



ResistancePlus® MG

Multiplex realtids-PCR för identifiering av *Mycoplasma genitalium* och detektion av mutationer som förknippas med resistens mot azitromycin



Produkt	Plattform	Storlek (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

Tillbehör – analysprogramvara

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



MedEnvoy
Prinses Margrietplantsoen 33 – Svit 123
2595 AM Haag
Nederländerna



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

ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK

Får inte säljas i USA

Innehållsförteckning

1	Produktbeskrivning	5
2	Avsedd användning	5
3	Patogeninformation	5
4	Kittets innehåll	6
5	Transport och förvaring	7
6	Varningar och försiktighetsåtgärder	8
6.1	Allmänt	8
6.2	Laboratorium	8
6.3	Provhantering	8
6.4	Analys	8
6.5	Säkerhetsåtgärder	8
6.6	Analystilläggsprogram: varningar/försiktighetsåtgärder/begränsningar	8
7	Erforderligt material som ej medföljer	9
8	Teknikprincip	11
9	Procedursöversikt	13
10	Detaljerat förfarande	14
10.1	Provtagning, transport och förvaring	14
10.1.1	Validerade provtagningsprodukter	14
10.1.2	Provtagning, transport och förvaring av okonserverad urin	14
10.1.3	Provtagning, transport och förvaring med torra provtagningspinnar	14
10.1.4	Provtagning, transport och förvaring med Multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat.nr 9K12-01)	14
10.1.5	Provtagning, transport och förvaring med Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.nr 301040)	15
10.1.6	Provtagning, transport och förvaring med Aptima® Multitest swab specimen collection kit (Hologic, kat.nr PRD-03546)	15
10.1.7	Provtagning, transport och förvaring med DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced swab (deltalab, kat.nr 304278)	16
10.1.8	Provtagning, transport och förvaring med Vacumed® Urine without preservative (FL medical, kat.nr 44950)	16
10.1.9	Provtagning, transport och förvaring med Regular FLOQSwab™ in 1 mL of UTM™ media (Copan, kat.nr 359C)	16
10.1.10	Provtagning, transport och förvaring med cobas® PCR media (Roche, kat.nr 06466281190)	16
10.1.11	Validerade provextrakt	16
10.2	Provbearbetning	17
10.3	Intern kontroll (IC)	17
10.3.1	Intern kontroll på MagNA Pure 96	17
10.3.2	Intern kontroll på MICROLAB STARlet IVD	18
10.3.3	Intern kontroll på QIASymphony® SP	18
10.3.4	Intern kontroll på easyMAG®	18
10.4	Förberedelse av realtids-PCR	19
10.4.1	Beredning av masterblandning	20
10.4.2	Hållbarhet för masterblandning	20
11	Programmering och analys	21
12	Tolkning av resultat	21
13	Begränsningar	22
14	Kvalitetskontroll	22
15	Anvisningar för ResistancePlus® MG Positive Control	23

15.1	Bruksanvisning.....	23
16	Prestandaegenskaper	24
16.1	Klinisk prestanda.....	24
16.1.1	Klinisk studie 1	24
16.1.2	Klinisk studie 2	25
16.1.3	Klinisk studie 3	26
16.1.4	Klinisk studie 4	27
16.1.5	Klinisk studie 5	29
16.1.6	Klinisk studie 6	30
16.1.7	Klinisk studie 7	31
16.2	Analytisk prestanda.....	32
16.2.1	Reproducerbarhet och repeterbarhet.....	32
16.2.2	Analytisk sensitivitet	35
16.2.3	Analytisk specificitet	35
16.2.4	Potentiellt interfererande substanser	36
16.2.5	Korsreaktivitet med andra 23S rRNA-mutationer	38
17	Kundtjänst och teknisk service	38
18	Referenser	39
19	Bilaga 1: LightCycler® 480 Instrument II	40
19.1	Programmering av LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II).....	40
19.2	Colour Compensation (Färgkompensation) för LightCycler® 480 Instrument II.....	45
19.3	Tolkning av resultat	47
20	Bilaga 2: Applied Biosystems® 7500 Fast.....	48
20.1	Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast.....	48
20.2	Tolkning av resultat	51
21	Bilaga 3: Applied Biosystems 7500 Fast Dx	52
21.1	Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast Dx.....	52
21.2	Tolkning av resultat	55
22	Bilaga 4: Bio-Rad CFX96™ Dx och CFX96 Touch™ Real-Time PCR System	56
22.1	Programming the CFX96™ Dx och CFX96 Touch™ Real-time PCR System	56
22.2	Tolkning av resultat	58
23	Bilaga A: Tolkning av resultat.....	59
23.1	FastFinder-plattform – Minimikrav för IT	59
23.2	Analys-plugin (ny användare).....	60
23.3	Provnamn.....	61
23.4	Analys	61
23.5	Resultat.....	63
23.5.1	Fliken Sammanfattning	63
23.5.2	Fliken Details (Detaljer)	65
23.6	Referenskurva.....	66
23.7	Exportera resultat	66
23.8	Hämta auktoriserade analyser.....	66
23.9	Exempelkurvor för kontroller	66

23.9.1	Negativ kontroll (Na) <i>M. genitalium</i> (negativt prov).....	66
23.9.2	Kontroll utan mall (Nb).....	67
23.9.3	Kontroll (Pa) <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutant.....	68
23.9.4	Kontroll (Pb) <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtyp.....	69
23.10	Exempel.....	69
23.10.1	Exempel 1. Hög kopia <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtyp (prov).....	70
23.10.2	Exempel 2. Låg kopia <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtyp (prov)	70
23.10.3	Exempel 3. Hög kopia <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutant (prov).....	71
23.10.4	Exempel 4. Låg kopia <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-mutant (prov)	72
23.10.5	Exempel 5. Negativt prov.....	73
23.10.6	Exempel 6. Ogiltigt prov.....	74
24	Ordlista	75

