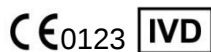




ResistancePlus® MG

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



IVDR Certified



Produkt	Platform	Størrelse (reaktioner)	Katalognr.
ResistancePlus® MG	LC480 II	100	REF 20001L-01
ResistancePlus® MG	LC480 II	25	REF 2000125
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	100	REF 2000201
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	25	REF 2000225
ResistancePlus® MG ₍₆₇₅₎	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	100	REF 2000301
ResistancePlus® MG ₍₆₇₅₎	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	25	REF 2000325

Tilbehørsprodukter – Analysesoftware

ResistancePlus® MG (LC480)	REF 99003
ResistancePlus® MG (7500)	REF 99002
ResistancePlus® MG (CFX)	REF 99008



MedEnvoy
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123
2595 AM Haag
Nederlandene



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

KUN TIL PROFESSIONEL ANVENDELSE

Ikke beregnet til salg i USA

Indhold

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

15.1	Brugsanvisning.....	23
16	Ydeevnekarakteristika.....	24
16.1	Klinisk ydeevne	24
16.1.1	Klinisk studie 1	24
16.1.2	Klinisk studie 2	25
16.1.3	Klinisk studie 3	25
16.1.4	Klinisk studie 4	27
16.1.5	Klinisk studie 5	28
16.1.6	Klinisk studie 6	30
16.1.7	Klinisk studie 7	31
16.2	Analytisk ydeevne	32
16.2.1	Reproducerbarhed og repeterbarhed.....	32
16.2.2	Analytisk følsomhed	35
16.2.3	Analytisk specificitet	35
16.2.4	Potentielt interfererende stoffer.....	36
16.2.5	Krydsreaktivitet over for andre 23S rRNA-mutationer.....	38
17	Kundesupport og teknisk support.....	38
18	Referencer	39
19	Bilag 1: LightCycler® 480 instrument II	40
19.1	Programmering af LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II).....	40
19.2	Farvekompensation til LightCycler® 480 Instrument II.....	45
19.3	Fortolkning af resultater.....	47
20	Bilag 2: Applied Biosystems® 7500 Fast.....	48
20.1	Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast.....	48
20.2	Fortolkning af resultater.....	51
21	Bilag 3: Applied Biosystems 7500 Fast Dx	52
21.1	Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast Dx	52
21.2	Fortolkning af resultater.....	55
22	Bilag 4: Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-Time PCR System.....	56
22.1	Programmering af CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-time PCR System.....	56
22.2	Fortolkning af resultater.....	58
23	Bilag A: Fortolkning af resultater	59
23.1	FastFinder-plattformen – Minimumskrav til IT	59
23.2	Assay plug-in (ny bruger)	60
23.3	Navngivning af prøver	61
23.4	Analyse	61
23.5	Resultater.....	63
23.5.1	Fanen Summary (Oversigt).....	63
23.5.2	Fanen Details (Detaljer).....	65
23.6	Referencekurve	66
23.7	Eksport af resultater	66
23.8	Hentning af godkendte analyser	66
23.9	Eksempler på kontrolgrafer.....	66

23.9.1	<i>M. genitalium</i> negativ kontrol (Na) (negativ prøve).....	67
23.9.2	Ingen skabelonkontrol (Nb).....	68
23.9.3	<i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutationskontrol (Pa).....	68
23.9.4	<i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtypekontrol (Pb)	69
23.10	Eksempler	70
23.10.1	Eksempel 1. <i>M. genitalium</i> med høj kopi, 23S rRNA-vildtypeprøve	70
23.10.2	Eksempel 2. <i>M. genitalium</i> med lav kopi, 23S rRNA vildtypeprøve	71
23.10.3	Eksempel 3. <i>M. genitalium</i> med høj kopi, 23S rRNA-mutationsprøve.....	72
23.10.4	Eksempel 4. <i>M. genitalium</i> med lav kopi, 23S rRNA-mutationsprøve	73
23.10.5	Eksempel 5. Negativ prøve.....	74
23.10.6	Eksempel 6. Ugyldig prøve	74
24	Ordliste	76

1 Produktbeskrivelse

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

2 Tilsigtet anvendelse

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

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

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

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

3 Oplysninger om patogener

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

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

4 Kittets indhold

Tabel 1. Indhold af ResistancePlus® MG.sæt

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

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

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

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

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

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

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

Tabel 3. Indhold af kittet <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎				
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Kat.-nr. 2000301 (100 reaktioner)	Kat.-nr. 2000325 (25 reaktioner)
Blå	<i>Plex</i> Mastermix, 2x	Mastermix, der indeholder de nødvendige komponenter til qPCR, herunder dNTP'er, MgCl ₂ , DNA-polymerase og buffer.	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brun	MG+23S Mix, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af <i>M. genitalium</i> og 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Hvid	Kontrolmix 3, 20x	Blanding indeholdende oligonukleotider [^] til amplifikation og påvisning af internt kontrolassay på CFX96 Dx og CFX96 Touch	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rød	Interne kontrolceller [#]	Interne kontrolceller indeholdende intern kontrol-DNA-skabelon til overvågning af ekstraktions- og amplifikationseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasefrit vand	Vand, PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

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

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

5 Forsendelse og opbevaring

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

6 Advarsler og forsigtighedsregler

6.1 Generelt

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

6.2 Laboratorium

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

6.3 Prøvehåndtering

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

6.4 Assay

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

6.5 Sikkerhedsforanstaltninger

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

6.6 Assay-plugins: Advarsler/forsigtighedsregler/begrænsninger

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

7 Tilknyttede produkter og forbrugsvarer

Positivt kontrolmateriale

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

Generelle forbrugsvarer til laboratoriet

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

Til MagNA Pure 96 Instrument

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

Til MICROLAB STARlet Instrument

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

Til QIAAsymphony® SP-instrument

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

For NucliSENS® easyMAG® instrument

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

Til LightCycler® 480 Instrument II

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

For Applied Biosystems® 7500 Fast og 7500 Fast Dx

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

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

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

Udstyr til prøveindsamling

- Multi-Collect prøvetagningssæt (Abbott, Cat no 9K12-01)
- Aptima® urinprøvetagningssæt (Hologic, kat.nr. 301040)
- Aptima® Multitest podeprøvetagningssæt (Hologic, kat.nr. PRD-03546)
- DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocked swab (deltalab, kat.nr. 304278)
- Vacumed® urin uden konserveringsmiddel (FL medical, kat.nr. 44950)
- Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™ medie (Copan kat.nr. 359C)
- cobas® PCR-medie (Roche, kat.nr. 06466281190)

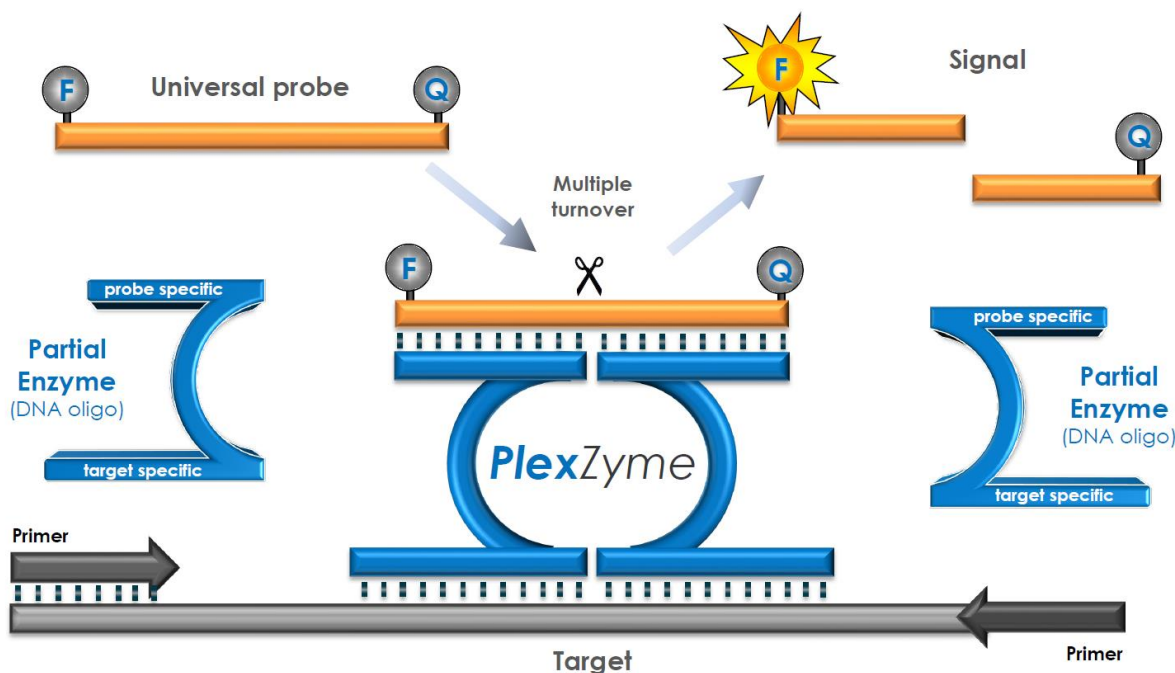
8 Princippet for teknologien

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

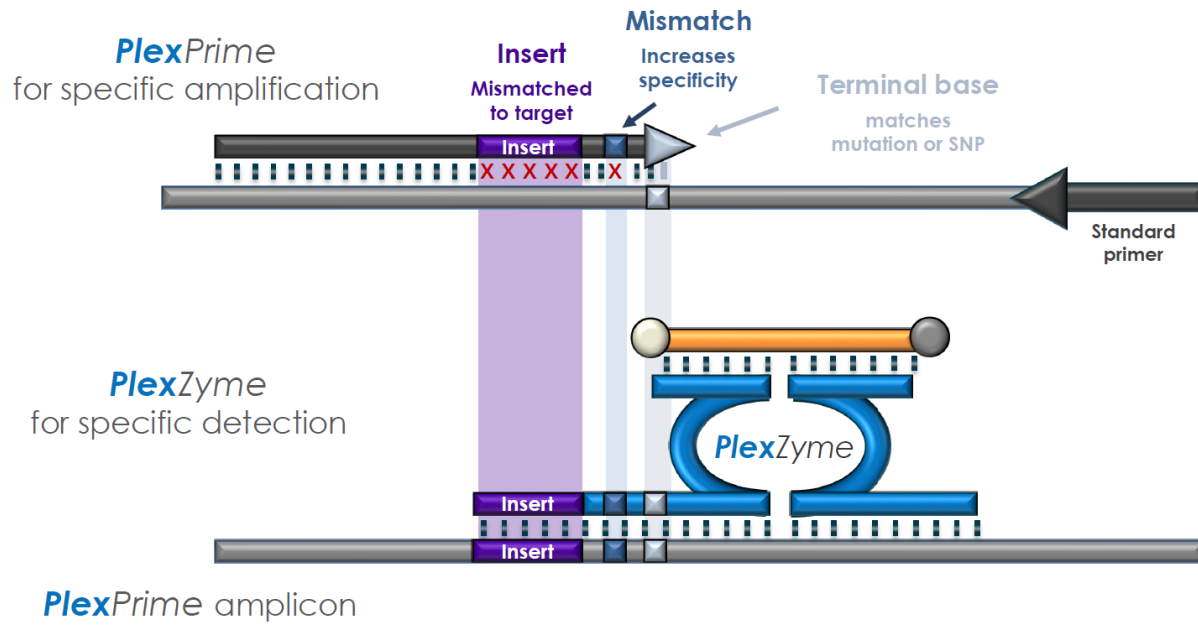
PlexZyme[®]-enzymet er katalytiske DNA-komplekser sammensat af to DNA-oligoer, der omtales som "Partielle enzymer". Hvert partielt enzym har en målspecifik region, en katalytisk kerne og en region til binding af en universalprobe. Når målproduktet er til stede, bindes de to partielle enzymer ved siden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

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

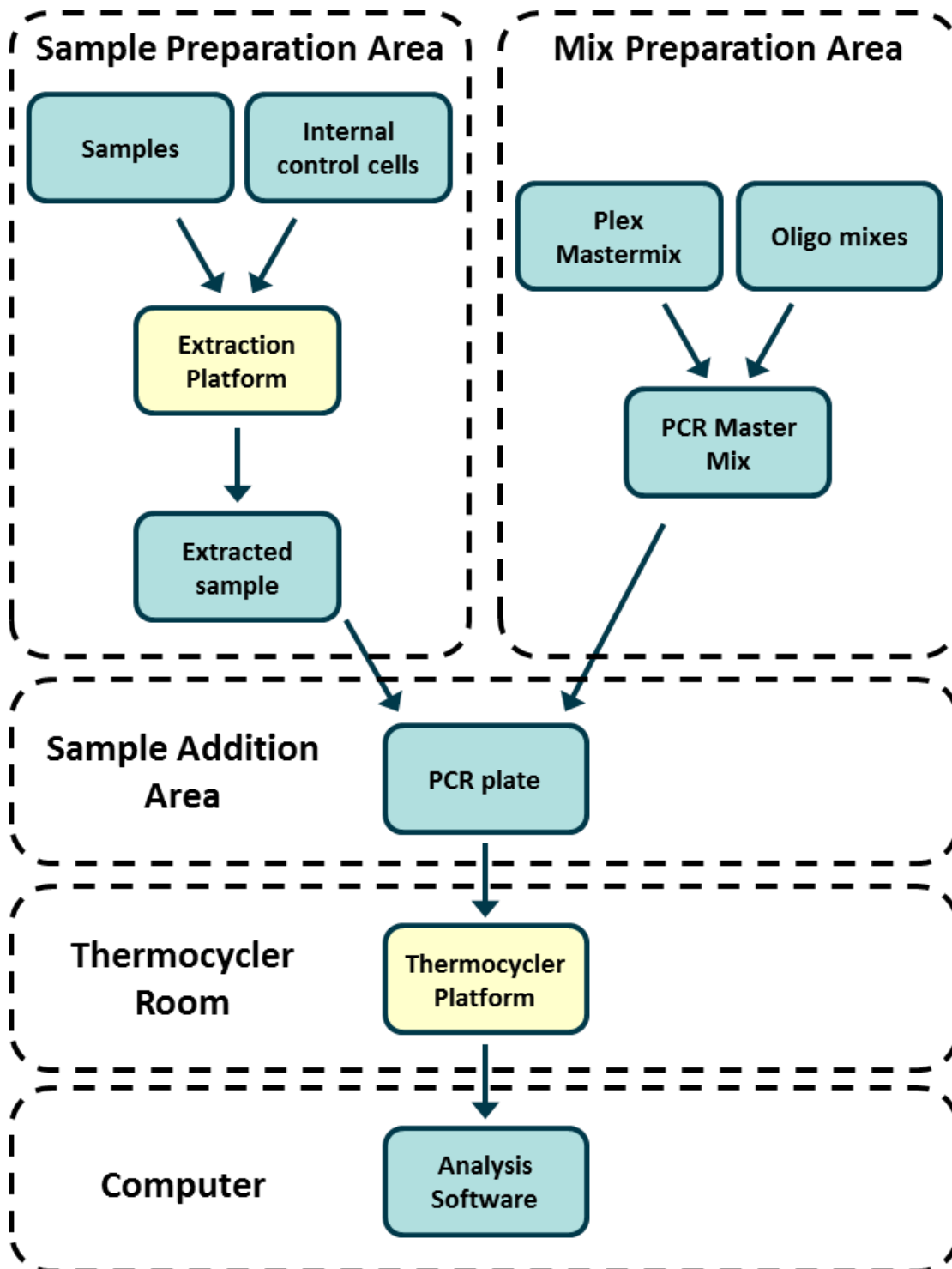
Figur 1. Skematisk fremstilling af **PlexZyme**[®]-påvisning og universel signalering



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



9 Overblik over proceduren



10 Detaljeret procedure

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

10.1 Indsamling af prøver, transport og opbevaring

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

10.1.1 Valideret prøveindsamlingsudstyr

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

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

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

10.1.2 Indsamling, transport og opbevaring af ren urin

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

10.1.3 Indsamling, transport og opbevaring af tørre pødepinde

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

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

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

10.1.4.1 Indsamling, transport og opbevaring af urinprøver

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

10.1.4.2 Indsamling, transport og opbevaring af vaginalpodningsprøver

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

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

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

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

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

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

10.1.6.1 Indsamling, transport og opbevaring af vaginalpodningsprøver

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

10.1.11 Validerede prøveekstrakter

Prøveekstrakter valideret til brug omfatter:

- cobas® x480 (fra CT/NG-protokol)

10.2 Prøvebehandling

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

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

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

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

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

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

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

[^] Klinisk ydeevne for prøver indsamlet med Aptima® indsamlingkits er kun blevet påvist med denne ekstraktionsprotokol. Se afsnit 16.1.5 for yderligere oplysninger.

