



ResistancePlus[®] MG

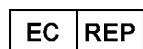
Realtime multiplex-PCR-assay voor de identificatie van *Mycoplasma genitalium* en de detectie van mutaties die met resistentie tegen azitromycine worden geassocieerd



| Product | Platform | Aantal (reacties) | Catalogusnr. |
|---|---|----------------------|----------------------|
| 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 |

Bijbehorende producten – 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 Den Haag
Nederland



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

UITSLUITEND VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK

Niet te koop in de VS

Inhoud

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | Productbeschrijving..... | 5 |
| 2 | Beoogd gebruik..... | 5 |
| 3 | Informatie over de pathogenen..... | 5 |
| 4 | Inhoud van de kit..... | 6 |
| 5 | Verzending en opslag..... | 7 |
| 6 | Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen..... | 8 |
| 6.1 | Algemeen..... | 8 |
| 6.2 | Laboratorium..... | 8 |
| 6.3 | Monsterverwerking..... | 8 |
| 6.4 | Test..... | 8 |
| 6.5 | Veiligheidsmaatregelen..... | 8 |
| 6.6 | Test-plug-ins: Waarschuwingen/voorzorgsmaatregelen/beperkingen..... | 8 |
| 7 | Geassocieerde producten en verbruiksartikelen..... | 9 |
| 8 | Principe van de technologie..... | 11 |
| 9 | Overzicht procedure..... | 13 |
| 10 | Gedetailleerde procedure..... | 14 |
| 10.1 | Afname, transport en opslag van monsters..... | 14 |
| 10.1.1 | Gevalideerde hulpmiddelen voor het afnemen van monsters..... | 14 |
| 10.1.2 | Correcte afname, transport en opslag van urine..... | 14 |
| 10.1.3 | Afname, transport en opslag van uitstrijkjes..... | 14 |
| 10.1.4 | Multi-Collect-monsterafnamekit (Abbott, cat. nr. 9K12-01) afname, transport en opslag..... | 14 |
| 10.1.5 | Aptima®-urineverzamelkit (Hologic, cat. nr. 301040) verzameling, transport en opslag..... | 15 |
| 10.1.6 | Aptima® Multitest-afnamekit voor uitstrijkjes (Hologic, cat. nr. PRD-03546) afname, transport en opslag..... | 15 |
| 10.1.7 | DeltaSwab ViCUM® 2 mL + standaard flocced wattenstaafje (Deltalab, cat. nr. 304278), afname, transport en opslag 15 | 15 |
| 10.1.8 | Vacumed®-urineverzamelkit zonder conserveermiddel (FL medical, cat. nr. 44950), afname, transport en opslag... 16 | 16 |
| 10.1.9 | Regular FLOQSwab™ in 1 mL UTM™-medium (Copan cat. nr. 359C), afname, transport en opslag..... 16 | 16 |
| 10.1.10 | Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190), afname, transport en opslag..... 16 | 16 |
| 10.1.11 | Gevalideerde monsterextracten..... 16 | 16 |
| 10.2 | Monsterverwerking..... 16 | 16 |
| 10.3 | Interne Controle (IC)..... 17 | 17 |
| 10.3.1 | Interne controle op de MagNA Pure 96..... 17 | 17 |
| 10.3.2 | Interne controle op de MICROLAB STARlet IVD..... 17 | 17 |
| 10.3.3 | Interne controle op de QIASymphony® SP..... 18 | 18 |
| 10.3.4 | Interne controle op de easyMAG®..... 18 | 18 |
| 10.4 | Vorbereiding van realtime PCR..... 19 | 19 |
| 10.4.1 | Bereiding van mastermix..... 20 | 20 |
| 10.4.2 | Stabiliteit van de mastermix..... 20 | 20 |
| 10.5 | Vorbereiding van PCR met geëxtraheerde nucleïnezuren (reflexworkflow)..... 20 | 20 |
| 11 | Programmering en analyse..... 21 | 21 |
| 12 | Interpretatie van de resultaten..... 22 | 22 |
| 13 | Beperkingen..... 23 | 23 |
| 14 | Kwaliteitscontrole..... 23 | 23 |

| | | |
|--------|---|----|
| 15 | Gebruikshandleiding <i>ResistancePlus</i> [®] MG Positive Control | 24 |
| 15.1 | Gebruikshandleiding..... | 24 |
| 16 | Prestatiekarakteristieken | 25 |
| 16.1 | Klinische prestaties | 25 |
| 16.1.1 | Klinisch onderzoek 1 | 25 |
| 16.1.2 | Klinisch onderzoek 2 | 27 |
| 16.1.3 | Klinisch onderzoek 3 | 27 |
| 16.1.4 | Klinisch onderzoek 4 | 29 |
| 16.1.5 | Klinisch onderzoek 5 | 30 |
| 16.1.6 | Klinisch onderzoek 6 | 31 |
| 16.1.7 | Klinisch onderzoek 7 | 32 |
| 16.2 | Klinische prestaties | 33 |
| 16.2.1 | Reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid..... | 33 |
| 16.2.2 | Analytische gevoeligheid | 36 |
| 16.2.3 | Analytische specificiteit..... | 36 |
| 16.2.4 | Mogelijk storende substanties..... | 37 |
| 16.2.5 | Kruisreactiviteit met andere 23S-rRNA-mutaties | 39 |
| 17 | Klantondersteuning en technische ondersteuning | 39 |
| 18 | Referenties | 40 |
| 19 | Bijlage 1: LightCycler [®] 480 instrument II..... | 41 |
| 19.1 | Het LightCycler [®] 480 Instrument II (LC480 II) programmeren | 41 |
| 19.2 | Colour Compensation (kleurcompensatie) voor LightCycler [®] 480 Instrument II..... | 45 |
| 19.3 | Interpretatie van de resultaten | 46 |
| 20 | Bijlage 2: cobas z 480 analyser..... | 47 |
| 20.1 | De cobas z 480 analyser programmeren | 47 |
| 20.2 | Colour Compensation (kleurcompensatie) voor cobas z 480 analyser | 51 |
| 20.3 | Interpretatie van de resultaten | 52 |
| 21 | Bijlage 3: Applied Biosystems [®] 7500 Fast | 53 |
| 21.1 | De Applied Biosystems [®] 7500 Fast programmeren | 53 |
| 21.2 | Interpretatie van de resultaten | 55 |
| 22 | Bijlage 4: Applied Biosystems 7500 Fast Dx | 56 |
| 22.1 | De Applied Biosystems [®] 7500 Fast Dx programmeren | 56 |
| 22.2 | Interpretatie van de resultaten | 60 |
| 23 | Bijlage 5: Bio-Rad CFX96 [™] Dx en CFX96 Touch [™] Real-Time PCR System | 61 |
| 23.1 | De Bio-Rad CFX96 [™] Dx en CFX96 Touch [™] Real-Time PCR System programmeren..... | 61 |
| 23.2 | Interpretatie van de resultaten | 63 |
| 24 | Bijlage A: Interpretatie van de resultaten..... | 64 |
| 24.1 | FastFinder-platform - Minimum IT-vereisten | 64 |
| 24.2 | Device set up (instellingen apparaat) (nieuwe gebruiker of nieuw apparaat) | 65 |
| 24.2.1 | Colour Compensation (kleurcompensatie) | 65 |
| 24.3 | Plug-in voor assays (nieuwe gebruiker) | 66 |
| 24.4 | Monsternaamgeving..... | 67 |
| 24.5 | Mixpartijnummers toevoegen..... | 67 |

| | | |
|---------|---|----|
| 24.6 | Analyse | 67 |
| 24.7 | Resultaten | 69 |
| 24.8 | Referentiecurve | 70 |
| 24.9 | Overzicht van de resultaten | 71 |
| 24.10 | Resultaten exporteren | 71 |
| 24.11 | Voorbeeldgrafieken controles | 72 |
| 24.11.1 | <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutantcontrole (Pa) | 72 |
| 24.11.2 | <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-wildtypecontrole (Pb) | 72 |
| 24.11.3 | <i>M. genitalium</i> -negatieve controle (N) (negatief monster) | 73 |
| 24.12 | Voorbeelden | 73 |
| 24.12.1 | Voorbeeld 1. High copy <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-wildtype monster | 73 |
| 24.12.2 | Voorbeeld 2. Low copy <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-wildtype monster | 73 |
| 24.12.3 | Voorbeeld 3. High copy <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutantmonster | 74 |
| 24.12.4 | Voorbeeld 4. Low copy <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutantmonster | 74 |
| 24.12.5 | Voorbeeld 5. Negatief monster | 74 |
| 24.12.6 | Voorbeeld 6. Ongeldig monster | 75 |
| 24.12.7 | Voorbeeld 7. Op te schonen monsters – Negatief signaal | 75 |
| 24.12.8 | Voorbeeld 8. Op te schonen monsters – Onzeker signaal | 76 |
| 25 | Woordenlijst | 78 |

1 Productbeschrijving

De **ResistancePlus**[®] MG-kit detecteert tegelijkertijd *M. genitalium* en 4 mutaties op posities 2058 en 2059 in het 23S-rRNA-gen (*E. coli*-nummering) die verband houden met resistentie tegen azitromycine (een macrolide antibioticum). De **ResistancePlus**[®] MG-kit is een 1-well realtime PCR multiplex bestaande uit 3 uitlezingen. Uitlezing 1 geeft de aan- of afwezigheid aan van *M. genitalium* door detectie van het MgPa-gen; uitlezing 2 geeft de aanwezigheid aan van een A2058G-, A2059G-, A2058T- of A2058C-mutatie in het 23S-rRNA-gen; en uitlezing 3 is een interne controle om de extractie-efficiëntie en qPCR-remming te monitoren. De **ResistancePlus**[®] MG-kit gebruikt **PlexZyme**[®] en **PlexPrime**[®] voor specificiteit en superieure multiplexingcapaciteit. De test is gevalideerd op monsters die zijn geëxtraheerd met behulp van het MagNA Pure 96 System (Roche), MICROLAB STARlet IVD (Hamilton), QIASymphony[®] SP (QIAGEN), NUCLISENS[®] easyMAG[®] (Biomérieux) en realtime detectie op de volgende apparaten: het Roche LightCycler[®] 480 Instrument II (LC480 II), de Cobas z 480-analyser (z480), de Applied Biosystems[®] 7500 Fast (7500 Fast), de Applied Biosystems[®] 7500 Fast Dx (7500 Fast Dx), de Bio-Rad CFX96[™] Dx (CFX96 Dx) en de CFX96 Touch[™] (CFX96 Touch) realtime PCR-detectiesystemen.

2 Beoogd gebruik

De **ResistancePlus**[®] MG-kit is een kwalitatieve, multiplexed, *in-vitro* diagnostische realtime PCR-test voor de identificatie van *M. genitalium* en detectie van 4 mutaties in het 23S-rRNA-gen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C, nummering *Escherichia coli*) die verband houden met resistentie tegen azitromycine (een macrolide antibioticum). Het is bedoeld als hulpmiddel bij de diagnose van *M. genitalium* en detecteert mutaties die verband houden met resistentie tegen azitromycine in *M. genitalium* en moet worden gebruikt in combinatie met klinische en andere laboratoriuminformatie.

De **ResistancePlus**[®] MG-kit kan worden gebruikt met de volgende typen monsters: urine van mannen en vrouwen en vaginale uitstrijkjes van symptomatische en asymptomatische patiënten.

Negatieve resultaten sluiten infecties met *M. genitalium* niet uit en bieden geen bevestiging van de genetische gevoeligheid voor azitromycine, aangezien er andere mechanismen kunnen zijn voor het falen van de behandeling.

De **ResistancePlus**[®] MG-kit is bedoeld voor gebruik in professionele omgevingen zoals ziekenhuizen of referentie- of staatslaboratoria. De kit is niet bedoeld voor zelftesten, thuisgebruik of gebruik op een zorglocatie.

3 Informatie over de pathogenen

M. genitalium is een kleine bacterie die voorkomt in de urinewegen van de mens. *M. genitalium* wordt in verband gebracht met een reeks seksueel overdraagbare aandoeningen (soa's). Bij mannen is het de op één na meest voorkomende oorzaak van niet-gonokokken-urethritis (NGU) en wordt het ook in verband gebracht met prostatitis, epididymitis en balanoposthitis, ontsteking van de eikel en voorhuid¹. Bij vrouwen is *M. genitalium* geassocieerd met cervicitis, inflammatoire aandoeningen van het bekken, inclusief endometritis (ontsteking van het baarmoederslijmvlies) en salpingitis (ontsteking van de eileiders)^{1,2,3}.

Azitromycine wordt vaak gebruikt voor de behandeling van *M. genitalium* en voor de syndroombehandeling van soa's zoals NGU en cervicitis. Azitromycine behoort tot de klasse van macrolide antibiotica en werkt door binding aan het 23S-rRNA om zo de eiwitsynthese te remmen. Puntmutaties in het 23S-rRNA-gen van *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C en A2059C (*E. coli*-nummering) worden in verband gebracht met het falen van de behandeling en/of *in-vitro* resistentie tegen azitromycine^{4,5}. De meest voorkomende mutaties zijn A2058G en A2059G, die in een recent onderzoek 89% van de macrolideresistentiemutaties uitmaakten⁶.

4 Inhoud van de kit

| Tabel 1. Inhoud van <i>ResistancePlus</i> ® MG-kits | | | | |
|---|-------------------------------------|---|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Kleur van de dop | Inhoud | Omschrijving | Cat. nr. 20001L-01 (100 reacties) | Cat. nr. 2000125 (25 reacties) |
| Blauw | <i>Plex</i> Mastermix, 2x | Mastermix met componenten die nodig zijn voor qPCR, waaronder dNTP's, MgCl ₂ , DNA-polymerase en buffer | 1 x 1 mL | 1 x 250 µL |
| Bruin | MG+23S Mix, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van <i>M. genitalium</i> en 23S-rRNA-mutaties | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Wit | Controlemix 1, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controletest voor LC480 II en z 480 | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Rood | Interne controlecellen [#] | Interne controlecellen met DNA-template voor interne controle om de extractie- en amplificatie-efficiëntie te monitoren | 1 x 500 µL | 1 x 100 µL |
| Neutraal | Nucleasevrij water | Water van PCR-kwaliteit | 1 x 1 mL | 1 x 1 mL |

[#] Bewaar reageerbuizen voor de templates apart van oligomixen, d.w.z. in de verwerkingsruimte voor templates of nucleïnezuren

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primerparen (inclusief *PlexPrime*®-primers), *PlexZyme*®-enzymen en fluorescentieprobe

| Tabel 2. Inhoud van <i>ResistancePlus</i> ® MG ₍₅₅₀₎ -kits | | | | |
|---|-------------------------------------|--|------------------------------------|-----------------------------------|
| Kleur van de dop | Inhoud | Omschrijving | Cat. nr. 2000201 (100 reacties) | Cat. nr. 2000225 (25 reacties) |
| Blauw | <i>Plex</i> Mastermix, 2x | Mastermix met componenten die nodig zijn voor qPCR, waaronder dNTP's, MgCl ₂ , DNA-polymerase en buffer | 1 x 1 mL | 1 x 250 µL |
| Bruin | MG+23S Mix, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van <i>M. genitalium</i> en 23S-rRNA-mutaties | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Wit | Controlemix 2, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controletest voor 7500 Fast en 7500 Fast Dx | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Rood | Interne controlecellen [#] | Interne controlecellen met DNA-template voor interne controle om de extractie- en amplificatie-efficiëntie te monitoren | 1 x 500 µL | 1 x 100 µL |
| Neutraal | Nucleasevrij water | Water van PCR-kwaliteit | 1 x 1 mL | 1 x 1 mL |

[#] Bewaar reageerbuizen voor de templates apart van oligomixen, d.w.z. in de verwerkingsruimte voor templates of nucleïnezuren

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primerparen (inclusief *PlexPrime*®-primers), *PlexZyme*®-enzymen en fluorescentieprobe

Tabel 3. Inhoud van *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎-kits

| Kleur van de dop | Inhoud | Omschrijving | Cat. nr. 2000301 (100 reacties) | Cat. nr. 2000325 (25 reacties) |
|------------------|-------------------------------------|--|------------------------------------|-----------------------------------|
| Blauw | <i>Plex</i> Mastermix, 2x | Mastermix met componenten die nodig zijn voor qPCR, waaronder dNTP's, MgCl ₂ , DNA-polymerase en buffer | 1 x 1 mL | 1 x 250 µL |
| Bruin | MG+23S Mix, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van <i>M. genitalium</i> en 23S-rRNA-mutaties | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Wit | Controlemix 3, 20x | Mix met oligonucleotiden [^] voor amplificatie en detectie van de interne controletest voor CFX96 Dx en CFX96 Touch | 1 x 100 µL | 1 x 25 µL |
| Rood | Interne controlecellen [#] | Interne controlecellen met DNA-template voor interne controle om de extractie- en amplificatie-efficiëntie te monitoren | 1 x 500 µL | 1 x 100 µL |
| Neutraal | Nucleasevrij water | Water van PCR-kwaliteit | 1 x 1 mL | 1 x 1 mL |

[#] Bewaar reageerbuizen voor de templates apart van oligomixen, d.w.z. in de verwerkingsruimte voor templates of nucleïnezuren

[^] Oligonucleotiden zijn PCR-primerparen (inclusief *PlexPrime*[®]-primers), *PlexZyme*[®]-enzymen en fluorescentieprobe

5 Verzending en opslag

- De onderdelen van de *ResistancePlus*[®] MG-kits worden op droogijs of ijsgelpakketten verzonden. Alle onderdelen moeten bij ontvangst worden bewaard bij -25°C tot -15°C bij ontvangst. Geadviseerd wordt om het aantal vries- en ontdooicycli te beperken tot 15.
- Wanneer de kit onder de aanbevolen omstandigheden wordt bewaard en op de juiste wijze wordt behandeld, blijft deze werkzaam tot de op het etiket vermelde uiterste gebruiksdatum. Niet gebruiken na de uiterste gebruiksdatum.
- Elk ernstig incident moet worden gemeld bij SpeedX door contact op te nemen met tech@speedx.com.au

6 Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

6.1 Algemeen

- Uitsluitend voor *in-vitro* diagnostisch gebruik.
- Lees voor gebruik deze gebruikshandleiding zorgvuldig door. Volg de beschreven procedures zorgvuldig om de betrouwbaarheid van de testresultaten te garanderen. Elke afwijking van deze procedures kan de testresultaten beïnvloeden.
- Gebruikers moeten goed opgeleid zijn in het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG-test.
- Elk ernstig incident moet worden gemeld bij de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

6.2 Laboratorium

- Geadviseerd wordt om de voorbereiding/extractie van de monsters, de voorbereiding van de mastermix, het toevoegen van monsters en de thermocycling in ruimtelijk gescheiden ruimtes uit te voeren. Op z'n minst dient het PCR-apparaat zich bij voorkeur in een andere ruimte te bevinden dan de ruimtes waar de reacties worden voorbereid.
- Geadviseerd wordt om alle routinematige laboratoriumvoorzorgsmaatregelen toe te passen. Draag de juiste persoonlijke beschermingsmiddelen zoals handschoenen, oogbescherming en een laboratoriumjas bij het werken met reagentia.
- In medische monsters kunnen pathogene organismen aanwezig zijn. Behandel alle biologische monsters als mogelijk infectieus en pas de in uw instelling geldende veiligheidsprocedures voor het werken met chemicaliën en biologische monsters toe.
- Volg de in uw instelling geldende procedures voor het verwijderen van gevaarlijk afval voor de juiste verwijdering van monsters, reagentia en andere mogelijk besmette materialen.

6.3 Monsterverwerking

- Monsters moeten worden afgenomen, vervoerd en opgeslagen gebruikmakend van standaard laboratoriumtechnieken of volgens de instructies van de afnamekit.

6.4 Test

- Standaard voorzorgsmaatregelen om contaminatie van PCR-reacties te voorkomen omvatten het gebruik van steriele filterpipetpunten, het gebruik van een nieuwe pipetpunt voor elke pipetteerhandeling en het scheiden van de verschillende werkzaamheden.
- PCR-testen zijn gevoelig voor contaminatie door eerdere PCR-producten. Open nooit de reageerbuisjes nadat de PCR voltooid is.
- Testreagentia bevatten IDTE-buffer die ernstige oogirritatie kan veroorzaken. Geadviseerd wordt om de test in een goed geventileerde ruimte te gebruiken en de juiste persoonlijke beschermingsmiddelen te dragen, zoals handschoenen, oogbescherming en een laboratoriumjas bij het verwerken van reagentia.

6.5 Veiligheidsmaatregelen

- Safety data sheets (SDS) zijn beschikbaar op verzoek. Neem contact op met tech@speedx.com.au voor meer informatie.

6.6 Test-plug-ins: Waarschuwingen/voorzorgsmaatregelen/beperkingen

- De software van SpeedX kan alleen de analyse van de door de testkit gegenereerde ruwe gegevens verwerken als deze wordt gebruikt met het bijbehorende PCR-apparaat. De software controleert niet de voorbereiding van de monsters, de reacties, de programmering van de apparatuur of het toedienen van behandelingen.
- Gebruikers moeten goed opgeleid zijn in het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG-analysesoftware en de toegang dient te worden beperkt tot elke toegewezen individuele gebruiker.
- Geadviseerd wordt om gebruikersauthenticatie en cyberbeveiligingscontroles zoals antivirussoftware of het gebruik van een firewall toe te passen voor het IT-systeem en de infrastructuur die gebruikmaakt van de software.
- Neem bij ontdekking van een cyberbeveiligingsincident, zoals onbevoegde toegang en ransomware-aanvallen, contact op met tech@speedx.com.au voor verdere ondersteuning.