1 Produktbeskrivning

Satsen **ResistancePlus**® MG detekterar samtidigt *M. genitalium* och fyra mutationer vid positionerna 2058 och 2059 i 23S rRNA-genen (*E. coli*-numrering) som är förknippade med resistens mot azitromycin (makrolidbaserat antibiotikum). Satsen **ResistancePlus**® MG är multiplex realtids-PCR med en brunn bestående av tre avläsningar. Avläsning 1 anger förekomsten eller frånvaron av *M. genitalium* genom detektion av MgPa-genen, avläsning 2 anger förekomsten av en A2058G-, A2059G-, A2058T- eller A2058C-mutation i 23S rRNA-genen och avläsning 3 är en intern kontroll för att övervaka extraktionseffektivitet och qPCR-hämning. Satsen **ResistancePlus**® MG använder **PlexZyme**® och **PlexPrime**® för specificitet och överlägsen multiplexkapacitet. Analysen är validerad på prover extraherade med användning av MagNA Pure 96 System (Roche), MICROLAB STARlet IVD (Hamilton), QIAasymphony® SP (QIAGEN), NUCLISENS® easyMAG® (Biomérieux) och realtidsdetektion på Roche LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II), samt realtids-PCR-detektionssystemen Applied Biosystems® 7500 Fast (7500 Fast), Applied Biosystems® 7500 Fast Dx (7500 Fast Dx), Bio-Rad CFX96™ Dx (CFX96 Dx) och CFX96 Touch™ (CFX96 Touch).

2 Avsedd användning

Satsen **ResistancePlus**® MG är ett kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt multiplex realtids-PCR-test för identifiering av *M. genitalium* och detektion av fyra mutationer i 23S rRNA-genen (A2058G, A2059G, A2058T och A2058C), *Escherichia coli*-numrering) som är förknippade med resistens mot azitromycin (makrolidantibiotikum). Den är avsedd för att hjälpa till med diagnosen av *M. genitalium*-infektion och detekterar mutationer förknippade med resistens mot azitromycin i *M. genitalium* och ska användas tillsammans med klinisk information och annan laboratorieinformation.

Satsen **ResistancePlus**® MG kan användas med följande provtyper: urin från man och kvinna samt vaginala prover från symtomatiska och asymtomatiska patienter.

Negativa resultat utesluter inte *M. genitalium*-infektioner och ger ingen bekräftelse på känslighet för azitromycin eftersom det kan förekomma andra mekanismer för behandlingssvikt.

Satsen **ResistancePlus**® MG är avsedd för att användas yrkesmässigt på sjukhus eller andra inrättningar såsom referenslaboratorier eller nationella laboratorier. Den är inte avsedd för självtestning, användning i hemmet eller patientnära användning.

3 Patogeninformation

M. genitalium är en liten bakterie som finns i människans urinvägar. *M. genitalium* har förknippats med ett flertal sexuellt överförbara infektioner (STI). Hos män är bakterien den andra vanligaste orsaken till icke-gonokockuretrit (NGU) och förknippas även med prostatit, epididymit och balanit, inflammation av glans penis och förhud¹. Hos kvinnor förknippas bakterien med cervicit, bäckeninflammationssjukdom (PID), inklusive endometrit (inflammation av endometrium) och salpingit (inflammation av äggledare)^{1,2,3}.

Azitromycin används vanligtvis för behandling av *M. genitalium* och för syndromhantering av STI, såsom NGU och cervicit. Azitromycin tillhör makrolidklassen av antibiotika och verkar genom att binda till 23S rRNA för att hämma proteinsyntes. Punktmutationer i 23S rRNA-genen av *M. genitalium*, A2058G, A2059G, A2058T, A2058C och A2059C (*E. coli*-numrering) har förknippats med behandlingssvikt och/eller *in vitro*-resistens mot azitromycin^{4,5}. De vanligaste mutationerna är A2058G och A2059G som utgör 89 % av makrolidresistensmutationer i en aktuell studie⁶.

4 Kittets innehåll

Tabell 1. Innehåll för *ResistancePlus*® MG-satser

Lockfärg	Innehåll	Beskrivning	Kat.nr 20001L-01 (100 reaktioner)	Kat.nr 2000125 (25 reaktioner)
Blått	Plex Mastermix, 2 x	Masterblandning innehållande komponenter nödvändiga för qPCR inklusive dNTP, MgCl ₂ , DNA-polymeras och buffert	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brunt	MG+23S Mix, 20 x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Vitt	Kontrollblandning 1, 20 x	Blandningen innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för LC480 II	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rött	Celler för intern kontroll [#]	Interna kontrollceller innehållande DNA-mall för intern kontroll för att övervaka extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasfritt vatten	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

Förvara mallrören separat från oligoblandningar, dvs. hanteringsrum för mall eller nukleinsyra

[^] Oligonukleotider är PCR-primerpar (inklusive **PlexPrime**®-primrar), **PlexZyme**®-enzymer och fluorescensprob

Tabell 2. Innehåll för *ResistancePlus*® MG₍₅₅₀₎-satser

Lockfärg	Innehåll	Beskrivning	Kat.nr 2000201 (100 reaktioner)	Kat.nr 2000225 (25 reaktioner)
Blått	Plex Mastermix, 2 x	Masterblandning innehållande komponenter nödvändiga för qPCR inklusive dNTP, MgCl ₂ , DNA-polymeras och buffert	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brunt	MG+23S Mix, 20 x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Vitt	Kontrollblandning 2, 20 x	Blandningen innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för 7500 Fast och 7500 Fast Dx	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rött	Celler för intern kontroll [#]	Interna kontrollceller innehållande DNA-mall för intern kontroll för att övervaka extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasfritt vatten	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