10.3 Intern kontrol (IC)

Kittet indeholder en intern kontrol til at overvåge ekstraktionseffektiviteten og qPCR-hæmning. Det interne kontrolassay leveres som et **Kontrol-Mix (HVID)** og **interne kontrolceller (RØD)**. **Kontrol-Mix** tilføjes til PCR Master Mix (**Tabel 11**). De **interne kontrolceller** indeholder den interne kontrol-DNA-skabelon. De **interne kontrolceller** fortyndes og behandles som angivet nedenfor for specifikke ekstraktionsinstrumenter. Den interne kontrol-DNA-skabelon ekstraheres derfor sammen med prøven og amplificeres samtidig i reaktionen.

10.3.1 Intern kontrol på MagNA Pure 96

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

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

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

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

10.3.2 Intern kontrol på MICROLAB STARlet IVD

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

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

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

10.3.3 Intern kontrol på QIAasymphony® SP

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

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

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

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

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

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

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

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

10.3.4 Intern kontrol på easyMAG®

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

Bemærk: Opbevar IKKE fortyndede interne kontrolceller

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

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

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

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

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

"On-board"-arbejdsgang (podepinde)

Overfør prøverne til prøvebeholderen.

Sæt prøvebeholdere på easyMAG.

Programmér følgende ekstraktionsanmodninger:

Protokol: Generic 2.0.1 (for softwareversion 2.0)

Matrix: Andet

Mængde (ml): 0,200

Eluat (µl): 100 µL

Type: Primær

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

Fortsæt ekstraktionsprocessen.

"Off-board"-arbejdsgang (urin)

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

Lad blandingen stå ved rumtemperatur i 10 min.

Efter lysis overføres lysater til prøvebeholderen og sættes på easyMAG

Tilføj 100 µl silica for-blanding til hver prøve.

Programmér følgende ekstraktionsanmodninger:

Protokol: Generic 2.0.1 (for softwareversion 2.0)

Matrix: Andet

Mængde (ml): 1,000

Eluat (µl): 100 µL

Type: Lyseret

Fortsæt ekstraktionsprocessen.

10.4 Forberedelse af realtids-PCR

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

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

10.4.1 Master Mix-forberedelse

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

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

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

Forsegl pladen, centrifugér og overfør til termocykleren.

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

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

10.4.2 Master Mix-stabilitet

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

11 Programmering og analyse

Detaljerne for programmering og analyse er beskrevet i **afsnit 19 - afsnit 22**.

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

Tabel 12. Kanaler til ResistancePlus® MG-mål			
Instrument	Kanal A	Kanal B	Kanal C
	<i>M. genitalium</i> -påvisning (MgPa)	23S rRNA-mutation	Intern kontrol
LC480 II	465-510	533-580	533-640
7500 Fast og 7500 Fast Dx	FAM	JOE	TAMRA
CFX96 Dx og CFX Touch	FAM	HEX	Quasar 705

12 Fortolkning af resultater

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

Se **Tabel 13** angående den passende analysesoftware for hvert realtids-PCR-instrument. Analysesoftwaren kan leveres på forespørgsel. Der rettes henvendelse til tech@speedx.com.au for yderligere oplysninger.

Tabel 13. ResistancePlus ® MG-analysesoftware		
Kat.-nr.	Analysesoftware*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus ® MG (LC480)	LC480 II
99002	ResistancePlus ® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus ® MG (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

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

13 Begrænsninger

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

14 Kvalitetskontrol

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

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

15 ResistancePlus® MG Positive Control-instruktioner

ResistancePlus® MG Positive Control-kittet indeholder materiale til positivkontrol af *M. genitalium* 23S rRNA-mutanter og en *M. genitalium* vildtype 23S rRNA (**Tabel 14**).

Tabel 14. Indhold af ResistancePlus® MG Positive Control-kit (kat.-nr. 95001)			
Hættefarve	Indhold	Beskrivelse	Mængde (10 reaktioner)
Neutral	MG, 23S rRNA vildtype	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA vildtype	1 x 50 µL
Grøn	MG, 23S rRNA A2058G	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058G-mutation	1 x 50 µL
Rød	MG, 23S rRNA A2059G	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2059G-mutation	1 x 50 µL
Blå	MG, 23S rRNA A2058T	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058T-mutation	1 x 50 µL
Gul	MG, 23S rRNA A2058C	Positiv kontrolskabelon til påvisning af <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058C-mutation	1 x 50 µL

15.1 Brugsanvisning

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

Til datafortolkning er **ResistancePlus®** MG-analysesoftwaren nødvendig. Se **afsnit 23.9** angående eksempler på resultater.

16 Ydeevnekarakteristika

16.1 Klinisk ydeevne

16.1.1 Klinisk studie 1

Et prospektivt-retrospektivt klinisk studie blev udført på Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australia. Der blev indsamlet prøver fra maj 2016 til juni 2016, og på grundlag af kliniske laboratorieresultater 144 prøver blev udvalgt til inklusion i studiet. De 144 prøver omfattede 84 urinprøver fra mænd, 33 urinprøver fra kvinder, 14 vaginalpodninger og 13 dybe vaginalpodninger. For at bestemme ydeevnen for **ResistancePlus**[®] MG-kittet, blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med kliniske laboratorieresultater fra et veletableret 16S rRNA qPCR, der blev anvendt til rutinediagnostik på RWH⁷, og 23S rRNA-mutantpåvisning blev sammenlignet med Sanger-sekventering⁸. **ResistancePlus**[®] MG-kittet blev anvendt på LC480 II, efter prøveekstraktion på MagNA Pure 96 Instrument ved anvendelse af MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit med protokollen Universal Pathogen 200. Til påvisning af *M. genitalium* blev der anvendt en sammensat reference for uoverensstemmende prøver ved anvendelse af en tredje qPCR-reaktion målrettet mod MgPa-genet⁹. Til påvisning af 23S rRNA-mutanter blev Sanger-sekventering antaget som sandt resultat. Afklarede resultater samt følsomhed og specificitet for **ResistancePlus**[®] MG kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutant vises i **Tabel 15**. To prøver blev udelukket, da det interne kontrolresultat var ugyldigt (1 urinprøve fra hhv. en mand og en kvinde). Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 16**. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i **Tabel 17**.

Tabel 15. Klinisk evaluering af ResistancePlus[®] MG-kittet (klinisk studie 1)

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

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

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

Tabel 16. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve[^] (klinisk studie 1)

Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	28/28	8/10 ¹	41/42 ¹
Urin fra kvinder	12/13	11/11	4/6 ²
Vaginalpodning	8/8	1/1	2/2 ³
Dyb vaginalpodning	9/9	1/1	4/4 ⁴

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

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

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

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

³ Vaginalpodning 2 A2059G korrekt påvist

⁴ Dyb Vaginalpodning 3 A2058G, 1 A2059G korrekt påvist

Tabel 17. <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 1)	
Referenceresultat [^]	ResistancePlus [®] MG-resultat
Vildtype	21/33 ¹
A2058G	22/23 ²
A2059G	26/28 ³
A2058T	3/3

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

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

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

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

16.1.2 Klinisk studie 2

En undergruppe af de ekstraherede prøver fra studie 1 blev kørt på ABI 7500 Fast. Resultaterne blev sammenlignet med de kliniske resultater fra 16S rRNA qPCR (Twin 2011) og Sanger-sekventering (Twin 2012). Uoverensstemmende prøver til påvisning af *M. genitalium* blev gentestet med 16S rRNA qPCR (Twin 2011) på grund af mistanke om nedbrydning af prøven. Afklarede resultater samt følsomhed og specificitet for kittet ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎ for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutant vises i **Tabel 18**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes.

Tabel 18. Klinisk evaluering af kittet ResistancePlus [®] MG ₍₅₅₀₎ (klinisk studie 2)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning 16S rRNA qPCR		23S rRNA-mutantpåvisning Sekvensering		
		Positiv	Negativ		Mutant	Vildtype
ResistancePlus [®] MG	Positiv	79	0 [^]	Mutant påvist	47	1
	Negativ	2	43 [#]	Mutant ikke påvist	4	19
Følsomhed		97,5 % (95 % KI 91,4-99,7 %)		Følsomhed	92,2 % (95 % KI 81,1-97,8 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 91,8-100,0 %)		Specificitet	95,0 % (95 % KI 75,1-99,9 %)	

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

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

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

16.1.3 Klinisk studie 3

Der blev udført et retrospektivt klinisk studie på Canterbury Health Laboratories (CHL), Christchurch, New Zealand på karakteriserede, arkiverede prøver fra tidsrummet 2010-2016 og indsamlet med multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott). De 137 prøver bestod af 110 urinprøver fra mænd, 11 urinprøver fra kvinder, 15 vaginalpodninger, 1 urinrørs-/vaginalpodning og 1 vaginal/cervikalpodning. For at bestemme ydeevnen af ResistancePlus[®] MG-kittet blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med det kliniske laboratorieresultat fra en veletableret MgPa qPCR, som også bruges til rutinediagnostik på CHL (Jensen 2004), og 23S rRNA-mutantpåvisning blev sammenlignet med Sanger-sekventering (Jensen 2008). ResistancePlus[®] MG-kittet blev anvendt på LC480 II efter prøveekstraktion på MagNA Pure 96 Instrument ved anvendelse af MagNA Pure 96 DNA og Viral NA Small Volume Kit med protokollen Universal Pathogen 200. Til påvisning af *M. genitalium* blev den rutinemæssige MgPa-test gentaget for uoverensstemmende prøver. Til påvisning af 23S rRNA-mutanter blev Sanger-sekventering antaget som sandt resultat. Følsomhed og specificitet for ResistancePlus[®] MG-kittet til påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutanter er vist i **Tabel 19**. En prøve blev udelukket, da resultatet af den interne kontrol var ugyldigt. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 20**. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i **Tabel 21**.

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

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

[^] Tabel viser afklarede resultater

Tabel 20. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 3)			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	45/45	17/18 ¹	38/45 ¹
Urin fra kvinder	4/4	1/1	6/6 ²
Vaginalpodning	6/6	1/1	8/8 ³
Urinrørs-/vaginalpodning	1/1	0/0	0/0
Vaginal-/cervicalpodning	1/1	0/0	0/0

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

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

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

³Vaginalpodning 1 A2058G, 7 A2059G korrekt påvist

Tabel 21. <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 3)	
Referenceresultat [^]	<i>ResistancePlus</i> [®] MG-resultat
Vildtype	19/20 ¹
A2058G	7/10 ²
A2059G	43/45 ³
A2058T	1/1
A2058C	1/1

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

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

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

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

16.1.4 Klinisk studie 4

Et retrospektivt klinisk studie blev udført på Vall d'Hebron University Hospital (HUVH), Barcelona, Spanien, for at evaluere ydeevnen af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ til påvisning af *M. genitalium*- og azithromycinresistensassocierede mutationer i retrospektive prøver indsamlet mellem december 2017 og april 2018. Prøverne blev indsamlet med DeltaSwab ViCUM[®] (Deltalab, Spanien) til podninger eller Vacumed[®] Urine (FL medical, Italien) til urin. De 86 prøver bestod af 46 urinprøver og 40 vaginalpodninger. Prøverne blev ekstraheret med STARlet IVD (Hamilton) og kørt på CFX96 Dx-instrumentet (Bio-Rad). For at vurdere ydeevnen blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med Allplex[™] STI Essential (Seegene) samt med *ResistancePlus*[®] MG-kittet (SpeedX) på LC480 II for både påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-status. Følsomheden og specificiteten af kittet *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ til påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med Allplex[™] STI Essential (Seegene) er vist i **Tabel 22**. Sensitiviteten og specificiteten af *ResistancePlus*[®] MG₍₆₇₅₎ sammenlignet med *ResistancePlus*[®] MG er som vist i **Tabel 23**. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 24**.

Tabel 22. Sammenligning af kittet <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ med Allplex [™] STI essential (klinisk studie 4)			
		<i>M. genitalium</i> -påvisning Allplex [™] STI Essential	
		Positiv	Negativ
<i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎	Positiv	40	0
	Negativ	0	46
Følsomhed		100,0 % (95 % KI 91,2-100,0 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3-100,0 %)	

Tabel 23. Klinisk evaluering af kittet <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ (klinisk studie 4)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning <i>ResistancePlus</i> [®] MG (LC480 II)		23S rRNA-mutantpåvisning [#] <i>ResistancePlus</i> [®] MG (LC480 II)		
		Positiv	Negativ			
<i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎	Positiv	40	0	Mutant påvist	20	0
	Negativ	0	46	Mutant ikke påvist	1	20
Følsomhed		100,0 % (95 % KI 91,2-100,0 %)		Følsomhed		
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3-100,0 %)		Specificitet		

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

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

Tabel 24. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 4)			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	26/26	5/5	15/15
Vaginalpodning	20/20	15/15	5/5

16.1.5 Klinisk studie 5

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

Følsomhed og specificitet for *ResistancePlus*[®] MG-kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 25**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 26**.

Tabel 25. Klinisk evaluering af *ResistancePlus*® MG-kittet (klinisk studie 5)

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

Tabel 26. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 5)

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

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

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

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

16.1.6 Klinisk studie 6

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

For at bestemme ydeevnen af cobas® ekstrakter med kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ blev påvisning af *M. genitalium* sammenlignet med det rutinemæssige diagnostiske resultat (MgPa PCR-assay (Trembizki *et al.*, 2017)), og påvisning af 23S rRNA-mutanter blev sammenlignet med Sanger-sekventering. Kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ blev kørt på ABI 7500 Fast Dx. Følsomhed og specificitet for kittet **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 27**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 28**. Analyse af 23S rRNA-mutation vises i **Tabel 29**.

Tabel 27. Klinisk evaluering af kittet ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎ (klinisk studie 6)						
		<i>M. genitalium</i> -påvisning MgPa qPCR		23S rRNA-mutantpåvisning Sanger-sekventering		
		Positiv	Negativ		Mutant	Vildtype
ResistancePlus® MG ₍₅₅₀₎	Positiv	54	0	Mutant påvist	37 [^]	0
	Negativ	1	51	Mutant ikke påvist	0	17
Følsomhed		98,2 % (95 % KI 90,3-100,0 %)		Følsomhed	100,0 % (95 % KI 90,5-100,0 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,0-100,0 %)		Specificitet	100,0 % (95 % KI 80,5-100,0 %)	

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

Tabel 28. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 6) [*]			
Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	42/42	13/13	26/27 ¹
Urin fra kvinder	6/6	1/1	3/3 ²
Vaginalpodning	1/1	1/1	7/7 ^{3^}
Dyb vaginalpodning	2/2	2/2	1/1 ⁴

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

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

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

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

⁴ Dyb Vaginalpodning 1 A2059G korrekt identificeret

Tabel 29. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalyse (klinisk studie 6)

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

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

16.1.7 Klinisk studie 7

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

ResistancePlus[®] MG-kittet blev anvendt på LC480 II efter prøveekstraktion på QIASymphony SP (QIAGEN) instrument ved anvendelse af DSP Virus/Pathogen Mini kit og protokollen Complex200_V6_DSP protocol. Resultater blev sammenlignet med rutinediagnostiske resultater fra **ResistancePlus[®]** MG-kittet (SpeedX) ved brug af prøver ekstraheret på MagNA Pure 96 Instrument (MP96). For uoverensstemmende resultater blev der gennemført en 16S rRNA qPCR-test (Twin 2011) for påvisning af *M. genitalium*, og Sanger-sekventering (Twin 2012) blev gennemført for 23S rRNA-mutantpåvisning. Følsomhed og specificitet for **ResistancePlus[®]** MG-kittet for påvisning af *M. genitalium* og 23S rRNA-mutantpåvisning vises i **Tabel 30**. Analyse af 23S rRNA-mutationspåvisning omfattede kun prøver, hvor mutantstatus kunne bestemmes. Analyse af resultater i henhold til prøvetype vises i **Tabel 31**.