7 Geassocieerde producten en verbruiksartikelen

Positief controlemateriaal

- **ResistancePlus**[®] MG positieve controlekit (SpeedX, Cat. nr. 95001)

Algemene laboratoriumverbruiksartikelen

- Handschoenen en schone laboratoriumjassen
- Vortexmixer
- Tafelcentrifuge voor reageerbuisjes van 0,5 mL en 1,5 mL
- Micropipetapparaten
- Steriele aerosolbestendige pipetpunten
- 0,5 mL-buisjes en 1,5 mL-buisjes (PCR-kwaliteit)
- 2,0 mL-buisjes (voor voorverdunding van interne controlecellen)

Voor MagNA Pure 96 Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (buisje voor interne controle) (Roche, catalogusnr. 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (klein volume-kit) (Roche, catalogusnr. 06543588001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume Kit (groot volume-kit) (Roche, catalogusnr. 06374891001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (external) (vloeistof voor externe controle) (Roche, catalogusnr. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (verwerkingspatroon) (Roche, catalogusnr. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 µL (Zuivere tip 1000uL) (Roche, catalogusnr. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Resultatenplaat (Roche, catalogusnr. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Zuivere afdichtfolie) (Roche, Catalogusnr. 06241638001)

Voor MICROLAB STARlet Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- STARMag 96 X 4 Universal Cartridge (384T)-kit (Seegene, catalogusnr. 744300.4.UC384)
- 2,0 mL buisjes

Voor het QIASymphony[®] SP-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- Monsterpreparaatpatronen, 8-wells (Qiagen, catalogusnr. 997002)
- 8-draadsafdekkingen (Qiagen, catalogusnr. 997004)
- Filtertips, 200 µL en 1500 µL (Qiagen, catalogusnr. 990332 en 997024)
- 2 mL buisjes (Sarstedt, catalogusnr. 72.639 of 72.694)
- 14 mL polystyreenbuisjes (Corning, catalogusnr. 352051)
- DSP Virus/Pathogen Mini-kit (QIAGEN, catalogusnr. 937036)

Voor NucliSENS® easyMAG®-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS - 1x met fosfaat gebufferde zoutoplossing)
- NucliSENS® easyMAG® lysis-buffer 4X1L (Biomerieux, catalogusnr. 280134)
- NucliSENS® easyMAG® lysis-buffer 2ML 48T (Biomerieux, catalogusnr. 200292)
- NucliSENS® easyMAG® magnetisch silica (Biomerieux, catalogusnr. 280133)
- NucliSENS® easyMAG® extractiebuffer 1 (Biomerieux, catalogusnr. 280130)
- NucliSENS® easyMAG® extractiebuffer 2 (Biomerieux, catalogusnr. 280131)
- NucliSENS® easyMAG® extractiebuffer 3 (Biomerieux, catalogusnr. 280132)
- NucliSENS® easyMAG® artikelen voor eenmalig gebruik (Biomerieux, catalogusnr. 280135)

Voor het LightCycler® 480 Instrument II en de cobas z 480 analyser

- **PlexPCR®** Colour Compensation (CC)-kit (kleurcompensatiekit) (SpeedX, catalogusnr. 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (96-wells plaat) (Roche, catalogusnr. 04729692001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (afdichtfolie) (Roche, catalogusnr. 04729757001)

Voor Applied Biosystems® 7500 Fast en 7500 Fast Dx

- MicroAmp® optische 96-well reactieplaten (ThermoFisher Scientific, catalogusnr. 4316813)
- MicroAmp® Optical Adhesive Film (optisch hechtfolie) (ThermoFisher Scientific, catalogusnr. 4360954)

Voor Bio-Rad CFX96™ Dx en CFX96 Touch™ real-time PCR-detectiesysteem

- Multiplate™ 96-well PCR plates (96-wells-platen) (Bio-Rad, catalogusnr. MLP9601)
- Microseal® 'B' PCR Plate Sealing Film (afdichtfilm), zelfklevend, optisch (Bio-Rad, catalogusnr. MSB1001)

Hulpmiddelen voor monsterverzameling

- Multi-Collect-monsterkit (Abbott, Cat. nr. 9K12-01)
- Aptima® urinemonsterkit (Hologic, Cat. nr. 301040)
- Aptima® uniseks monsterkit met wattenstaafje (Hologic, Cat. nr. 301041)
- DeltaSwab ViCUM® 2 mL + standaard wattenstaafje (Deltalab, Cat. nr. 304278)
- Vacumed® urine zonder conserveringsmiddel (FL medical, Cat. nr. 44950)
- Regular FLOQSwab™ in 1 mL UTM™-medium (Copan Cat. nr. 359C)
- cobas® PCR-medium (Roche, Cat. nr. 06466281190)

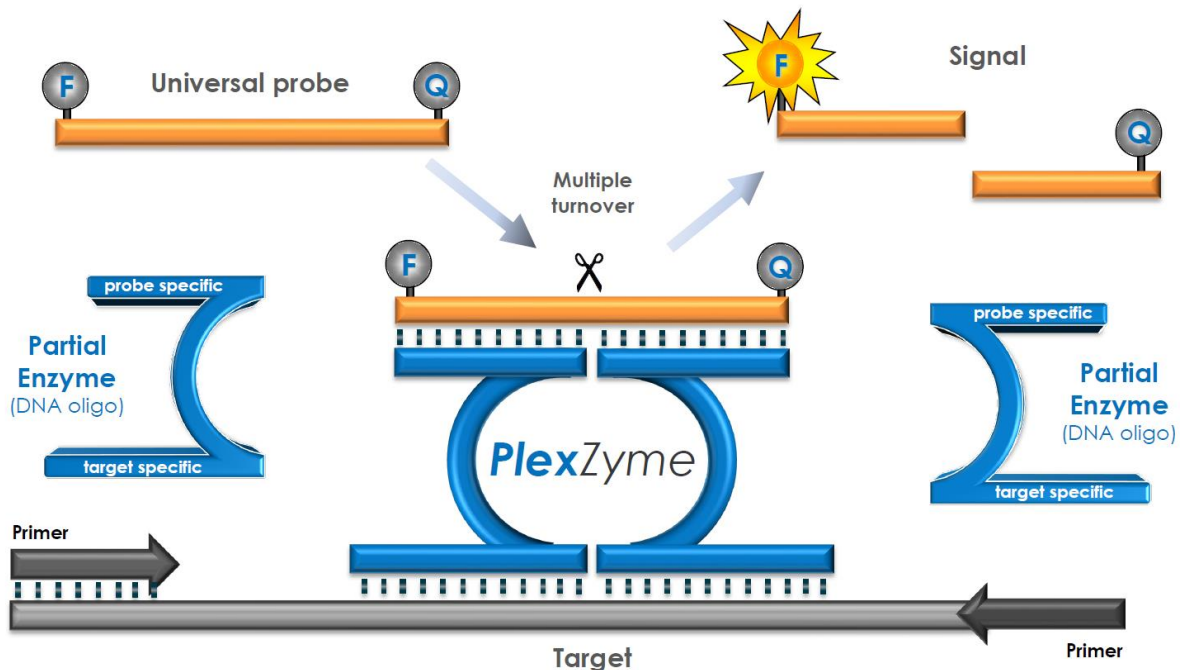
8 Principe van de technologie

Realtime PCR (qPCR) kan worden toegepast om specifieke nucleïnezuren van pathogenen te amplificeren en te detecteren. **PlexPCR[®]** is een qPCR-technologie die gebruikmaakt van **PlexZyme[®]**-enzymen die het geamplificeerde product detecteren en weergeven door het genereren van een fluorescentiesignaal (**Afbeelding 1**). **PlexPrime[®]**-primers voor specifieke amplificatie van gemuteerde sequenties, die gekoppeld zijn aan mutantspecifieke **PlexZyme[®]**-detectie (**Afbeelding 2**).

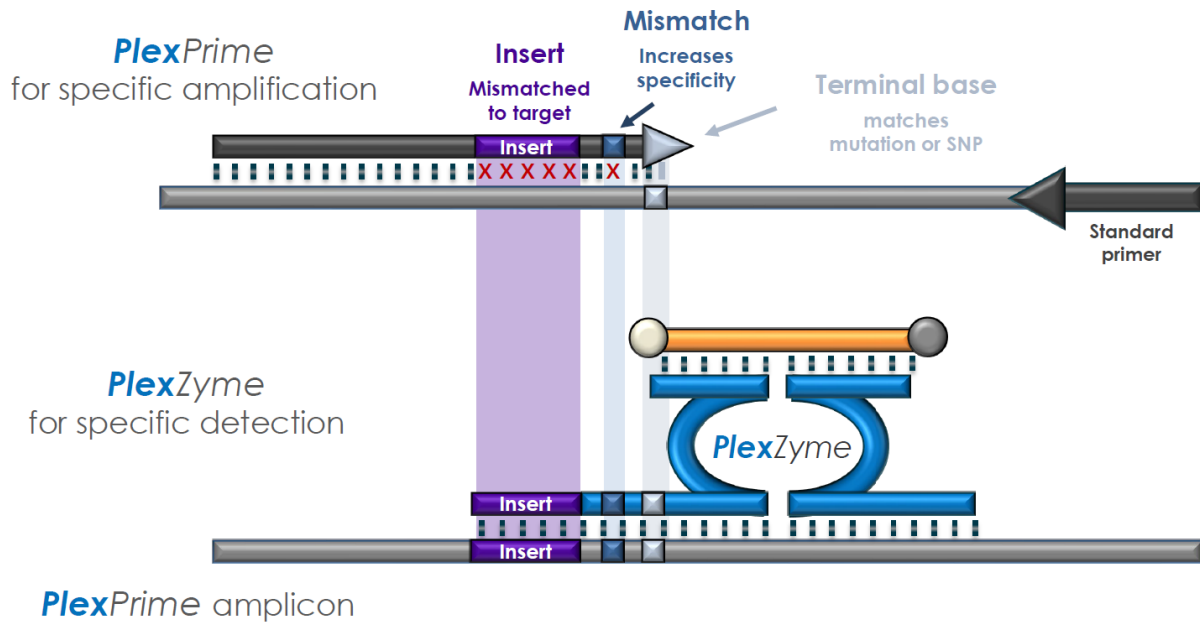
PlexZyme[®]-enzymen zijn katalytische DNA-complexen die bestaan uit twee DNA-oligo's die worden aangeduid als "Partial Enzymes". Elk Partial Enzyme heeft een doelspecifiek gebied, een katalytische kern en een universeel probebindend gebied. Als het doelproduct aanwezig is, vormen de twee Partial Enzymes een verbinding om zo het actieve **PlexZyme[®]** te vormen dat de katalytische activiteit heeft om een gelabelde probe te splitsen. Door de splitsing worden de fluorofore en de quencherkleurstoffen van elkaar gescheiden, waardoor een fluorescentiesignaal wordt geproduceerd dat in realtime kan worden gemeten. **PlexZyme[®]**-enzymen hebben een extra specificiteit in vergelijking met alternatieve detectietechnieken, omdat er twee Partial Enzymes nodig zijn om een verbinding te maken voor de detectie. **PlexZyme[®]**-enzymen zijn ook enzymen met een meervoudige turnover, en tijdens elke PCR-cyclus kunnen meerdere probes worden gesplitst, waardoor een sterk en gevoelig signaal wordt verkregen. **PlexZyme[®]**-testen zijn zeer gevoelig en specifiek en zijn bij voorkeur geschikt voor de multiplexe detectie van pathogenen.

PlexPrime[®]-primers hebben drie functionele gebieden. Het lange 5'-gebied verankert de primer op een bepaalde locatie en het korte 3'-gebied richt zich selectief op een extensie van de gemuteerde base. Een insertsequentie tussen de 5'- en 3'-gebieden fungeert als een brugstructuur die een doelonafhankelijke sequentie in het resulterende amplicon invoegt en de selectieve druk van het 3'-gebied verhoogt. In multiplex is elke **PlexPrime[®]**-primer ontworpen om zich op een specifieke gemuteerde base te richten en zal een unieke insertsequentie invoegen, om zo verschillende gemuteerde ampliconsequenties te produceren. In tegenstelling tot andere op probes gebaseerde detectietechnieken, kan het **PlexZyme[®]**-enzym de **PlexZyme[®]**-primer overlappen om zich te richten op het specifieke amplicon van de mutant dat de gemuteerde basis en de opgenomen insertsequentie bevat. De unieke combinatie van **PlexPrime[®]**-primers gekoppeld aan **PlexZyme[®]**-enzymen maakt de specifieke amplificatie van gemuteerde sequenties en de gevoelige en specifieke detectie in multiplex mogelijk.

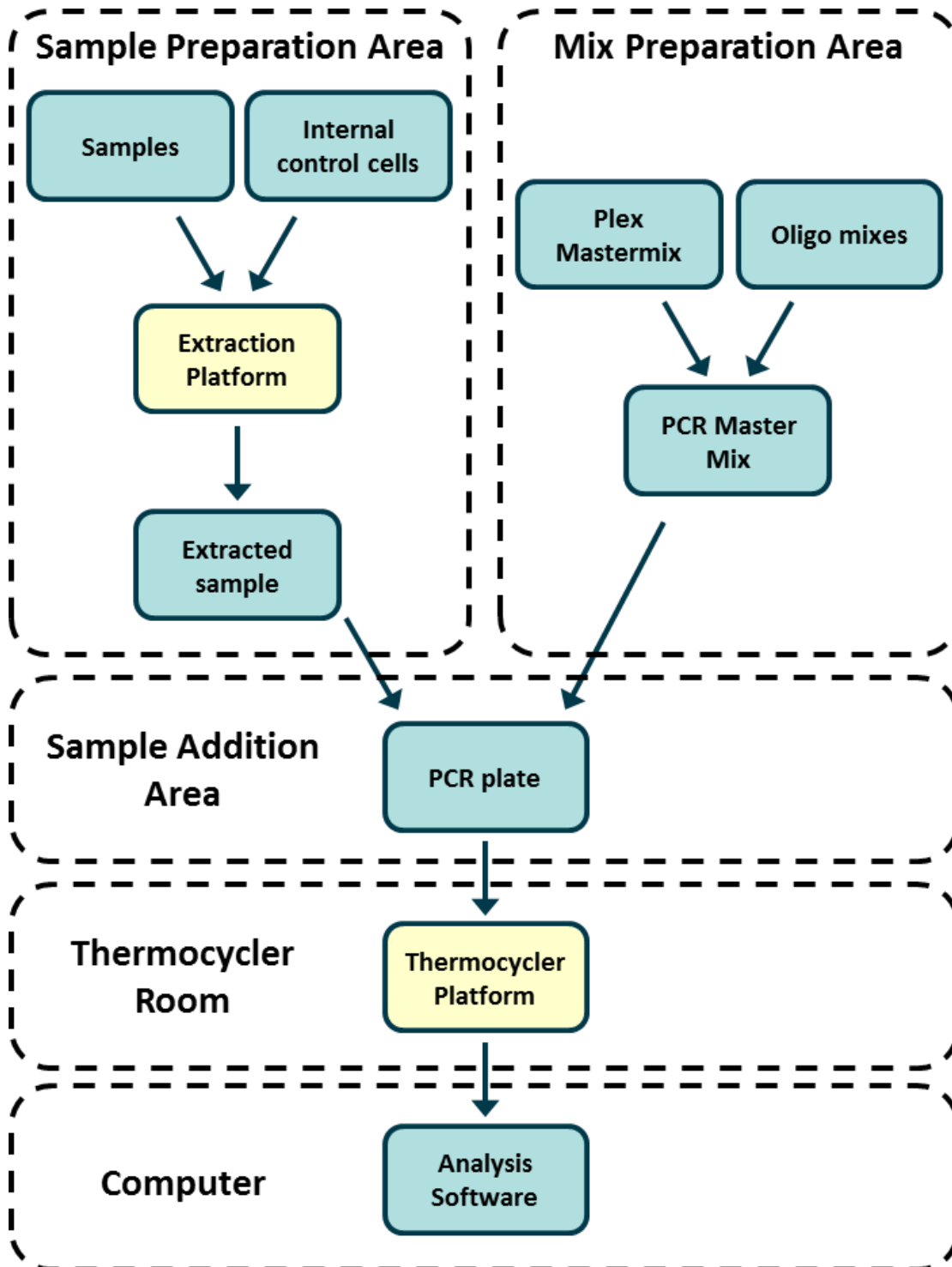
Afbeelding 1. Schematische voorstelling van **PlexZyme[®]**-detectie en universele signalering



Afbeelding 2. Schematische voorstelling van *PlexPrime*[®]-primer gekoppeld met *PlexZyme*[®]-detectie. De *PlexPrime*[®]-primer amplificeert specifiek de gemuteerde sequentie en de *PlexZyme*[®]-enzymen detecteren specifiek het amplicon.



9 Overzicht procedure



10 Gedetailleerde procedure

Opmerking: De bijgeleverde reagentia worden cursief benoemd met de kleur van de buisdop tussen haakjes.

10.1 Afname, transport en opslag van monsters

Mannelijke urine, vrouwelijke urine en vaginale uitstrijkjes van symptomatische of asymptomatische patiënten dienen volgens de standaard laboratoriumtechnieken of volgens de gebruikshandleiding van de afnamekit worden afgenomen, vervoerd en opgeslagen.

10.1.1 Gevalideerde hulpmiddelen voor het afnemen van monsters

Onjuiste of slechte afname, opslag en transport van monsters geven waarschijnlijk foutieve testresultaten. Een goede training in het afnemen van monsters wordt sterk geadviseerd om de kwaliteit en stabiliteit van de monsters te garanderen.

Hulpmiddelen voor monsterafname die zijn gevalideerd met de **ResistancePlus**[®] MG-kit zijn hieronder opgenomen met beknopte richtlijnen op basis van de handleiding van de fabrikant van het hulpmiddel voor afname, verwerking en transport. Deze instructies zijn niet bedoeld om instructies van de fabrikant te vervangen. Raadpleeg altijd de handleiding van de fabrikant van het hulpmiddel voor monsterafname voor de juiste afnamemethoden.

Voorafgaand aan elke afnamemethode moet getraind personeel ervoor zorgen dat het hulpmiddel en de methodologie goed worden begrepen. Op z'n minst moet de beschrijving van de test op het volgende worden nagelezen: indicatie van het type monster, voldoende volume, procedure(s), benodigde afnamematerialen, voorbereiding van de patiënt en juiste verwerkings- en opslaginstructies.

10.1.2 Correcte afname, transport en opslag van urine

1. Het gebruik van een heldere steriele urine-opvangbeker, vrij van conserveringsmiddel of transportmedium, wordt geadviseerd voor het zelf verzamelen van urine door de patiënt.
2. De patiënt dient 20-50 ml urine op te vangen van de eerste urinelozing en het deksel goed af te sluiten.
3. Geadviseerd wordt om urinemonsters in dubbele zakken met absorberend materiaal te vervoeren. De opslagtemperatuur van urinemonsters is afhankelijk van de beoogde verwerkingstijd.

10.1.3 Afname, transport en opslag van uitstrijkjes

Droge wattenstaafjes kunnen worden gebruikt door artsen en patiënten om vaginale uitstrijkjes af te nemen. Raadpleeg, vanwege de verschillende mogelijkheden, de bijsluiters van de fabrikant voor de juiste afnamemethoden.

10.1.4 Multi-Collect-monsterafnamekit (Abbott, cat. nr. 9K12-01) afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van urine- en vaginale uitstrijkjes met behulp van de multi-Collect-monsterafnamekit (Abbott, cat. nr. 9K12-01).

10.1.4.1 Correcte verzameling, transport en opslag van urine

1. De patiënt mag ten minste één uur voor het verzamelen van de monsters niet hebben geplast.
2. Gooi het wattenstaafje weg; het is niet vereist voor het verzamelen van urinemonsters.
3. Met behulp van een urineopvangbeker dient de patiënt de eerste 20 tot 30 mL urine op te vangen (het eerste deel van de stroom).
4. Schroef de dop van de transportbuis los en zorg ervoor dat u de transportbuffer niet morst.
5. Hanteer de dop en de buis voorzichtig om besmetting te voorkomen.
6. Gebruik de plastic transferpipet om urine uit de opvangbeker in de transportbuis over te brengen totdat het vloeistofniveau in de buis binnen het doorzichtige vulvenster van het etiket van de transportbuis valt, anders moet er een nieuw monster worden verkregen. Niet te veel vullen. Er kan iets meer dan één volledige knijpbeweging van de pipet vereist zijn om het benodigde volume urinemonster over te brengen.
7. Hersluit de transportbuis zorgvuldig. Zorg ervoor dat de dop goed afsluit.
8. Voorzie de transportbuis van een zelfklevend etiket met informatie over het monster, inclusief de afnamedatum. Zorg ervoor dat u met het etiket het vulvenster op de transportbuis niet afdekt.
9. Vervoer en bewaar de transportbuis na afname bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 14 dagen. Als langer bewaren nodig is, bewaar het monster dan bij -10°C of kouder gedurende maximaal 90 dagen.

10.1.4.2 Correcte afname, transport en opslag van vaginale uitstrijkjes

1. Gooi de wegwerppipet weg; deze is voor het afnemen van vaginale uitstrijkjes niet nodig.
2. Haal het steriele wattenstaafje uit de verpakking. Let er daarbij op dat u de punt van het wattenstaafje niet aanraakt en het wattenstaafje niet op een oppervlak legt.

3. Steek de witte punt van het wattenstaafje ongeveer 5 cm in de opening van de vagina.
4. Draai het wattenstaafje zachtjes 15 tot 30 seconden tegen de wanden van de vagina.
5. Trek het wattenstaafje voorzichtig terug.
6. Hanteer de dop en de buis voorzichtig om besmetting te voorkomen.
7. Schroef de dop van de transportbuis los en plaats het wattenstaafje onmiddellijk in de transportbuis met de witte punt naar beneden.
8. Breek het wattenstaafje voorzichtig af bij de ingekerfde lijn op de schacht. Doe dit voorzichtig om spatten van de inhoud te voorkomen.
9. Hersluit de transportbuis. Zorg ervoor dat de dop goed afsluit.
10. Voorzie de transportbuis van een zelfklevend etiket met informatie over het monster, inclusief de afnamedatum.
11. Vervoer en bewaar de transportbuis na afname bij 2°C tot 30°C gedurende maximaal 14 dagen. Als langer bewaren nodig is, bewaar het monster dan bij -10°C of kouder gedurende maximaal 90 dagen.

10.1.5 Aptima®-urineverzamelkit (Hologic, cat. nr. 301040) verzameling, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van mannelijke en vrouwelijke urinemonsters met behulp van de Aptima®-urineverzamelkit (Hologic, cat. nr. 301040). Let op: de klinische prestaties van dit afnamehulpmiddel zijn alleen aangetoond met monsters die geëxtraheerd zijn met het MagNA Pure 96-apparaat en de MagNA Pure 96 DNA-kit en de Viral NA Large Volume Kit. Zie paragraaf 10.2 en paragraaf 16.1.5 voor meer informatie.

1. Het gebruik van een heldere steriele urine-opvangbeker, vrij van conserveringsmiddel of transportmedium, wordt geadviseerd voor het zelf verzamelen van urine door de patiënt.
2. De patiënt wordt gevraagd om 20-30 ml urine van de eerste urinelozing op te vangen in de bijgeleverde urine-opvangbeker. Vrouwelijke patiënten mogen de vagina niet reinigen voorafgaand aan het opvangen van het monster.
3. Breng met behulp van de bijgeleverde pipet 2 ml urine over in de transportbuis (zonder dop) uit de Aptima®-urineverzamelkit. Het volume van de urine moet binnen de zwarte vullijnen op de urinetransportbuis vallen. Urine moet binnen 24 uur na afname uit de heldere steriele urinebeker in de Aptima-urinetransportbuis worden overgebracht.
4. Sluit de urinetransportbuis goed af.
5. Na afname moeten de verwerkte urinemonsters in de Aptima-urinemonstertransportbuis vervoerd en opgeslagen worden bij 2°C tot 30°C totdat ze getest worden. Raadpleeg de handleiding van de fabrikant voor de optimale opslagcondities.

10.1.6 Aptima® Multitest-afnamekit voor uitstrijkjes (Hologic, cat. nr. PRD-03546) afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van vaginale uitstrijkjes met behulp van de Aptima® Multitest-afnamekit voor uitstrijkjes (Hologic, cat. nr. PRD-03546). Let op: de klinische prestaties van dit afnamehulpmiddel zijn alleen aangetoond met monsters die geëxtraheerd zijn met het MagNA Pure 96-apparaat en de MagNA Pure 96 DNA-kit en de Viral NA Large Volume Kit. Zie paragraaf 10.2 en paragraaf 16.1.5 voor meer informatie.

10.1.6.1 Correcte afname, transport en opslag van vaginale uitstrijkjes

1. Trek de verpakking van het wattenstaafje gedeeltelijk open. Verwijder het wattenstaafje. Raak daarbij de zachte punt niet aan en leg het wattenstaafje niet ergens neer. Als de zachte punt wordt aangeraakt, het wattenstaafje wordt neergelegd of het wattenstaafje valt, gebruik dan een nieuwe Aptima® Multitest-afnamekit voor uitstrijkjes.
2. Houd het wattenstaafje vast door uw duim en wijsvinger in het midden van de schacht van het wattenstaafje over de markeringslijn te plaatsen. Houd het wattenstaafje niet vast onder de markeringslijn.
3. Breng het wattenstaafje voorzichtig tot ongeveer 5 cm voorbij de ingang in de vagina en draai het wattenstaafje voorzichtig 10 tot 30 seconden met de klok mee. Zorg ervoor dat het wattenstaafje de wanden van de vagina raakt zodat het vocht door het wattenstaafje wordt opgenomen en trek daarna het wattenstaafje terug zonder de huid buiten de vagina aan te raken.
4. Schroef de dop van het buisje terwijl u het wattenstaafje nog steeds in dezelfde hand houdt. Mors de inhoud van het buisje niet. Als de inhoud van het buisje wordt gemorst, gebruik dan een nieuwe Aptima® Multitest-afnamekit voor uitstrijkjes.
5. Plaats het wattenstaafje onmiddellijk in het transportbuisje zodat de markeringslijn zich aan de bovenzijde van het buisje bevindt.
6. Breek de schacht van het wattenstaafje voorzichtig af bij de markeringslijn tegen de zijkant van het buisje.
7. Gooi het bovenste deel van de schacht van het wattenstaafje onmiddellijk weg.
8. Draai de dop stevig op het buisje. Vervoer en bewaar het wattenstaafje in het transportbuisje bij 2°C tot 30°C tot het moment van testen.

10.1.7 DeltaSwab ViCUM® 2 mL + standaard flocced wattenstaafje (Deltalab, cat. nr. 304278), afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van vaginale uitstrijkjes met behulp van de DeltaSwab ViCUM® 2 mL + standaard flocced wattenstaafje (Deltalab, cat. nr. 304278).

1. Open de peel-pack door met beide handen aan de tegenoverliggende zijden te trekken.
2. Meng de inhoud van het buisje voorzichtig.
3. Open de flow-pack en neem een monster af met behulp van het wattenstaafje.
4. Open het buisje met de andere hand en plaats het wattenstaafje in het buisje met de punt in het medium.

5. Breng het breekpunt van het wattenstaafje op één lijn met de bovenzijde van het buisje en druk het wattenstaafje daarbij lichtjes naar beneden. Breek het wattenstaafje bij het breekpunt door het tegen de binnenzijde van het buisje te drukken.
6. Gooi het overgebleven deel van het wattenstaafje weg, schroef de dop goed vast en schud om het monster met het medium te mengen.
7. Vervoer en bewaar het wattenstaafje in het transportbuisje bij 4°C tot 25°C tot het moment van testen.

10.1.8 Vacumed®-urineverzamelkit zonder conserveermiddel (FL medical, cat. nr. 44950), afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van mannelijke en vrouwelijke urinemonsters met behulp van de Vacumed®-urineverzamelkit zonder conserveermiddel (FL medical, cat. nr. 44950).

1. Draai de dop van de urine-opvangbeker en leg deze ondersteboven op een schoon oppervlak.
2. Raak de interne oppervlakken van de opvangbeker en de dop niet aan.
3. Verzamel het urinemonster. Vul de opvangbeker tot ¾.
4. Plaats de dop terug op de opvangbeker en draai deze stevig met de klok mee vast.
5. Meng het urinemonster voorzichtig.
6. Til het beschermetiket van de beker gedeeltelijk op zonder dit helemaal te verwijderen.
7. Duw het vacuumbuisje in de opening en oefen lichte druk uit. Wacht tot het buisje vol is (einde flow).
8. Verwijder het monsterbuisje en plak het beschermetiket weer volledig vast.
9. Bewaar het monsterbuisje bij 4°C tot 25°C tot het moment van testen.