Förvara mallrören separat från oligoblandningar, d.v.s. hanteringsrum för mall eller nukleinsyra

[^] Oligonukleotider är PCR-primerpar (inklusive **PlexPrime**®-primrar), **PlexZyme**®-enzymer och fluorescensprob

Tabell 3. Innehåll för <i>ResistancePlus</i> [®] MG ₍₆₇₅₎ -satser				
Lockfärg	Innehåll	Beskrivning	Kat.nr 2000301 (100 reaktioner)	Kat.nr 2000325 (25 reaktioner)
Blått	Plex Mastermix, 2 x	Masterblandning innehållande komponenter nödvändiga för qPCR inklusive dNTP, MgCl ₂ , DNA-polymeras och buffert	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Brunt	MG+23S Mix, 20 x	Blandning innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av <i>M. genitalium</i> och 23S rRNA-mutationer	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Vitt	Kontrollblandning 3, 20 x	Blandningen innehållande oligonukleotider [^] för amplifiering och detektion av intern kontrollanalys för CFX96 Dx och CFX96 Touch	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rött	Celler för intern kontroll [#]	Interna kontrollceller innehållande DNA-mall för intern kontroll för att övervaka extraktions- och amplifieringseffektivitet	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Neutral	Nukleasfritt vatten	Vatten av PCR-kvalitet	1 x 1 mL	1 x 1 mL

[#] Förvara mallrören separat från oligoblandningar, d.v.s. hanteringsrum för mall eller nukleinsyra

[^] Oligonukleotider är PCR-primerpar (inklusive **PlexPrime**[®]-primrar), **PlexZyme**[®]-enzymer och fluorescensprob

5 Transport och förvaring

- Komponenterna i satserna **ResistancePlus**[®] MG levereras på torris eller isgelpack. Alla komponenter ska förvaras vid -25 °C till -15 °C vid mottagande. Det rekommenderas att frysnings-/tiningscyklar begränsas till 15.
- Satsens aktivitet bibehålls tills utgångsdatumet som anges på etiketten vid förvaring under rekommenderade förhållanden och korrekt hantering. Använd inte efter utgångsdatum.
- En allvarlig incident ska rapporteras till SpeedX genom att kontakta tech@speedx.com.au.

6 Varningar och försiktighetsåtgärder

6.1 Allmänt

- För *in vitro*-diagnostisk användning.
- Läs denna bruksanvisning noga före användning. Följ förfarandena noga som de beskrivs för att säkerställa testresultats tillförlitlighet. Eventuell avvikelse från dessa förfaranden kan påverka testprestanda.
- Användare ska få tillräcklig utbildning om användningen av analysen **ResistancePlus**® MG.
- En allvarlig incident ska rapporteras till tillverkaren och kompetent myndighet i medlemsstaten där användaren och/eller patienten är etablerad.

6.2 Laboratorium

- Det rekommenderas att utföra beredning/extraktion av prov, beredning av masterblandning, tillsättning av prov och termocyklning på rumsligt separerade ställen. PCR-instrumentet ska åtminstone idealiskt stå i ett separat rum från områden där reaktioner bereds.
- Det rekommenderas att följa rutinmässiga försiktighetsåtgärder i laboratoriet. Använd lämplig personlig skyddsutrustning, t.ex. skyddshandskar, skyddsglasögon och laboratorierock vid hantering av reagenser.
- Patogena organismer kan förekomma i kliniska prover. Behandla alla biologiska prover som potentiellt smittsamma och följ din institutions säkerhetsförfaranden för hantering av kemikalier och biologiska prover.
- Följ din institutions förfaranden för hantering av riskavfall för korrekt kassering av prover, reagenser och andra potentiellt kontaminerade material.

6.3 Provhantering

- Prover ska samlas in, transporteras och förvaras med användning av standardmässiga laborietechniker eller enligt anvisningar för provtagningssatsen.

6.4 Analys

- Grundläggande försiktighetsåtgärder för att förhindra kontaminering av PCR-reaktioner inkluderar användning av sterila filterpipettspetsar, användning av en ny pipettspets för varje pipettering och separation av arbetsflöde.
- PCR-tester har en benägenhet att kontamineras av tidigare PCR-produkter. Öppna aldrig reaktionskärl efter slutförande av PCR.
- Analysreagenser innehåller IDTE-buffert som kan orsaka allvarlig ögonirritation. Det rekommenderas att reagenser används i ett välventilerat område och använd lämplig personlig skyddsutrustning, t.ex. skyddshandskar, skyddsglasögon och laboratorierock vid hantering av reagenser.

6.5 Säkerhetsåtgärder

- Säkerhetsdatablad (SDS) finns tillgängliga på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

6.6 Analystillägsprogram: varningar/försiktighetsåtgärder/begränsningar

- SpeedX-programvara kan endast kontrollera analysen av rådata genererade från testsatsen vid användning med respektive PCR-instrument. Den kontrollerar inte beredning av prover, reaktioner, programmering av utrustning eller leverans av behandling.
- Användare ska ha tillräcklig utbildning om användning av analysprogramvaran **ResistancePlus**® MG och åtkomst ska begränsas till varje tilldelad enskild användare.
- Det rekommenderas att implementera åtkomst med användarautentisering och cybersäkerhetskontroller såsom antivirus-programvara eller användning av en brandvägg inom IT-systemet och infrastruktur som använder programvaran.
- Vid upptäckt av en cybersäkerhetsincident såsom obehörig åtkomst och ransomware-attacker, kontakta tech@speedx.com.au för vidare support.