Tabel 30. Klinisk evaluering af ResistancePlus[®] MG-kittet (klinisk studie 7)

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

Tabel 31. Analyse af klinisk resultat i henhold til prøve (klinisk studie 7) [#]

Prøve	Forventet <i>M. genitalium</i> negativ	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-vildtype	Forventet <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin fra mænd	17/17	9/9	12/14 ¹
Urin fra kvinder:	1/1	1/2 ²	1/1
Vaginalpodning	8/8 [#]	7/7	3/3
Dyb vaginalpodning	1/1	1/1	-

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

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

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

16.2 Analytisk ydeevne

16.2.1 Reproducerbarhed og repeterbarhed

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

For at bestemme lot-til-lot-variationen blev der testet to lots, som blev kørt på én maskine af én operatør (**Tabel 32**). De to lots viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,35-2,37 % for alle mål.

Tabel 32. Lot-til-lot-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	16,9	0,15	0,89	12/12
MgPa 30 kopier	25,5	0,52	2,05	12/12
A2058G 10.000 kopier	20,4	0,48	2,37	12/12
A2058G 36 kopier	27,8	0,43	1,54	12/12
A2059G 10.000 kopier	18,0	0,06	0,35	12/12
A2059G 30 kopier	25,6	0,50	1,94	12/12
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,09	0,46	12/12
A2058T 30 kopier	26,2	0,30	1,14	12/12
A2058C 10.000 kopier	17,7	0,13	0,75	12/12
A2058C 30 kopier	25,4	0,29	1,15	12/12

For at bestemme dag-til-dag-variabilitet blev test udført over tre dage af én operatør på samme maskine (**Tabel 33**). De tre kørsler viste god reproducerbarhed mellem forskellige dage med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,88-2,31 % for alle mål.

Tabel 33. Dag-til-dag-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	17,0	0,18	1,09	18/18
MgPa 30 kopier	25,6	0,59	2,31	18/18
A2058G 10.000 kopier	20,2	0,37	1,83	18/18
A2058G 36 kopier	27,9	0,51	1,84	18/18
A2059G 10.000 kopier	18,1	0,24	1,34	18/18
A2059G 30 kopier	25,7	0,32	1,23	18/18
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,23	1,22	18/18
A2058T 30 kopier	26,3	0,31	1,17	18/18
A2058C 10.000 kopier	17,8	0,16	0,88	18/18
A2058C 30 kopier	25,5	0,31	1,22	18/18

For at bestemme kørsel-til-kørsel-variabilitet blev tre qPCR-kørsler sammenlignet, kørt på samme dag af samme operatør (Tabel 34). De tre kørsler viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,40-3,20 % for alle mål.

Tabel 34. Kørsel-til-kørsel-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	17,0	0,07	0,40	18/18
MgPa 30 kopier	25,7	0,47	1,83	18/18
A2058G 10.000 kopier	19,8	0,63	3,20	18/18
A2058G 36 kopier	27,5	0,51	1,85	18/18
A2059G 10.000 kopier	18,4	0,11	0,61	18/18
A2059G 30 kopier	25,7	0,39	1,52	18/18
A2058T 10.000 kopier	18,7	0,22	1,18	18/18
A2058T 30 kopier	26,4	0,42	1,59	18/18
A2058C 10.000 kopier	17,8	0,08	0,46	18/18
A2058C 30 kopier	25,5	0,31	1,22	18/18

For at bestemme operatør-variabilitet blev to kørsler fra to operatører sammenlignet (Tabel 35). De to kørsler fra forskellige operatører viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,54-1,62 % for alle mål.

Tabel 35. Operatør-variabilitet				
	Gennemsnitlig Cq	STDEV	%CV	Antal prøver
MgPa 10.000 kopier	16,8	0,12	0,73	12/12
MgPa 30 kopier	25,3	0,41	1,61	12/12
A2058G 10.000 kopier	20,2	0,24	1,21	12/12
A2058G 36 kopier	27,9	0,45	1,62	12/12
A2059G 10.000 kopier	17,9	0,10	0,58	12/12
A2059G 30 kopier	25,5	0,39	1,53	12/12
A2058T 10.000 kopier	18,6	0,10	0,54	12/12
A2058T 30 kopier	26,1	0,31	1,20	12/12
A2058C 10.000 kopier	17,7	0,13	0,71	12/12
A2058C 30 kopier	25,2	0,27	1,06	12/12

For at bestemme instrument-variabilitet blev to kørsler på to maskiner udført af samme operatør sammenlignet (**Tabel 36**). De to kørsler fra forskellige instrumenter viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,30-2,62 % for alle mål.

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

For at bestemme variabilitet inden for kørsler blev tre eksperimenter, der var indstillet separat af samme operatør og kørte samme mål på samme plade, sammenlignet (**Tabel 37**). De tre kørsler viste god reproducerbarhed med en variationskoefficient (% CV) på mellem 0,57-3,12 % for alle mål.

Tabel 37. Variabilitet inden for kørsler

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

16.2.2 Analytisk følsomhed

Den analytiske følsomhed for **ResistancePlus**® MG-kittet på LC480 II blev bestemt ved at køre begrænsede fortyndingsserier ved hjælp af en kvantificeret syntetisk skabelon for *M. genitalium* MgPa og 23S rRNA-mål (A2058G, A2059G, A2058T og A2058C). Følsomheden for hvert mål blev bestemt som antallet af kopier pr. reaktion med ≥ 95 % påvisning vist i **Tabel 38**.

Tabel 38. Analytisk følsomhed

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

16.2.3 Analytisk specificitet

Dette studie blev udført for at evaluere **ResistancePlus**® MG-kittet, når ikke-målorganismer er til stede i høje koncentrationer. Et panel af 65 mikroorganismer (4 vira, 2 protozoer, 4 svampe og 55 bakterier), der repræsenterer patogener eller flora, der almindeligvis findes i det urogenitale system, eller som er nært beslægtede med *M. genitalium*, blev evalueret. Hver bakteriestamme blev testet med 1×10^6 genomer/ml, medmindre andet er angivet. Virusstammer blev testet ved 1×10^5 genomer/ml, medmindre andet er angivet. Alle andre organismer blev testet ved de angivne koncentrationer. Alle organismer blev kvantificeret ved hjælp af qPCR, undtagen dem, der blev kvantificeret som kolonidannende enheder (CFU) eller plakdannende enheder (PFU) (**Tabel 39**). Alle mikroorganismer blev testet tre gange. Alle testede mikroorganismer blev fortyndet i negativ klinisk matrix (enten urin eller vaginalpodepind).

Resultaterne viste, at ingen af disse organismer gav falsk positive resultater i de *M. genitalium*-negative matricer (**Tabel 39**).

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

Tabel 39. Mikroorganismer testet for analytisk specificitet

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

* antal i parentes angiver antallet af testede stammer

[^] kvantificeret som PFU/ml[#] kvantificeret som CFU/ml

16.2.4 Potentielt interfererende stoffer

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

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

Resultater er sammenfattet i **Tabel 40** og **Tabel 41**.

Tabel 40. Potentielt interfererende stoffer i urinprøver

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

Tabel 41. Potentielt interfererende stoffer i vaginalpodninger

Klasse/stof	Produktnavn	Testkoncentration
Blood	--	60 % v/v
Sædvæske	--	5,0 % v/v
Mucus	Mucin	0,8 % w/v
Receptfri vaginalprodukter og kontraseptika	Vagisil Anti-Itch Crème (1.0 oz)	0,25 % w/v
	K-Y Jelly (4.0 oz)	0,25 % w/v
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel	0,25 % w/v
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1.5 oz)	0,25 % w/v
	Vagisil Sensitive Skin Formula Maximum Strength Anti-Itch Creme with Oatmeal (1.0 oz)	0,25 % w/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0.2 oz x 8 pack)	0,25 % w/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,25 % w/v
	Summer's Eve Medicated Douche	0,25 % v/v
Deodoranter og pudder	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25 % v/v
Hæmoridecreme	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25 % w/v
Receptpligtige lægemidler	Metronidazole Vaginal Gel, 0.75%	0,25 % w/v
	Estrace® (estradiol vaginal cream, USP 0.01%)	0,25 % w/v
Leukocytter	--	10 ⁵ celler/ml
Intravaginale hormoner	--	7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-estradiol

16.2.5 Krydsreaktivitet over for andre 23S rRNA-mutationer

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

17 Kundesupport og teknisk support

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

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

18 Referencer

1. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24:498–514.
2. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. *Mycoplasma genitalium*: should we treat and how? Clin Infect Dis. 2011 Dec;53 Suppl 3:S129-42.
3. Cazanave C, Manhart LE, Bébér C. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 2012 Sep;42(9):381-92
4. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in *Mycoplasma genitalium*-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. Clin Infect Dis. 2008 Dec 15;47(12):1546-53.
5. Jensen JS. Chapter 8: Protocol for the Detection of *Mycoplasma genitalium* by PCR from Clinical Specimens and Subsequent Detection of Macrolide Resistance-Mediating Mutations in Region V of the 23S rRNA Gene in Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 903, Science+Business Media New York 2012.
6. Bissessor M, Tabrizi SN, Twin J, Abdo H, Fairley CK, Chen MY, Vodstrcil LA, Jensen JS, Hocking JS, Garland SM, Bradshaw CS. Macrolide resistance and azithromycin failure in a *Mycoplasma genitalium*-infected cohort and response of azithromycin failures to alternative antibiotic regimens. Clin Infect Dis. 2015 Apr 15;60(8):1228-36.
7. Twin J, Taylor N, Garland SM, Hocking JS, Walker J, Bradshaw CS, Fairley CK, Tabrizi SN. Comparison of two *Mycoplasma genitalium* real-time PCR detection methodologies. J Clin Microbiol. 2011 Mar;49(3):1140-2.
8. Twin J, Jensen JS, Bradshaw CS, et al. Transmission and selection of macrolide resistant *Mycoplasma genitalium* infections detected by rapid high resolution melt analysis. PLoS One 2012; 7: e35593.
9. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. Use of Taqman 5' nuclease real-time PCR for quantitative detection of *Mycoplasma genitalium* DNA in males with and without urethritis who were attendees at a sexually transmitted disease clinic. J Clin Microbiol. 2004 42:683-692.

19 Bilag 1: LightCycler® 480 instrument II

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

ResistancePlus® MG -kittet indeholder farvestoffer til LightCycler® 480 Instrument II. **PlexPCR®** Colour Compensation-kittet (kat. nr. 90001) skal køres og anvendes til LC480 II-analyse (se **afsnit 19.2**). Dette kit kan leveres efter anmodning.

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

Detektionsformat

Opret et brugerdefineret **detektionsformat**

Open Tools (Åbn Værktøjer) > **Detection Formats** (Detektionsformater)

Opret et nyt detektionsformat, og giv det navnet '**SpeedX PlexPCR**' (kan oprettes under genereringen af SpeedX Colour Compensation-filen) (se **figur 3**)

Ved **valg af filterkombination** vælges følgende (Excitation-Emission), som vist i **tabel 42**.

Tabel 42. Filterkombinationer [^]						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

[^] Disse filterkombinationer er standardnavnene for kanalerne

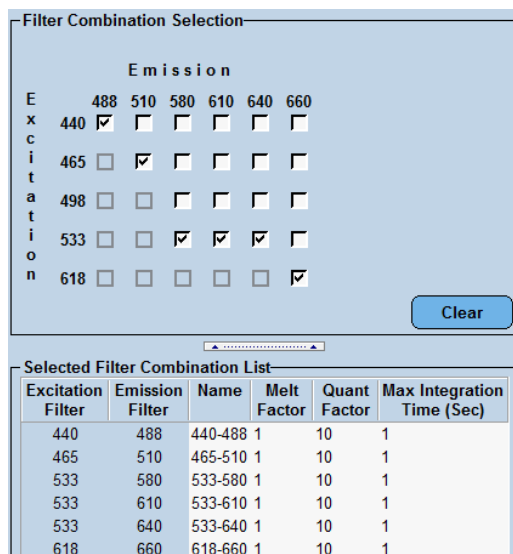
Indstil **Selected Filter Combination List** (liste over de valgte filterkombinationer) for alle kanaler til:

Melt Factor (smeltefaktor): 1

Quant Factor (kvant.faktor): 10

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

Figur 3. Brugerdefineret SpeedX-detektionsformat



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

Instrumentindstillinger

Opret et brugerdefineret **detektionsformat**

Open Tools (Åbn Værktøjer) > **Instruments** (Instrumenter)

I **Instrument Settings** (Instrumentindstillinger) > vælges **Barcode Enabled** (Stregkode aktiveret)

Opsætning af eksperiment

Vælg **New Experiment** (Nyt eksperiment)

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

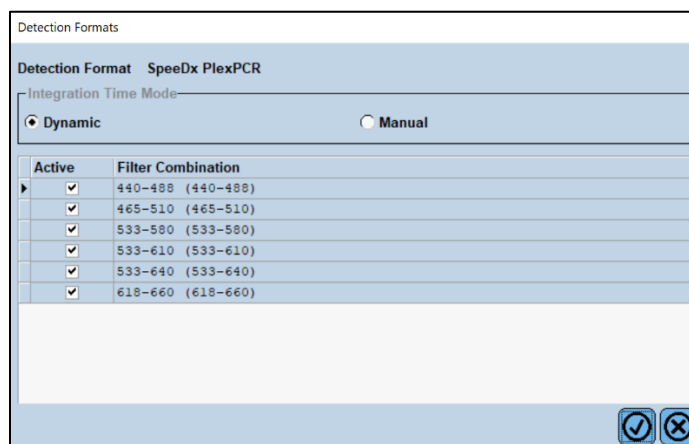
Vælg det tilpassede "**SpeedX PlexPCR**" som **Detection Format** (detektionsformat) (**figur 4**)

Vælg **Customize** (Tilpas) >

Vælg **Integration Time Mode** (Integrationstidstilstand) > **Dynamic** (Dynamisk)

Vælg alle **Active** (aktive) **Filter Combinations** (filterkombinationer), som vist i **figur 4**

Figur 4. Tilpas detektionsformat

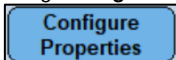


Active	Filter Combination
☒	440-488 (440-488)
☒	465-510 (465-510)
☒	533-580 (533-580)
☒	533-610 (533-610)
☒	533-640 (533-640)
☒	618-660 (618-660)

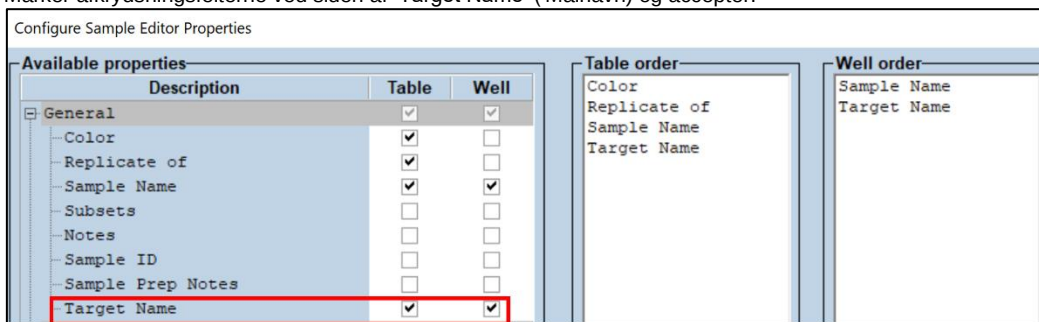
For at aktivere automatisk prøvesporing i analysesoftwaren skal du tildele navnemærker til brøndene på pladen.