10.1.9 Regular FLOQSwab™ in 1 mL UTM™-medium (Copan cat. nr. 359C), afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van vaginale uitstrijkjes met behulp van de Regular FLOQSwab™ in 1 mL UTM™-medium (Copan cat. nr. 359C).

1. Open de verpakking van de UTM-kit en verwijder de reageerbuis met medium en het zakje met het steriele wattenstaafje.
2. Neem het steriele wattenstaafje uit het zakje en neem het klinische monster af. Om het risico op besmetting te voorkomen, zorg ervoor dat de punt van het wattenstaafje alleen in contact komt met de monsterafnameplaats.
3. Nadat het monster is afgenomen, schroef de dop van de reageerbuis en verwijder deze. Let er daarbij op dat er geen medium wordt gemorst.
4. Breng het wattenstaafje in de reageerbuis zodat het breekpunt gelijk ligt met de bovenzijde van de reageerbuis.
5. Houd de reageerbuis van uw gezicht af en buig en breek het wattenstaafje op het breekpunt. Gooi het afgebroken deel weg.
6. Schroef de dop weer op de reageerbuis en sluit deze goed af.
7. Verwerk het monster in het UTM-medium binnen 48 uur na afname en bewaar de reageerbuis bij 2-25°C.
8. Voorafgaand aan het verwerken, vortex 20 seconden om ervoor te zorgen dat het monster uit het wattenstaafje homogeen wordt gemengd met het medium.

10.1.10 Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190), afname, transport en opslag

Hieronder wordt een korte beschrijving gegeven van de gebruiksaanwijzing voor het afnemen en vervoeren van mannelijke en vrouwelijke urinemonsters met behulp van Cobas® PCR-medium (Roche, cat. nr. 06466281190).

1. Meng de urine en breng deze over in de Cobas® PCR-mediumbuis met behulp van een pipet voor eenmalig gebruik (niet meegeleverd). Opmerking: het urinemonster kan maximaal 24 uur worden bewaard bij 2°C tot 30°C voordat het wordt overgebracht in de Cobas® PCR-mediumbuis.
2. Vul de buis met urine tot het vloeistofniveau zich tussen de twee zwarte lijnen op het etiket bevindt.
3. Sluit de Cobas® PCR-mediumbuis goed af met de dop.
4. Meng de buis door deze 5 keer te kantelen. Het monster is nu klaar voor vervoer en testen.
5. Vervoer en bewaar de Cobas® PCR-mediumbuis met het gestabiliseerde urinemonster bij 2°C tot 30°C.

10.1.11 Gevalideerde monsterextracten

Voor gebruik gevalideerde monsterextracten zijn:

- Cobas® x480 (van het CT/NG-protocol)

Zie **paragraaf 10.5** voor instructies voor het voorbereiden van PCR met geëxtraheerde nucleïne-zuren (reflex workflow).

10.2 Monsterverwerking

De **ResistancePlus®** MG-kit is gevalideerd voor de volgende extractie-apparaten in **Tabel 4**.

Zie **paragraaf 10.3** voor instructies voor het gebruik van de interne controle.

| Tabel 4. Gevalideerde extractieprotocollen | | | | |
|--|--|----------------------|--|-----------------|
| Apparaat | Extractiekit | Monstervolume | Protocol | Elutievolume |
| MagNA Pure 96 ^a | MagNA Pure 96 DNA en Viral NA Small Volume Kit | 200 µl | Pathogen Universal 200 | 50 µL of 100 µL |
| MagNA Pure 96 ^a | MagNA Pure 96 DNA en 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 verdunde interne controlecellen toegevoegd per monster Selecteer "Pause before PCR setup" om alleen de monsterextractie uit te voeren | 100 µL |
| QIAsymphony SP ^c | DSP Virus/Pathogen Mini Kit | 200 µl | Complex200_V6_DSP | 110 µL |
| NucliSENS [®] easyMAG ^{®d} | NucliSENS [®] easyMAG [®] -reagens | 200 µl uitstrijkje | Generic 2.01; "On-board" workflow | 100 µL |
| | | 1000 µl urine | Generic 2.01; "Off-board" workflow | 100 µL |

^a Zie 10.3.1 voor het gebruik van de interne controle met de MagNA Pure 96

^b Zie 10.3.2 voor het gebruik van de interne controle met de STARlet IVD

^c Zie 10.3.3 voor het gebruik van de interne controle met de QIAsymphony SP

^d Zie voor het gebruik van de interne controle met de NucliSENS[®] easyMAG[®]

[^] De klinische prestaties van monsters die zijn afgenomen met de Aptima[®]-urineverzamelkit (Hologic, cat. nr. 301040), de Aptima[®] unisex wattenstaafje-afnamekit (Hologic, cat. nr. 301041) en de Aptima[®] Multitest-wattenstaafje-afnamekit (Hologic, cat. nr. PRD-03546) zijn alleen aangetoond met dit extractieprotocol. Zie paragraaf 16.1.5 voor meer informatie.

10.3 Interne Controle (IC)

De kit bevat een interne controle om de extractie-efficiëntie en de qPCR-remming te monitoren. De interne controletest wordt geleverd als een **controlemix (WIT)** en **interne controlecellen (ROOD)**. De **controlemix** is toegevoegd aan de PCR-mastermix (**Table 11**). De **interne controlecellen** bevatten het DNA- template voor interne controle. De **interne controlecellen** worden verdund en verwerkt zoals hieronder beschreven voor specifieke extractie-apparaten. De DNA-template voor interne controle wordt daarom samen met het monster geëxtraheerd en samen in de reactie geamplificeerd.

10.3.1 Interne controle op de MagNA Pure 96

Verdun de **interne controlecellen (ROOD)** 1 op 200 in 1x PBS (**Table 5**). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor (zie de handleiding van de extractiekit voor het minimumvolume voor het vereiste aantal monsters). De verdunde interne controlecellen worden in het interne controlebuisje op de MagNA Pure 96 gebracht:

- Voor de MagNA Pure 96 DNA en de Viral NA Small Volume Kit (Pathogen Universal 200-protocol) wordt automatisch 20 µL aan elk monster toegevoegd (standaard).
- Voor de MagNA Pure 96 DNA en Viral NA Large Volume Kit (Viral NA Universal LV 1000 3.1-protocol) wordt het volume van het monster verdeeld en verwerkt in twee afzonderlijke wells van de MagNA Pure 96 Processing Cartridge. Een totaal van 40 µl verdunde interne controlecellen wordt automatisch aan elk monster toegevoegd (20 µL per well van de Processing Cartridge).

Opmerking: Bewaar de verdunde interne controlecellen NIET.

| Tabel 5. Verdunning van interne controlecellen voor de MagNA Pure 96 (verdunning 1 op 200) | | | |
|--|-------------|--------------------|--|
| Interne controlecellen (ROOD) (µL) | 1x PBS (µL) | Totaal volume (µL) | Volume toegevoegd aan het monster (µL) |
| 18 | 3582 | 3600 | 20 |

10.3.2 Interne controle op de MICROLAB STARlet IVD

Verdun de **interne controlecellen (ROOD)** 1 op 20 in 1x PBS (**Table 6**). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor (zie de handleiding van de extractiekit voor het minimumvolume voor het vereiste aantal monsters). De verdunde

cellen van de interne controle worden in een buis van 2 mL gebracht en op het steunrek voor reagentia geplaatst, waarbij automatisch 10 µL aan elk monster wordt toegevoegd.

Opmerking: Bewaar de verdunde interne controlecellen NIET.

| Tabel 6. Verdunning van interne controlecellen voor de MICROLAB STARlet IVD (verdunning 1 op 20) | | | |
|--|-------------|--------------------|--|
| Interne controlecellen (ROOD) (µL) | 1x PBS (µL) | Totaal volume (µL) | Volume toegevoegd aan het monster (µL) |
| 50 | 950 | 1000 | 10 |

10.3.3 Interne controle op de QIASymphony® SP

Verdun de *interne controlecellen* (ROOD) 1 op 50 in 1x PBS (Tabel 7). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor, afhankelijk van het aantal vereiste monsters.

Opmerking: Bewaar de verdunde interne controlecellen NIET.

| Tabel 7. Verdunning van interne controlecellen voor de QIASymphony® SP (verdunning 1 op 50) | | |
|---|-------------|--------------------|
| Interne controlecellen (ROOD) (µL) | 1x PBS (µL) | Totaal volume (µL) |
| 40 | 1950 | 2000 |

De verdunde *interne controlecellen* worden vervolgens gebruikt voor de bereiding van een Internal Control-carrier RNA-Buffer AV-mengsel, zoals weergegeven in Tabel 8 hieronder. Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor voor het vereiste aantal monsters (zie de handleiding van de extractiekit voor het minimumvolume voor het vereiste aantal monsters). Het Internal Control-carrier RNA-Buffer AV-mengsel moet onmiddellijk voorafgaand aan de start van de run worden gemaakt.

Het Internal Control-carrier RNA-Buffer AV-mengsel wordt toegevoegd aan een buis, die in een buishouder wordt geplaatst en in slot A van de schuiflade voor monsters in de QIASymphony® SP wordt geplaatst. Aan elk monster wordt 120 µL (standaard) van het mengsel toegevoegd.

| Tabel 8. Bereiding van het Internal Control-carrier RNA-Buffer AV-mengsel voor de QIASymphony SP | | | | | |
|--|------------------------------|---|-------------------------|-----------------|--------------------|
| Buistype | Aantal monsters | Volume van verdunde interne controlecellen (µL) | RNA-voorraadhouder (µL) | Buffer AVE (µL) | Totaal volume (µL) |
| - | 1 | 10 | 3 | 107 | 120 |
| 2 ml | 1 + leeg volume [^] | 40 | 12 | 428 | 480 |
| 14 ml | 1 + leeg volume [#] | 60 | 18 | 642 | 720 |

[^] de buis van 2 mL moet worden aangevuld met 3 extra monsters (360 µL) vanwege het lege volume.

[#] de buis van 14 mL moet worden aangevuld met 5 extra monsters (600 µL) vanwege het lege volume.

10.3.4 Interne controle op de easyMAG®

Verdun de *interne controlecellen* (ROOD) 1 op 200 in 1x PBS (Tabel 9). Pas het volume naar behoefte aan met dezelfde verdunningsfactor. Bereid een voormengsel van verdunde interne controlecellen en NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica voor het vereiste aantal monsters (Tabel 10). Per monster is 100 µL voormengsel silica vereist.

Opmerking: Bewaar de verdunde interne controlecellen NIET.

Tabel 9. Verdunning van interne controlecellen voor de NucliSENS® easyMAG® (verdunning 1 op 200)

| Interne controlecellen (ROOD) (µL) | 1x PBS (µL) | Totaal volume (µL) | Verdunningsfactor |
|------------------------------------|-------------|--------------------|-------------------|
| 10 | 1990 | 2000 | 200 |

Tabel 10. Voormengsel van NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica en verdunde interne controlecellen

| Aantal monsters | Volume van verdunde interne controlecellen (µL) | Volume van Magnetic Silica (µL) | Volume toegevoegd aan het monster (µL) |
|-----------------|---|---------------------------------|--|
| 1 | 50 | 50 | 100 |

“On-board” of “off-board” workflow wordt gebruikt afhankelijk van het type monster. De “off-board” workflow wordt gebruikt voor een optimale recovery van nucleïnezuuren uit urinemonsters. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NucliSENS® easyMAG® voor meer informatie.

“On-board” workflow (wattenstaafjes)

Breng monsters over in het monstervat.

Laad de monstervaten op de easyMAG.

Programmeer de volgende extractieverzoeken:

Protocol: Generic 2.0.1 (voor softwareversie 2.0)

Matrix: Overige

Volume (ml): 0,200

Eluaat (µL): 100 µL

Type: Primair

Voeg na de on-board lysis 100 µL voorgemengde silica toe aan elk monster.

Ga door met het extractieproces

“Off-board” workflow (urine)

Centrifugeer de buis met NucliSENS Lysis Buffer kort en voeg 1000 µL urine toe. Vortexbuis.

Laat het mengsel 10 minuten bij kamertemperatuur staan.

Breng na de lysis de lysaten over naar de monstervaten en laad ze op de easyMAG.

Voeg aan elk monster 100 µL voorgemengde silica toe.

Programmeer de volgende extractieverzoeken:

Protocol: Generic 2.0.1 (voor softwareversie 2.0)

Matrix: Overige

Volume (mL): 1.000

Eluaat (µL): 100 µL

Type: Gelyseerd

Ga door met het extractieproces

10.4 Voorbereiding van realtime PCR

Opmerking: Voor gebruik van de reagentia volledig ontdooien en grondig mengen door kort te vortexen.

Zie **Tabel 1 - Tabel 3** voor een beschrijving van de inhoud van de kit.

10.4.1 Bereiding van mastermix

Maak de mastermix aan zoals aangegeven in **Tabel 11**.

Voor een reactievolume van 20 μL zijn 15 μL mastermix en 5 μL monster vereist. Pipetteer de mastermix in de PCR-plaat en voeg vervolgens geëxtraheerde monsters aan de reactie toe.

Bij elke run moet een No Template Control (NTC) worden opgenomen. Voeg voor de NTC-reactie *nucleasevrij water* (**NEUTRAAL**) toe in plaats van een monster.

Sluit de plaat af, centrifugeer en breng over naar de thermocycler.

| Tabel 11. Mastermix | | |
|--|--------------|---|
| Reagens | Concentratie | Volume per 20 μL reactie (μL) |
| Nucleasevrij water (NEUTRAAL) | N.v.t. | 3,0 |
| Plex Mastermix (BLAUW) | 2x | 10,0 |
| MG+23S Mix (BRUIN) | 20x | 1,0 |
| Controlemix* (WIT) | 20x | 1,0 |
| Totaal volume (μL) | | 15,0 |
| Voeg 5 μL monsters toe voor een eindvolume van 20 μL . | | |

* De controlemix in elke kit is specifiek voor het gebruikte PCR-apparaat; raadpleeg **Tabel 1 - Tabel 3** voor de juiste controlemix die u moet gebruiken

10.4.2 Stabiliteit van de mastermix

De mastermix kan in bulk worden bereid en kan bij -20°C maximaal 4 weken of bij 4°C maximaal 1-week worden bewaard.

10.5 Voorbereiding van PCR met geëxtraheerde nucleïnezuren (reflexworkflow)

Nucleïnezuurextracten die verkregen zijn zonder toevoeging van *interne controlecellen* (**ROOD**) aan monsters kunnen getest worden met de *ResistancePlus*[®] MG-kit.

Deze procedure mag alleen worden gevolgd voor extracten die:

Eerder getest zijn op een alternatief testplatform volgens de gebruikshandleiding van de fabrikant, en waarbij de eerder uitgevoerde testen een geldig resultaat opleverden.

De mastermix moet worden bereid zoals beschreven in **paragraaf 10.4.1**. Bij het uitvoeren van reflextesten is de interne controle niet aanwezig in het monsterextract. Wel moet de controlemix worden meegenomen zoals beschreven in **paragraaf 10.4.1**.

Zie **Tabel 1 - Tabel 3** voor een beschrijving van de inhoud van de kit.

Bereid de reactiemix zoals aangegeven in **Tabel 11**. Voor een reactievolume van 20 μL zijn 15 μL mastermix en 5 μL monster vereist. Pipetteer de mastermix in de PCR-plaat en voeg vervolgens geëxtraheerde monsters aan de reactie toe.

Bij elke run moet een No Template Control (NTC) worden opgenomen. Voeg voor de NTC-reactie *nucleasevrij water* (**NEUTRAAL**) toe in plaats van een monster. Sluit de plaat af, centrifugeer en breng over naar de thermocycler.

11 Programmering en analyse

De details voor programmering en analyse worden beschreven in de **paragrafen 19 tot 23**.

De **ResistancePlus**[®] MG-kit heeft drie kanalen voor detectie van *M. genitalium*, 23S-rRNA-mutatie en interne controle (**Tabel 12**).

De **ResistancePlus**[®] MG-software is beperkt tot de analyse van resultaten in verband met nucleïnezuurextracten die zijn verkregen door toevoeging van *interne controlecellen* (**ROOD**) aan monsters.

Voor nucleïnezuurextracten die zijn verkregen zonder toevoeging van *interne controlecellen* (**ROOD**) aan monsters moet de REFLEX **ResistancePlus**[®] MG-software worden gebruikt. De REFLEX **ResistancePlus**[®] MG-software heeft twee kanalen voor detectie van *M. genitalium* en 23S-rRNA-mutatie (**Tabel 13**).

Deze procedure mag alleen worden gevolgd voor extracten die:

Eerder getest zijn op een alternatief testplatform volgens de gebruikshandleiding van de fabrikant, en waarbij de eerder uitgevoerde testen een geldig resultaat opleverden.

| Tabel 12. Kanalen voor <i>ResistancePlus</i> [®] MG-doelen | | | |
|---|---------------------------------------|------------------|------------------|
| Apparaat | Kanaal A | Kanaal B | Kanaal C |
| | <i>M. genitalium</i> -detectie (MgPa) | 23S-rRNA-mutatie | Interne Controle |
| LC480 II | 465-510 | 533-580 | 533-640 |
| z 480 | 465-510 | 540-580 | 540-645 |
| 7500 Fast en 7500 Fast Dx | FAM | JOE | TAMRA |
| CFX96 Dx en CFX Touch | FAM | HEX | Quasar 705 |

| Tabel 13. Kanalen voor <i>ResistancePlus</i> [®] MG-doelen voor reflexworkflow | | |
|---|---------------------------------------|------------------|
| Apparaat | Kanaal A | Kanaal B |
| | <i>M. genitalium</i> -detectie (MgPa) | 23S-rRNA-mutatie |
| LC480 II | 465-510 | 533-580 |
| z 480 | 465-510 | 540-580 |
| 7500 Fast en 7500 Fast Dx | FAM | JOE |
| CFX96 Dx en CFX Touch | FAM | HEX |

12 Interpretatie van de resultaten

Voor de interpretatie van de resultaten is de **ResistancePlus**[®] MG-analysesoftware vereist. Hoewel **PlexPrime**[®]-primers een grotere specificiteit bieden dan andere allel-specifieke primers, kan er enige niet-specifieke amplificatie van de 23S-rRNA-mutanttest worden waargenomen in monsters met hoge concentraties *M. genitalium* wildtype 23S-rRNA. De **ResistancePlus**[®] MG -analysesoftware automatiseert de interpretatie van amplificatieresultaten en stroomlijnt de workflow. De gebruikshandleiding van de analysesoftware wordt beschreven in **paragraaf 24**.

Zie **Tabel 14** voor de juiste analysesoftware voor elk realtime PCR-apparaat. De analysesoftware kan op verzoek geleverd worden. Neem contact op met tech@speedx.com.au voor meer informatie.

| Tabel 14. ResistancePlus [®] MG-analysesoftware | | |
|---|--|---------------------------|
| Cat. nr. | Analysesoftware* | Realtime PCR-apparaat |
| 99003 | ResistancePlus [®] MG (LC480) | LC480 II |
| 99018 | ResistancePlus [®] MG (z 480) | z 480 |
| 99002 | ResistancePlus [®] MG (7500) | 7500 Fast en 7500 Fast Dx |
| 99008 | ResistancePlus [®] MG (CFX) | CFX96 Dx en CFX96 Touch |
| 99023 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (LC480) | LC480 II |
| 99024 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (z480) | z 480 |
| 99026 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (7500) | 7500 Fast en 7500 Fast Dx |
| 99025 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (CFX) | CFX96 Dx en CFX96 Touch |

* Raadpleeg de website <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> om er zeker van te zijn dat u de meest recente versie van de analysesoftware gebruikt.

13 Beperkingen

- De **ResistancePlus**[®] MG-test is gericht op het *MgPa*-gen voor *M. genitalium* en mutaties op posities 2058 en 2059 in het 23S-rRNA-gen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C, *E. coli*-nummering) die verband houden met resistentie tegen azitromycine (een macrolide antibioticum).
- Van de **ResistancePlus**[®] MG-test is aangetoond dat deze kruisreageert met de 23S-rRNA-A2059C-mutantsequenties van *M. genitalium*.
- De klinische effectiviteitsonderzoeken van **ResistancePlus**[®] MG die in **paragraaf 16.1** worden beschreven, omvatten testen met mannelijke urine, vrouwelijke urine en vaginale uitstrijkjes. Daarnaast zijn ook andere types monsters getest, waaronder rectale, cervicale, endocervicale, urethrale, peniele, peniele meatale en faryngeale uitstrijkjes. Op dit moment zijn er echter beperkte gegevens die het gebruik van deze types monsters ondersteunen.
- De **ResistancePlus**[®] MG-test dient alleen te worden uitgevoerd door personeel dat is getraind in de procedure en dient te worden uitgevoerd in overeenstemming met deze gebruikshandleiding.
- De betrouwbaarheid van de resultaten is afhankelijk van het juiste transport, de juiste opslag en de juiste verwerking van de monsters. Als bij een van deze stappen niet de juiste procedures worden gevolgd, kan dit onjuiste resultaten tot gevolg hebben.
- De **ResistancePlus**[®] MG-test is een kwalitatieve test en geeft geen kwantitatieve waarden of informatie over de hoeveelheid micro-organismen.
- De resultaten van de test moeten worden gerelateerd aan de klinische voorgeschiedenis, epidemiologische gegevens, laboratoriumgegevens en alle andere gegevens waarover de arts beschikt.
- De prevalentie van *M. genitalium* en macrolideresistentie zullen de positieve en negatieve voorspellende waarden voor de test beïnvloeden.
- Detectie van antibioticaresistentiemarkers komt mogelijk niet overeen met fenotypische genexpressie.
- Op basis van de testresultaten kan het falen of slagen van de behandeling niet bepaald worden, omdat er persisterende nucleïnezuren kunnen blijven bestaan na een geschikte antimicrobiële behandeling.
- Negatieve resultaten sluiten de mogelijkheid van een infectie niet uit als gevolg van onjuiste monsterafname, technische fouten, aanwezigheid van remmers, verwisseling van monsters of lage aantallen organismen in het klinische monster.
- Negatieve resultaten voor de resistentiemarkers duiden niet op een genetische gevoeligheid van de gedetecteerde micro-organismen, aangezien er resistentiemarkers aanwezig kunnen zijn die niet worden gemeten met de test, of andere potentiële mechanismen van antibioticaresistentie.
- Vals-positieve resultaten kunnen optreden door kruisbesmetting met doelorganismen, hun nucleïnezuren of geamplificeerd product.

14 Kwaliteitscontrole

De **ResistancePlus**[®] MG-kit bevat een interne controle om de efficiëntie van de extractie en de qPCR-remming te monitoren (**paragraaf 10.3**).

Bij het uitvoeren van reflextesten zijn de interne controlecellen van de **ResistancePlus**[®] MG-kit niet toegevoegd aan het extractieproces. Reflextesten kunnen alleen worden uitgevoerd op monsters waarvoor eerder met een ander systeem een geldig resultaat is gevonden, waarbij de extractie-efficiëntie en qPCR-remming zijn gemonitord.

De **ResistancePlus**[®] MG Positive Control-kit (cat. nr. 95001) wordt geadviseerd als positief controlemateriaal voor nucleïnezuuramplificatie. Raadpleeg **paragraaf 15** voor de gebruikshandleiding van de **ResistancePlus**[®] MG Positive Controls. Geadviseerd wordt om een bekend negatief monster als negatieve controle te gebruiken.

15 Gebruikshandleiding *ResistancePlus*[®] MG Positive Control

De *ResistancePlus*[®] MG Positive Control-kit bevat positief controlemateriaal voor *M. genitalium* 23S-rRNA-mutanten en een *M. genitalium* wildtype 23S-rRNA (**Tabel 15**).

| Tabel 15. Inhoud van de <i>ResistancePlus</i> [®] MG Positive Control-kit (cat. nr. 95001) | | | |
|---|-----------------------|--|---------------------------|
| Kleur van de dop | Inhoud | Omschrijving | Hoeveelheid (10 reacties) |
| Neutraal | MG, 23S-rRNA wildtype | Positieve controletemplate voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S-rRNA wildtype | 1 x 50 µL |
| Groen | MG, 23S-rRNA A2058G | Positieve controletemplate voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S-rRNA-A2058G-mutatie | 1 x 50 µL |
| Rood | MG, 23S-rRNA A2059G | Positieve controletemplate voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S-rRNA-A2059G-mutatie | 1 x 50 µL |
| Blauw | MG, 23S-rRNA A2058T | Positieve controletemplate voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S-rRNA-A2058T-mutatie | 1 x 50 µL |
| Geel | MG, 23S-rRNA A2058C | Positieve controletemplate voor de detectie van <i>M. genitalium</i> , 23S-rRNA-A2058C-mutatie | 1 x 50 µL |

15.1 Gebruikshandleiding

Bereid qPCR-reacties voor zoals beschreven in **paragraaf 10.4**, gebruikmakend van de positieve controle als monster.