7 Erforderligt material som ej medföljer

Positivt kontrollmaterial

- **ResistancePlus[®]** MG Positive Control -kit (SpeedX, kat.nr 95001)

Allmänna laboratorieartiklar

- Skyddshandskar och rena laboratorierockar
- Vortexblandare
- Bänkcentrifug för 0,5 mL- och 1,5 mL-rör
- Mikropipetter
- Sterila aerosol-resistenta pipettspetsar
- 0,5 mL- och 1,5 mL-rör (PCR-kvalitet)
- 2,0 mL-rör (för förspädning av interna kontrollceller)

För MagNA Pure 96 Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS))
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Roche, kat.nr 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Roche, kat.nr 06543588001)
- MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Large Volume Kit (Roche, kat.nr 06374891001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (extern) (Roche, kat.nr 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Roche, kat.nr 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000uL (Roche, kat.nr 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (Roche, kat.nr 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (Roche, kat.nr 06241638001)

För MICROLAB STARlet Instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS))
- STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit (384T) kit (Seegene, kat.nr 744300.4.UC384)
- 2,0 mL-behållare

För QIA Symphony[®] SP-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS))
- Sample Prep Cartridges, 8-well (Qiagen, kat.nr 997002)
- 8-Rod Covers (Qiagen, kat.nr 997004)
- Filter tips, 200 µL and 1500 µL (Qiagen, kat.nr 990332 and 997024)
- 2 mL tubes (Sarstedt, kat.nr 72.639 eller 72.694)
- 14 mL polystyrene tubes (Corning, kat.nr 352051)
- DSP Virus/Pathogen Mini Kit (QIAGEN, kat.nr. 937036)

För NucliSENS® easyMAG®-instrument

- 1x Phosphate Buffered Saline (PBS) (Fosfatbuffrad koksaltlösning (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)

För LightCycler® 480 Instrument II och cobas

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

För Applied Biosystems® 7500 Fast och 7500 Fast Dx

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

För Bio-Rad CFX96™ Dx och 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)

Enhet för provtagning

- Multi-Collect provtagningskit (Abbott, kat.nr 9K12-01)
- Aptima® urinprovtagningskit (Hologic, kat.nr 301040)
- Aptima® Multitest swab specimen collection kit (Hologic, kat.nr PRD-03546)
- DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flockad provtagningspinne (deltalab, kat.nr 304278)
- Vacumed® Urin utan konserveringsmedel (FL medical, kat.nr 44950)
- Standard FLOQSwab™ i 1 mL UTM™-medium (Copan, kat.nr 359C)
- cobas® PCR-medium (Roche, kat.nr 06466281190)

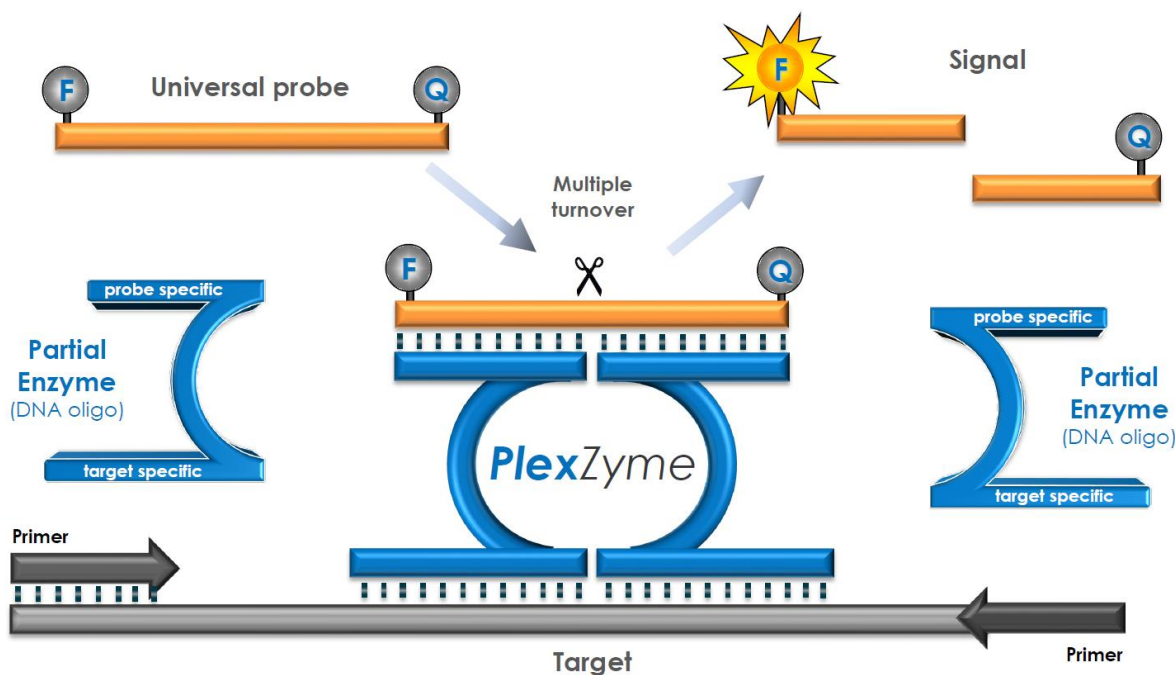
8 Teknikprincip

Realtids-PCR (qPCR) kan användas för att amplifiera och detektera specifika målnukleinsyror från patogener. **PlexPCR**[®] är en qPCR-teknik som använder **PlexZyme**[®]-enzymer som detekterar och rapporterar den amplifierade produkten genom generering av en fluorescenssignal (**Figur 1**). **PlexPrime**[®]-primrar för specifik amplifiering av mutantsekvenser som är kopplat till mutantspecifik **PlexZyme**[®]-detektion (**Figur 2**).