Åbn modulet **Sample Editor**

Vælg **Configure Properties** (Konfigurer egenskaber) for at tilføje målnavne.



Marker afkrydsningsfelterne ved siden af 'Target Name' ('Målnavn') og accepter.



Description	Table	Well
General	☒	☒
Color	☒	☐
Replicate of	☒	☐
Sample Name	☒	☒
Subsets	☐	☐
Notes	☐	☐
Sample ID	☐	☐
Sample Prep Notes	☐	☐
Target Name	☒	☒

Rediger **målnavnet** for hver kanal, så det matcher målinstrumentreferencen, der er defineret i menuen Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren og vist i **Tabel 43**.

Tabel 43. Kanaler til ResistancePlus® MG-mål

Mål	MgPa	23S rRNA-mutation	IC
LC480 II	465-510	533-580	533-640

For at tildele navnemærker skal du vælge brønden

Rediger **prøvenavnet**, så det svarer til det navnemærke, der er defineret i menuen Lab Configuration > Assays (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren (se **afsnit 23.3**).

Prøverne skal mærkes med navnemærket som præfiks. Der findes standardnavnemærker til kontrolreaktionerne (som vist i **tabel 44** og **figur 5**). Yderligere navnemærker kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwaren.

Bemærk: *Prøvenavnemærker er følsomme over for store og små bogstaver. Navnemærkerne skal svare nøjagtigt til dem, der er tildelt i run-filen.*

Tabel 44. Prøvenavnemærker til analysesoftware	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Almindelig prøve	Ingen standard – brugerdefineret
Negativ kontrol	NC
Ingen skabelonkontrol	NTC
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-mutationstype) (Pa)	Pa
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-vildtype) (Pb)	Pb

Figur 5. Sample Editor – Tildeling af navnemærker til brønde

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name	Target Name
A1	465-510 (465-510)			NC	MgPa
A1	533-580 (533-580)			NC	23S rRNA mutation
A1	533-640 (533-640)			NC	IC
A2	465-510 (465-510)			NTC	MgPa
A2	533-580 (533-580)			NTC	23S rRNA mutation
A2	533-640 (533-640)			NTC	IC
A3	465-510 (465-510)			Pa	MgPa
A3	533-580 (533-580)			Pa	23S rRNA mutation
A3	533-640 (533-640)			Pa	IC
A4	465-510 (465-510)			Pb	MgPa
A4	533-580 (533-580)			Pb	23S rRNA mutation
A4	533-640 (533-640)			Pb	IC

Indstil **reaktionsvolumen** > 20 µL

Opret følgende program i **tabel 45** (vist mere detaljeret i **figur 6 – figur 9**):

Tabel 45. Thermocycling Program (program for termocykling)

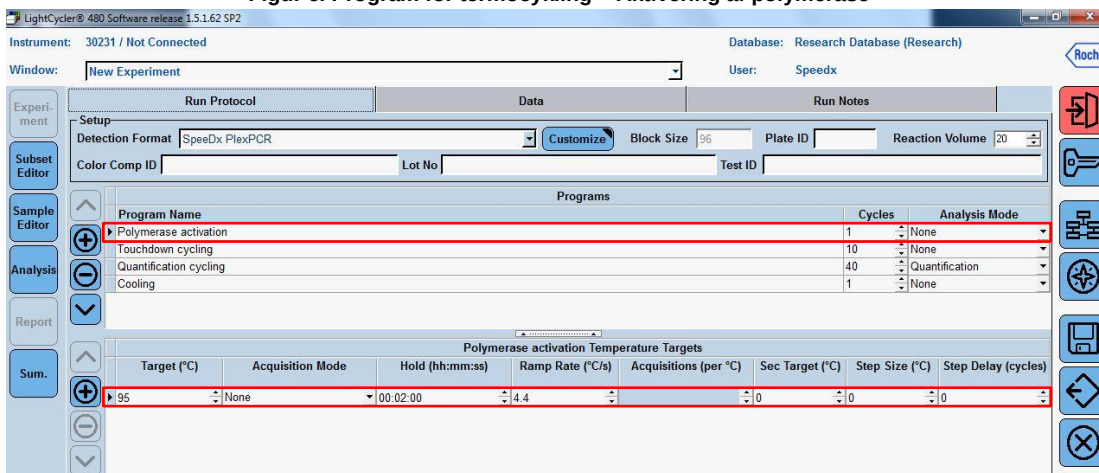
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp rate (°C/s) (rampefrekvens C/s) [‡]
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	4.4
Touchdown cycling (sænkning af cykling) [§] : Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus	10	95°C	5 s (sek.)	4.4
		61°C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

[‡] Standard rampefrekvens (plade med 96 brønde)

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

[†] **Analysetilstand:** Kvantificering, **Erhvervelsestilstand:** Enkelt

Figur 6. Program for termocykling – Aktivering af polymerase



LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

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

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

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

Color Comp ID Lot No Test ID

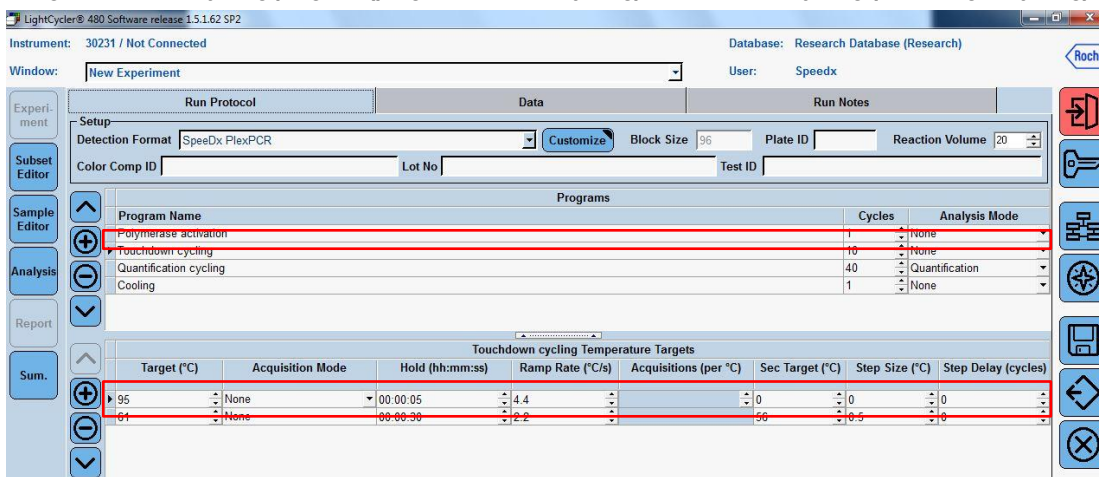
Programs

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

Polymerase activation Temperature Targets

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

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



LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

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

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

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

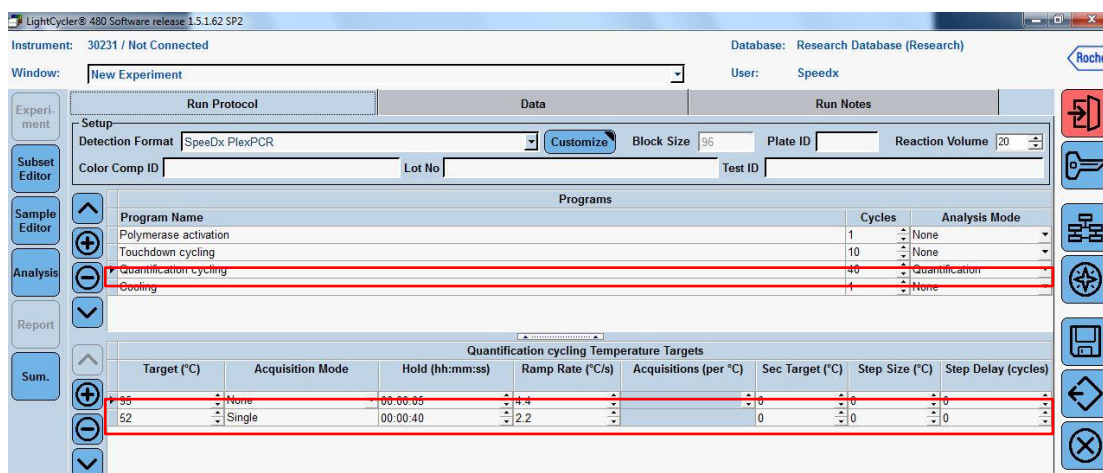
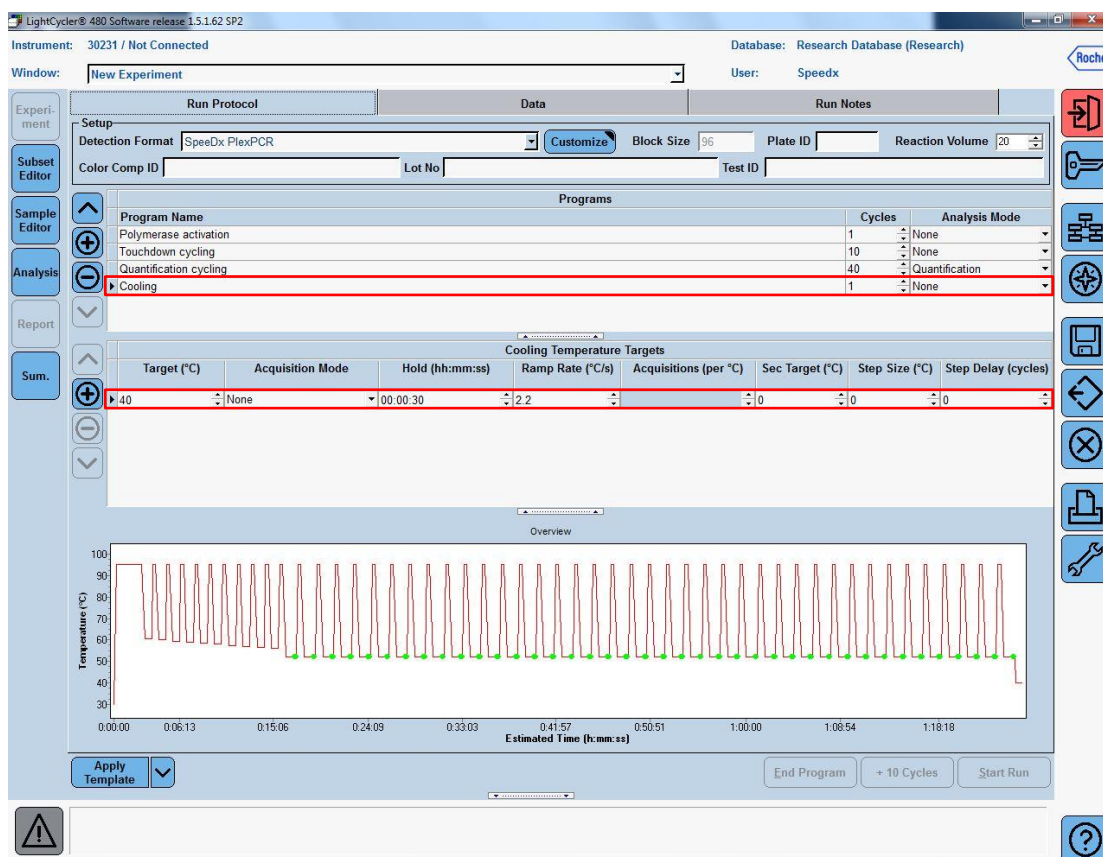
Color Comp ID Lot No Test ID

Programs

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

Touchdown cycling Temperature Targets

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

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

Figur 9. Termo-cyklusprogram – Køling


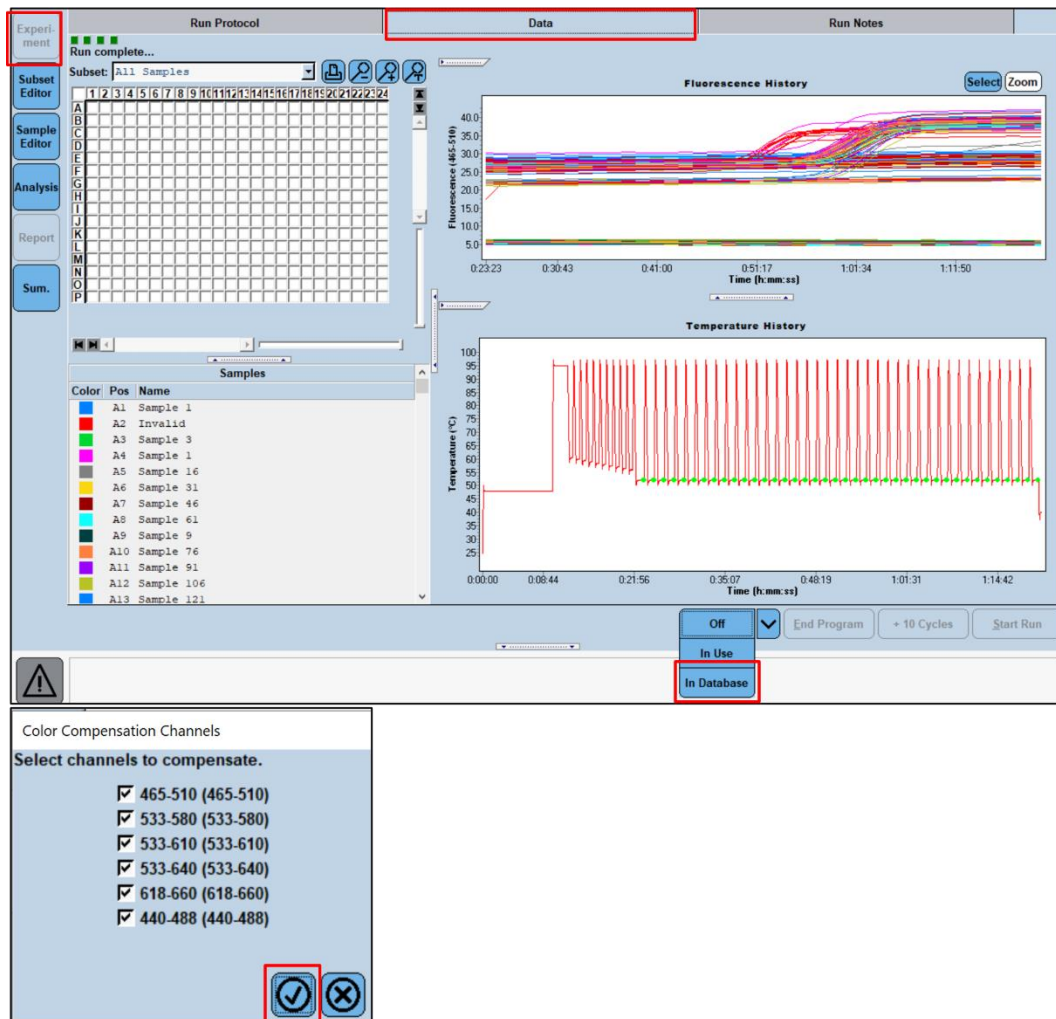
> Startforløb

Når cyklusprogrammet er færdigt, skal du vedhæfte CC-objektet til run-filen, som vist i **figur 10**, og eksportere det som en .IXO-fil til analyse i **ResistancePlus®** MG-analysesoftware. Se **afsnit 19.2** for instruktioner om, hvordan du opretter CC-objektet og gemmer det i LightCycler 480-softwarens database.