Voor de gegevensinterpretatie is de *ResistancePlus*[®] MG-analysesoftware vereist. Zie **paragraaf 24.11** voor voorbeelden van resultaten.

16 Prestatiekarakteristieken

16.1 Klinische prestaties

16.1.1 Klinisch onderzoek 1

Er werd een prospectief-retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd in het Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australië. Er werden van mei tot juni 2016 monsters afgenomen en op basis van de klinische laboratoriumresultaten werden 144 monsters geselecteerd voor opname in het onderzoek. De 144 monsters bestonden uit 84 mannelijke urinemonsters, 33 vrouwelijke urinemonsters, 14 vaginale uitstrijkjes en 13 hoge vaginale uitstrijkjes. Om de prestaties van de **ResistancePlus**[®] MG-kit te bepalen, werd de detectie van *M. genitalium* vergeleken met de klinische laboratoriumresultaten van een algemeen erkende 16S-rRNA-qPCR-test die wordt gebruikt voor routinediagnostiek bij RWH⁷, en werd de 23S-rRNA-mutantdetectie vergeleken met Sanger-sequencing⁸. De **ResistancePlus**[®] MG-kit werd uitgevoerd op de LC480 II, na monsterextractie op het MagNA Pure 96-apparaat met de MagNA Pure 96 DNA en Viral NA Small Volume Kit volgens het Universal Pathogen 200-protocol. Voor de detectie van *M. genitalium* werd een samengestelde referentie gebruikt voor monsters waarvan de uitslag niet overeenkwam, middels een derde qPCR-reactie gericht op het MgPa-gen⁹. Voor 23S-rRNA-mutantdetectie werd Sanger-sequencing als het juiste resultaat genomen. De verkregen resultaten en de gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus**[®] MG-kit voor *M. genitalium*-detectie en 23S-rRNA-mutantdetectie worden weergegeven in **Tabel 16**. Twee monsters werden uitgesloten omdat het resultaat van de interne controle ongeldig was (1 vrouwelijk urinemonster en 1 mannelijk urinemonster). De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 17**. De analyse van de 23S-rRNA-mutatie wordt weergegeven in **Tabel 18**.

Tabel 16. Klinische evaluatie van de ResistancePlus[®] MG-kit (klinisch onderzoek 1)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> 16S-rRNA-qPCR | | 23S-rRNA-mutantdetectie Sequencing | | |
|--|-----------------|--|-----------------|---------------------------------------|---------------------------|----|
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype | |
| ResistancePlus[®] MG | Positief | 83 | 0 | Mutant gedetecteerd | 52 | 2 |
| | Negatief | 1 | 58 [^] | Mutant niet gedetecteerd | 2 | 21 |
| Gevoeligheid | | 98,8% (95% BI 93,5-100,0%) | | Gevoeligheid | 96,3% (95% BI 87,3-99,6%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 93,8-100,0%) | | Specificiteit | 91,3% (95% BI 72,0-98,9%) | |

95% BI - 95% betrouwbaarheidsinterval; Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

[^] Met de **ResistancePlus**[®] MG-kit werd 1 echte negatieve *M. genitalium* gedetecteerd met behulp van de samengestelde referentie. De tabel geeft de verkregen resultaten weer.

Tabel 17. De analyse van de resultaten per type monster [^] (klinisch onderzoek 1)

| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
|---------------------------|--|---|---|
| Mannelijke urine | 28/28 | 8/10 ¹ | 41/42 ¹ |
| Vrouwelijke urine | 12/13 | 11/11 | 4/6 ² |
| Vaginaal uitstrijkje | 8/8 | 1/1 | 2/2 ³ |
| Hoog vaginaal uitstrijkje | 9/9 | 1/1 | 4/4 ⁴ |

Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

[^] 2 vrouwelijke urines, 3 mannelijke urines en 1 vaginaal uitstrijkje werden uitgesloten vanwege mislukte sequentie bepaling en omdat de mutantstatus niet kon worden vastgesteld.

¹ Mannelijke urine 2 *M. genitalium*-wildtype foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant, 18 A2058G, 20 A2059G, 3 A2058T juist gedetecteerd; 1 A2058G foutief gedetecteerd als *M. genitalium* niet gedetecteerd

² Vrouwelijke urine 1 A2058G, 3 A2059G juist gedetecteerd; 2 A2059G foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant niet gedetecteerd

³ Vaginaal uitstrijkje: 2 A2059G juist gedetecteerd

⁴ Hoog vaginaal uitstrijkje 3 A2058G, 1 A2059G juist gedetecteerd

Tabel 18. De analyse van de *M. genitalium* 23S-rRNA-mutatie (klinisch onderzoek 1)

| Resultaat van de referentie [^] | Resultaat van <i>ResistancePlus</i> [®] MG |
|--|---|
| Wildtype | 21/33 ¹ |
| A2058G | 22/23 ² |
| A2059G | 26/28 ³ |
| A2058T | 3/3 |

[^] Alleen voor monsters die positief zijn voor *M. genitalium*

¹ Wildtype 2 mannelijke urines foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant

² A2058G: 1 mannelijke urine foutief gedetecteerd als *M. genitalium* niet gedetecteerd

³ A2059G: 2 vrouwelijke urines foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant niet gedetecteerd

16.1.2 Klinisch onderzoek 2

Een subset van de geëxtraheerde monsters uit onderzoek 1 werd uitgevoerd op de ABI 7500 Fast. De resultaten werden vergeleken met het klinische resultaat van de 16S-rRNA-qPCR (Twin 2011) en Sanger-sequenzen (Twin 2012). Monsters waarvan de uitslag niet overeenkwam voor *M. genitalium*-detectie werden opnieuw getest met de 16S-rRNA-qPCR (Twin 2011) vanwege vermoedelijke degradatie van het monster. De verkregen resultaten en de gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎**-kit voor *M. genitalium*-detectie en 23S-rRNA-mutantdetectie worden weergegeven in **Tabel 19**. De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld.

| Tabel 19. Klinische evaluatie van de ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ -kit (klinisch onderzoek 2) | | | | | | | |
|---|----------|--|-----------------|---------------------------------------|----------|---------------------------|--|
| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> 16S-rRNA-qPCR | | 23S-rRNA-mutantdetectie Sequencing | | | |
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype | | |
| ResistancePlus[®] MG | Positief | 79 | 0 [^] | Mutant gedetecteerd | 47 | 1 | |
| | Negatief | 2 | 43 [#] | Mutant niet gedetecteerd | 4 | 19 | |
| Gevoeligheid | | 97,5% (95% BI 91,4-99,7%) | | Gevoeligheid | | 92,2% (95% BI 81,1-97,8%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 91,8-100,0%) | | Specificiteit | | 95,0% (95% BI 75,1-99,9%) | |

95% BI - 95% betrouwbaarheidsinterval; Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

[^] Met de **ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎**-kit werd 1 echt positief *M. genitalium*-monster gedetecteerd met behulp van de referentietest. De tabel geeft de verkregen resultaten weer.

[#] Met de **ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎**-kit werden 10 echt negatieve *M. genitalium*-monsters gedetecteerd met behulp van de referentietest. De tabel geeft de verkregen resultaten weer.

16.1.3 Klinisch onderzoek 3

Er werd een retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd in Canterbury Health Laboratories (CHL), Christchurch, Nieuw-Zeeland op onderzochte, gearhiveerde monsters uit de periode 2010 tot 2016, die waren afgenomen met de multi-Collect-monsterafnamekit (Abbott). De 137 monsters bestonden uit 110 mannelijke urinemonsters, 11 vrouwelijke urinemonsters, 15 vaginale uitstrijkjes, 1 urethraal/vaginaal uitstrijkje en 1 vaginaal/baarmoederhalsuitstrijkje. Om de prestaties van de **ResistancePlus[®] MG**-kit te bepalen, werd de detectie van *M. genitalium* vergeleken met de klinische laboratoriumuitslag van een algemeen erkende MgPa qPCR, die ook wordt gebruikt voor routinediagnostiek in CHL (Jensen 2004), en werd de 23S-rRNA-mutantdetectie vergeleken met Sanger-sequenzen (Jensen 2008). De **ResistancePlus[®] MG**-kit werd uitgevoerd op de LC480 II, na monsterextractie op het MagNA Pure 96-apparaat, met de MagNA Pure 96 DNA en Viral NA Small Volume Kit volgens het Universal Pathogen 200-protocol. Voor detectie van *M. genitalium* werd de routinematige MgPa-test herhaald voor monsters waarvan de uitslag niet overeenkwam. Voor 23S-rRNA-mutantdetectie werd Sanger-sequencing als het juiste resultaat genomen. De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus[®] MG**-kit voor *M. genitalium*-detectie en 23S-rRNA-mutantdetectie worden weergegeven in **Tabel 20**. Eén monster werd uitgesloten omdat het resultaat van de interne controle niet geldig was. De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 21**. De analyse van de 23S-rRNA-mutatie wordt weergegeven in **Tabel 22**.

Tabel 20. Klinische evaluatie van de *ResistancePlus*[®] MG-kit (klinisch onderzoek 3)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> 16S-rRNA-qPCR | | 23S-rRNA-mutantdetectie Sequencing | | |
|--|----------|--|-----------------|---------------------------------------|---------------------------|----|
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype | |
| <i>ResistancePlus</i> [®] MG | Positief | 76 | 0 | Mutant gedetecteerd | 52 | 1 |
| | Negatief | 3 | 57 [^] | Mutant niet gedetecteerd | 5 | 19 |
| Gevoeligheid | | 96,2% (95% BI 89,3-99,2%) | | Gevoeligheid | 91,2% (95% BI 80,7-97,1%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 93,7-100,0%) | | Specificiteit | 95,0% (95% BI 75,1-99,9%) | |

95% BI - 95% betrouwbaarheidsinterval; Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

[^] De tabel geeft de verkregen resultaten weer.

Tabel 21. De analyse van de resultaten per type monster (klinisch onderzoek 3)

| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
|--------------------------------|---|---|--|
| Mannelijke urine | 45/45 | 17/18 ¹ | 38/45 ¹ |
| Vrouwelijke urine | 4/4 | 1/1 | 6/6 ² |
| Vaginaal uitstrijkje | 6/6 | 1/1 | 8/8 ³ |
| Urethraal/vaginaal uitstrijkje | 1/1 | 0/0 | 0/0 |
| Vaginaal/cervicaal uitstrijkje | 1/1 | 0/0 | 0/0 |

Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

¹ Mannelijke urine 1 *M. genitalium*-wildtype foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant, 4 A2058G, 32 A2059G, 1 A2058T juist gedetecteerd; 1 A2058C en 1 A2059G foutief gedetecteerd als *M. genitalium* niet gedetecteerd, 3 A2058C en 2 A2059G foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant niet gedetecteerd

² Vrouwelijke urine: 2 A2058G, 4 A2059G juist gedetecteerd

³ Vaginaal uitstrijkje: 1 A2058G, 7 A2059G juist gedetecteerd

Tabel 22. De analyse van de *M. genitalium* 23S-rRNA-mutatie (klinisch onderzoek 3)

| Resultaat van de referentie [^] | Resultaat van <i>ResistancePlus</i> [®] MG |
|--|---|
| Wildtype | 19/20 ¹ |
| A2058G | 7/10 ² |
| A2059G | 43/45 ³ |
| A2058T | 1/1 |
| A2058C | 1/1 |

[^] Alleen voor monsters die positief zijn voor *M. genitalium*

¹ Wildtype 1 mannelijke urine foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant

² A2058G: 3 mannelijke urines foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant niet gedetecteerd

³ A2059G: 2 mannelijke urines foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-mutant niet gedetecteerd

16.1.4 Klinisch onderzoek 4

Er werd een retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd in het Universitair Ziekenhuis Vall d'Hebron (HUVH), Barcelona, Spanje, om de prestaties van de **ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎**-kit te beoordelen voor de detectie van *M. genitalium* en met azitromycineresistentie-geassocieerde mutaties in retrospectieve monsters die tussen december 2017 en april 2018 werden afgenomen. De monsters werden afgenomen met de DeltaSwab ViCUM[®] (Deltalab, Spanje) voor uitstrijkjes of met de Vacumed[®] Urine (FL medical, Italië) voor urine. De 86 monsters bestonden uit 46 urinemonsters en 40 vaginale uitstrijkjes. De monsters werden geëxtraheerd met de STARlet IVD (Hamilton) en geanalyseerd op het CFX96 Dx (Bio-Rad)-apparaat. Om de prestaties te beoordelen, werd de detectie van *M. genitalium* vergeleken met die van de Allplex[™] STI Essential (Seegene) en de **ResistancePlus[®] MG-kit** (SpeedX) op de LC480 II voor zowel de detectie van *M. genitalium* als van de 23S-rRNA-status. De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎**-kit voor detectie van *M. genitalium* in vergelijking met de Allplex[™] STI Essential (Seegene) zijn weergegeven in **Tabel 23**. De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎** in vergelijking met de **ResistancePlus[®] MG** wordt weergegeven in **Tabel 24**. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 25**.

Tabel 23. Vergelijking van de ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎-kit met de Allplex[™] STI essential (klinisch onderzoek 4)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> Allplex [™] STI Essential | |
|--|----------|---|----------|
| | | Positief | Negatief |
| ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎ | Positief | 40 | 0 |
| | Negatief | 0 | 46 |
| Gevoeligheid | | 100,0% (95% BI 91,2-100,0%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 92,3-100,0%) | |

Tabel 24. Klinische evaluatie van de ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎-kit (klinisch onderzoek 4)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> ResistancePlus[®] MG (LC480 II) | | 23S-rRNA-mutantdetectie [#] ResistancePlus[®] MG (LC480 II) | |
|--|----------|--|----------|---|--------------------------|
| | | Positief | Negatief | Mutant gedetecteerd | Mutant niet gedetecteerd |
| ResistancePlus[®] MG₍₆₇₅₎ | Positief | 40 | 0 | 20 | 0 |
| | Negatief | 0 | 46 | 1 | 20 |
| Gevoeligheid | | 100,0% (95% BI 91,2-100,0%) | | Gevoeligheid 100,0% (95% BI 83,2-100,0%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 92,3-100,0%) | | Specificiteit 100,0% (95% BI 83,2-100,0%) | |

95% BI - 95% betrouwbaarheidsinterval; Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

[#] 1 monster werd uitgesloten van analyse omdat deze was gesequenced als gemengd wildtype en mutant

Tabel 25. De analyse van de resultaten per type monster (klinisch onderzoek 4)

| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
|----------------------|--|---|---|
| Mannelijke urine | 26/26 | 5/5 | 15/15 |
| Vaginaal uitstrijkje | 20/20 | 15/15 | 5/5 |

16.1.5 Klinisch onderzoek 5

Er werd een retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd in het Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australië in de periode juni tot november 2017 met urinemonsters en vaginale uitstrijkjes die werden afgenomen met de Aptima®. Monsters van gematchte patiënten werden afgenomen als zuivere urine (routinemonster) of met de Aptima® Urine Specimen Collection kit (Hologic), of als droog wattenstaafje (routinemonster) of met de Aptima® Unisex Swab Specimen Collection kit (Hologic). De 147 monsters bestonden uit 122 urinemonsters en 25 vaginale uitstrijkjes. Om de prestaties van de met Aptima® afgenomen monsters met de **ResistancePlus®** MG-kit te bepalen, werd de detectie van *M. genitalium* en 23S-rRNA-mutanten vergeleken met de klinische diagnostische resultaten van de routinemonsters met de **ResistancePlus®** MG-kit (SpeedX). Het testen van de met de Aptima® afgenomen monsters werd uitgevoerd op de LC480 II, na monsterextractie op het MagNA Pure 96-apparaat met de MagNA Pure 96 DNA en Viral NA Small Volume Kit volgens het Viral NA Universal LV 1000-protocol. De klinische diagnostische resultaten van RWH, verkregen uit een gematcht diagnostisch monster getest met de **ResistancePlus®** MG-kit (SpeedX), werd genomen als het juiste resultaat voor *M. genitalium*. Voor de 23S-rRNA-mutantdetectie werd het resultaat vergeleken met het diagnostische resultaat en Sanger-sequenzen.

De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus®** MG-kit voor detectie van *M. genitalium* en 23S-rRNA-mutanten zijn weergegeven in **Tabel 26**. De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 27**.

| Tabel 26. Klinische evaluatie van de ResistancePlus® MG-kit (klinisch onderzoek 5) | | | | | | |
|---|----------|--|----------|--|----------|-----------------------------|
| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> | | 23S-rRNA-mutantdetectie | | |
| | | ResistancePlus® MG (routinemonster) | | ResistancePlus® MG (routinemonster) | | |
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype | |
| ResistancePlus® MG (met 1 ml Aptima-monster) | Positief | 77 | 3 | Mutant gedetecteerd | 51 | 0 |
| | Negatief | 3 | 64 | Mutant niet gedetecteerd | 2 | 24 |
| Gevoeligheid | | 96,3% (95% BI 89,4-99,2%) | | Gevoeligheid | | 96,2% (95% BI 87,0-99,5%) |
| Specificiteit | | 95,5% (95% BI 87,5-99,1%) | | Specificiteit | | 100,0% (95% BI 86,0-100,0%) |

| Tabel 27. De analyse van de resultaten per type monster (klinisch onderzoek 5) | | | |
|--|--|--|---|
| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
| Urine | 50/52 ¹ | 21/22 ¹ | 45/48 ¹ |
| Vaginaal uitstrijkje | 14/15 ² | 3/4 ² | 6/6 |

Mutant - 23S-rRNA-mutatie in A2058G-, A2059G-, A2058T- en A2058C-posities (*E. coli*-nummering); Wildtype - het ontbreken van een mutatie in deze posities.

¹ Urine: 2 *M. genitalium*-negatieve monsters foutief gedetecteerd als respectievelijk *M. genitalium* wildtype en mutant; 1 *M. genitalium* wildtype foutief gedetecteerd als *M. genitalium* negatief; 2 *M. genitalium*-mutanten foutief gedetecteerd als *M. genitalium* wildtype; 1 *M. genitalium*-mutant foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-negatief

² Vaginaal uitstrijkje: 1 *M. genitalium*-negatief monster foutief gedetecteerd als *M. genitalium* wildtype; 1 *M. genitalium* wildtype foutief gedetecteerd als *M. genitalium*-negatief

16.1.6 Klinisch onderzoek 6

Er werd een retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd aan het University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Australië, met gebruik van Cobas® x480-extracten van urine en uitstrijkjes afgenomen in de periode februari 2017 tot februari 2019. Monsters werden afgenomen als zuivere urine of met de Cobas® PCR media collection kit (Roche) en geëxtraheerd op het Cobas® x480 (Cobas® 4800, Roche)-apparaat met gebruik van de "Full Workflow" en het "CT/NG"-protocol, zonder toevoeging van SpeedX interne controlecellen. De monsters bestonden uit 10 vaginale uitstrijkjes, 5 hoge vaginale uitstrijkjes en 84 mannelijke en 10 vrouwelijke urinemonsters.

Om de prestaties van de Cobas®-extracten te bepalen met de **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-kit, werd de detectie van *M. genitalium* vergeleken met de klinisch routinematige diagnostische resultaten (MgPa PCR-test (Trembizki *et al.*, 2017)) en 23S-rRNA-mutantdetectie werd vergeleken met Sanger-sequenzen. De **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-kit werd uitgevoerd op de ABI 7500 Fast Dx. De gevoeligheid en specificiteit van de **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-kit voor detectie van *M. genitalium* en detectie van 23S-rRNA-mutanten zijn weergegeven in **Tabel 28**. De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 29**. De analyse van de 23S-rRNA-mutatie wordt weergegeven in **Tabel 30**.

Tabel 28. Klinische evaluatie van de **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-kit (klinisch onderzoek 6)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> MgPa qPCR | | 23S-rRNA-mutantdetectie Sanger-sequenzen | |
|---|----------|--|----------|---|-----------------|
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype |
| ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎ | Positief | 54 | 0 | Mutant gedetecteerd | 37 [^] |
| | Negatief | 1 | 51 | Mutant niet gedetecteerd | 17 |
| Gevoeligheid | | 98,2% (95% BI 90,3-100,0%) | | Gevoeligheid | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 93,0-100,0%) | | Specificiteit | |
| | | | | 100,0% (95% BI 90,5-100,0%) | |
| | | | | 100,0% (95% BI 80,5-100,0%) | |

[^] 1 vaginaal monster gaf een gemengd wildtype/A2059G-sequencingresultaat dat juist als mutant werd geïdentificeerd in de **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-test

Tabel 29. De analyse van de resultaten per type monster (klinisch onderzoek 6) [#]

| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
|---------------------------|---|--|--|
| Mannelijke urine | 42/42 | 13/13 | 26/27 ¹ |
| Vrouwelijke urine | 6/6 | 1/1 | 3/3 ² |
| Vaginaal uitstrijkje | 1/1 | 1/1 | 7/7 ^{3^} |
| Hoog vaginaal uitstrijkje | 2/2 | 2/2 | 1/1 ⁴ |

[#] 3 monsters werden uitgesloten omdat het sequenzen mislukte en de juiste 23S-status niet kon worden bepaald, waaronder: 2 urinemonsters en 1 vaginaal monster

¹ Mannelijke urine: 8 A2058G, 3 A2058T en 15 A2059G juist geïdentificeerd; 1 A2058T werd foutief geïdentificeerd als *M. genitalium* niet-gedetecteerd

² Vrouwelijke urine: 2 A2058G en 1 A2059G juist geïdentificeerd

³ Vaginaal uitstrijkje: 3 A2058G, 2 A2058T en 1 A2059G juist geïdentificeerd; [^] 1 vaginaal uitstrijkje werd geïdentificeerd als een gemengd WT/A2059G

⁴ Hoog vaginaal uitstrijkje 1 A2059G juist geïdentificeerd

Tabel 30. De analyse van de *M. genitalium* 23S-rRNA-mutatie (klinisch onderzoek 6)

| Resultaat van de referentie [^] | Resultaat van <i>ResistancePlus</i> [®] MG |
|--|---|
| Wildtype | 17/17 |
| A2058G | 13/13 |
| A2059G | 19/19 ¹ |
| A2058T | 5/5 |
| A2058C | - |

[^] Alleen voor monsters die positief zijn voor *M. genitalium*

¹ A2059G: 1 vaginaal uitstrijkje gemengd wildtype/A2059G juist geïdentificeerd als *M. genitalium*, 23S-mutatie gedetecteerd

16.1.7 Klinisch onderzoek 7

Er werd een retrospectief klinisch onderzoek uitgevoerd in de Microbiological Diagnostic Unit, Public Health Unit (MDU), Victoria, Australië, met behulp van droge wattenstaafjes en zuivere urine afgenomen in de periode oktober 2018 tot januari 2019. De monsters bestonden uit 19 vaginale uitstrijkjes, 2 hoge vaginale uitstrijkjes en 44 urinemonsters.

De *ResistancePlus*[®] MG-kit werd uitgevoerd op de LC480 II, na monsterextractie op het QIASymphony SP (QIAGEN)-apparaat met de DSP Virus/Pathogen Mini-kit en het Complex200_V6_DSP-protocol. De resultaten werden vergeleken met de diagnostische routineresultaten van de *ResistancePlus*[®] MG-kit (SpeedX) waarbij de monsters geëxtraheerd werden met het MagNA Pure 96-apparaat (MP96). Voor monsters waarvan de uitslag niet overeenkwam werd een 16S-rRNA-qPCR (Twin 2011)-test uitgevoerd voor detectie van *M. genitalium* en Sanger-sequenzen (Twin 2012) werd uitgevoerd voor detectie van 23S-rRNA-mutanten. De gevoeligheid en specificiteit van de *ResistancePlus*[®] MG-kit voor detectie van *M. genitalium* en detectie van 23S-rRNA-mutanten zijn weergegeven in **Tabel 31**. De analyse van 23S-rRNA-mutantdetectie omvatte alleen monsters waarbij de mutantstatus kon worden vastgesteld. De analyse van de resultaten per type monster wordt weergegeven in **Tabel 32**.

Tabel 31. Klinische evaluatie van de *ResistancePlus*[®] MG-kit (klinisch onderzoek 7)

| | | Detectie van <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> [®] MG (MP96) | | 23S-rRNA-mutantdetectie <i>ResistancePlus</i> [®] MG (MP96) | | |
|--|----------|---|----------|---|---------------------------|----|
| | | Positief | Negatief | Mutant | Wildtype | |
| <i>ResistancePlus</i> [®] MG (QIASymphony SP) | Positief | 36 | 0 | Mutant gedetecteerd | 16 | 1 |
| | Negatief | 1 | 27 | Mutant niet gedetecteerd | 1 | 18 |
| Gevoeligheid | | 97,3% (95% BI 85,8-99,9%) | | Gevoeligheid | 94,1% (95% BI 71,3-99,9%) | |
| Specificiteit | | 100,0% (95% BI 87,2-100,0%) | | Specificiteit | 94,7% (95% BI 74,0-99,9%) | |

Tabel 32. De analyse van de resultaten per type monster (klinisch onderzoek 7) [#]

| Monster | Verwacht <i>M. genitalium</i> negatief | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA wildtype | Verwacht <i>M. genitalium</i> 23S-rRNA-mutant |
|---------------------------|--|---|---|
| Mannelijke urine | 17/17 | 9/9 | 12/14 ¹ |
| Vrouwelijke urine | 1/1 | 1/2 ² | 1/1 |
| Vaginaal uitstrijkje | 8/8 [#] | 7/7 | 3/3 |
| Hoog vaginaal uitstrijkje | 1/1 | 1/1 | - |

[#] 1 vaginaal uitstrijkje werd uitgesloten omdat het resultaat van de **ResistancePlus**[®] MG-kit niet geldig was.