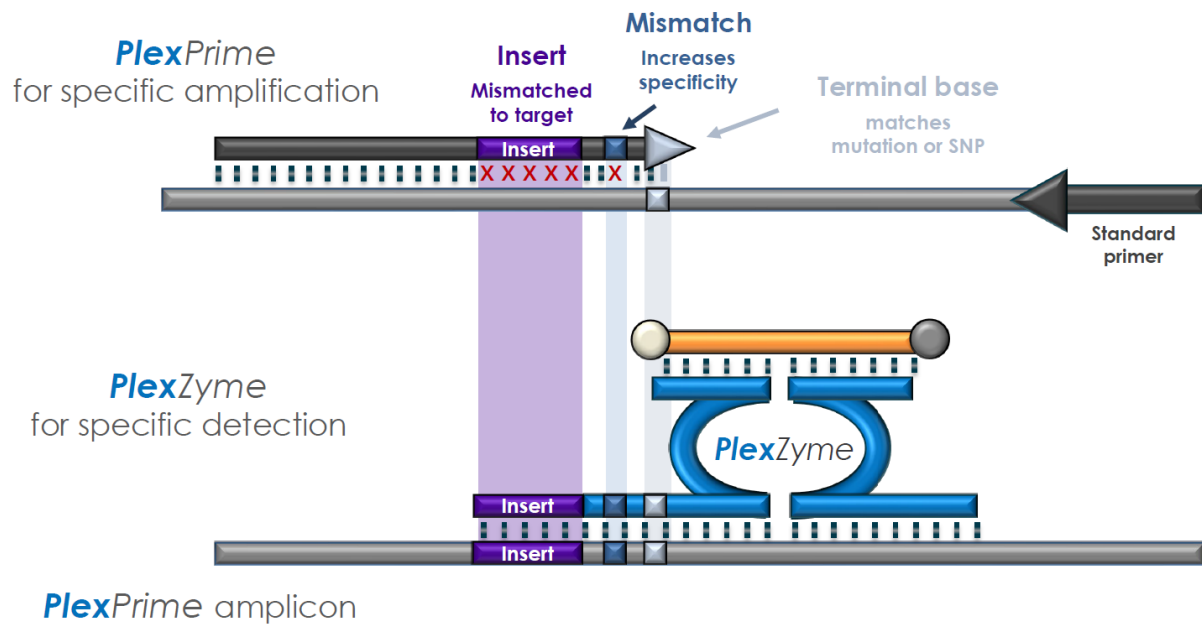
PlexZyme[®]-enzymer är katalytiska DNA-komplex som består av två DNA-oligonukleotider som benämns som "partiella enzymer". Varje partiellt enzym har en målspecifik region, en katalytisk kärna och en universell probbindande region. När målprodukten föreligger binder de två partiella enzymer till varandra för att bilda aktivt **PlexZyme**[®] som har katalytisk aktivitet för att klyva en märkt prob. Klyvning separerar fluorofor- och quencher-färgämnen vilket ger upphov till en fluorescenssignal som kan övervakas i realtid. **PlexZyme**[®]-enzymer har ytterligare specificitet jämfört med tekniker med alternerande detektion eftersom två partiella enzymer krävs för att binda för detektion. **PlexZyme**[®]-enzymer är även multipla omsättningsenzymer och multipla prober kan klyvas under varje PCR-cykel vilket resulterar i en stark och känslig signal. **PlexZyme**[®]-analyser är mycket känsliga och specifika och är idealiskt lämpliga för multiplexdetektion av patogener.

PlexPrime[®]-primer har tre funktionella regioner. Den långa 5'-regionen förankrar primern till ett särskilt ställe och den korta 3'-regionen målsöker förlängning från mutantbasen selektivt. En införingssekvens ligger mellan 5'- och 3'-regionen och fungerar som en bryggstruktur som för in en måloberoende sekvens i den resulterande amplikonen och ökar det selektiva trycket för 3'-regionen. I multiplex är varje **PlexPrime**[®]-primer utformad för att målsöka en specifik mutantbas och kommer att inkorporera en unik införingssekvens vilket producerar distinkta mutantamplikonsekvenser. Till skillnad från andra probbaserade detektionstekniker kan **PlexZyme**[®]-enzymet överlappas med **PlexPrime**[®]-primer för att målsöka den specifika mutantamplikonen innehållande mutantbasen och den inkorporerade införingssekvensen. Den unika kombinationen av **PlexPrime**[®]-primrar bundna till **PlexZyme**[®]-enzymer möjliggör den specifika amplifieringen av mutantsekvenser samt känslig och specifik detektion i multiplex.