Vælg **Experiment (Eksperiment) > Data**

Klik på rullemenuen ved siden af **Colour Comp (Off)** (Farvekomposition (Fra)) og vælg **In Database** (I database)

Figur 10. Vedhæftning af CC-objektet til run-filen



Vælg det relevante CC-objekt, sørg for, at alle kanaler er valgt, og vælg ikonet med flueben 

Tryk på ikonet **Gem** 

Tryk på **eksport**-ikonet 

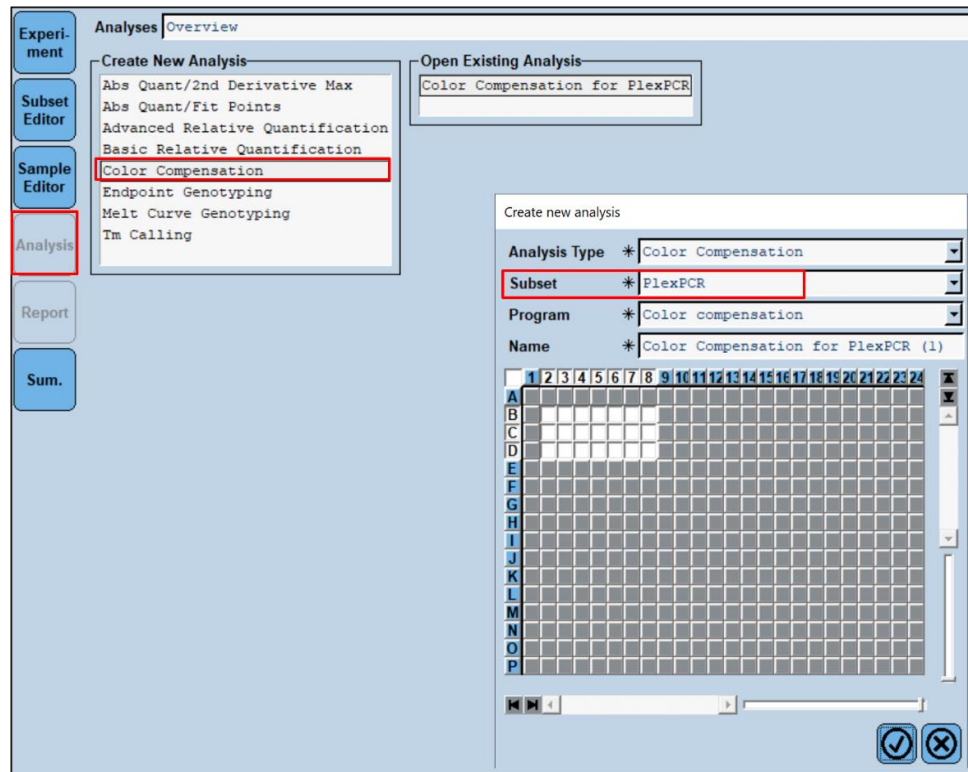
Gem på et let identificerbart sted.

19.2 Farvekomensation til LightCycler® 480 Instrument II

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

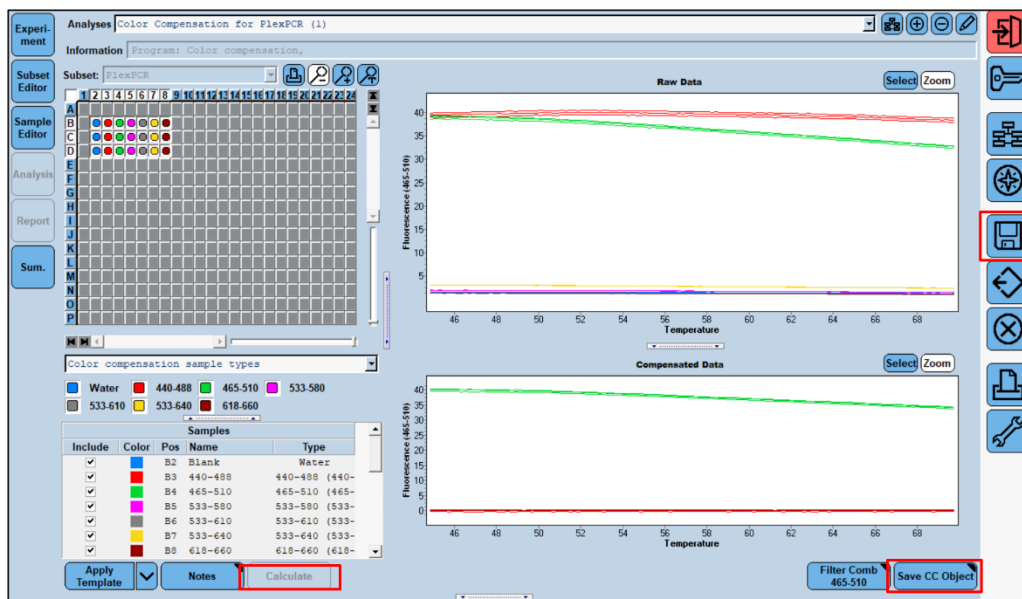
Analysér Colour Compensation-filen via **Analysis** (Analyse) > **Colour Compensation** (Farvekomensation), og vælg den korrekte delmængde, som vist i **figur 11**.

Figur 11. Analyse – Farvekompensation



Vælg **Calculate** (Beregn) (figur 12).

Figur 12. Beregn og gem CC-objekt.



Se yderligere oplysninger i brugsanvisningen til PlexPCR Colour Compensation (IF-IV0001) for at sikre, at Colour Compensation-filen er oprettet korrekt.

Vælg **Gem.** 

19.3 Fortolkning af resultater

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

Se **afsnit 23** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus[®] MG (LC480)** analysesoftwaren anvendes.

20 Bilag 2: Applied Biosystems® 7500 Fast

Følgende oplysninger er baseret på 7500 Software v2.3.

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

20.1 Programmering af Applied Biosystems® 7500 Fast

Vælg **Advanced Setup** (avanceret opsætning)

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

Name the experiment (navngiv eksperimentet)

Instrument > 7500 Fast (96 brønde)

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

Reagenser > Andre

Ramp Speed (rampehastighed) > Standard

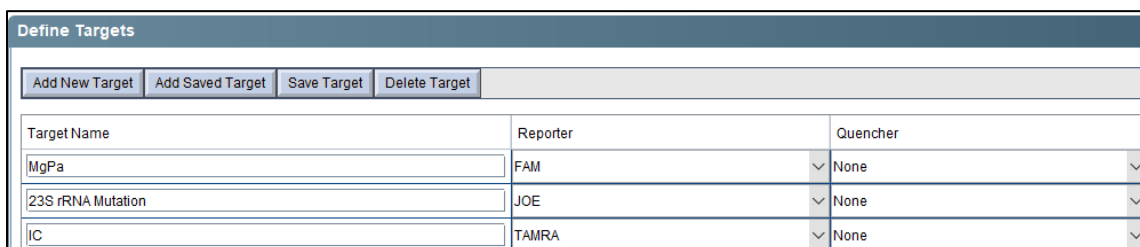
I **Setup** (opsætning) > åbnes **Plate Setup** (opsætning af plade)

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

Define Targets (definer mål) som vist herunder **Tabel 46** og **Figur 13** (definer farver efter behov)

Tabel 46. Define Targets (definer mål)		
Target name (målnavn)	Reporter	Quencher (dæmpning)
MgPa	FAM	None (ingen)
23S rRNA mutation	JOE	None (ingen)
IC	TAMRA	None (ingen)

Figur 13. Definer mål og prøver



Target Name	Reporter	Quencher
MgPa	FAM	None
23S rRNA Mutation	JOE	None
IC	TAMRA	None

Definer prøver (definer farver efter behov)

For at muliggøre automatisk prøvedetektering i analysesoftwaren skal du sikre, at målnavnet (vist i **tabel 46**) matcher den målinstrumentreference, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren

Derudover skal der tildeles prøvenavnemærker til brøndene på pladen.

I **Setup** (Opsætning) > åbn **Plate Setup** (Pladeopsætning)

I fanen **Define Targets and Samples** (Definer mål og prøver) >

Define Samples (Definer prøver)

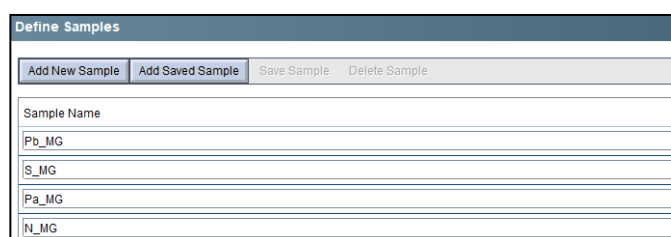
Rediger **prøvenavnet**, så det svarer til det navnemærke, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren (**afsnit 23.3**).

Prøverne skal mærkes med navnemærket som præfiks. Der findes standardnavnemærker til kontrolreaktionerne (som vist i **Tabel 47** og **figur 14**). Yderligere navnemærker kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwaren.

Bemærk: Prøvenavnemærker er følsomme over for store og små bogstaver. Navnene skal svare nøjagtigt til dem, der er tildelt i run-filen.

Tabel 47. Prøvenavnemærker til analysesoftware	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Almindelig prøve	Ingen standard – brugerdefineret
Negativ kontrol	NC
Ingen skabelonkontrol	NTC
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-mutationstype) (Pa)	Pa
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-vildtype) (Pb)	Pb

Figur 14. Sample Editor (prøveeditor) – Tildeling af navnemærker til brønde



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

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

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

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

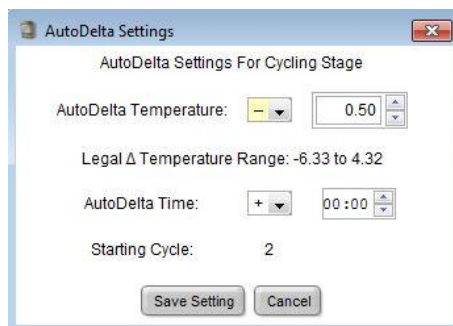
Indstil **Reaktionsvolumen pr. brønd** > 20 µL

Opret følgende program (vist mere detaljeret i Graphical View (grafisk visning) (**Figur 15** og **Figur 16**) og tabelvisning **Figur 17**):

Tabel 48. Thermocycling Program (program for termocykling)				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp (rampe)*
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	100 %
Touch down cycling (sænkning af cykling): Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus ^δ	10	95°C	5 s (sek.)	100 %
		61°C – 56,5°C ^δ	30 s	100 %
Quantification cycling (kvantifikationscykling)*: Acquisition/Detection (opsamling/påvisning)	40	95°C	5 s (sek.)	100 %
		52°C*	40 s	100 %

- ≠ Standard rampefrekvens
- ⚠ Aktiver AutoDelta: -0,5°C/cyklus
- + Collect data on hold (indsaml tilbageholdte data)

Figur 15. Run Method (kørselsmetode) – Graphical View (grafisk visning)

Figur 16. Run method (kørselsmetode) – Graphical view (grafisk visning) – Enable AutoDelta (aktiver AutoDelta)


AutoDelta Settings

AutoDelta Settings For Cycling Stage

AutoDelta Temperature: 0.50

Legal Δ Temperature Range: -6.33 to 4.32

AutoDelta Time: 00:00

Starting Cycle: 2

Save Setting Cancel

Figur 17. Run method (kørselsmetode) – Tabular View (tabelvisning)

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

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

Vælg **Start Run** (start kørsel)

20.2 Fortolkning af resultater

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

Se **afsnit 23** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus**® MG (7500) analysesoftware anvendes.

21 Bilag 3: Applied Biosystems 7500 Fast Dx

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

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

21.1 Programmering af Applied Biosystems[®] 7500 Fast Dx

Vælg Create New Document (opret nyt dokument)

I **New Document Wizard** (guiden nyt dokument) vælges følgende (**Figur 18**):

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

Container (beholder) > 96-Well Clear

Template (skabelon) > Tomt dokument

Run mode (kørselstilstand) > Standard 7500

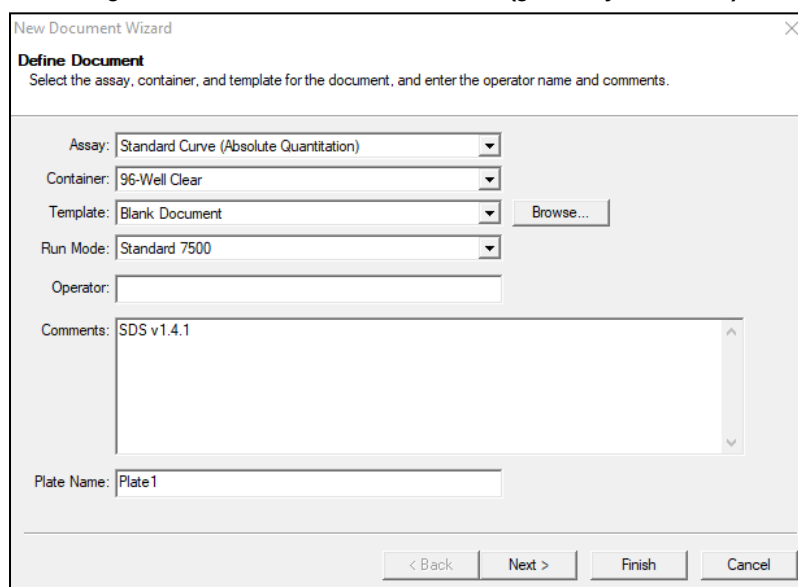
Operator (operatør) > Indtast operatørens navn

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

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

Vælg **Next** (næste)

Figur 18. Vinduet New Document Wizard (guiden nyt dokument)



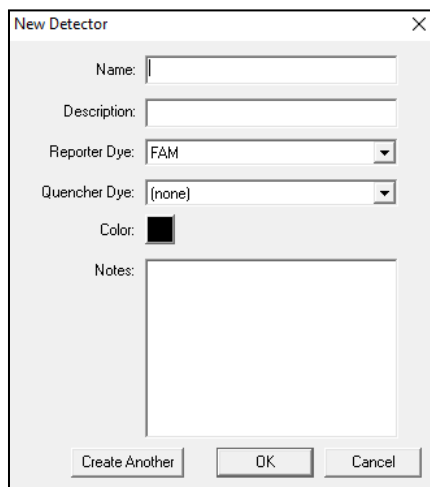
I **Select Detectors** (vælg detektorer) > vælg **New Detector** (ny detektor)

Definer detektorer som vist herunder (definer farver efter behov) (**Tabel 49** og **Figur 19**)

Tabel 49. Define detectors (definer detektorer)			
Detektorer	Detektornavn	Reporter dye	Quencher (dæmpning)
Detektor 1	MgPa	FAM	None (ingen)
Detektor 2	23S rRNA mutation	JOE	None (ingen)
Detektor 3	IC	TAMRA	None (ingen)

Vælg **OK**

Figur 19. Vinduet Ny detektor



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

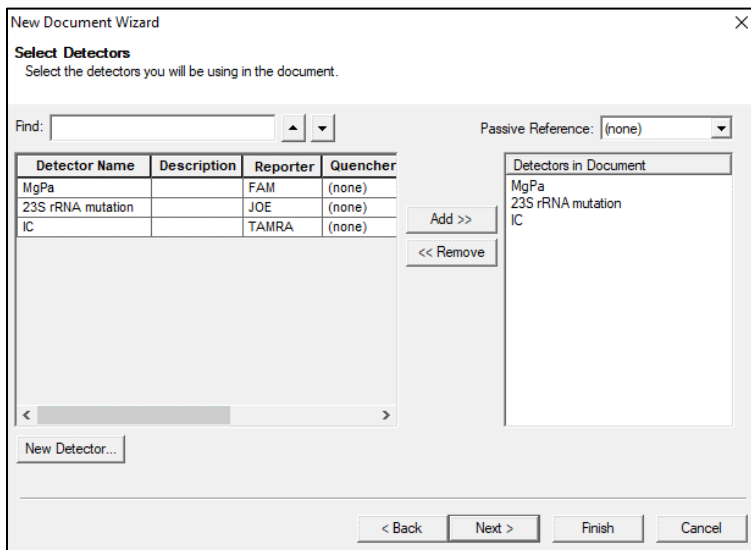
- Name: Text input field
- Description: Text input field
- Reporter Dye: Dropdown menu with 'FAM' selected
- Quencher Dye: Dropdown menu with '(none)' selected
- Color: Color selection button (black)
- Notes: Text area
- Buttons: 'Create Another', 'OK', and 'Cancel'

Vælg Detektorer (Figur 20)

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

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

Figur 20. Vinduet Select Detectors (vælg detektorer)



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

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

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

- Buttons: 'Add >>' and '<< Remove'
- Detectors in Document: List box containing 'MgPa', '23S rRNA mutation', and 'IC'
- Buttons: '<' and '>' for scrolling
- Buttons: 'New Detector...', '< Back', 'Next >', 'Finish', and 'Cancel'

I Set Up (opsæt) prøveplade >

Vælg brønde, og tildel 3 detektorer til de valgte brønde

- MgPa
- 23S rRNA mutation
- IC

Vælg **Next** (næste)

For at aktivere automatisk prøvedetektion i analysesoftwaren skal du sikre, at detektornavnet (vist i **tabel 49**) matcher den målinstrumentreference, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren.