¹ Mannelijke urine: 1 *M. genitalium* 23S-rRNA-mutant werd foutief geïdentificeerd als *M. genitalium* niet-gedetectedeerd; 1 *M. genitalium* 23S-rRNA-mutant werd foutief geïdentificeerd als *M. genitalium* gedetectedeerd, 23S-mutatie niet-gedetectedeerd

² Vrouwelijke urine: 1 foutief geïdentificeerd als *M. genitalium* gedetectedeerd, 23S-rRNA-mutatie gedetectedeerd

16.2 Klinische prestaties

16.2.1 Reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid

De reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid van de **ResistancePlus**[®] MG-kit op de LC480 II werd beoordeeld met behulp van gekwantificeerde synthetische templates voor *M. genitalium* MgPa en 23S-rRNA-doelen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C) bij 10.000 en 3x LOD-kopieën per reactie met 6 herhalingen (tenzij anders aangegeven). De testen werden uitgevoerd op de LC480 II.

Om de variabiliteit tussen partijen te bepalen, werden twee partijen getest die op één machine en door één medewerker (**Tabel 33**) werden uitgevoerd. De twee partijen vertoonden een goede reproduceerbaarheid met een variatiecoëfficiënt (%CV) tussen 0,35-2,37% voor alle doelen.

| Tabel 33. Variabiliteit tussen partijen | | | | |
|---|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 16,9 | 0,15 | 0,89 | 12/12 |
| MgPa 30 kopieën | 25,5 | 0,52 | 2,05 | 12/12 |
| A2058G 10.000 kopieën | 20,4 | 0,48 | 2,37 | 12/12 |
| A2058G 36 kopieën | 27,8 | 0,43 | 1,54 | 12/12 |
| A2059G 10.000 kopieën | 18,0 | 0,06 | 0,35 | 12/12 |
| A2059G 30 kopieën | 25,6 | 0,50 | 1,94 | 12/12 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,7 | 0,09 | 0,46 | 12/12 |
| A2058T 30 kopieën | 26,2 | 0,30 | 1,14 | 12/12 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,7 | 0,13 | 0,75 | 12/12 |
| A2058C 30 kopieën | 25,4 | 0,29 | 1,15 | 12/12 |

Om de variabiliteit van dag tot dag te bepalen, werden er gedurende drie dagen testen uitgevoerd door één medewerker op dezelfde machine (**Tabel 34**). De drie runs lieten een goede reproduceerbaarheid zien tussen verschillende dagen met variatiecoëfficiënten tussen 0,88-2,31% voor alle doelen.

| Tabel 34. Variabiliteit van dag tot dag | | | | |
|---|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 17,0 | 0,18 | 1,09 | 18/18 |
| MgPa 30 kopieën | 25,6 | 0,59 | 2,31 | 18/18 |
| A2058G 10.000 kopieën | 20,2 | 0,37 | 1,83 | 18/18 |
| A2058G 36 kopieën | 27,9 | 0,51 | 1,84 | 18/18 |
| A2059G 10.000 kopieën | 18,1 | 0,24 | 1,34 | 18/18 |
| A2059G 30 kopieën | 25,7 | 0,32 | 1,23 | 18/18 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,7 | 0,23 | 1,22 | 18/18 |
| A2058T 30 kopieën | 26,3 | 0,31 | 1,17 | 18/18 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,8 | 0,16 | 0,88 | 18/18 |
| A2058C 30 kopieën | 25,5 | 0,31 | 1,22 | 18/18 |

Om de variabiliteit van run tot run te bepalen, werden drie qPCR-runs vergeleken die op dezelfde dag door dezelfde medewerker werden uitgevoerd (Tabel 35). De drie runs lieten een goede reproduceerbaarheid zien met variatiecoëfficiënten tussen 0,40-3,20% voor alle doelen.

| Tabel 35. Variabiliteit van run tot run | | | | |
|---|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 17,0 | 0,07 | 0,40 | 18/18 |
| MgPa 30 kopieën | 25,7 | 0,47 | 1,83 | 18/18 |
| A2058G 10.000 kopieën | 19,8 | 0,63 | 3,20 | 18/18 |
| A2058G 36 kopieën | 27,5 | 0,51 | 1,85 | 18/18 |
| A2059G 10.000 kopieën | 18,4 | 0,11 | 0,61 | 18/18 |
| A2059G 30 kopieën | 25,7 | 0,39 | 1,52 | 18/18 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,7 | 0,22 | 1,18 | 18/18 |
| A2058T 30 kopieën | 26,4 | 0,42 | 1,59 | 18/18 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,8 | 0,08 | 0,46 | 18/18 |
| A2058C 30 kopieën | 25,5 | 0,31 | 1,22 | 18/18 |

Om de variabiliteit tussen medewerkers te bepalen, werden twee runs van twee medewerkers met elkaar vergeleken (Tabel 36). De twee runs van verschillende medewerkers lieten een goede reproduceerbaarheid zien met variatiecoëfficiënten tussen 0,54-1,62% voor alle doelen.

| Tabel 36. Variabiliteit tussen medewerkers | | | | |
|--|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 16,8 | 0,12 | 0,73 | 12/12 |
| MgPa 30 kopieën | 25,3 | 0,41 | 1,61 | 12/12 |
| A2058G 10.000 kopieën | 20,2 | 0,24 | 1,21 | 12/12 |
| A2058G 36 kopieën | 27,9 | 0,45 | 1,62 | 12/12 |
| A2059G 10.000 kopieën | 17,9 | 0,10 | 0,58 | 12/12 |
| A2059G 30 kopieën | 25,5 | 0,39 | 1,53 | 12/12 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,6 | 0,10 | 0,54 | 12/12 |
| A2058T 30 kopieën | 26,1 | 0,31 | 1,20 | 12/12 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,7 | 0,13 | 0,71 | 12/12 |
| A2058C 30 kopieën | 25,2 | 0,27 | 1,06 | 12/12 |

Om de variabiliteit tussen apparaten te bepalen, werden twee runs van twee apparaten vergeleken, uitgevoerd door dezelfde medewerker (**Tabel 37**). De runs van verschillende apparaten lieten een goede reproduceerbaarheid zien met variatiecoëfficiënten tussen 0,30-2,62% voor alle doelen.

| Tabel 37. Variabiliteit tussen apparaten | | | | |
|--|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 16,7 | 0,10 | 0,60 | 12/12 |
| MgPa 30 kopieën | 25,4 | 0,67 | 2,62 | 12/12 |
| A2058G 10.000 kopieën | 20,0 | 0,07 | 0,33 | 12/12 |
| A2058G 36 kopieën | 27,8 | 0,51 | 1,82 | 12/12 |
| A2059G 10.000 kopieën | 17,8 | 0,05 | 0,30 | 12/12 |
| A2059G 30 kopieën | 25,3 | 0,36 | 1,41 | 12/12 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,5 | 0,09 | 0,50 | 12/12 |
| A2058T 30 kopieën | 25,9 | 0,30 | 1,16 | 12/12 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,6 | 0,13 | 0,75 | 12/12 |
| A2058C 30 kopieën | 25,3 | 0,36 | 1,44 | 12/12 |

Om de variabiliteit binnen een run te bepalen, werden drie testen vergeleken, apart uitgevoerd door dezelfde medewerker en waarbij elk doel op dezelfde plaat werd uitgevoerd (**Tabel 38**). De drie testen lieten een goede reproduceerbaarheid zien met variatiecoëfficiënten tussen 0,57-3,12% voor alle doelen.

| Tabel 38. Variabiliteit binnen een run | | | | |
|--|---------------|-------|------|------------|
| | Gemiddelde Cq | STDEV | %CV | # monsters |
| MgPa 10.000 kopieën | 17,3 | 0,36 | 2,09 | 18/18 |
| MgPa 30 kopieën | 25,9 | 0,81 | 3,12 | 18/18 |
| A2058G 10.000 kopieën | 20,2 | 0,11 | 0,57 | 18/18 |
| A2058G 36 kopieën | 28,0 | 0,65 | 2,31 | 18/18 |
| A2059G 10.000 kopieën | 17,9 | 0,15 | 0,83 | 18/18 |
| A2059G 30 kopieën | 25,8 | 0,38 | 1,46 | 18/18 |
| A2058T 10.000 kopieën | 18,8 | 0,12 | 0,66 | 18/18 |
| A2058T 30 kopieën | 26,8 | 0,38 | 1,41 | 18/18 |
| A2058C 10.000 kopieën | 17,8 | 0,15 | 0,83 | 18/18 |
| A2058C 30 kopieën | 25,5 | 0,36 | 1,41 | 18/18 |

16.2.2 Analytische gevoeligheid

De analytische gevoeligheid van de **ResistancePlus**[®] MG-kit op de LC480 II werd bepaald door beperkte verdunningsreeksen uit te voeren met gekwantificeerde synthetische templates voor *M. genitalium* MgPa en 23S-rRNA-doelen (A2058G, A2059G, A2058T en A2058C). De gevoeligheid voor elk doel werd bepaald als het aantal kopieën per reactie met $\geq 95\%$ detectie weergegeven in **Tabel 39**.

| Tabel 39. Analytische gevoeligheid | |
|------------------------------------|--|
| | Analytische gevoeligheid (kopieën/reactie) |
| MgPa | 10 |
| A2058G | 12 |
| A2059G | 10 |
| A2058T | 10 |
| A2058C | 10 |

16.2.3 Analytische specificiteit

Dit onderzoek werd uitgevoerd om de **ResistancePlus**[®] MG-kit te beoordelen bij de aanwezigheid van hoge concentraties niet-doelorganismen. Een panel van 65 micro-organismen (4 virussen, 2 protozoën, 4 schimmels en 55 bacteriën) die pathogenen of flora vertegenwoordigen die vaak voorkomen in het urogenitale systeem, of die nauw verband houden met *M. genitalium*, werd onderzocht. Elke bacteriestam werd getest met 1×10^6 genomen/ml, tenzij anders aangegeven. Virale stammen werden getest met 1×10^5 genomen/ml, tenzij anders aangegeven. Alle andere organismen werden getest bij de aangegeven concentraties. Alle organismen werden gekwantificeerd met qPCR, buiten de organismen die gekwantificeerd werden als kolonievormende eenheden (CFU) of plaquevormende eenheden (PFU) (**Tabel 40**). Alle micro-organismen werden in drievoud getest. Alle geteste micro-organismen werden verdund in een negatieve klinische matrix (urine of vaginaal uitstrijkje).

Geen van de organismen gaven vals-positieve resultaten in de negatieve *M. genitalium*-matrices (**Tabel 40**).

Ook werd een *in silico* analyse uitgevoerd om te beoordelen of de oligonucleotiden in de **ResistancePlus**[®] MG-test nucleïnezuursequenties van niet-doelorganismen die beschikbaar zijn in BLAST konden amplificeren en detecteren. Er werden geen significante interacties gedetecteerd.

Tabel 40. Micro-organismen getest op analytische specificiteit

| Organisme | Concentratie (genomen/ml) | Organisme | Concentratie (genomen/ml) | Organisme | Concentratie (genomen/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-cellen) [^] | 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 | | |

* het getal tussen haakjes geeft het aantal geteste stammen weer

[^] gekwantificeerd als PFU/ml

[#] gekwantificeerd als CFU/ml

16.2.4 Mogelijk storende substanties

Er werd een onderzoek uitgevoerd naar mogelijk storende substanties om na te gaan of substanties of omstandigheden die aanwezig kunnen zijn in urinemonsters of vaginale uitstrijkjes de prestaties van de **ResistancePlus**[®]-test zouden kunnen beïnvloeden. Het panel bestond uit endogene stoffen zoals bloed, mucine, leukocyten en geneesmiddelen (op recept en vrij verkrijgbaar) die gebruikt zouden kunnen worden voor de behandeling van urogenitale aandoeningen. Alle substanties werden geëvalueerd aan de hand van de prestaties van de interne controle, die de extractie en qPCR-remming controleert. Alle testen werden in drievoud uitgevoerd. De substanties werden verdund in een negatieve klinische matrix (urine of vaginaal uitstrijkje).

Geen van de substanties en omstandigheden verstoorden de detectie van de Interne Controle of leverden vals-positieve resultaten op.

De resultaten zijn samengevat in **Tabel 41** en **Tabel 42**.

| Tabel 41. Mogelijk storende substanties in urinemonsters | | |
|--|-----------------------------|--|
| Klasse/substantie | Naam product | Testconcentratie |
| Volbloed | -- | 1% v/v |
| Sperma | -- | 5,0% v/v |
| Mucus | Mucine | 0,8% w/v |
| Antibiotica | Azithromycine | 1,8 mg/ml |
| | Doxycycline | 3,6 mg/ml |
| Analgesica | Aspirine | 40 mg/ml |
| | Paracetamol | 3,2 mg/ml |
| Intravaginale hormonen | -- | 7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-estradiol |
| Leukocyten | -- | 10 ⁵ cellen/ml |
| Albumine | Runderalbumine | 10 mg/ml |
| Glucose | -- | 10 mg/ml |
| Zure urine (pH 4,0) | Urine + N-acetyl-L-cysteïne | pH 4,0 |
| Alkalische urine (pH 9,0) | Urine + ammoniumcitraat | pH 9,0 |
| Bilirubine | -- | 1 mg/ml |

| Tabel 42. Mogelijk storende substanties in vaginale uitstrijkjes | | |
|---|---|---|
| Klasse/substantie | Naam product | Testconcentratie |
| Bloed | -- | 60% v/v |
| Spermavocht | -- | 5,0% v/v |
| Mucus | Mucine | 0,8% w/v |
| Vaginale producten en voorbehoedsmiddelen die zonder recept verkrijgbaar zijn | 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 |
| Deodorant en poeders | Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz) | 0,25% v/v |
| Aambeienzalf | Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz) | 0,25% w/v |
| Uitsluitend op recept verkrijgbare medicaties | Metronidazole Vaginal Gel, 0.75% | 0,25% w/v |
| | Estrace® (estradiol vaginal cream, USP 0.01%) | 0,25% w/v |
| Leukocyten | -- | 10 ⁵ cellen/ml |
| Intravaginale hormonen | -- | 7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-estradiol |

16.2.5 Kruisreactiviteit met andere 23S-rRNA-mutaties

De kruisreactiviteit van de **ResistancePlus**® MG-kit werd beoordeeld met behulp van gekwantificeerde synthetische templates voor *M. genitalium* MgPa en 23S-rRNA-doelen (A2059C) bij 10.000 en 45 kopieën per reactie. Aangevoerd werd dat de **ResistancePlus**® MG-test kruisreageert met het *M. genitalium* A2059C 23S-rRNA-doel met een succesratio van 100%.

17 Klantondersteuning en technische ondersteuning

Neem contact op met de technische ondersteuning als u vragen hebt over de reactieopstelling, cyclusomstandigheden en andere vragen.

Tel: +61 2 9209 4169, E-mail: tech@speedx.com.au

18 Referenties

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, Bébéar 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. Hoofdstuk 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 realtime 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 Bijlage 1: LightCycler® 480 instrument II

De volgende informatie is gebaseerd op LightCycler® 480 Software (versie 1.5).

De **ResistancePlus**® MG-kit bevat kleurstoffen voor het LightCycler® 480 Instrument II. De **PlexPCR**® Colour Compensation-kit (kleurcompensatiekit) (catalogusnr. 90001) moet worden uitgevoerd en toegepast voor LC480 II-analyse (zie **paragraaf 19.2**). Deze kit is op aanvraag leverbaar.

19.1 Het LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II) programmeren

Detectieformaat

Maak een aangepast **Detection Format** (detectieformaat)

Open Tools (Open hulpmiddelen) > Detection Formats (detectieformaten)

Maak een nieuw detectieformaat en noem dit '**SpeedX PlexPCR**' (kan worden aangemaakt tijdens het genereren van het SpeedX Colour Compensation-bestand (kleurcompensatiebestand) (zie **Afbeelding 3**).

Selecteer voor **Filter Combination Selection** (keuze filtercombinatie) de volgende (Excitation-Emission (excitatie-emissie)):

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

[^] Deze filtercombinaties zijn de standaardnamen voor de kanalen

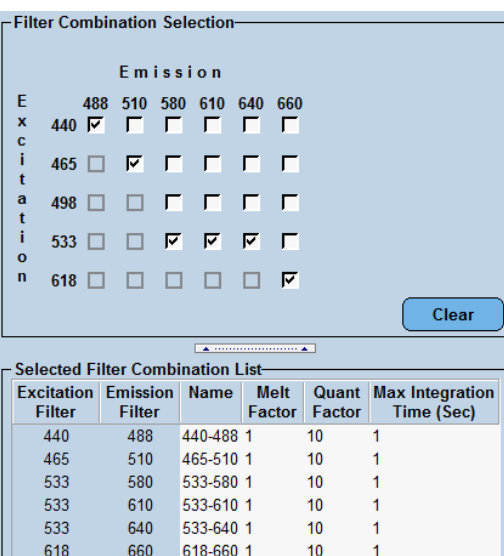
Stel de **Selected Filter Combination List** (lijst met geselecteerde filtercombinaties) voor alle kanalen in als:

Melt Factor (smeltfactor): 1

Quant Factor (kwantitatieve factor): 10

Max Integration Time (maximale integratietijd) (s): 1

Afbeelding 3. Aangepast SpeedX-detectieformaat



| Selected Filter Combination List | | | | | | |
|----------------------------------|-----------------|---------|-------------|--------------|----------------------------|--|
| 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 | |

Instrumentinstellingen

Maak een aangepast **Detection Format** (detectieformaat)

Open Tools (open hulpmiddelen) > Instruments (instrumenten)

Voor **Instrument Settings** (instrumentinstellingen) > selecteer **Barcode Enabled** (barcode ingeschakeld)

Installatie voor experiment

Selecteer **New Experiment** (nieuw experiment)

Ga als volgt te werk op de tabblad **Run Protocol** (run-protocol)

Voor **Detection Format** (detectieformaat) selecteert u het aangepaste '**SpeedX PlexPCR**' (**Afbeelding 4**)

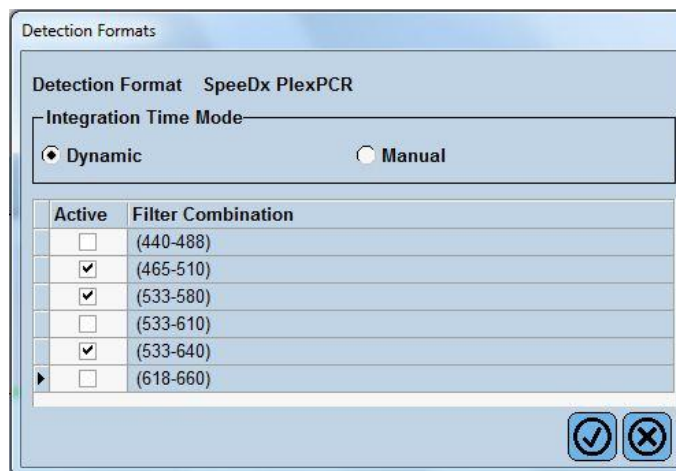
Selecteer **Customize** (aanpassen) >

Selecteer **Integration Time Mode** (modus integratietijd) > **Dynamic** (dynamisch)

Selecteer de volgende actieve **Filter Combinations** (filtercombinaties) die in **Tabel 44**

| Tabel 44. Kanalen voor <i>ResistancePlus</i>® MG-targets | | |
|---|-------------------------|--|
| <i>M. genitalium</i>-detectie (MgPa) | 23S rRNA-mutatie | Internal Control (interne controle) |
| 465-510 | 533-580 | 533-640 |

Afbeelding 4. Detectieformaat aanpassen



Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken kent u naamtags toe aan de wells op de plaat

Open de module **Sample Editor** (monstereditor)

Selecteer de well

Bewerk **Sample Name** (monsternaam) zodat deze overeenkomt met de naamtags die zijn gedefinieerd in de Assays-module van de analysesoftware (zie **paragraaf 24.4**)













Monsters worden voorzien van een label in de vorm *Voorvoegsel_Achtervoegsel* (zoals weergegeven in **Tabel 45** en

Afbeelding 5) bijv. Pa_MG

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

| Tabel 45. Naamtags van monsters voor analysesoftware | | | |
|--|-------------------------------------|--|----------------------------|
| Soort monster | Voorvoegsel (in analysesoftware) | _Achtervoegsel (in analysesoftware) | Naam monster (in LC480) |
| Regulier monster | S | _MG | S_MG |
| Negatieve controle | N | _MG | N_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa) | Pa | _MG | Pa_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb) | Pb | _MG | Pb_MG |

Afbeelding 5. Sample Editor (monstreditor) – naamtags aan wells toewijzen

| 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 |

Stel het **Reaction Volume** (reactievolume) in op > 20 µL

Maak het volgende programma aan (in meer detail weergegeven in **Afbeelding 6 – Afbeelding 9**):

| Tabel 46. Thermocyclingprogramma | | | | |
|--|----------------|------------------------------|-------------|----------------------------------|
| Programmanaam | Cycles (cycli) | Target °C | Hold (duur) | Ramp rate (toenametempo) (°C/s)* |
| Polymerase-activering | 1 | 95 °C | 2 min | 4,4 |
| Touch down cycling (touchdowncycli) ^o : Step down (stapsgewijze afname) -0,5 °C/cyclus | 10 | 95 °C | 5 s | 4,4 |
| | | 61 °C – 56,5 °C ^o | 30 s | 2,2 |
| Kwantificeringscycli ⁺ : Acquisitie/Detectie | 40 | 95 °C | 5 s | 4,4 |
| | | 52 °C ⁺ | 40 s | 2,2 |
| Cooling (afkoeling) | 1 | 40 °C | 30 s | 2,2 |

* Standaardtoename (plaat met 96 wells)

^o **Stapgrootte:** -0,5 °C/Cyclus, **Sec Target:** 56 °C

⁺ **Analysemodus:** Kwantificering, **Acquisitiemodus:** Enkelvoudig

Afbeelding 6. Thermocyclingprogramma – polymeraseactivering

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

| 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 |

Afbeelding 7. Thermocyclingprogramma – touchdowncycli

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

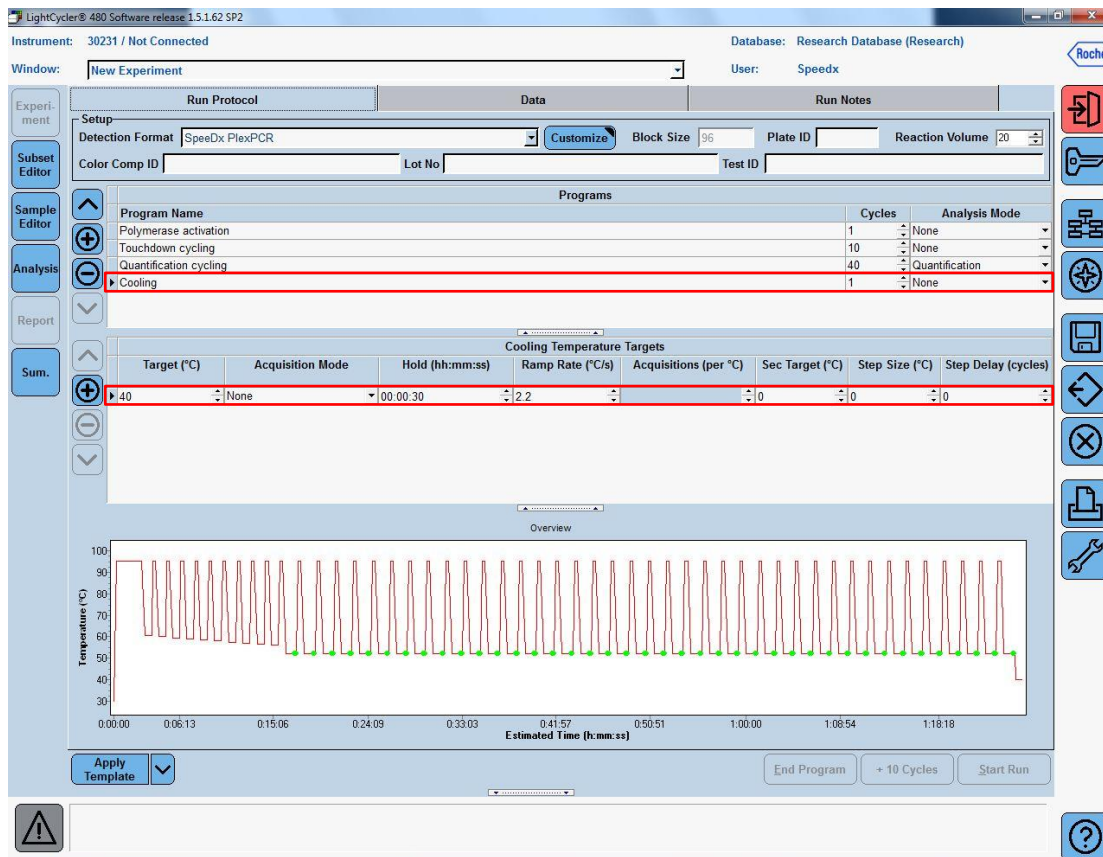
| Target (°C) | Acquisition Mode | Hold (hh:mm:ss) | Ramp Rate (°C/s) | Acquisitions (per °C) | Sec Target (°C) | Step Size (°C) | Step Delay (cycles) |
|-------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------|----------------|---------------------|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

Afbeelding 8. Thermocyclingprogramma – kwantificeringscycli

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

| 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 |

Afbeelding 9. Thermocyclingprogramma – afkoeling



> **Start Run** (run starten)

Wanneer het cyclingprogramma is afgelopen moet een .ixo bestand voor analyse naar de **ResistancePlus**[®] MG (LC480)-analysesoftware worden geëxporteerd.