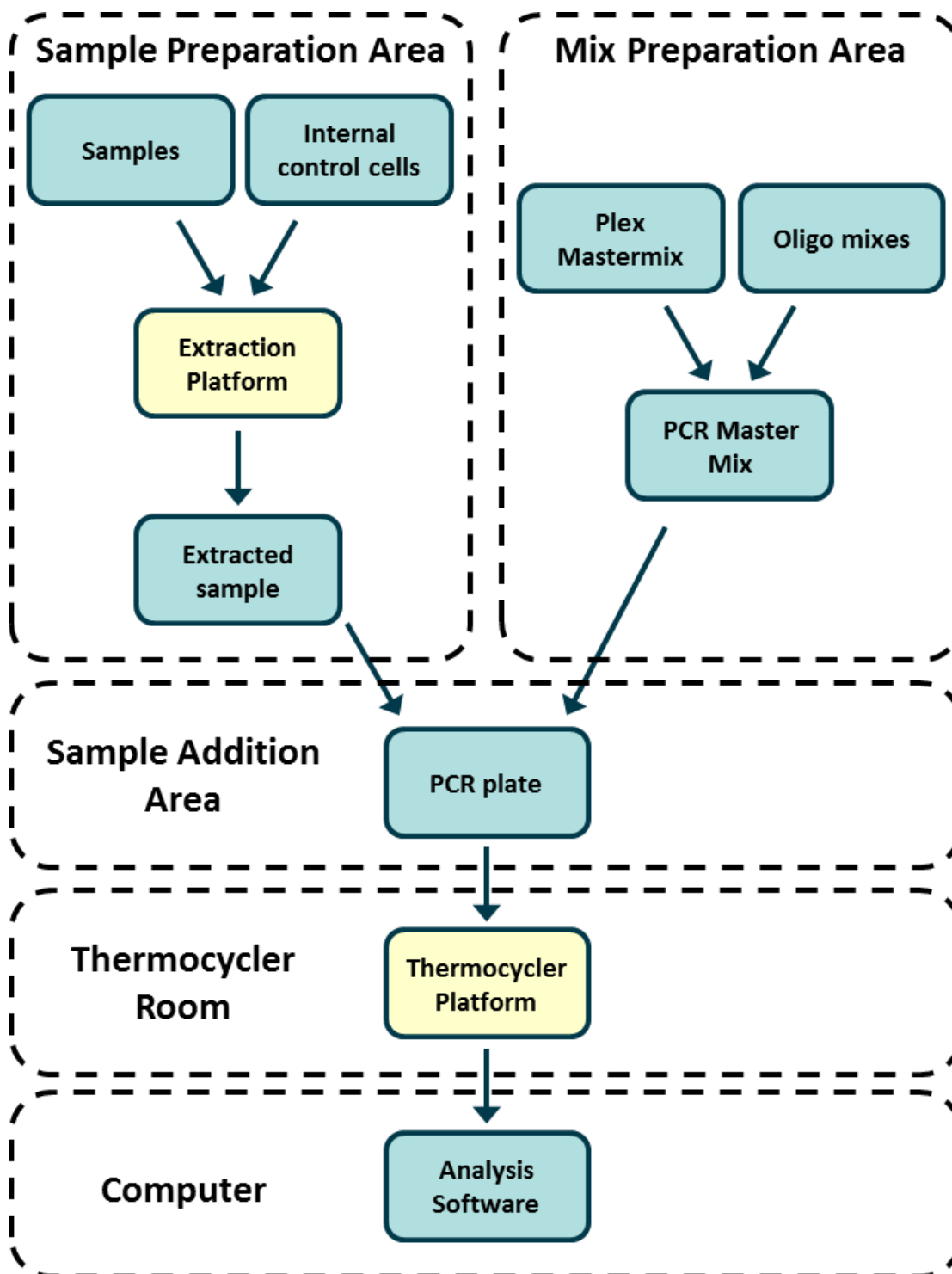
Figur 1. Schematisk representation av **PlexZyme[®]-detektion och universell signalering**



Figur 2. Schematisk representation av *PlexPrime*[®]-primer kopplad till *PlexZyme*[®]-detektion. *PlexPrime*[®]-primern amplifierar mutantsekvensen specifikt och *PlexZyme*[®]-enzymer detekterar amplikonen specifikt.



9 Procedursöversikt



10 Detaljerat förfarande

Obs! Tillhandahållna reagenser anges i kursiv stil och färgen på rörlocket anges därefter inom parentes.

10.1 Provtagning, transport och förvaring

Prover med urin från män, urin från kvinnor och vaginala prover från symtomatiska eller asymtomatiska patienter ska samlas in, transporteras och förvaras med användning av standardmässiga laboratorietekniker eller enligt anvisningar för provtagningssetsen.

10.1.1 Validerade provtagningsprodukter

Otillräcklig eller olämplig provtagning, förvaring och transport kan sannolikt ge falska testresultat. Lämplig utbildning om provtagning rekommenderas i hög grad för att säkerställa provkvalitet och provhållbarhet.

Provtagningsprodukter som har validerats med satsen **ResistancePlus[®]** MG anges nedan med kort vägledning avseende produkttillverkarens anvisningar för insamling, hantering och transport. Dessa anvisningar är inte avsedda att ersätta eller gälla i stället för eventuella anvisningar från tillverkaren. Referera alltid till anvisningar från provtagningsproduktens tillverkare för lämpliga provtagningsmetoder.

Utbildad personal ska säkerställa lämplig förståelse av produkten och metoden före användning av en provtagningsmetod. Testbeskrivningen ska åtminstone granskas i följande avseenden: indikation av provtyp, tillräcklig volym, förfaranden, nödvändiga provtagningsmaterial, patientförberedelse, lämplig hantering och förvaringsanvisningar.

10.1.2 Provtagning, transport och förvaring av okonserverad urin

1. Användning av en genomskinlig och steril urinprovskopp utan konserveringsmedel eller transportmedia rekommenderas för patientens egenprovtagning.
2. Patienten ska samla in 20–50 mL morgonurin och sätta eller skruva på locket ordentligt.
3. Det rekommenderas att använda dubbelpåsar för urinprov med absorberande dynor för transport. Förvaringstemperaturer för urinprover beror på den avsedda bearbetningstiden.