Derudover skal der tildeles prøvenavnemærker til brøndene på pladen

I **Setup** (Opsætning) > åbn **Plate Setup** (Pladeopsætning)

Rediger **prøvenavnet**, så det svarer til det navnemærke, der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwaren (se **afsnit 23.3**)

Prøverne skal mærkes med navnemærket som præfiks. Der findes standardnavnemærker til kontrolreaktionerne (som vist i **Tabel 50**). Yderligere navnemærker kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwaren.

Bemærk: Prøvenavnemærker er følsomme over for store og små bogstaver. Navnene skal svare nøjagtigt til dem, der er tildelt i run-filen.

Tabel 50. Prøvenavnemærker til analysesoftware	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Almindelig prøve	Ingen standard – brugerdefineret
Negativ kontrol	NC
Ingen skabelonkontrol	NTC
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-mutationstype) (Pa)	Pa
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-vildtype) (Pb)	Pb

Vælg **Next** (næste)

I fanen **Instrument**

I boksen **Settings** (indstillinger)

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

Opret følgende termocyklerprotokol (**Tabel 51** og **Figur 21** og **Figur 22**)

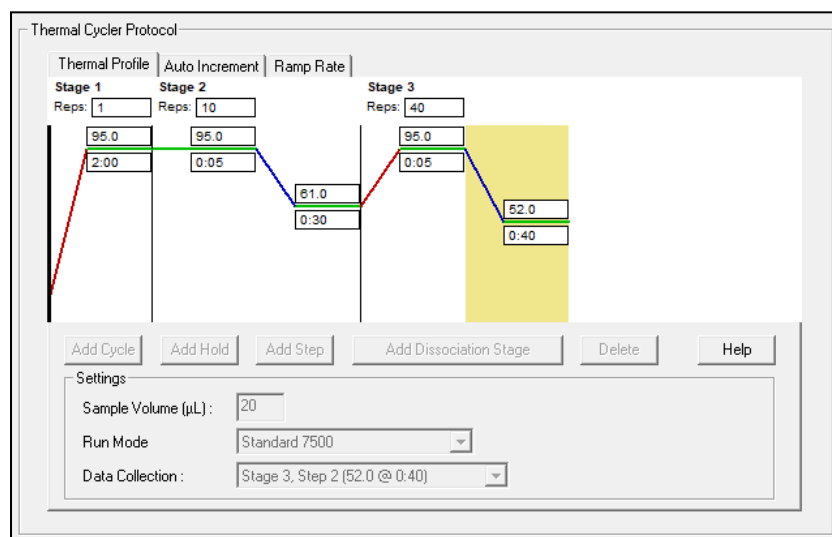
Tabel 51. Termocyklerprotokol				
Program Name (programnavn)	Cycles (cyklusser)	Target °C (Mål C)	Hold (ventetid)	Ramp [‡]
Polymerase activation (aktivering af polymerase)	1	95°C	2 min	100 %
Touch down cycling (sænkning af cykling): Step down (trinvis ned) -0,5°C/cyklus [§]	10	95°C	5 s (sek.)	100 %
		61°C – 56,5°C [§]	30 s	100 %
Kvantificeringscyklus ⁺ : Erhvervelse/registrering	40	95°C	5 s (sek.)	100 %
		52°C ⁺	40 s	100 %

[‡] Standard rampefrekvens

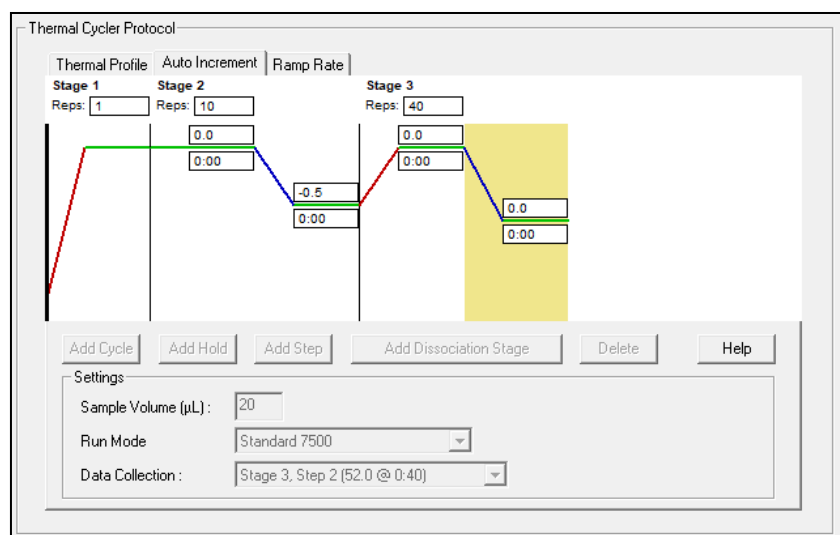
[§] Aktiver AutoDelta: -0,5°C/cyklus

⁺ Collect data on hold (indsaml tilbageholdte data)

Figur 21. Thermal cycler protocol (termocyklerprotokol) – Thermal profile (termisk profil)



Figur 22. Thermal cycler protocol (termocyklerprotokol) – Auto increment (automatisk forøgelse)



21.2 Fortolkning af resultater

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

Se **afsnit 23** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus®** MG (7500) analysesoftwaren anvendes.

22 Bilag 4: Bio-Rad CFX96™ Dx og CFX96 Touch™ Real-Time PCR System

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

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

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

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

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

I **Protokoleditor** (se Figur 23):

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

Opret følgende termocyklingsprogram, (Tabel 52) og gem det som '**SpeedX PCR**'. Denne protokol kan vælges til fremtidige kørsler.

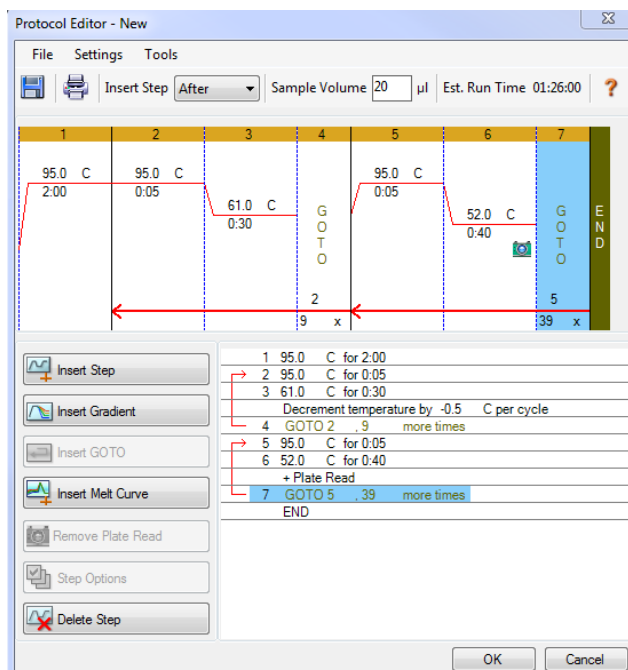
For Touch down-cykling skal man vælge trin 3 og vælge **Step options** (trinvalg) > Forøgelse: -0,5°C/cyklus (vist mere detaljeret i Figur 24).

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

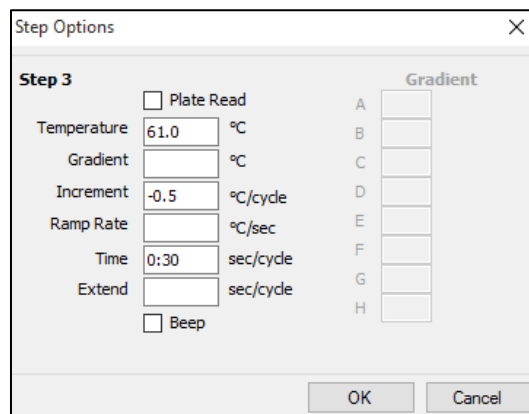
^δ Trinhandlinger > Forøgelse: -0,5°C/cyklus

⁺ Føj plade aflæsning til trin

Figur 23. Thermocycling Protocol – Graphical view (Protokol for termocykling – grafisk visning)



Figur 24. Step options (trinvalgmuligheder)



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

Vælg **Create New** (opret ny)

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

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

Vælg **Fluorophores** (fluoroforer) > FAM, HEX, Quasar 705 (se **Tabel 53**)

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

Gem pladen

Tabel 53. Kanaler til ResistancePlus® MG ₍₆₇₅₎ -mål		
MgPa	23S	IC
FAM	HEX	Quasar 705

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

Vælg en blok

Start Run (start kørsel)

For at aktivere automatisk prøvedetektion i analysesoftwarens skal du sikre dig, at målnavnet og kanalen (vist i **Tabel 53**) svarer til den målinstrumentreference der er defineret i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwarens

Derudover skal der tildeles prøvenavnemærker til brøndene på pladen:

Åbn modulet **Plate Setup** (pladeopsætning)

Vælg brønd

Rediger **prøvenavnet**, så det svarer til det navnemerke, der er defineret i modulet **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i analysesoftwarens (se **afsnit 23.3**)

Prøverne skal mærkes med navnemerket som præfiks. Der findes standardnavnemærker til kontrolreaktionerne (som vist i **Tabel 54** og **figur 25**). Yderligere navnemerker kan defineres for både almindelige prøver og kontroller i analysesoftwarens.

BEMÆRK: Prøvenavnemærker er følsomme over for store og små bogstaver. Navnemærkerne skal svare nøjagtigt til dem, der er tildelt i run-filen.

Tabel 54. Prøvenavnemærker til analysesoftware	
Prøvetype	Standardpræfiks (i analysesoftware)
Almindelig prøve	Ingen standard – brugerdefineret
Negativ kontrol	NC
Ingen skabelonkontrol	NTC
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-mutationstype) (Pa)	Pa
Positiv kontrol (MG, 23S rRNA-vildtype) (Pb)	Pb

Figur 25. Sample editor – Tildeling af navnemærker til brønde

	1	2
A	Neg	Unk
	MgPa	MgPa
	23S	23S
	IC	IC
B	NC	Sample 1
	NTC	Unk
	MgPa	MgPa
	23S	23S
C	IC	IC
	NTC	Sample 2
	Pos	Unk
	MgPa	MgPa
D	23S	23S
	IC	IC
	PA	Sample 3
	Pos	Unk
	MgPa	MgPa
	23S	23S
	IC	IC
	PB	Sample 4

22.2 Fortolkning af resultater

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

Se **afsnit 23** for instruktioner i, hvordan **ResistancePlus®** MG (CFX) analysesoftwaren anvendes.

23 Bilag A: Fortolkning af resultater

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

Se **tabel 55** for den relevante analysesoftware til hvert realtids-PCR-instrument. Analysesoftwaren kan leveres efter anmodning. Kontakt tech@speedx.com.au for at få flere oplysninger.

Tabel 55. ResistancePlus ® MG-analysesoftware		
Kat. nr.	Analysis software (analysesoftware)*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus ® MG (LC480)	LC480 II
99002	ResistancePlus ® MG (7500)	7500 Fast og 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus ® MG (CFX)	CFX96 Dx og CFX96 Touch

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

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

23.1 FastFinder-plattformen – Minimumskrav til IT

Analysesoftwaren er tilgængelig på FastFinder-plattformen (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Det anbefales, at kunderne tilgår softwareplatformen fra et sikkert og pålideligt netværk samt en sikker computer. Minimumskravene til IT for adgang til og brug af FastFinder-plattformen er angivet nedenfor.

Krav til hardware

Internetforbindelse: kabel eller DSL

Mindste skærmopløsning: 1366 × 768 pixels, optimalt 1920 × 1080 pixels eller højere

Understøttede browsere

- Microsoft Edge 88 eller nyere
- Firefox 83 eller nyere
- Google Chrome 88 eller nyere

Krav til firewall

Følgende værter skal kunne nås via HTTPS (port 443):

- *.ugentec.app
- *.fastfinder.app
- *.pendo.io
- *.fonts.gstatic.com
- *.googleapis.com
- *.msecd.net
- *.visualstudio.com
- *.browser-update.org
- *.blob.core.windows.net

- *.powerbi.com
- *.analysis.windows.net
- *.pbideldicated.windows.net
- *.content.powerapps.com

Hvis det er nødvendigt, skal der konfigureres firewall-undtagelser for disse værter. For at få adgang til alt indhold i brugervejledningerne i appen, skal værten *.player.vimeo.com også kunne nås.

For yderligere detaljerede instruktioner om platformen **FastFinder** henvises der til **FastFinder-brugsanvisningen**, som er tilgængelig fra menuen **Support**.

Sådan får du adgang til supportmenuen

- Vælg Support på listen over menupunkter i venstre side af panelet.
- Vælg **Download Instructions For Use here** (Download brugsanvisning her) i afsnittet **User Documentation** (Brugerdokumentation).

Support

FastFinder

Lab Management v1.12.4
Lab Engine v1.0.2
Analysis v4.12.6

[Release notes](#) 9 Nov 2023
[Release notes](#) 9 Nov 2023
[Release notes](#) 9 Nov 2023

Ugentec NV, Kempische Steenweg 303/105, 3500 Hasselt, Belgium

Get support

Need help with FastFinder?

[Visit our knowledge base here](#)

[Send an email to tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

[Visit our status page here](#)

User documentation

[Download Instructions For Use here](#)

[Get access to the Terms of Use and Data Privacy Agreement](#)

[Download licenses](#)

23.2 Assay plug-in (ny bruger)

Se **FastFinder-brugsanvisningen** for detaljerede instruktioner om opsætning af assays. Du finder den under menuen **Support**.

FastFinder kan tilgås direkte via en webbrowser ved at logge ind med dit unikke brugernavn og din adgangskode på:
<https://customer.fastfinder.app>.

- Vælg **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i menuen til venstre.
- Vælg **Add New Assay** (Tilføj nyt assay)
 - > For LC480 II > Vælg **ResistancePlus MG (LC480)** fra listen
 - > For 7500 Fast og 7500 Fast Dx > Vælg **ResistancePlus MG (7500)** fra listen
 - > For CFX96 Dx og CFX96 Touch > Vælg **ResistancePlus MG (CFX)** fra listen
- Vælg **Import Selected** (Importer valgte)

For at aktivere eller deaktivere versioner af assay-plug-in'et:

- > På fanen **General** (Generelt)
- > Naviger til Status
- > Vælg  **Active** for at aktivere eller deaktivere versionen af assayet

23.3 Navngivning af prøver

Prøvenavnemærker kan tildeles et assay-plugin-in for at automatisere detektering af brønde og prøvetyper til analyse.

Vælg **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) i menuen til venstre.