Selecteer **Export** (Exporteren)

Sla dit op een duidelijk herkenbare locatie op

19.2 Colour Compensation (kleurcompensatie) voor LightCycler[®] 480 Instrument II

NB: De **PlexPCR**[®] Colour Compensation-kit (kleurcompensatiekit) (catalogusnr. 90001) moet worden uitgevoerd en toegepast voor LC480 II analyse. Deze kit is op aanvraag leverbaar.

Voor analyse met behulp van de software moet de monsternaam van de kleurcompensatiereacties worden gelabeld zoals weergegeven in **Tabel 47**.

Wanneer het cyclingprogramma is afgelopen moet een .ixo bestand voor analyse naar de **ResistancePlus**[®] MG (LC480)-analysesoftware worden geëxporteerd.

Selecteer **Export** (Exporteren)

Sla dit op een duidelijk herkenbare locatie op en noem het "**SpeedX PlexPCR**"

| Tabel 47. Monsternaam voor kleurcompensatiereacties voor de analysesoftware | | | | | | | |
|---|-------------------|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Reacties | | | | | | | |
| | BLANK (BLANCO) | 488 mix | 510 mix (510-mix) | 580 mix (580-mix) | 610 mix (610-mix) | 640 mix (640-mix) | 660 mix (660-mix) |
| Dominant kanaal | Water | 440-488 | 465-510 | 533-580 | 533-610 | 533-640 | 618-660 |
| Naam monster | BLANK (BLANCO) | 440-488 | 465-510 | 533-580 | 533-610 | 533-640 | 618-660 |

19.3 Interpretatie van de resultaten

Voor interpretatie van de gegevens is de **ResistancePlus**[®] MG (LC480)-analysesoftware vereist. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op met tech@speedx.com.au.

Zie **paragraaf 24** voor instructies voor het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG (LC480)-analysesoftware.

20 Bijlage 2: cobas z 480 analyser

De volgende informatie is gebaseerd op de cobas z 480 analyser-software (LightCycler 480 SW UDF 2.1.0). Neem contact op met uw vertegenwoordiger van Roche voor ondersteuning bij de toegang tot de UDF software van uw cobas z 480 analyser.

De **ResistancePlus**[®] MG-kit bevat kleurstoffen voor de cobas z 480 analyser. De **PlexPCR**[®] Colour Compensation-kit (kleurcompensatiekit) (catalogusnr. 90001) moet worden uitgevoerd en toegepast voor z 480 analyse (zie **paragraaf 20.2**). Deze kit is op aanvraag leverbaar.

20.1 De cobas z 480 analyser programmeren

Detectieformaat

Maak een aangepast **Detection Format** (detectieformaat)

Open Tools (Open hulpmiddelen) > Detection Formats (detectieformaten)

Maak een New Detection Format (nieuw detectieformaat) en noem dit 'SpeedX PlexPCR' (kan worden gemaakt tijdens het genereren van het SpeedX Colour Compensation-bestand (kleurcompensatiebestand) (zie **Afbeelding 10**).

Selecteer voor **Filter Combination Selection** (keuze filtercombinatie) de volgende (Excitation-Emission (excitatie-emissie)):

| Tabel 48. Filtercombinaties [^] | | | | | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| z 480 | 465-510 | 540-580 | 540-610 | 540-645 | 610-670 |

[^] Deze filtercombinaties zijn de standaardnamen voor de kanalen

Stel de **Selected Filter Combination List** (lijst met geselecteerde filtercombinaties) voor alle kanalen in als:

Melt Factor (smeltfactor): 1

Quant Factor (kwantitatieve factor): 10

Max Integration Time (maximale integratietijd) (s): 1

Afbeelding 10. Aangepast SpeedX-detectieformaat

Filter Combination Selection

Emission

| E | 510 | 580 | 610 | 645 | 670 | 700 |
|---|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| x | 465 <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| i | 498 <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| a | 540 <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| i | 610 <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| o | 680 <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Selected Filter Combination List

| 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 |

Instrumentinstellingen

Maak een aangepast **Detection Format** (detectieformaat)

Open Tools (open hulpmiddelen) > Instruments (instrumenten)

Voor **Instrument Settings** (instrumentinstellingen) > selecteer **Barcode Enabled** (barcode ingeschakeld)

Installatie voor experiment

Selecteer **New Experiment** (nieuw experiment)

Ga als volgt te werk op de tabblad **Run Protocol** (run-protocol)

Voor **Detection Format** selecteert u de aangepaste 'SpeedX PlexPCR' (**Afbeelding 11**)

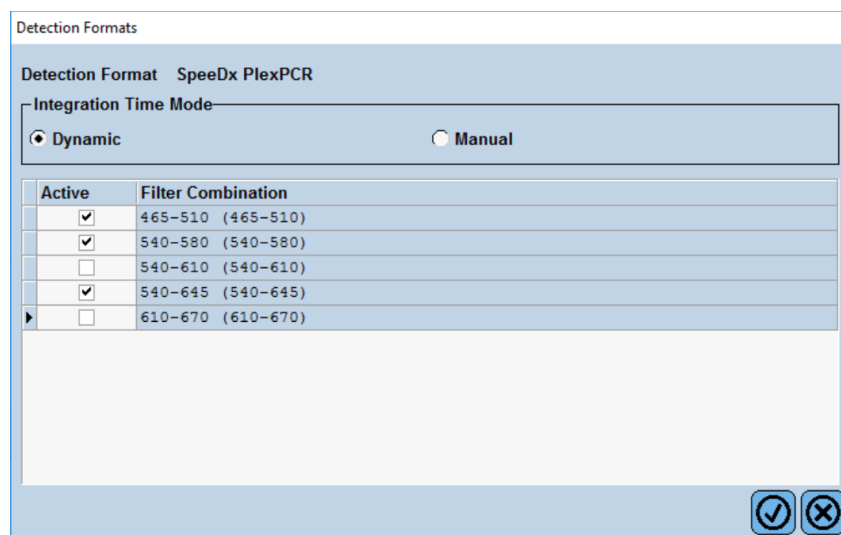
Selecteer **Customize** (aanpassen) >

Selecteer **Integration Time Mode** (modus integratietijd) > **Dynamic** (dynamisch)

Selecteer de volgende actieve **Filter Combinations** (filtercombinaties) die in **Tabel 49**

| Tabel 49. Kanalen voor <i>ResistancePlus</i> [®] MG-targets | | |
|--|------------------|-------------------------------------|
| <i>M. genitalium</i> -detectie (MgPa) | 23S rRNA-mutatie | Internal Control (interne controle) |
| 465-510 | 540-580 | 540-645 |

Afbeelding 11. Detectieformaat aanpassen



Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken kent u naamtags toe aan de wells op de plaat

Open de module **Sample Editor** (monstreditor)

Selecteer de well

Bewerk **Sample Name** (monsternaam) zodat deze overeenkomt met de naamtags die zijn gedefinieerd in de Assays-module van de analysesoftware (**zie paragraaf 24.4**)

Monsters worden voorzien van een label in de vorm van *Voorvoegsel_Achtervoegsel* (zoals weergegeven in **Tabel 50** en

Afbeelding 12) bijv. Pa_MG

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

| Tabel 50. Naamtags van monsters voor analysesoftware | | | |
|--|-------------------------------------|--|----------------------------|
| Soort monster | Voorvoegsel (in analysesoftware) | _Achtervoegsel (in analysesoftware) | Naam monster (in z 480) |
| Regulier monster | S | _MG | S_MG |
| Negatieve controle | N | _MG | N_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa) | Pa | _MG | Pa_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb) | Pb | _MG | Pb_MG |

Afbeelding 12. Sample Editor (monstereditor) – naamtags aan wells toewijzen

| Pos | Filter combination | Color | Repl Of | Sample Name | Quantification Sample Type |
|-----|--------------------|-------|---------|-------------|----------------------------|
| A12 | 465–510 (465) | ■ | | S_MG | Unknown |
| A12 | 540–580 (540) | ■ | | S_MG | Unknown |
| A12 | 540–645 (540) | ■ | | S_MG | Unknown |
| B12 | 465–510 (465) | ■ | | Pa_MG | Unknown |
| B12 | 540–580 (540) | ■ | | Pa_MG | Unknown |
| B12 | 540–645 (540) | ■ | | Pa_MG | Unknown |
| C12 | 465–510 (465) | ■ | | Pb_MG | Unknown |
| C12 | 540–580 (540) | ■ | | Pb_MG | Unknown |
| C12 | 540–645 (540) | ■ | | Pb_MG | Unknown |
| D12 | 465–510 (465) | ■ | | N_MG | Unknown |
| D12 | 540–580 (540) | ■ | | N_MG | Unknown |
| D12 | 540–645 (540) | ■ | | N_MG | Unknown |

Stel het **Reaction Volume** (reactievolume) in op > 20 µL

Maak het volgende programma aan (in meer detail weergegeven in **Afbeelding 13 - Afbeelding 16**):

| Tabel 51. Thermocyclingprogramma | | | | |
|---|----------------|------------------------------|-------------|--|
| Programmanaam | Cycles (cycli) | Target °C | Hold (duur) | Ramp rate (toenametempo) (°C/s) [‡] |
| Polymerase-activering | 1 | 95 °C | 2 min | 4,4 |
| Touch down cycling (touchdowncycli) [§] : | 10 | 95 °C | 5 s | 4,4 |
| Step down (stapsgewijze afname) -0,5 °C/cyclus | | 61 °C – 56,5 °C [§] | 30 s | 2,2 |
| Kwantificeringscycli [‡] : Acquisitie/Detectie | 40 | 95 °C | 5 s | 4,4 |
| | | 52 °C [‡] | 40 s | 2,2 |
| Cooling (afkoeling) | 1 | 40 °C | 30 s | 2,2 |

[‡] Standaardtoename (plaat met 96 wells)

[§] **Stapgrootte:** -0,5 °C/Cyclus, **Sec Target:** 56 °C

[‡] **Analysemodus:** Kwantificering, **Acquisitiemodus:** Enkelvoudig

Afbeelding 13. Thermocyclingprogramma – polymeraseactivering

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

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

Window: New Experiment

Run Protocol: SpeedX FlexPCR

Block Size: 96 Plate ID: Reaction Volume: 20

| 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 |

Afbeelding 14. Thermocyclingprogramma – touchdowncycli

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

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

Window: New Experiment

Run Protocol: SpeedX FlexPCR

Block Size: 96 Plate ID: Reaction Volume: 20

| 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 | 5.6 | 0.5 | 0 | 0 |

Afbeelding 15. Thermocyclingprogramma – kwantificeringscycli

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

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

Window: New Experiment

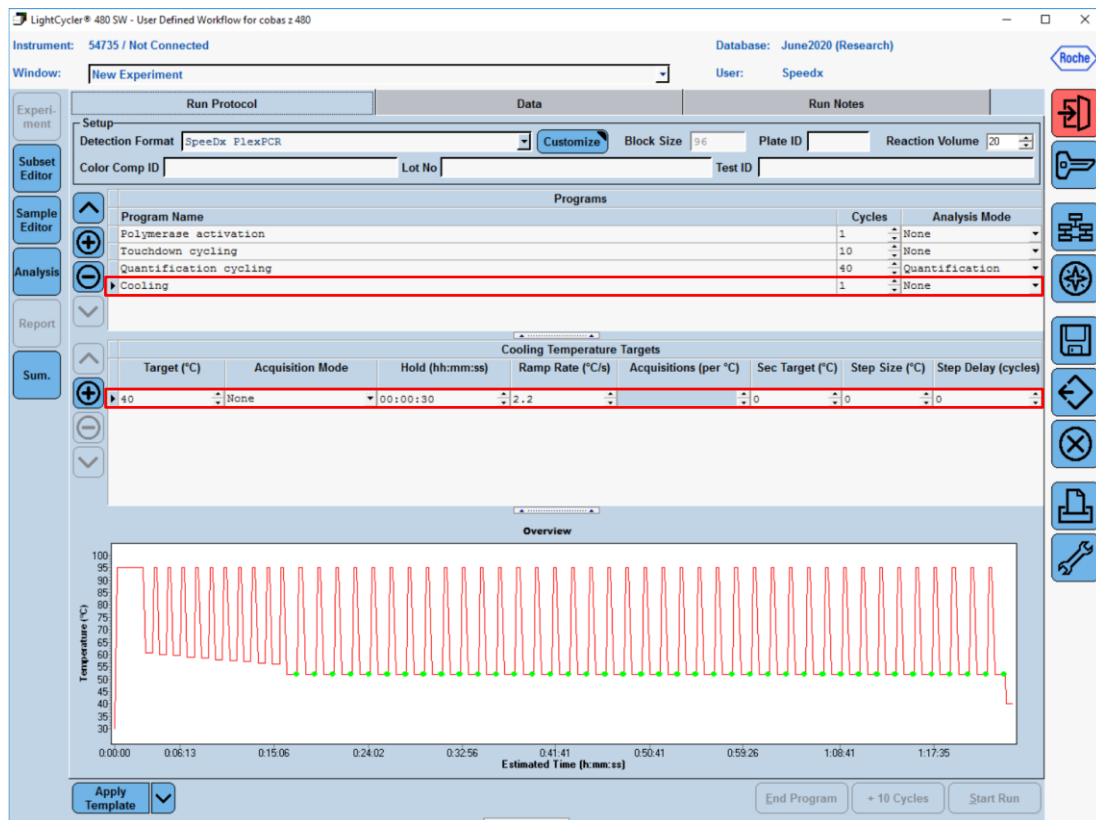
Run Protocol: SpeedX FlexPCR

Block Size: 96 Plate ID: Reaction Volume: 20

| 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 |

Afbeelding 16. Thermocyclingprogramma – afkoeling



> **Start Run** (run starten)

Wanneer het cyclingprogramma is afgelopen moet een .ixo bestand voor analyse naar de **ResistancePlus®** MG (z480)- analysesoftware worden geëxporteerd.

Selecteer **Export** (Exporteren)

Sla dit op een duidelijk herkenbare locatie op

20.2 Colour Compensation (kleurcompensatie) voor cobas z 480 analyser

NB: De **PlexPCR®** Colour Compensation-kit (kleurcompensatiekit) (catalogusnr. 90001) moet worden uitgevoerd en toegepast voor z480-analyse. Deze kit is op aanvraag leverbaar.

Voor analyse met behulp van de software moet de monsternaam van de kleurcompensatiereacties worden gelabeld zoals weergegeven in **Tabel 52**.

Wanneer het cyclingprogramma is afgelopen moet een .ixo bestand voor analyse naar de **ResistancePlus®** MG (z480)- analysesoftware worden geëxporteerd.

Selecteer **Export** (Exporteren)

Sla dit op een duidelijk herkenbare locatie op en noem het "**SpeedX PlexPCR**"

Tabel 52. Monsternaam voor kleurcompensatiereacties voor de analysesoftware

| Reacties | | | | | | |
|-----------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | BLANK (BLANCO) | 510 mix (510-mix) | 580 mix (580-mix) | 610 mix (610-mix) | 640 mix (640-mix) | 660 mix (660-mix) |
| Dominant kanaal | Water | 465-510 | 540-580 | 540-610 | 540-645 | 610-670 |
| Naam monster | BLANK (BLANCO) | 465-510 | 540-580 | 540-610 | 540-645 | 610-670 |

20.3 Interpretatie van de resultaten

Voor de interpretatie van de gegevens is de **ResistancePlus**[®] MG (z480)-analysesoftware vereist. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op met tech@speedx.com.au.

Zie **paragraaf 24** voor instructies voor het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG (z480)-analysesoftware.

21 Bijlage 3: Applied Biosystems® 7500 Fast

De volgende informatie is gebaseerd op 7500 Software v2.3.

De **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎-kit bevat kleurstoffen voor de Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Er wordt gebruikgemaakt van standaard kleurstofkalibraties voor alle kanalen. Aangepaste kalibratie is niet nodig.

21.1 De Applied Biosystems® 7500 Fast programmeren

Selecteer **Advanced Setup** (geavanceerde instellingen)

Open in **Setup** (instellingen) > **Experiment Properties** (eigenschappen van experiment) en selecteer het volgende

Geef het experiment een naam

Instrument (instrument) > 7500 Fast (96 Wells)

Type of experiment (soort experiment) > Quantitation (kwantificatie) – Standard Curve (standaardcurve)

Reagents (reagentia) > Other (overige)

Ramp Speed (toenamesnelheid) > Standard (standaard)

Open in **Setup** (instellingen) > **Plate Setup** (instellingen plaat)

Ga op het tabblad **Define Targets and Samples** (doelen en monsters definiëren) naar >

Define Targets (doelen definiëren) zoals hieronder weergegeven (definieer kleuren naar behoefte)

| Doelnaam | Reporter | Quencher |
|------------------|----------|-------------|
| MgPa | FAM | None (geen) |
| 23S rRNA-mutatie | JOE | None (geen) |
| IC | TAMRA | None (geen) |

Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken kent u naamtags toe aan de wells op de plaat

Open in **Setup** (instellingen) > **Plate Setup** (instellingen plaat)

Ga op het tabblad **Define Targets and Samples** (doelen en monsters definiëren) naar >

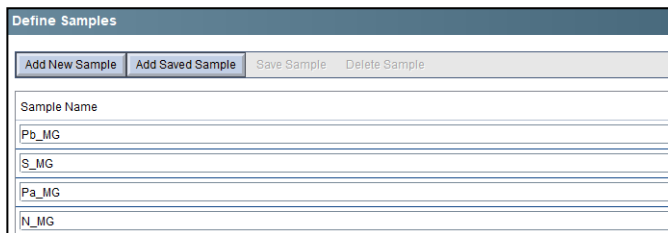
Define Samples (monsters definiëren)

Bewerk **Sample Name** (monsternaam) zodat deze overeenkomt met de naamtags die zijn gedefinieerd in de Assays-module van de analysesoftware (zie **paragraaf 24.4**)

Monsters worden voorzien van een label in de vorm *Voorvoegsel_Achtersvoegsel* (zoals weergegeven in **Tabel 54** en **Afbeelding 17**) bijv. Pa_MG

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

| Soort monster | Voorvoegsel (in analysesoftware) | _Achtersvoegsel (in analysesoftware) | Naam monster (in 7500 Fast) |
|---|-------------------------------------|---|--------------------------------|
| Regulier monster | S | _MG | S_MG |
| Negatieve controle | N | _MG | N_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa) | Pa | _MG | Pa_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb) | Pb | _MG | Pb_MG |

Afbeelding 17. Sample Editor (monstereditor) – naamtags aan wells toewijzen


Ga op het tabblad **Assign Targets and Samples** (doelen en monsters toewijzen) naar >

Selecteer wells en wijs doelen en monsters toe aan de geselecteerde wells

Selecteer **Passive reference** (passieve referentie) > None (geen)

Open in **Setup** (instellingen) > **Run Method** (run-methode)

Stel **Reaction Volume Per Well** (reactievolume per well) in op > 20 µL

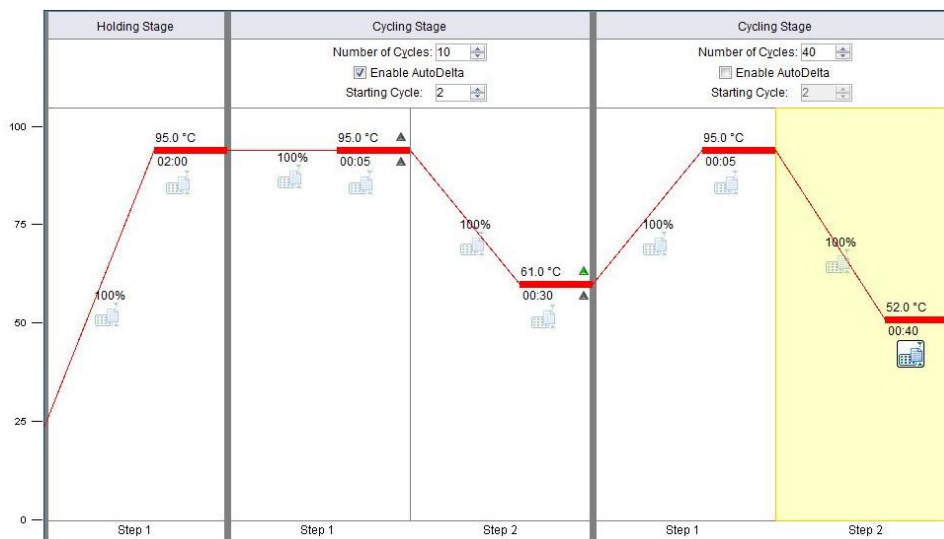
Maak het volgende programma aan (in meer detail weergegeven in Graphical View [grafische weergave] (**Afbeelding 18** en **Afbeelding 19**) en Tabular View (tabelweergave) (**Afbeelding 20**):

| Tabel 55. Thermocyclingprogramma | | | | |
|---|----------------|------------------------------|-------------|-----------------|
| Programmanaam | Cycles (cycli) | Target °C | Hold (duur) | Ramp (toename)* |
| Polymerase-activering | 1 | 95 °C | 2 min | 100% |
| Touch down cycling (touchdowncycli): Step down (stapsgewijze afname) -0,5 °C/cyclus ^o | 10 | 95 °C | 5 s | 100% |
| | | 61 °C – 56,5 °C ^o | 30 s | 100% |
| Quantification cycling (kwantificeringscycli)*: Acquisitie/detectie | 40 | 95 °C | 5 s | 100% |
| | | 52 °C ⁺ | 40 s | 100% |

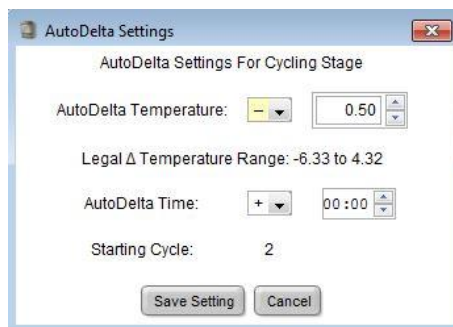
* Standaardtoename/-afname

^o Enable AutoDelta (AutoDelta inschakelen): -0,5 °C/cyclus

⁺ Collect data on hold (gegevens verzamelen opgeschort)

Afbeelding 18. Run method (run-methode) – Graphical View (grafische weergave)


Afbeelding 19. Run method (run-methode) – Graphical View (grafische weergave) – Enable AutoDelta (AutoDelta inschakelen)



Afbeelding 20. Run method (run-methode) – Tabular View (tabelweergave)

| | Holding Stage | Cycling Stage | | Cycling Stage | |
|----------------------|---------------|---|---------|--|--------|
| | | Number of Cycles: 10 <input checked="" type="checkbox"/> Enable AutoDelta Starting Cycle: 2 | | Number of Cycles: 40 <input type="checkbox"/> 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 |

Open in **Setup** (instellingen) > **Run Method** (run-methode)

Selecteer **Start Run** (run starten)

21.2 Interpretatie van de resultaten

Voor interpretatie van de gegevens is de **ResistancePlus**[®] MG (7500)-analysesoftware vereist. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op met tech@speedx.com.au.

Zie **paragraaf 24** voor instructies voor het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG (7500)-analysesoftware.

22 Bijlage 4: Applied Biosystems 7500 Fast Dx

De volgende informatie is gebaseerd op SDSSoftware v1.4.1 voor de 7500 Fast Dx.

De **ResistancePlus**[®] MG₍₅₅₀₎-kit bevat kleurstoffen voor de Applied Biosystems[®] (ABI) 7500 Fast Dx. Er wordt gebruikgemaakt van standaard kleurstofkalibraties voor alle kanalen. Aangepaste kalibratie is niet nodig.