10.1.3 Provtagning, transport och förvaring med torra provtagningspinnar

Torra provtagningspinnar kan användas för vaginala prover tagna av kliniker eller patient. Se tillverkarens bipacksedel för lämpliga provtagningsmetoder på grund av variabiliteten.

10.1.4 Provtagning, transport och förvaring med Multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat.nr 9K12-01)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av urin och vaginala prover med multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, kat.nr 9K12-01)

10.1.4.1 Provtagning, transport och förvaring av urin

1. Patienten ska inte ha urinerat inom minst en timme före provtagning.
2. Kassera provtagningspinnen eftersom den inte krävs för insamling av urinprover.
3. Patienten ska samla in de första 20 till 30 ml av morgonurinen (den första delen av flödet) med hjälp av en provtagningskopp.
4. Skruva av transportrörets lock och se till att inte spilla ut transportbufferten i röret.
5. Hantera locket och röret noga för att undvika kontaminering.
6. Använd överföringspipetten av plast för att överföra urin från provtagningskoppen till transportröret tills vätskenivån i röret hamnar inom det genomskinliga fyllningsfönstret på transportrörets etikett, annars måste ett nytt prov samlas in. Överfyll inte. Lite mer än ett helt tryck på överföringspipettens boll kan krävas för att överföra den nödvändiga volymen av urinprovet.
7. Sätt tillbaka locket på transportröret ordentligt. Se till att locket försluts helt.
8. Märk transportröret med providentifieringsinformation, inklusive provtagningsdatum, med en vidhäftande etikett. Se till att inte dölja fyllningsfönstret på transportröret.
9. Efter provtagning ska transportröret transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 14 dagar. Om längre förvaring krävs ska det förvaras vid -10 °C eller kallare i upp till 90 dagar.

10.1.4.2 Provtagning, transport och förvaring av vaginalprover

1. Kassera överföringspipetten för engångsbruk eftersom den inte krävs för insamling av vaginalprover.
2. Ta ut den sterila provtagningspinnen från omslaget och se till att inte vidröra pinnens spets eller lägga den på någon yta.
3. För in provtagningspinnens vita spets cirka 5 cm in i vaginans öppning.
4. Vrid pinnen försiktigt i 15 till 30 sekunder mot vaginans sidor.
5. Dra ut pinnen försiktigt.
6. Hantera locket och röret noga för att undvika kontaminering.
7. Skruva av transportrörets lock och placera provtagningspinnen omedelbart i transportröret så att den vita spetsen är placerad nedåt.
8. Bryt av pinnen försiktigt vid den markerade linjen på skaftet och var försiktig för att undvika stänk av innehållet.
9. Sätt tillbaka locket på transportröret. Se till att locket försluts helt.
10. Märk transportröret med providentifieringsinformation, inklusive provtagningsdatum, med en vidhäftande etikett.
11. Efter provtagning ska transportröret transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 14 dagar. Om längre förvaring krävs ska det förvaras vid -10 °C eller kallare i upp till 90 dagar.

10.1.5 Provtagning, transport och förvaring med Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.nr 301040)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av urinprover från män och kvinnor med Aptima® Urine Collection Kit (Hologic, kat.nr 301040). Observera att klinisk prestanda för denna provtagningsprodukt endast har påvisats med prover extraherade med MagNA Pure 96-instrument samt MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Large Volume Kit. Se **avsnitt 10.2 och avsnitt 16.1.5** för ytterligare information.

1. Användning av en genomskinlig och steril urinprovskopp utan konserveringsmedel eller transportmedia rekommenderas för patientens egenprovtagning.
2. Patienten anvisas att ta 20–30 ml av första morgonurinen i den tillhandahållna urinprovtagningskoppen. Kvinnliga patienter ska inte rengöra det labiala området innan de samlar in provet.
3. Med pipetten och transportröret i Aptima® Urine Collection Kit ska du överföra 2 ml urin med pipetten till provtransportröret utan lock. Lämplig urinvolymlinje måste ligga inom urintransportrörets svarta fyllningslinjer. Urin måste överföras från den genomskinliga och sterila urinkoppen till Aptima-urinprovöröret inom 24 timmar efter insamling.
4. Sätt tillbaka locket på transportröret ordentligt.
5. Efter insamling ska bearbetade urinprover i Aptima-urintransportröret transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C och förvaras vid 2 °C till 30 °C fram till testet. Se tillverkarens anvisningar för detaljerad förvaringsoptimering.

10.1.6 Provtagning, transport och förvaring med Aptima® Multitest swab specimen collection kit (Hologic, kat.nr PRD-03546)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av vaginalprover med Aptima® Multitest swab specimen collection kit (Hologic, kat.nr PRD-03546). Observera att klinisk prestanda för denna provtagningsprodukt endast har påvisats med prover extraherade med MagNA Pure 96-instrument samt MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Large Volume Kit. Se **avsnitt 10.2 och avsnitt 16.1.5** för ytterligare information.