- På fanen **General** (Generelt) skal du navigere til tabellen **Sample types** (Prøvetyper) med navnemærker (præfiks) og vælge  for at tilføje et nyt navnemærke
 - > Tilføj det ønskede ord, akronym eller bogstav til tekstboksen
 - > Der er standardnavnemærker for kontrollerne. Disse kan fjernes ved at trykke på  ved siden af navnemærket
- I instrumentsoftwaren (før eller efter kørslen er afsluttet) skal du tildele det samme navnemærke til de relevante brønde
 - > For **LC480 II** se **afsnit 19** for instruktioner om programmering af prøvenavnemærker i run-filen
 - > For **7500 Fast** se **afsnit 20** for instruktioner om programmering af prøvenavnemærker i run-filen
 - > For **7500 Fast Dx** se **afsnit 21** for instruktioner om programmering af prøvenavnemærker i run-filen
 - > For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** se **afsnit 22** for instruktioner om programmering af prøvenavnemærker i run-filen

BEMÆRK: Prøvenavnemærker er følsomme over for store og små bogstaver. Navnemærkerne skal svare nøjagtigt til dem, der er tildelt i run-filen.

23.4 Analyse

Vælg **Analyses** (Analyser) i menuen til venstre for at starte en ny analyse.

Vælg **+ Create New Analysis** (Opret ny analyse) øverst til højre på skærmen.

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

- Vælg run (data)-filen fra den relevante mappe.
 - > Vælg **Open** (Åbn)

Analysen vises i fanen **Open** (Åbn) som en ny række i tabellen.

- Hvis alle navnemærker er blevet anvendt og læst korrekt, vises status som **Ready for review** (Klar til gennemgang).
- Hvis assayoplysningerne skal tildeles manuelt til brøndene, vises status som **Manual PCR setup required** (Manuel PCR-opsætning påkrævet).

Tildel assayoplysningerne til pladen manuelt, hvis prøvenavnet ikke er blevet konfigureret i menuen **Lab Configuration > Assays**, (Laboratoriekonfiguration > Assays), eller hvis prøvenavne/mål ikke er blevet anvendt i instrumentsoftwaren.

Vælg run-filen fra fanen **Open** (Åbn) under menuen **Analyses** (Analyser)

Pladekonfigurationen vises under fanen **PCR setup** (PCR-opsætning) for den åbne analyse.

- For **LC480 II** > Vælg **ResistancePlus MG (LC480)**



- For **7500 Fast** og **7500 Fast Dx** > Vælg **ResistancePlus MG (7500)**



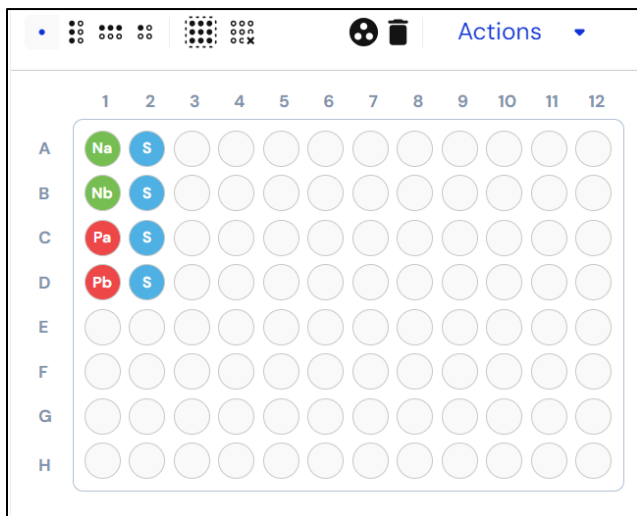
- For **CFX96 Dx** og **CFX96 Touch** > Vælg **ResistancePlus MG (CFX)**



- Vælg brønde, og tildel som:
 - > Almindelig prøve (S)
 - > Negativ kontrol (Na)
 - > Ingen skabelonkontrol (Nb)
 - > Positiv kontrol (MG 23S rRNA-mutation) (Pa)
 - > Positiv kontrol (MG 23S rRNA-vildtype) (Pb)

For at tildele brønde på pladen skal du enten:

- Klikke og trække de farvede symboler for at placere dem på pladen
- Vælge en eller flere brønde (brug Ctrl- og Shift-tasterne) og derefter klikke på de relevante farvede symboler for at tildele dem til markeringen.



- Vælg **Analyze (Analysér)**

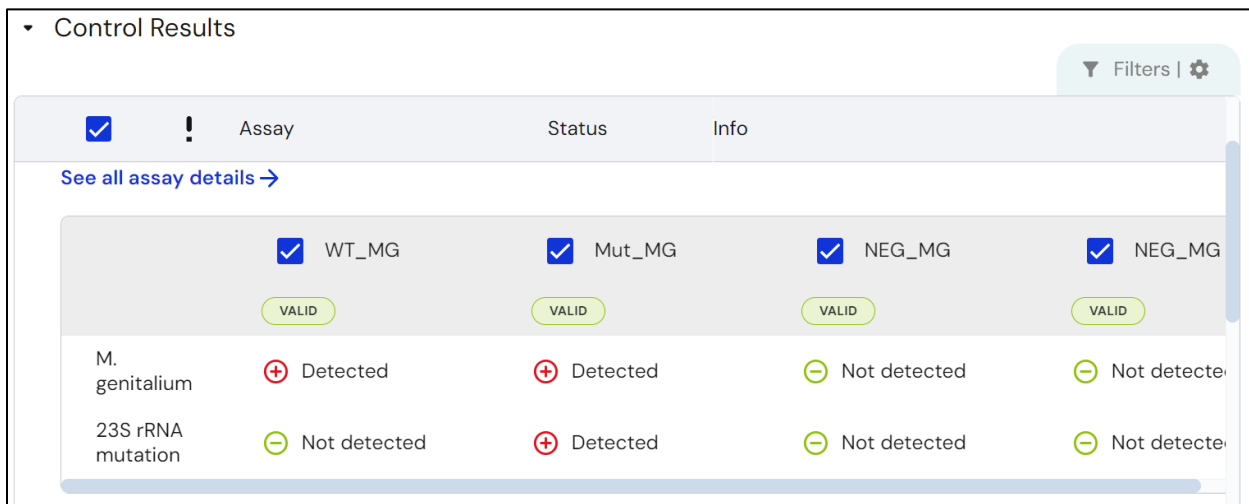
23.5 Resultater

Se **tabel 57** for en oversigt over mulige rapporterede prøveresultater.

BEMÆRK: Det anbefales på det kraftigste, at amplifikationskurver bekræftes for alle positive prøver.

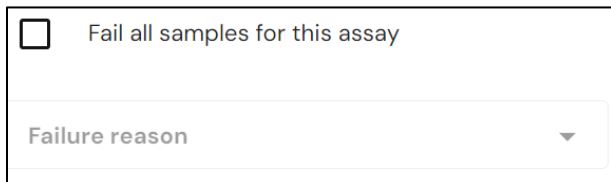
23.5.1 Fanen Summary (Oversigt)

Kontrolresultater for hvert assay vises øverst til venstre på fanen Summary (Oversigt), hvilket gør det muligt at evaluere kontrolvaliditeten for kørslen. Flere detaljer kan findes ved at udvide denne blok og vise detaljerne pr. kontrol.



Assay	Status	Info
WT_MG	VALID	
Mut_MG	VALID	
NEG_MG	VALID	
NEG_MG	VALID	
M. genitalium	Detected	
23S rRNA mutation	Not detected	

Hvis en kontrol er ugyldig, kan alle prøver markeres som mislykkede ved at vælge **Fail all samples for this assay** (Fejl i alle prøver for dette assay)



Der skal vælges en fejlårsag fra rullemenuen.

Prøveresultater vises nederst til venstre på fanen Summary (Oversigt). Ved siden af overskriften kan yderligere ikoner give en detaljeret oversigt over analyseresultaterne samt angive det samlede antal prøver, der svarer til et bestemt ikon.

!	•	Containing an error notification
⚠	•	Containing a warning notification
🔄	•	Marked for retest
+	•	Containing at least one detected assay result
-	•	Containing at least one not detected assay result
!	•	Containing at least one invalid assay result
?	•	Containing at least one inconclusive assay result

Hver prøve vises som en række i tabellen med prøveresultater.

▼ Sample Results ⚠ 1 + 4 - 1 × 1					Filters ⚙
☐	!	Sample	Assay	Result	
▶ ☐	⚠	Sample_MG	ResistancePlus MG (CFX)	Invalid: M. genitalium, 23S rRNA mutation	
▶ ☐		Sample_MG	ResistancePlus MG (CFX)	Detected: M. genitalium	
▶ ☐		Sample_MG	ResistancePlus MG (CFX)	Detected: M. genitalium, 23S rRNA mutation	
▶ ☐		Sample_MG	ResistancePlus MG (CFX)	Detected: M. genitalium, 23S rRNA mutation	
▶ ☐		Sample_MG	ResistancePlus MG (CFX)	Not detected	

Rullemenuen giver flere detaljer om hvert målrresultat og Cq pr. prøve (se eksemplerne i **afsnit 23.10**).

Individuelle prøver kan markeres som mislykkede, hvis det ønskes (f.eks. hvis prøven er ugyldig), ved at vælge **"Fail this sample for this assay"** (Fejl i denne prøve for dette assay).

☐ Fail this sample for this assay

Failure reason ▼

Der skal vælges en fejlårsag fra rullemenuen.

Fluorescensgrafer kan ses øverst til højre på fanen Summary (Oversigt).

Et pladelayout kan ses nederst til højre på fanen Summary (Oversigt).

Eksempler på oplysninger og meddelelser er opsummeret nedenfor i **Tabel 56**

Tabel 56. Eksempler på oplysninger og advarselsmeddelelser for ResistancePlus® MG analyse-softwaren*		
Prøvetype	Fejl	Meddelelser
Meddelelser om assaymål		
Almindelig prøve	Ugyldig – IC-fejl	Advarsel: IC ugyldig. Ekstraher prøven igen, og test den igen.
	Gyldig, men kontrollen er ugyldig – Advarsel om ugyldig kontrol på almindelig prøve med gyldigt resultat	Advarsel: Ugyldig kontrol til stede. Ekstraher prøven igen, og test den igen.
Negativ kontrol	Ugyldig - Kontaminering	Advarsel: Mulig kontaminering opdaget.
Ingen skabelonkontrol		
Meddelelser om genmål		
Almindelig prøve	Mål-Cq uden for cut-off	Info: Cq uden for cut-off
Positiv kontrol	Ugyldig – Mål ikke fundet	Advarsel: Den forventede reaktion fandt ikke sted i kontrollen.
Negativ kontrol	Ugyldig – Kontaminering	Advarsel: Mulig kontaminering
	Ugyldig – IC ikke detekteret	Advarsel: IC ikke detekteret
	Ugyldig – IC Cq uden for cut-off	Advarsel: Cq uden for cut-off
Ingen skabelonkontrol	Ugyldig – Kontaminering	Advarsel: Mulig kontaminering
Regelmæssig prøve eller kontrol	Usikkert fluorescenssignal	Advarsel: Usikkert fluorescenssignal. Gennemgang påkrævet.
	Cq detekteret med lav fluorescens	dRn slutfluorescens under cut-off

* De eksempler, der er anført her, gælder muligvis ikke for alle assay-plug-ins. Se FastFinder-brugsanvisningen for alle mulige meddelelser. Du finder den under menuen Support.

23.5.2 Fanen Details (Detaljer)

Alle mål vises for hver prøve som separate rækker i tabellen i venstre side. Hvis du vælger en eller flere rækker, vises de tilsvarende fluorescenskurver på grafen øverst til højre, og brøndene i pladelayoutet nederst til højre fremhæves også.

Vælg **Filters** (Filtre) for at få vist resultater i henhold til parametre som assaynavn, prøvetype, mål og resultat.

For at afslutte analysen og forhindre yderligere brugerredigeringer:

- > Vælg **Authorize** (Godkend)
- > Vælg **Authorize** (Godkend) igen for at bekræfte
- For at tildele en anden gennemgang:
 - > Vælg **Actions** (Handler), **Assign label** (Tildel etiket) og **Second Review** (Anden gennemgang)
- For at tildele analysen til en anden bruger:
 - > Vælg **Actions** (Handler) og **Assign User** (Tildel bruger)
 - > Vælg den relevante bruger fra rullelisten
- For at afvise analysen
 - > Vælg **Actions** (Handler) og **Discard Analysis** (Kassér analyse)
 - > Tilføj en kommentar, og vælg **Discard** (Kassér) for at bekræfte

23.6 Referencekurve

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

- Vælg den pågældende prøve, enten under fanen **Summary** (Oversigt) eller under fanen **Details** (Detaljer).

- Fra menuen Amplification Graph (Amplifikationsgraf) > Vælg 
 - > Vælg afkrydsningsfeltet for den pågældende kurve, og vælg **Mark as reference** (Markér som reference).

Denne referencekurve vises nu knyttet til analysen i menuen **Lab Configuration > Assays** (Laboratoriekonfiguration > Assays) under fanen **PCR** og kan til enhver tid inaktiveres.

23.7 Eksport af resultater

- For at eksportere resultater fra en individuel godkendt kørsel som enten en CSV- eller PDF-fil:
 - > Vælg **Actions** (Handlinger) > **Downloads** i øverste højre hjørne
 - > Vælg en af følgende rapporttyper: **Analysis (CSV)** (Analyse (CSV)) eller **Analysis (PDF)** (Analyse (PDF))
- For at eksportere resultater fra flere tidligere godkendte kørsler som en enkelt CSV-fil:
 - > Gå til menuen **Archive** (Arkiv) > **Sample Results** (Prøveresultater)
 - > Brug filtrene øverst på siden til at vise de resultater, du er interesseret i (CSV-filen er begrænset til maksimalt 10.000 resultater)
 - > Vælg **Export CSV** (Eksporter CSV) i øverste højre hjørne

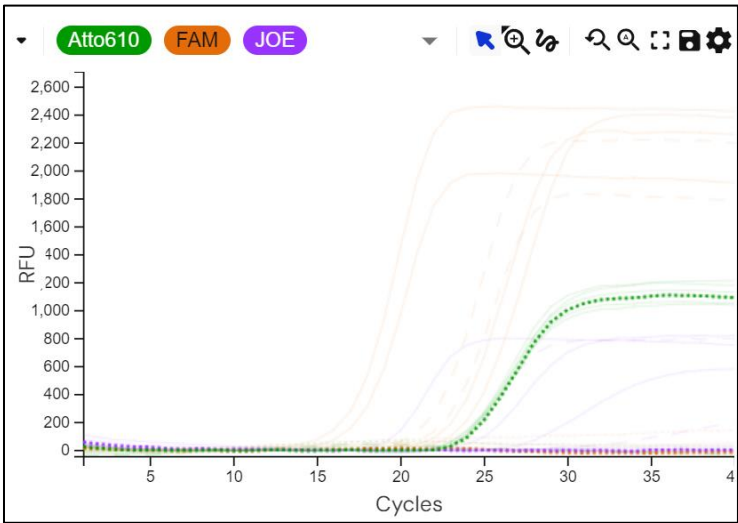
23.8 Hentning af godkendte analyser

- Alle godkendte almindelige analyser er tilgængelige ved at vælge **Archive** (Arkiv) > **Analysis Results** (Analyseresultater). Vælg en række for at vende tilbage til resultatoversigten for den pågældende analyse.
- Alle godkendte regelmæssige prøver gemmes i menuen **Archive** (Arkiv) > **Sample Results** (Prøveresultater). Hvis du vælger en prøve, vises yderligere oplysninger, herunder analysenavnet og resultatoplysningerne.
- De enkelte målresultater for alle godkendte almindelige prøver og kontroller gemmes i menuen **Archive** (Arkiv) > **Target Results** (Målresultater). Hvis du vælger et mål, fremhæves det på fluorescensgrafene. Hvis du vælger analysenavnet, vender du tilbage til resultatoversigten for den pågældende analyse.

23.9 Eksempler på kontrolgrafer

De følgende eksempler viser amplifikationskurverne (baseline-korrigerede amplifikationskurver) og resultatoversigten fra **ResistancePlus MG (LC480)**-analysesoftwaren for kontrolprøvetyper.