22.1 De Applied Biosystems[®] 7500 Fast Dx programmeren

Selecteer Create New Document (nieuw document aanmaken)

Selecteer in de **New Document Wizard** (wizard nieuw document) het volgende (**Afbeelding 21**):

Assay > Standard Curve (Absolute Quantification) (Standaardcurve (absolute kwantificering))

Container > 96-Well Clear

Template (sjabloon) > Leeg document

Run mode (run-modus) > Standard 7500

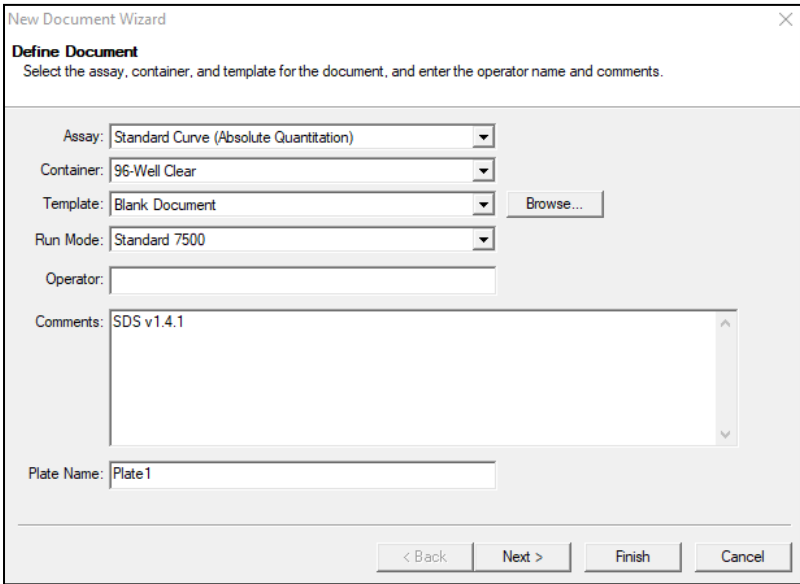
Operator > Voer naam operator in

Comments (opmerkingen) > Voer opmerkingen of extra aantekeningen in voor het run-bestand

Plate Name (plaatnaam) > Wijs een unieke naam toe aan het run-bestand

Selecteer **Next** (volgende)

Afbeelding 21. Venster New Document Wizard (wizard nieuw document)



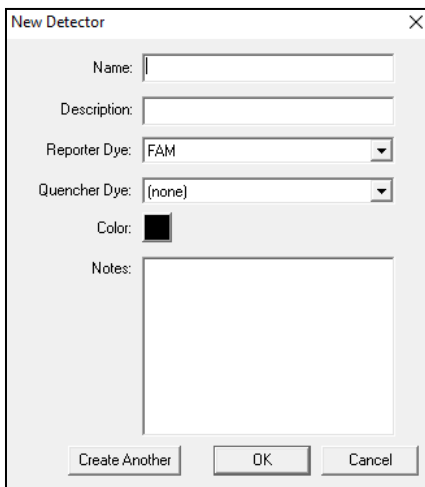
Selecteer in **Select Detectors** (detectoren selecteren) > **New Detector** (nieuwe detector)

Definieer targets zoals hieronder weergegeven (definieer kleuren naar behoefte) (**Tabel 56** en **Afbeelding 22**)

| Tabel 56. Detectoren definiëren | | | |
|---------------------------------|------------------|--------------------|-------------|
| Detectoren | Detectornaam | Reporter kleurstof | Quencher |
| Detector 1 | MgPa | FAM | None (geen) |
| Detector 2 | 23S rRNA-mutatie | JOE | None (geen) |
| Detector 3 | IC | TAMRA | None (geen) |

Selecteer **OK**

Afbeelding 22. Nieuw detectorvenster

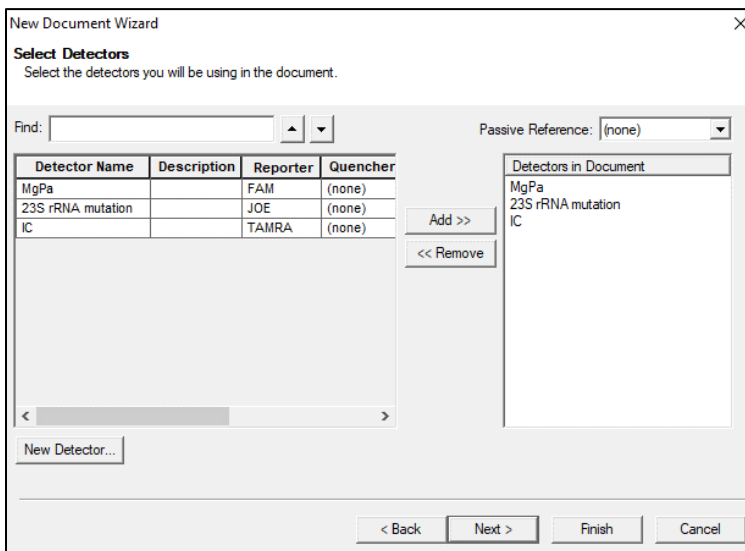


Selecteer **Detectors** (detectoren) (**Afbeelding 23**)

Selecteer detectoren en **Add** (toevoegen) aan document

Selecteer **Passive reference** (passieve referentie) > **None** (geen)

Afbeelding 23. Venster Select Detectors (detectoren selecteren)



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

| Detectors in Document |
|-----------------------|
| MgPa |
| 23S rRNA mutation |
| IC |

In **Set Up** (instellen) monsterplaat >

Selecteer wells en wijs 4 detectoren toe aan de geselecteerde wells

- MgPa
- 23S rRNA-mutatie
- IC

Selecteer **Next** (volgende)

Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken kent u naamtags toe aan de wells op de plaat

Ga in **Setup** (instellen) naar tabblad **Plate** (plaat)

Klik rechts op de well en selecteer **Well Inspector** (well-inspecteur) > voer **Sample Name** (monsternaam) in

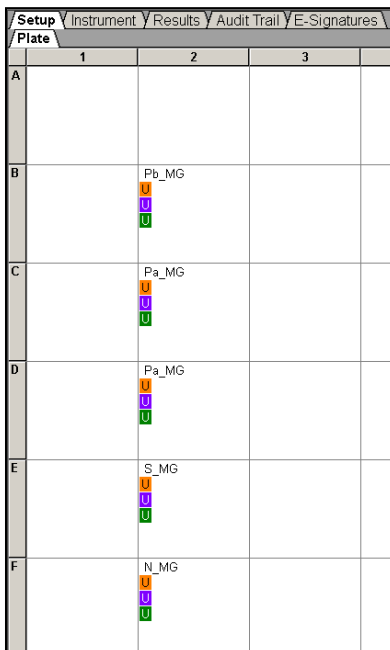
Bewerk **Sample Name** (monsternaam) zodat deze overeenkomt met de naamtags die zijn gedefinieerd in de Assays-module van de analysesoftware (zie **paragraaf 24.4**)

Monsters worden voorzien van een label in de vorm *Voorvoegsel_Achtervoegsel* (zoals weergegeven in **Table 57** en **Afbeelding 24**) bijv. Pb_MG

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

| Tabel 57. Naamtags van monsters voor analysesoftware | | | |
|--|--------------------------------------|--|-----------------------------------|
| Soort monster | Voorvoegsel_ (in analysesoftware) | _Achtervoegsel (in analysesoftware) | Naam monster (in 7500 Fast Dx) |
| Regulier monster | S | _MG | S_MG |
| Negatieve controle | N | _MG | N_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa) | Pa | _MG | Pa_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb) | Pb | _MG | Pb_MG |

Afbeelding 24. Weergave Setup plate (plaat instellen) – Assigning nametags to wells (naamtags aan wells toewijzen)



| Setup Plate | Instrument | Results | Audit Trail | E-Signatures |
|----------------|------------|----------------------|-------------|--------------|
| | 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 | | |

Selecteer **Next** (volgende)

Op tabblad **Instrument**

In vak **Settings** (instellingen)

Voer voor **Sample Volume (monstervolume) (µL)** in: 20 µL

Maak het volgende thermocycler-protocol aan (Tabel 58 en Afbeelding 25 en Afbeelding 26)

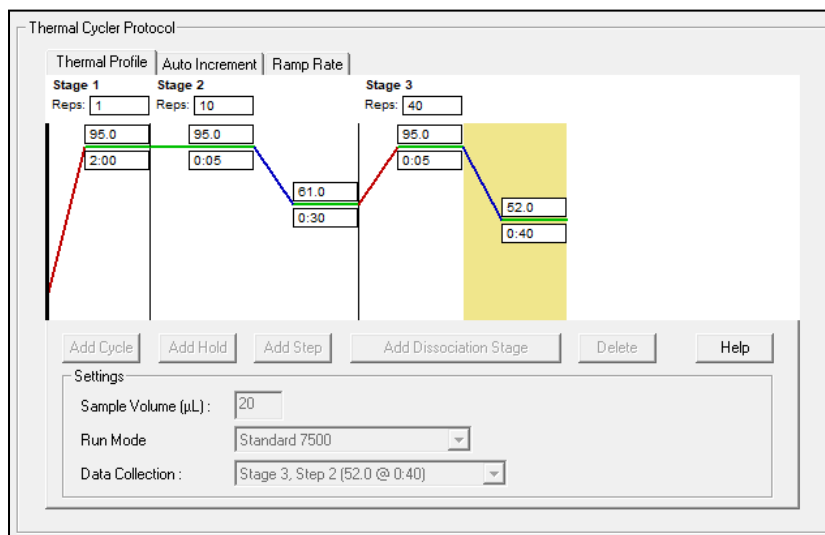
| Tabel 58. Thermocycler-protocol | | | | |
|---|----------------|------------------------------|-------------|-----------------------------|
| Programmanaam | Cycles (cycli) | Target °C | Hold (duur) | Ramp (toename) [#] |
| Polymerase-activering | 1 | 95 °C | 2 min | 100% |
| Touch down cycling (touchdowncycli): Step down (stapsgewijze afname) -0,5 °C/cyclus ^δ | 10 | 95 °C | 5 s | 100% |
| | | 61 °C – 56,5 °C ^δ | 30 s | 100% |
| Kwantificeringscycli*: Acquisitie/Detectie | 40 | 95 °C | 5 s | 100% |
| | | 52 °C ⁺ | 40 s | 100% |

[#] Standaardtoename/-afname

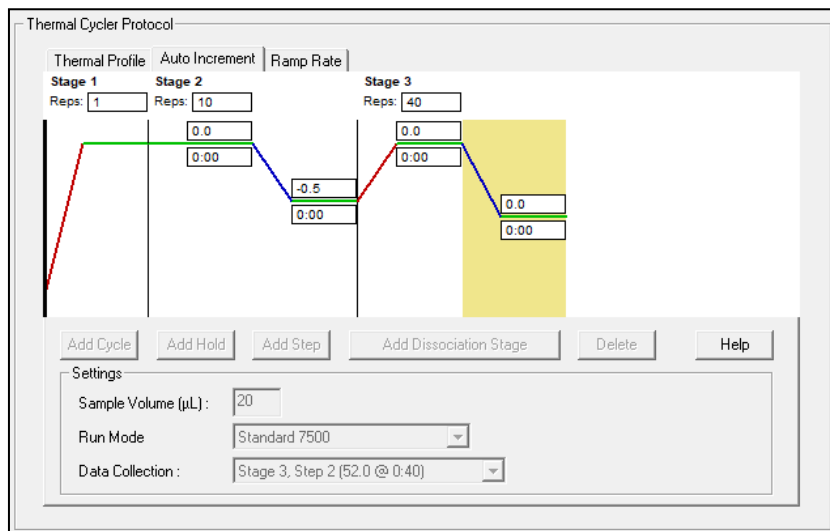
^δ Enable AutoDelta (AutoDelta inschakelen): -0,5 °C/cyclus

⁺ Collect data on hold (gegevens verzamelen opgeschoort)

Afbeelding 25. Thermocycler-protocol - Thermisch profiel



Afbeelding 26. Thermocycler-protocol - Auto Increment (automatische toename)



22.2 Interpretatie van de resultaten

Voor interpretatie van de gegevens is de **ResistancePlus**[®] MG (7500)-analysesoftware vereist. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

Zie **paragraaf 24** voor instructies voor het gebruik van de **ResistancePlus**[®] MG (7500)-analysesoftware.

23 Bijlage 5: Bio-Rad CFX96™ Dx en CFX96 Touch™ Real-Time PCR System

De volgende informatie is gebaseerd op Bio-Rad CFX Manager v3.1

De **ResistancePlus®** MG₍₆₇₅₎-kit bevat kleurstoffen voor het CFX96 Real-Time PCR System. Er wordt gebruikgemaakt van standaard kleurstofkalibraties voor alle kanalen. Aangepaste kalibratie is niet nodig.

23.1 De Bio-Rad CFX96™ Dx en CFX96 Touch™ Real-Time PCR System programmeren

Selecteer **View** (weergave) > open **Run Setup** (run instellen)

In **Run Setup** (run instellen) > tabblad **Protocol** (protocol) > selecteert u **Create New** (nieuwe aanmaken)

In de **Protocol Editor** (Protocol-editor) (zie **Afbeelding 27**):

Stel **Sample Volume** (monstervolume) in op > 20 µL

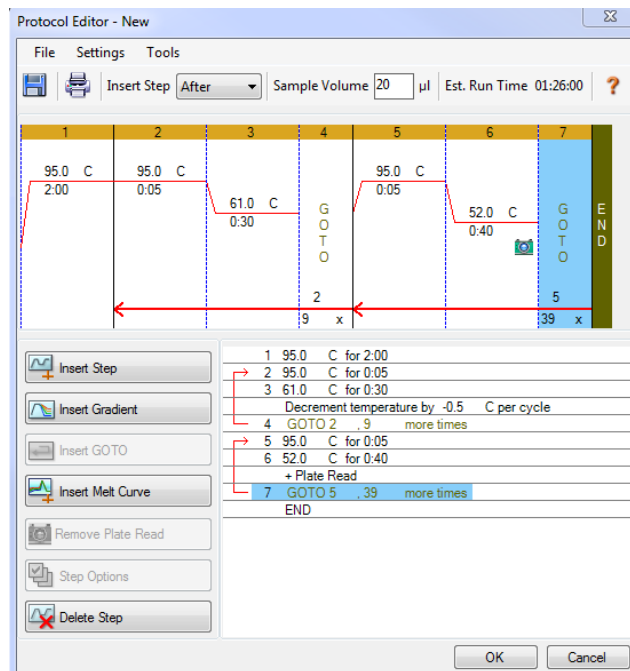
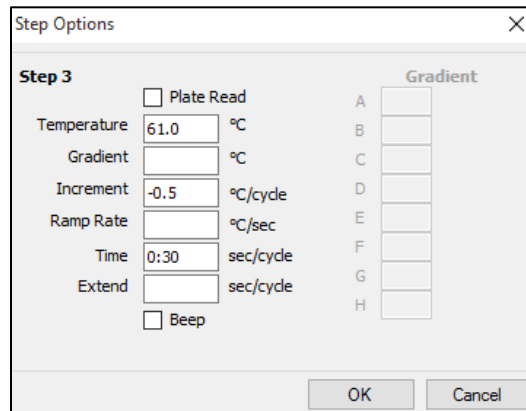
Maak het volgende thermocyclingprogramma en sla dit op als '**SpeedX PCR**'. Dit protocol kan voor toekomstige runs worden geselecteerd.

Voor touchdowncycli selecteert u stap 3 en selecteert u **Step options** (stappenopties) > Increment (toename): -0,5 °C/cyclus (in meer detail weergegeven in **Afbeelding 28**).

| Tabel 59. Thermocyclingprogramma | | | |
|---|----------------|------------------------------|-------------|
| Programmanaam | Cycles (cycli) | Target °C | Hold (duur) |
| Polymerase-activering | 1 | 95 °C | 2 min |
| Touch down cycling (touch-downcycli) ^δ : Step down (stapsgewijze afname) -0,5 °C/cyclus | 10 | 95 °C | 5 s |
| | | 61 °C – 56,5 °C ^δ | 30 s |
| Kwantificeringscycli ⁺ : Acquisitie/Detectie | 40 | 95 °C | 5 s |
| | | 52 °C ⁺ | 40 s |

^δ **Step options** (stappenopties) > Increment (toename): -0,5 °C/cyclus

⁺ **Add Plate Read to Step** (plaat lezen toevoegen aan stap)

Afbeelding 27. Thermocycling-protocol – grafische weergave

Afbeelding 28. Step Options (stappenopties)


Step Options

Step 3

Plate Read

Temperature 61.0 °C

Gradient °C

Increment -0.5 °C/cycle

Ramp Rate °C/sec

Time 0:30 sec/cycle

Extend sec/cycle

Beep

Gradient

A

B

C

D

E

F

G

H

OK Cancel

In **Run Setup** (run instellen) > tabblad **Plate** (plaat)

Selecteer **Create New** (nieuwe maken)

Selecteer **Settings** (instellingen) > **Plate Type** (soort plaat) > Selecteer **BR Clear** (BR transparant)

Stel **Scan mode** (scanmodus) in op > All channels (alle kanalen)

Selecteer **Fluorophores** (fluoroforen) > FAM, HEX, Quasar 705 (zie **Tabel 60**)

Selecteer wells die monsters bevatten, wijs het **Sample Type** (monstertype) toe en controleer **Load** (belasting) voor fluoroforen (FAM, HEX, Quasar 705)

Sla de plaat op

| Tabel 60. Kanalen voor <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ -targets | | |
|--|------------------|-------------------------------------|
| <i>M. genitalium</i> -detectie (MgPa) | 23S rRNA-mutatie | Internal Control (interne controle) |
| FAM | HEX | Quasar 705 |

In **Run Setup** (run instellen) > tabblad **Start Run** (run starten)

Selecteer blok

Start Run (run starten)

Om geautomatiseerde monsterdetectie in de analysesoftware mogelijk te maken kent u naamtags toe aan de wells op de plaat

Open de module **Plate Setup** (plaat instellen)

Selecteer de well

Bewerk **Sample Name** (monsternaam) zodat deze overeenkomt met de naamtags die zijn gedefinieerd in de Assays-module van de analysesoftware (zie **paragraaf 24.4**)

Monsters worden voorzien van een label in de vorm *Voorvoegsel_Achtersvoegsel* (zoals weergegeven in **Tabel 61** en **Afbeelding 29**) bijv. Pb_MG

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

| Tabel 61. Naamtags van monsters voor analysesoftware | | | |
|--|--------------------------------------|--|----------------------------|
| Soort monster | Voorvoegsel_ (in analysesoftware) | Achtersvoegsel (in analysesoftware) | Naam monster (in CFX96) |
| Regulier monster | S | _MG | S_MG |
| Negatieve controle | N | _MG | N_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa) | Pa | _MG | Pa_MG |
| Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb) | Pb | _MG | Pb_MG |

Afbeelding 29. Sample Editor (monstreditor) – Naamtags toewijzen aan wells

| | 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 Interpretatie van de resultaten

Voor de interpretatie van de gegevens is de *ResistancePlus*[®] MG (CFX)-analysesoftware vereist. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

Zie **paragraaf 24** voor instructies voor het gebruik van de *ResistancePlus*[®] MG (CFX)-analysesoftware.

24 Bijlage A: Interpretatie van de resultaten

Voor de interpretatie van de gegevens is de **ResistancePlus**[®] MG-analysesoftware nodig. Hoewel **PlexPrime**[®]-primers een grotere specificiteit bieden dan andere allel-specifieke primers kan niet-specifieke versterking van de 23S rRNA mutant-assay worden waargenomen in monsters die hoge concentraties aan *M. genitalium*-wildtype 23S rRNA bevatten. De **ResistancePlus**[®] MG-analysesoftware automatiseert de gegevensinterpretatie van de amplificatieresultaten en stroomlijnt de workflow.

Zie **Tabel 62** voor de juiste analysesoftware voor elk instrument voor realtime PCR. De analysesoftware is op aanvraag leverbaar. Neem voor meer informatie contact op via tech@speedx.com.au.

| Tabel 62. ResistancePlus [®] MG analysesoftware | | |
|---|--|------------------------------|
| Catalogusnr. | Analysesoftware* | Instrument voor realtime PCR |
| 99003 | ResistancePlus [®] MG (LC480) | LC480 II |
| 99018 | ResistancePlus [®] MG (z480) | z 480 |
| 99002 | ResistancePlus [®] MG (7500) | 7500 Fast en 7500 Fast Dx |
| 99008 | ResistancePlus [®] MG (CFX) | CFX96 Dx en CFX96 Touch |
| 99023 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (LC480) | LC480 II |
| 99024 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (z480) | z 480 |
| 99026 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (7500) | 7500 Fast en 7500 Fast Dx |
| 99025 | REFLEX ResistancePlus [®] MG (CFX) | CFX96 Dx en CFX96 Touch |

* Raadpleeg de website <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> om te controleren of u de meest recente versie van de analysesoftware gebruikt.

NB: Voor de overdracht, rapportage en opslag van resultaten moeten standaard laboratoriumpraktijken worden gevolgd om verlies van monsterinformatie te voorkomen.

24.1 FastFinder-platform - Minimum IT-vereisten

De analysesoftware is beschikbaar binnen het FastFinder platform (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). De minimum IT-vereisten voor de installatie van het FastFinder-platform staan hieronder weergegeven.

Hardwarevereisten

PC (Mac-computers worden niet ondersteund)

Processor: 2 GHz, 2 GB RAM

Opslagcapaciteit: 10GB

Internetverbindingkabel of DSL, proxy wordt niet ondersteund

Min. schermresolutie: 1366x768 pixels

Ondersteunde client-besturingssystemen

| | |
|-------------------|-------------------------|
| Besturingssysteem | Ondersteunde edities |
| Windows 10 | 32-bits en 64-bits |
| Windows 8.1 | 32-bits, 64-bits en ARM |
| Windows 8 | 32-bits, 64-bits en ARM |
| Windows 7 SP1 | 32-bits en 64-bits |
| Windows Vista SP2 | 32-bits en 64-bits |

Ondersteunde browsers

Voor FastFinder Administrator-accountgebruikers is een van de volgende browsers vereist:

- Internet Explorer 11 of nieuwer
- Microsoft Edge 25 of nieuwer
- Firefox 45 of nieuwer
- Google Chrome 47 of nieuwer.

De software kan ook op oudere versies draaien, maar deze worden niet officieel ondersteund.

Softwarevereisten

Om de FastFinder software te kunnen gebruiken is minimaal .NET 4.6.1 vereist. Meer informatie over het .NET framework vindt u op de helppagina's van Microsoft Windows.

Antivirusinstellingen

Mogelijk plaatst uw antivirussoftware het Fastfinder-installatieprogramma (UgenTec.FastFinder.Installer.exe) in quarantaine. Voeg in dat geval het bestand toe aan de witte lijst van uw antivirus. Voorbeeld: Symantec (Risico: WS.Reputation.1)

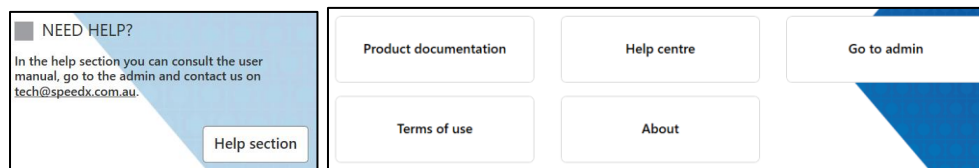
Vereisten voor de firewall

https-verbindingen moeten worden toegestaan voor *.fastfinderplatform.com:443

Zie voor verdere gedetailleerde aanwijzingen over het **FastFinder**-platform de **FastFinder-gebruiksaanwijzing** toegankelijk in het menu **Help**.

Het menu Help openen

- Open het startmenu 
- Selecteer  of **Help** en selecteer vervolgens **Productdocumentatie** gevolgd door **Gebruiksaanwijzing**



24.2 Device set up (instellingen apparaat) (nieuwe gebruiker of nieuw apparaat)

Zie de **FastFinder User Manual** (FastFinder-gebruiksaanwijzing) voor gedetailleerde instructies voor het instellen van het apparaat, toegankelijk via het menu **Help**


Open **FastFinder**

- Selecteer **Devices** (Apparaten) op de workflowbalk
 - > Selecteer **Add** (toevoegen)
 - > Selecteer een bestand (run-bestand) voor het nieuwe apparaat
- Om de Current directory (huidige directory) te wijzigen
 - > Selecteer **Browse** (bladeren) en selecteer de map met de betreffende bestanden
 - > Selecteer **Next** (volgende)
- Voeg informatie toe over het apparaat
 - > Selecteer **Save** (opslaan)

24.2.1 Colour Compensation (kleurcompensatie)


NB: Zie **paragraaf 19.2**-en **paragraaf 20.2** voor meer informatie over Colour Compensation (kleurcompensatie)

Voor **LC480 II-** en **z 480-**apparaten moet aan het apparaat een kleurcompensatiebestand worden toegevoegd

- Selecteer het LC480 II- of z 480-apparaat
 - > Selecteer in het gedeelte **Colour Compensation** (kleurcompensatie) 
 - > Selecteer het kleurcompensatiebestand voor het apparaat in de directory
- Om de Current directory (huidige directory) te wijzigen
 - > Selecteer **Browse** (bladeren) en selecteer de map met de betreffende bestanden
- Selecteer **Next** (volgende)
- Selecteer **ResistancePlus MG (LC480)**, **ResistancePlus MG (z480)**, **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)**, of **REFLEX ResistancePlus MG (z480)** in de lijst om een koppeling naar deze assay te maken
- Selecteer **Save** (opslaan)

Wanneer nodig kunnen nieuwe of aanvullende kleurcompensatiebestanden aan een apparaat worden toegevoegd of gedeactiveerd.

