genitalium detected	
23S rRNA mutation	JOE	—	Negative	Mutant not detected	
IC	TAMRA	27.31	Positive		

24.12.8 Eksempel 8. Prøver der skal afklare – Inkonklusivt signal

I dette eksempel er KANAL B (JOE) markeret til afklaring, og softwaren foreslår, at prøven er positiv (**Figur 32**).

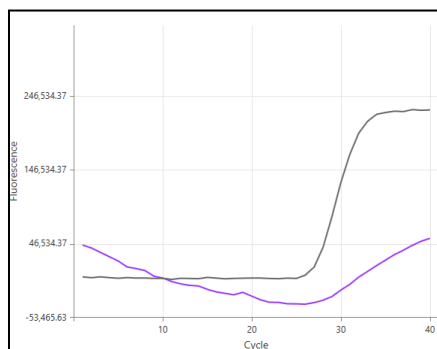
Figur 32. Prøver der skal afklares som set i analysesoftwarens afklaringsmenu

	Target	Channel	Cq	Curve result	Info	
	MgPa	FAM	26.27	Positive 	M. genitalium detected	
	23S rRNA mutation	JOE	28.11	Positive  	Mutant detected	
	IC	TAMRA	28.92	Positive 		

For at bestemme, hvordan afklaringen skal foretages, kan der indtegnes en anden prøve eller kontrol til signalsammenligning

- Vælg **Ref** for at indtegne en positiv referencekurve (tidligere gemt) for KANAL B (JOE)
- Vælg **P** for at indtegne en positiv kontrol fra kørslen
- Vælg **N** for at indtegne en negativ kontrol fra kørslen

KANAL B



Ved eftersyn af amplifikationskurverne (vist herover) er der potentiel amplifikation i kanalen.

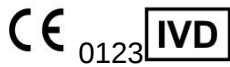
Det anbefales at afklare til inkonklusivt ved at vælge -ikonet og vælge Inconclusive (inkonklusivt) i rullemenuen. Kommentarer kan tilføjes i prøvens auditspor. Prøven skal ekstraheres og testes igen. Det løste resultat vises i **Figur 33** nedenfor.

Se **Tabel 63**, prøve 7, for hvordan resultaterne vises før og efter afklaring i fanen **Results Overview** (resultatoversigt).

Figur 33. Afklaret resultat som set i analysesoftwarens afklaringsmenu

	Target	Channel	Cq	Result	Info	
	MgPa	FAM	26.27	Positive	M. genitalium detected	
	23S rRNA mutation	JOE	28.11	Inconclusive	Mutant detected	
	IC	TAMRA	28.92	Positive		

25 Ordliste



Europæisk konformitet
Til *in vitro*-diagnostisk brug



Katalognummer



Batchkode



Fabrikantens bemyndigede
Repræsentant i Det
Europæiske Fællesskab



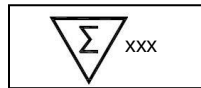
Fabrikant



Fremstillingsdato



Temperaturbegrænsning



Indeholder tilstrækkeligt
xxx bestemmelser



Anvendes inden



Europæisk importør



Storbritanniens
overensstemmelsesmærke

SpeedX-produkter kan dækkes af en eller flere lokale eller udenlandske patenter. Se www.plexpcr.com/patents for udførlig patentinformation.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] og **PlexZyme**[®] er varemærker tilhørende SpeedX. Andre ophavsrettigheder og varemærker tilhører de respektive ejere.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.