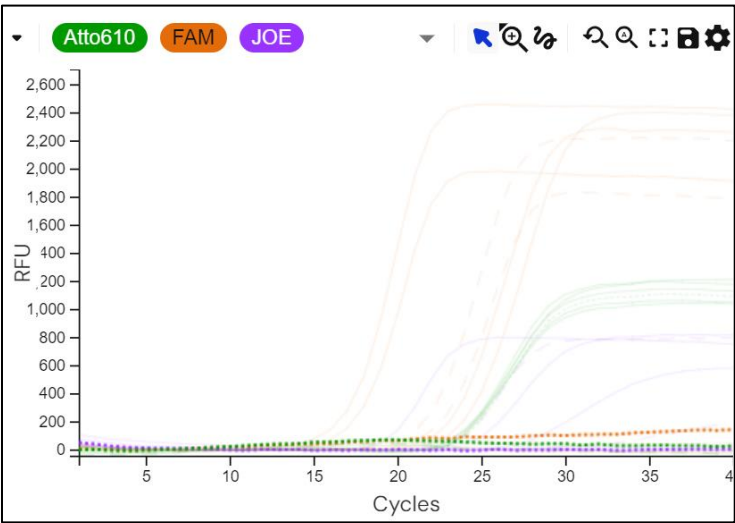
23.9.1 *M. genitalium* negativ kontrol (Na) (negativ prøve)



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prøve	Assay	Resultat
Na	ResistancePlus MG (LC480)	Gyldig
M. genitalium ⊖ Not detected 23S rRNA mutation ⊖ Not detected		

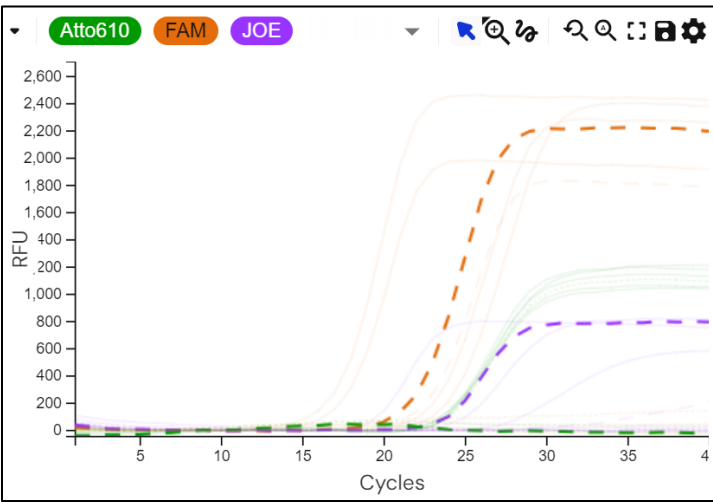
23.9.2 Ingen skabelonkontrol (Nb)



IC MgPa 23S rRNA-mutation

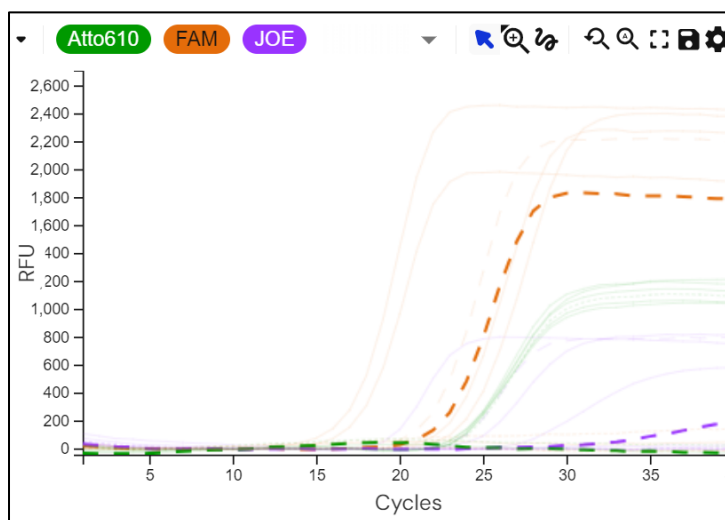
Prøve	Assay	Resultat
Nb	ResistancePlus MG (LC480)	Gyldig
M. genitalium ⊖ Not detected 23S rRNA mutation ⊖ Not detected		

23.9.3 M. genitalium, 23S rRNA-mutationskontrol (Pa)



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prøve	Assay	Resultat
Pa	ResistancePlus MG (LC480)	Gyldig
M. genitalium  Detected 23S rRNA mutation  Detected		

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


IC MgPa 23S rRNA mutation

Prøve	Assay	Resultat
Pb	ResistancePlus MG (LC480)	Gyldig
M. genitalium  Detected 23S rRNA mutation  Not detected		

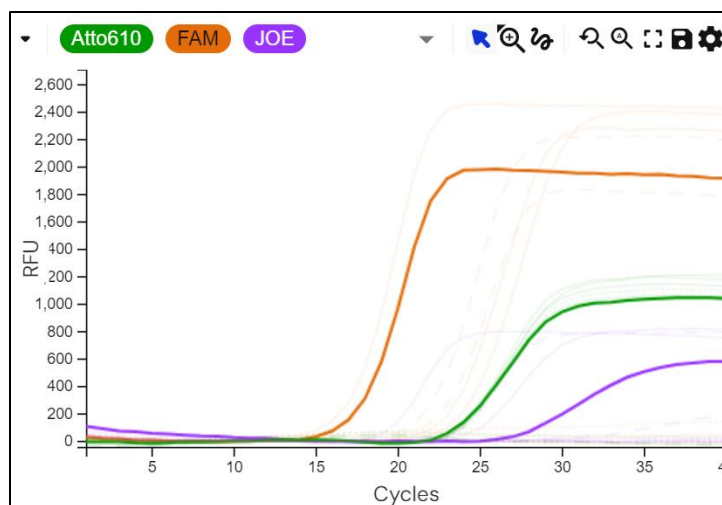
23.10 Eksempler

Eksempler på resultater for **ResistancePlus**® MG-analysesoftwaren er vist i **tabel 57**.

Tabel 57. Eksempler på resultater til fortolkning af ResistancePlus® MG-analysesoftware			
	Prøve	Assay	Resultat
	Prøve 101	ResistancePlus MG (LC480)	Ikke detekteret
	Prøve 102	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium
	Prøve 103	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium, 23S rRNA-mutation
1	Prøve 104	ResistancePlus MG (LC480)	Ugyldig: M. genitalium, 23S rRNA-mutation

1 En prøve, der fortolkes som ugyldig, vil blive markeret med  Advarsel: IC ugyldig. Ekstraher prøven igen, og test den igen.

23.10.1 Eksempel 1. *M. genitalium* med høj kopi, 23S rRNA-vildtypeprøve



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prøve	Assay	Resultat
Prøve 105	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium

Assay results

M. genitalium  Detected

23S rRNA mut...  Not detected

MgPa

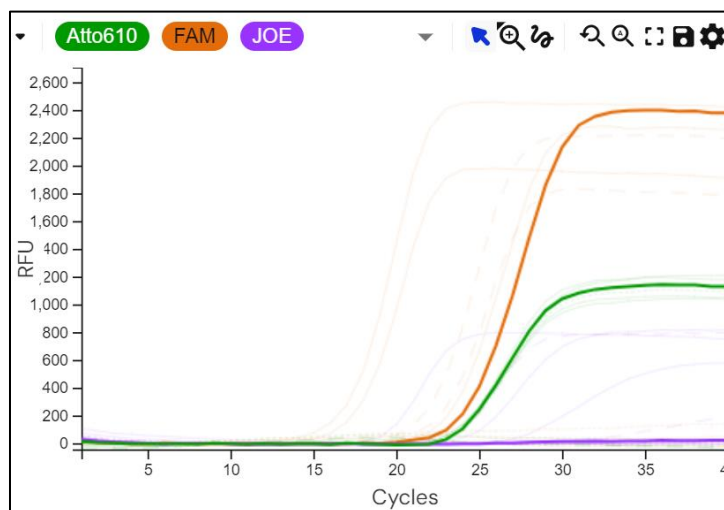
↳ A2  Detected 17.451

23S rRNA mutation

↳ A2  Detected 27.229

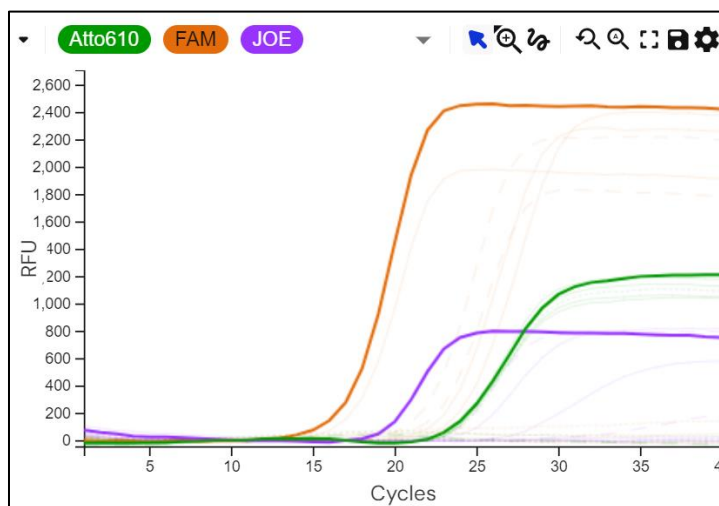
IC

↳ A2  Detected 23.307

23.10.2 Eksempel 2. *M. genitalium* med lav kopi, 23S rRNA vildtypeprøve

IC MgPa 23S rRNA-mutation

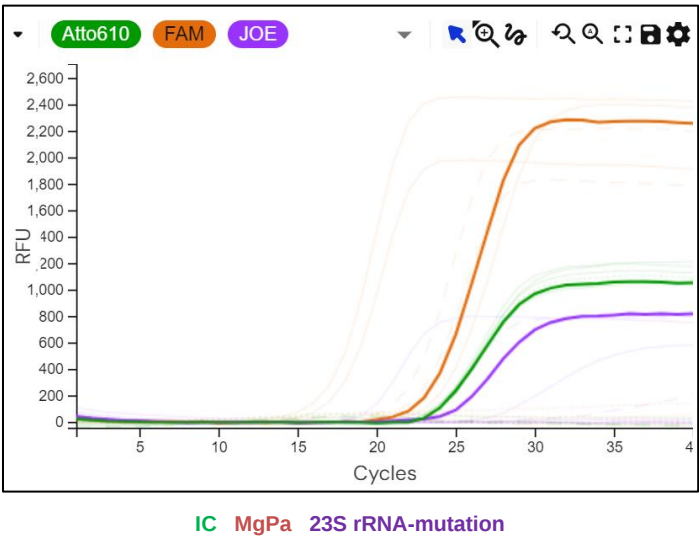
Prøve	Assay	Resultat
Prøve 106	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium
Assay results M. genitalium ⊕ Detected 23S rRNA mut... ⊖ Not detected MgPa ↳ F2 ● Detected 24.094 23S rRNA mutation ↳ F2 ● Not detected IC ↳ F2 ● Detected 23.587		

23.10.3 Eksempel 3. *M. genitalium* med høj kopi, 23S rRNA-mutationsprøve

IC MgPa 23S rRNA-mutation

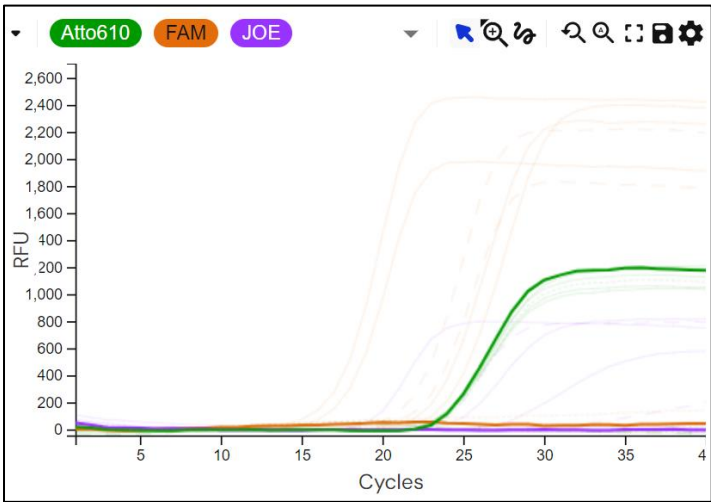
Prøve	Assay	Resultat
Prøve 107	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium, 23S rRNA-mutation
Assay results M. genitalium ⊕ Detected 23S rRNA mut... ⊕ Detected MgPa ↳ D2 • Detected 16.767 23S rRNA mutation ↳ D2 • Detected 19.125 IC ↳ D2 • Detected 23.421		

23.10.4 Eksempel 4. *M. genitalium* med lav kopi, 23S rRNA-mutationsprøve



Prøve	Assay	Resultat
Prøve 108	ResistancePlus MG (LC480)	Detekteret: M. genitalium, 23S rRNA-mutation
Assay results M. genitalium ⊕ Detected 23S rRNA mut... ⊕ Detected MgPa ↳ C2 • Detected 23.191 23S rRNA mutation ↳ C2 • Detected 24.539 IC ↳ C2 • Detected 23.528		

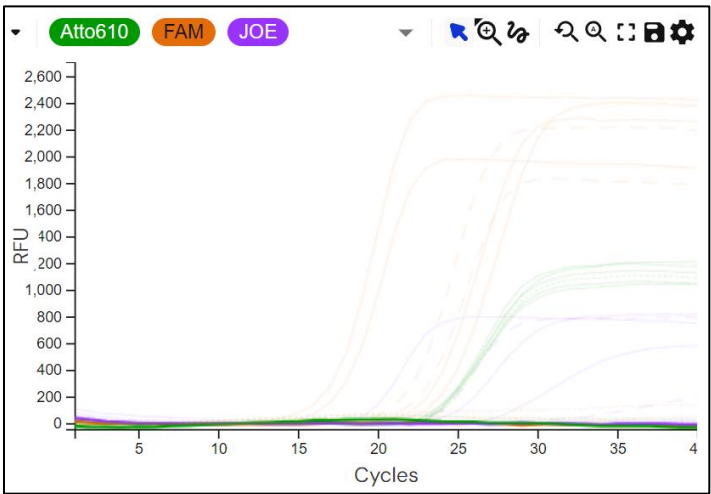
23.10.5 Eksempel 5. Negativ prøve



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prøve	Assay	Resultat
Prøve 109	ResistancePlus MG (LC480)	Ikke detekteret
Assay results M. genitalium ⊖ Not detected 23S rRNA mut... ⊖ Not detected		MgPa
		↳ E2 ● Not detected ▾
		23S rRNA mutation
		↳ E2 ● Not detected ▾
		IC
		↳ E2 ● Detected ▾ 23.583

23.10.6 Eksempel 6. Ugyldig prøve



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prøve	Assay	Resultat
Prøve 110	ResistancePlus MG (LC480)	Ugyldig: M. genitalium, 23S rRNA-mutation

Assay results

M. genitalium	 Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.
23S rRNA mut...	 Invalid	Warning: IC invalid. Re-extract and re-test sample.

MgPa

↳ B2 ● Not detected ▼

23S rRNA mutation

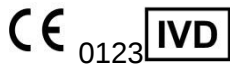
↳ B2 ● Not detected ▼

IC

↳ B2 ● Not detected ▼

I dette eksempel er IC'en ikke blevet forstærket og er derfor ikke blevet detekteret. Ved ugyldige IC-prøver skal prøven ekstraheres igen, hvorefter testen skal gentages.

24 Ordliste



Europæisk konformitet
Til *in vitro*-diagnostisk brug



Katalognummer



Batchkode



Fabrikantens bemyndigede
Repræsentant i Det
Europæiske Fællesskab



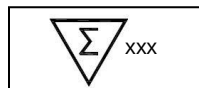
Fabrikant



Fremstillingsdato



Temperaturbegrænsning



Indeholder tilstrækkeligt
xxx bestemmelser



Anvendes inden



Europæisk importør



Storbritanniens
overensstemmelsesmærke

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

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

© Copyright 2025 SpeedX Pty. Ltd.