In het kleurcompensatiegedeelte van het apparaat

- Selecteer naast de bestandsnaam 
- Selecteer  om een kleurcompensatiebestand voor een assay te activeren of te deactiveren
- Selecteer **Save** (opslaan)



24.3 Plug-in voor assays (nieuwe gebruiker)

Zie de **gebruiksaanwijzing** van **FastFinder** voor gedetailleerde instructies voor het instellen van assays, toegankelijk via het menu **Help**

Open **FastFinder**

- Selecteer **Assays** op de workflowbalk
- Selecteer **Add** (toevoegen)
 - > Voor LC480 II > selecteer **ResistancePlus MG (LC480)** in de lijst
 - > Voor z 480 > selecteer **ResistancePlus MG (z480)** in de lijst
 - > Voor 7500 Fast en 7500 Fast Dx > selecteer **ResistancePlus MG (7500)** in de lijst
 - > Voor CFX96 Dx en CFX96 Touch > selecteer **ResistancePlus MG (CFX)** in de lijst
 - > Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de LC480 (reflex-workflow) > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)** in de lijst
 - > Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de z 480 (reflex-workflow) > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)** in de lijst
 - > Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de 7500 Fast en 7500 Fast Dx (reflex-workflow) > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)** in de lijst
 - > Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de CFX96 Dx en CFX96 Touch (reflex-workflow) > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)** in de lijst
- Selecteer **Add** (toevoegen)





Om versies van het plug-in voor assays activeren of deactiveren

- In General assay information (algemene assay-informatie)
 - > Selecteer  Versions (versies)
 - > Selecteer  om de versie van de assay te activeren of deactiveren
 - > Selecteer **Save** (opslaan)

24.4 Monsternaamgeving

Er kunnen monsternaamtags worden toegewezen aan een plug-in voor assays ter automatisering van de detectie van wells en monstertypen voor analyse.



Selecteer **Assays** op de workflowbalk


- Selecteer in het Nametags soort monster (voorvoegsel) 
 - > Selecteer  om een naamtag toe te voegen om monstertype-naamtags te definiëren (Negative control (negatieve controle), Positive control/s (positieve controle/s) en Regular sample (normaal monster))
 - > Voeg het gewenste woord, acroniem of letter toe aan het tekstvak
 - > Selecteer **Save** (opslaan)
- Selecteer in Nametags voor mixdefinitie (achtervoegsel) 
 - > Selecteer  om een nametag toe te voegen om de mixnaam te definiëren
 - > Voeg het gewenste woord, acroniem of letter toe aan het tekstvak
 - > Selecteer **Save** (opslaan)
- Wijs in de instrumentsoftware (vóór of na voltooiing van de run) dezelfde naamtag toe aan de desbetreffende wells
 - > Voor **LC480 II** raadpleegt u **paragraaf 19** of voor instructies betreffende het programmeren van monsternaamtags in het run-bestand
 - > Voor **z 480** raadpleegt u **paragraaf 20** voor instructies betreffende het programmeren van monsternaamtags in het run-bestand
 - > Voor **7500 Fast** raadpleegt u **paragraaf 21** voor instructies betreffende het programmeren van monsternaamtags in het run-bestand
 - > Voor **7500 Fast Dx** zie **paragraaf 22** voor instructies over het programmeren van monsternaamtags in het run-bestand
 - > Voor **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** raadpleegt u **paragraaf 23** voor instructies betreffende het programmeren van monsternaamtags in het run-bestand

NB: De naamtags van monsters zijn hoofdlettergevoelig. De naamtag moet exact overeenkomen met de toegewezen namen in het run-bestand.

24.5 Mixpartijnummers toevoegen

Er kunnen mixpartijnummers worden toegewezen aan de assay om reagentia traceerbaar te maken

- Selecteer **Assays** op de workflowbalk
 - > In de **Assay Lot (partij)**: selecteer  om een nieuwe partij toe te voegen of selecteer  om een bestaande partij te bewerken
 - > Eenmaal toegevoegd komen partijnummers beschikbaar in de analysemodule.

Selecteer  om alle partijnummers of alleen actieve partijnummers weer te geven

24.6 Analyse

Selecteer **Analyses** op de workflowbalk om met een nieuwe analyse te beginnen

1 Select datafile

Zoek het bestand dat ter analyse moet worden geüpload op in een gespecificeerde directory

- Om de **Current directory** (huidige directory) te wijzigen
 - > Selecteer **Browse** (bladeren) en selecteer de map met de betreffende bestanden
- Selecteer het run-bestand (gegevensbestand) uit de lijst

- > Selecteer **Next step** (volgende stap)

2 Assign assay(s)


Wijs de assay-informatie handmatig toe aan de plaat als in de Assays-module geen namen van monsters zijn ingesteld

- Voor **LC480 II** > selecteer **ResistancePlus MG (LC480)**
- Voor **z 480** > selecteer **ResistancePlus MG (z480)**
- Voor **7500 Fast** en **7500 Fast Dx** > selecteer **ResistancePlus MG (7500)**
- Voor **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** > selecteer **ResistancePlus MG (CFX)**
- Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de **LC480** > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)**
- Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de **z 480** > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)**
- Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de **7500 Fast** en **7500 Fast Dx** > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)**
- Voor de analyse van monsters geëxtraheerd zonder IC op de **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** > selecteer **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)**
- Selecteer wells en wijs ze als volgt toe:
 - > Regulier monster (S)
 - > Negatieve controle (N)
 - > Positieve controle (MG, 23S rRNA mutanttype) (Pa)
 - > Positieve controle (MG, 23S rRNA-wildtype) (Pb)
- Selecteer **Next step** (volgende stap)

Om de plaatindeling op te slaan als sjabloon voor toekomstig gebruik

- Selecteer wells en wijs monstertypen toe
 - > Selecteer  om het sjabloon op te slaan
- Specificeer sjabloonnaam voor toekomstig gebruik
 - > Selecteer **Save** (opslaan)

Een eerder opgeslagen plaatsjabloon laden

- Selecteer  om het plaatsjabloon te laden
 - > Selecteer de sjabloon in het vervolgkeuzemenu
 - > Vink het vakje aan om in de plaatsjabloon gespecificeerde monstertypen te laden
 - > Selecteer **Load** (laden)

3 Configure assay(s)

- Voor **LC480 II** > selecteer **ResistancePlus MG (LC480)**
 - > Selecteer het juiste kleurcompensatiebestand in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor **z 480** > selecteer **ResistancePlus MG (z480)**
 - > Selecteer het juiste kleurcompensatiebestand in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu

- > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor **7500 Fast** en **7500 Fast Dx** > selecteer **ResistancePlus MG (7500)**
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** > selecteer **ResistancePlus MG (CFX)**
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor monsters geëxtraheerd zonder IC (reflex-workflow) op de **LC480 II** > selecteer **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)**
 - > Selecteer het juiste kleurcompensatiebestand in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor monsters geëxtraheerd zonder IC (reflex-workflow) op de **z 480** > selecteer **REFLEX ResistancePlus MG (z480)**
 - > Selecteer het juiste kleurcompensatiebestand in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor monsters geëxtraheerd zonder IC (reflex-workflow) op de **7500 Fast** en **7500 Fast Dx** > selecteer **REFLEX ResistancePlus MG (7500)**
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)
- Voor monsters geëxtraheerd zonder IC (reflex-workflow) op de **CFX96 Dx** en **CFX96 Touch** > selecteer **REFLEX ResistancePlus MG (CFX)**
 - > Selecteer **Assay Lot** (partij) in het vervolgkeuzemenu
 - > Selecteer **Analyse** (analyseren)

24.7 Resultaten

Zie **Tabel 63** voor een overzicht van mogelijke gerapporteerde monsterresultaten.

NB: Het wordt ten sterkste aanbevolen om amplificatiecurven te bevestigen voor alle positieve monsters.

Om eventuele onzekere resultaten op te schonen 

- Selecteer het tabblad **Resolve** (opschonen)
- Selecteer het monster dat u wilt opschonen
- Inspecteer de amplificatiecurven op onzekere resultaten
 - > Selecteer om een referentiecurve uit te zetten in de grafiek
 - > Selecteer om een positieve controle uit te zetten in de grafiek
 - > Selecteer om een negatieve controle uit te zetten in de grafiek
 - > Selecteer om het voorgestelde resultaat te bevestigen of om een andere optie te selecteren

- Bevestig als **Negative** (negatief) of **Inconclusive** (onzeker) en voeg opmerkingen toe

NB: Voor onzekere monsters moet u de monsters eenmaal opnieuw extraheren en testen. Als het resultaat van het monster onzeker blijft, verzamel dan een nieuw monster om opnieuw te testen.

Om de analyse af te ronden en verdere bewerkingen door de gebruiker te voorkomen

- > Selecteer **Authorise Analysis** (analyse autoriseren)
- > Selecteer **Yes** (ja) om te bevestigen
- Om de analyse af te wijzen of opnieuw te starten
 - > Selecteer **Restart Analysis** (analyse opnieuw opstarten) of **Reject Analysis** (analyse afwijzen)
 - > Selecteer een optie om te bevestigen

24.8 Referentiecurve

Een referentiecurve kan worden opgeslagen en gebruikt om monsters op dezelfde plaat of op verschillende platen te vergelijken

- Selecteer het gewenste monster in het menu **Well Details** (Well-details) of **Target Details** (doelgegevens)
- In het amplificatiegrafiekmenu > selecteer 
 - > Vink het selectievakje aan voor het betreffende kanaal en voeg een label toe
 - > Selecteer **Save** (opslaan) om het signaal als referentiecurve toe te voegen

Deze referentiecurve wordt nu in het Assays-menu gekoppeld aan de assay weergegeven en kan op elk gewenst moment worden gedeactiveerd.

24.9 Overzicht van de resultaten

| Tabel 63. Interpretatie van de resultaten <i>ResistancePlus</i> [®] MG-analysesoftware (Results Overview tab (tabblad Overzicht resultaten)) | | | | | | |
|---|--|--|-----------|--|--|--|
| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden [^] | Algehele resultaten | |
| A1 | Monster 1 | ResistancePlus MG | Negatief | KANAAL C: 25,31 | Monster 1 - Negatief M. genitalium niet gedetecteerd, IC geldig | |
| A2 | Monster 2 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 13,35 KANAAL B: 24,22 KANAAL C: 24,36 | Monster 2 - Positief M. genitalium gedetecteerd, 23S rRNA-mutatie niet gedetecteerd | |
| A3 | Monster 3 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 23,32 KANAAL B: 31,64 | Monster 3 - Positief M. genitalium gedetecteerd, 23S rRNA-mutatie niet gedetecteerd | |
| A4 | Monster 4 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 21,32 KANAAL B: 23,22 KANAAL C: 24,30 | Monster 4 - Positief M. genitalium, 23S rRNA-mutatie gedetecteerd | |
| A5 | Monster 5 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 23,16 KANAAL C: 24,31 | Monster 5 - Positief M. genitalium, 23S rRNA-mutatie gedetecteerd | |
| A6 | Monster 6 | ResistancePlus MG | Ongeldig | KANAAL C: 35,02 | Monster 6 - Ongeldig IC ongeldig, herhaal test ¹ | |
| ⚠ | A7 | Monster 7 (gemarkeerd om op te schonen) | Positief | KANAAL A: 26,27 KANAAL B: 28,11 ² KANAAL C: 28,92 | Monster 7 - Positief ² M. genitalium, 23S rRNA-mutatie gedetecteerd | |
| ⚠ | A7 | Monster 7 (Opschonen als onzeker) | Ongeldig | KANAAL A: 26,27 KANAAL C: 28,92 | Monster 7 - Ongeldig ³ Resultaat onzeker, herhaal test ¹ | |
| B2 | Pa (Positieve controle type mutant) | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 25,01 KANAAL B: 24,23 | Pa - Positief Positieve controle geldig | |
| B3 | Pb (Positieve controle wildtype) | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 25,90 | Pb - Positief Positieve controle geldig | |
| B4 | N (Negatieve controle) | ResistancePlus MG | Negatief | KANAAL C: 26,25 | N - Negatief Negatieve controle geldig | |

[^] Raadpleeg **Tabel 12** voor de kanaalnamen voor verschillende instrumenten

¹ Voor monsters met IC ongeldig en onzekere monsters, opnieuw extraheren en opnieuw testen

² Een monster met een onzekere Cq zal voor opschoning worden gemarkeerd met ⚠

³ Een monster dat is opgeschoond als onzeker is gemarkeerd met ⚠

24.10 Resultaten exporteren

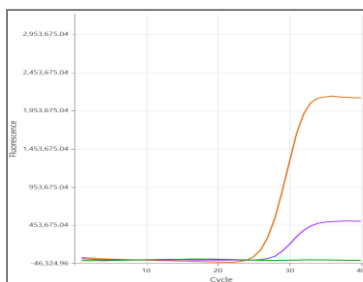
- Resultaten exporteren
 - > Selecteer **Exports** (exporten) op de workflowbalk
 - > Exporteer een of meer van de volgende soorten rapporten: **Cq values list (Cq-waardenlijst) (CSV)**, **Results (resultaten) (CSV)**, **Generic Amplification CSV** (generieke amplificatie CSV) of het juiste LIS-integratiebestand.
 - > Selecteer **Exports** (exporten)
- Exporten downloaden
 - > Selecteer **Reports** (rapporten) op de workflowbalk
 - > Selecteer bestanden en sla ze op
- U kunt in plaats hiervan ook een aangepast rapport exporteren

- > Exporteer **Amplification Curve Analysis (PDF)** (amplificatiecurveanalyse [PDF])
- > Selecteer de informatie die u in het rapport wilt opnemen (grafieken, audit-trail, resultatenoverzicht)
- > Selecteer de gewenste rapportinstellingen om de monstervolgorde aan te passen
- Selecteer **Exports** (exporten)
 - > Open het rapport in **Report Viewer** (rapportviewer) voor weergave, opslaan en afdrucken

24.11 Voorbeeldgrafieken controles

De volgende voorbeelden tonen de amplificatiecurven (baseline-gecorrigeerde amplificatiecurven) en het resultatenoverzicht uit de **ResistancePlus MG (7500)**-analysesoftware voor controlemonstertypen.

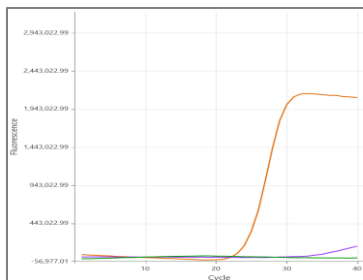
24.11.1 *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantcontrole (Pa)



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------|-------------------|-----------|------------------------------------|---|
| B1 | Pa | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 26,36 KANAAL B: 27,38 | Pa - Positief Positieve controle geldig |

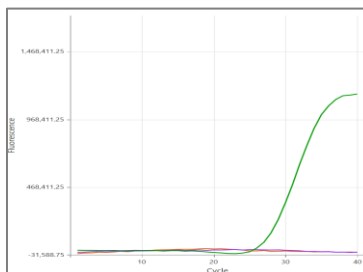
24.11.2 *M. genitalium*, 23S rRNA-wildtypecontrole (Pb)



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------|-------------------|-----------|------------------------------------|---|
| D12 | Pb | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 24,30 KANAAL B: 34,29 | Pb - Positief Positieve controle geldig |

24.11.3 *M. genitalium*-negatieve controle (N) (negatief monster)



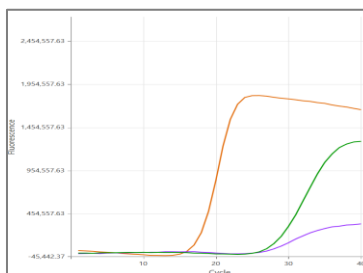
KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------|-------------------|-----------|-----------------|---|
| D12 | N | ResistancePlus MG | Negatief | KANAAL C: 27,65 | N - Negatief Negatieve controle geldig |

24.12 Voorbeelden

De volgende voorbeelden tonen de amplificatiecurven (baseline-gecorrigeerde amplificatiecurven) en het resultatenoverzicht uit de **ResistancePlus MG (7500)**-analysesoftware voor verschillende monsters.

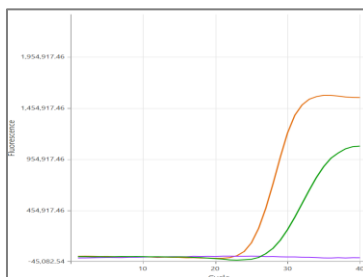
24.12.1 Voorbeeld 1. High copy *M. genitalium*, 23S rRNA-wildtype monster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------------|-------------------|-----------|---|---|
| D2 | Monster 12 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 16,34 KANAAL B: 26,59 KANAAL C: 26,00 | Monster 12 - Positief M. genitalium gedetecteerd, 23S rRNA-mutatie niet gedetecteerd |

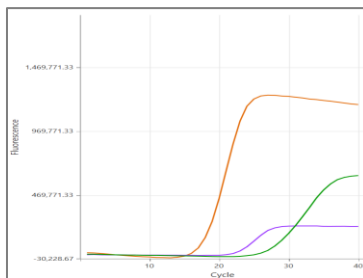
24.12.2 Voorbeeld 2. Low copy *M. genitalium*, 23S rRNA-wildtype monster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|-----------|-------------------|-----------|------------------------------------|--|
| F1 | Monster 6 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 29,30 KANAAL C: 28,11 | Monster 6 - Positief M. genitalium gedetecteerd, 23S rRNA-mutatie niet gedetecteerd |

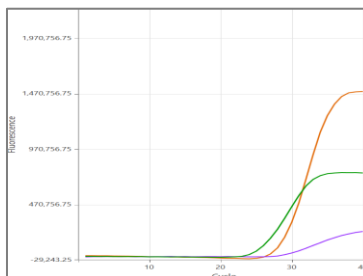
24.12.3 Voorbeeld 3. High copy *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantmonster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|-----------|-------------------|-----------|---|---|
| G3 | Monster 9 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 18,08 KANAAL B: 22,31 KANAAL C: 28,03 | Monster 9 - Positief M. genitalium, 23S rRNA-mutatie gedetecteerd |

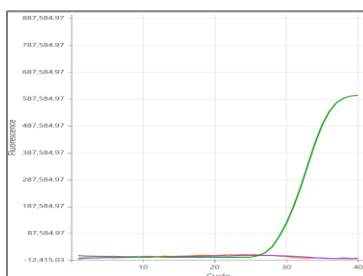
24.12.4 Voorbeeld 4. Low copy *M. genitalium*, 23S rRNA-mutantmonster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------------|-------------------|-----------|---|--|
| E3 | Monster 21 | ResistancePlus MG | Positief | KANAAL A: 29,08 KANAAL B: 29,23 KANAAL C: 26,13 | Monster 21 - Positief M. genitalium, 23S rRNA-mutatie gedetecteerd |

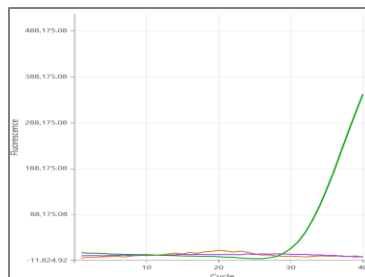
24.12.5 Voorbeeld 5. Negatief monster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C

| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------------|-------------------|-----------|-----------------|---|
| E3 | Monster 73 | ResistancePlus MG | Negatief | KANAAL C: 29,03 | Monster 73 - Negatief M. genitalium niet gedetecteerd, IC geldig |

24.12.6 Voorbeeld 6. Ongeldig monster



KANAAL A KANAAL B KANAAL C






| Well | Naam | Assay | Resultaat | Cq-waarden | Algehele resultaten |
|------|------------|-------------------|-----------|-----------------|---|
| E3 | Monster 35 | ResistancePlus MG | Ongeldig | KANAAL C: 31,16 | Monster 35 - Ongeldig IC ongeldig, herhaal test |

In dit voorbeeld valt het IC-sigitaal buiten de grenswaarden van het kanaal. Voor monsters die ongeldig zijn voor IC moet het monster opnieuw worden geëxtraheerd en vervolgens de test worden herhaald.

24.12.7 Voorbeeld 7. Op te schonen monsters – Negatief signaal

In dit voorbeeld is KANAAL B (JOE) gemarkeerd voor opschonen, waarbij de software suggereert dat het monster negatief is (**Afbeelding 30**).

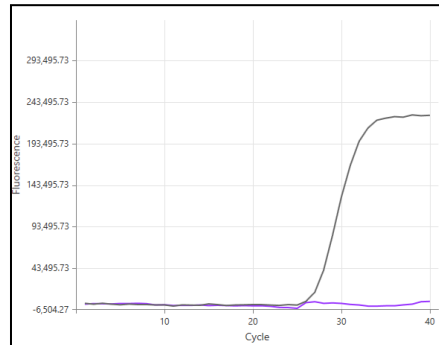
Afbeelding 30. Op te schonen monsters zoals te zien in het menu Resolve (opschonen) van de analysesoftware

| | 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  | | |

Om te bepalen wat de juiste opschoonactie is, kunt u nog een monster of controle uitzetten ter vergelijking van het signaal

- Selecteer voor het uitzetten van een positieve referentiecurve (eerder opgeslagen) voor KANAAL B (JOE)
- Selecteer om een positieve controle uit de run uit te zetten
- Selecteer om een negatieve controle uit de run uit te zetten



KANAAL B



Na inspectie van de amplificatiecurven (hierboven) is te zien dat er geen sprake is van amplificatie in het kanaal.

Het resultaat wordt opgeschoond door selectie van het pictogram  , ter bevestiging van het door de software voorgestelde negatieve resultaat. Het opgeschoonde resultaat wordt in **Afbeelding 31** hieronder weergegeven.






Afbeelding 31. Opgeschoond resultaat zoals te zien in het menu Resolve (opschonen) van de analysesoftware

| 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 Voorbeeld 8. Op te schonen monsters – Onzeker signaal

In dit voorbeeld is KANAAL B (JOE) gemarkeerd voor opschonen, waarbij de software suggereert dat het monster positief is (**Afbeelding 32**).

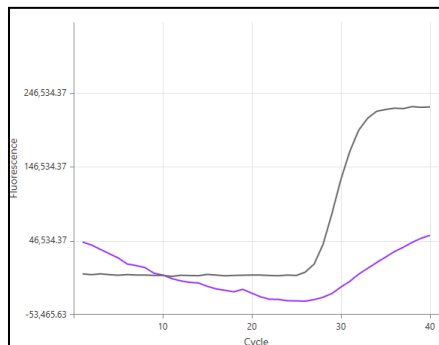
Afbeelding 32. Op te schonen monsters zoals te zien in het menu Resolve (opschonen) van de analysesoftware

| 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  | | |


Om te bepalen wat de juiste opschoonactie is, zet u nog een monster of controle uit ter vergelijking van het signaal

- Selecteer voor het uitzetten van een positieve referentiecurve (eerder opgeslagen) voor KANAAL B (JOE)
- Selecteer om een positieve controle uit de run uit te zetten
- Selecteer om een negatieve controle uit de run uit te zetten

KANAAL B





Na inspectie van de amplificatiecurven (hierboven) is te zien dat er sprake is van potentiële amplificatie in het kanaal.

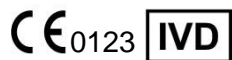
Het wordt aanbevolen om het resultaat op te schonen en aan te merken als onzeker, door het pictogram  te selecteren en vervolgens de optie Inconclusive (Onzeker) te selecteren in het vervolgkeuzemenu. Er kunnen opmerkingen aan de audit-trail van het monster worden toegevoegd. Het monster moet opnieuw worden geëxtraheerd en opnieuw getest. Het opgeschoonde resultaat wordt in **Afbeelding 33** hieronder weergegeven.

Raadpleeg **Tabel 63**, Monster 7 om te zien hoe de resultaten voor en na opschoning op het tabblad **Results Overview** (Overzicht resultaten) worden weergegeven.

Afbeelding 33. Opgeschoond resultaat zoals te zien in het menu Resolve (opschonen) van de analysesoftware

| 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 Woordenlijst



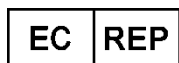
Europese conformiteit
Voor *in-vitro* diagnostiek



Catalogusnummer



Batchcode



Geautoriseerde vertegenwoordiger
In de Europese Gemeenschap



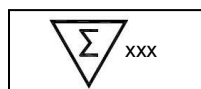
Fabrikant



Aanmaakdatum



Temperatuurbepering



Bevat voldoende voor
xxx bepalingen



Uiterste gebruiksdatum



Europese importeur



Verenigd Koninkrijk Markering
voor conformiteitsbepaling

SpeedX-producten worden mogelijk door één of meer plaatselijke of buitenlandse octrooien beschermd. Zie www.plexpcr.com/patents voor gedetailleerde informatie over het octrooi.

PlexPCR[®], **ResistancePlus**[®], **PlexPrime**[®] en **PlexZyme**[®] zijn handelsmerken van SpeedX. Overige auteursrechten en handelsmerken zijn eigendom van de desbetreffende rechthebbende.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.