10.1.6.1 Provtagning, transport och förvaring av vaginalprover

1. Riv delvis upp provtagningspinnens förpackning. Ta ut provtagningspinnen. Vidrör inte den mjuka spetsen eller lägg inte ned provtagningspinnen. Använd ett nytt Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit om den mjuka spetsen vidrörs, om provtagningspinnen läggs ned eller provtagningspinnen tappas.
2. Håll provtagningspinnen, placera tummen och pekfingeret i mitten av provtagningspinnens skaft och täck över den skårade linjen. Håll inte provtagningspinnens skaft under den skårade linjen.
3. För försiktigt in provtagningspinnen i vagina ca 5 cm förbi introitus och rotera försiktigt provtagningspinnen medurs i 10 till 30 sekunder. Se till att provtagningspinnen vidrör vaginas väggar så att fukt absorberas av provtagningspinnen och dra sedan ut provtagningspinnen utan att vidröra huden.
4. Skruva av locket från röret medan du håller provtagningspinnen i samma hand. Spill inte ut innehållet i röret. Om innehållet i röret spills ut ska ett nytt Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit användas.
5. Placera provtagningspinnen omedelbart i transportröret så att den skårade linjen är placerad överst i röret.
6. Bryt försiktigt av provtagningspinnens skaft mot rörets sida vid den skårade linjen.
7. Kassera omedelbart den övre delen av provtagningspinnens skaft.
8. Skruva ordentligt på locket på röret. Efter insamling ska provtagningspinnen i provtransportröret transporteras och förvaras vid 2 °C till 30 °C fram till testet.

10.1.7 Provtagning, transport och förvaring med DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced swab (deltalab, kat.nr 304278)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av vaginalprover med DeltaSwab ViCUM® 2 mL + Standard flocced swab (deltalab, kat.nr 304278).

1. Öppna den avrivningsbara förpackningen med båda händer genom att dra från motstående sidor.
2. Rör om innehållet i röret.
3. Öppna flow pack-förpackningen och samla in provet med provtagningspinnen.
4. Öppna röret med den andra handen och placera provtagningspinnen i röret så att den täcks av mediet.
5. Rikta in provtagningspinnens brytpunkt med rörets ovansida genom att lätt trycka ned provtagningspinnen. Bryt av provtagningspinnen vid brytpunkten genom att stödja den mot rörets inre kant.
6. Kassera den överblivna delen av pinnen, skruva på locket ordentligt och skaka provet för att eluera det i mediet.
7. Efter insamling ska provtagningspinnen i provtransportröret transporteras och förvaras vid 4 °C till 25 °C fram till testet.

10.1.8 Provtagning, transport och förvaring med Vacumed® Urine without preservative (FL medical, kat.nr 44950)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av urinprover från män och kvinnor med Vacumed® Urine without preservative collection tube (FL medical, kat.nr 44950).

1. Öppna urinprovtagningsbehållarens lock och lägg det upp och ned på en ren yta.
2. Vidrör inte behållarens och lockets inre ytor.
3. Samla in urinprovet. Fyll behållaren upp till $\frac{3}{4}$ av kapaciteten.
4. Sätt tillbaka locket och vrid ordentligt i medurs riktning för noga förslutning.
5. Skaka provet försiktigt.
6. Lyft delvis på den skyddande etiketten (ta inte bort den helt).
7. För in provröret och applicera ett försiktigt tryck. Håll röret anslutet tills det är fullt (slut på flöde).
8. Ta bort provröret och fäst den skyddande etiketten helt.
9. Förvara provröret vid 4 °C till 25 °C fram till testet.

10.1.9 Provtagning, transport och förvaring med Regular FLOQSwab™ in 1 mL of UTM™ media (Copan, kat.nr 359C)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av vaginalprover med Regular FLOQSwab™ i 1 mL UTM™ media (Copan, kat.nr 359C).

1. Öppna UTM-satsens förpackning och ta ut mediumprovröret och den inre påsen som innehåller den sterila provtagningspinnen.
2. Ta ut den sterila provtagningspinnen från påsen, samla in det kliniska provet och se till att provtagningspinnens spets endast kommer i kontakt med insamlingsstället för att förhindra risk för kontaminering.
3. Skruva av och ta bort locket från provröret efter provtagning och se till att inte spilla ut mediet.
4. För in provtagningspinnen i provröret tills brytpunkten är i nivå med provrörets öppning.
5. Böj och bryt av provtagningspinnen vid brytpunkten och håll provröret borta från ansiktet och kassera den överblivna delen.
6. Skruva tillbaka locket på provröret och förslut det hermetiskt.
7. Bearbeta provet i UTM inom 48 timmar efter provtagning med förvaring av provröret vid 2–25 °C.
8. Vortexblanda i 20 sekunder efter bearbetning för att säkerställa att provet frisätts från provtagningspinnen och för att homogenisera mediet.

10.1.10 Provtagning, transport och förvaring med cobas® PCR media (Roche, kat.nr 06466281190)

Anvisningar sammanfattas nedan för insamling och transport av urinprover från män och kvinnor med cobas® PCR media (Roche, kat.nr 06466281190).

1. Blanda och överför urin i rör med cobas® PCR Media med hjälp av en engångspipett (medföljer inte). Obs! Urin kan förvaras vid 2 °C till 30 °C i upp till 24 timmar före överföring till rör med cobas® PCR Media.
2. Den korrekta volymen av urin har tillsatts när vätskenivån är mellan de två svarta linjerna på röretiketten.
3. Sätt tillbaka locket noga på röret med cobas® PCR Media.
4. Vänd röret upp och ned 5 gånger för att blanda. Provet är nu redo för transport och testning.
5. Transportera och förvara röret med cobas® PCR Media innehållande stabiliserat urinprov vid 2 °C till 30 °C.

10.1.11 Validerade provextrakt

Provextrakt validerade för användning omfattar:

- cobas® x480 (från CT/NG-protokoll)

10.2 Provbearbetning

Satsen **ResistancePlus**[®] MG har validerats på följande extraktionsinstrument i **Tabell 4**.

Se **avsnitt 10.3** för anvisningar om användning av den interna kontrollen.

Tabell 4. Validerade extraktionsprotokoll				
Instrument	Extraktionssats	Provvoly	Protokoll	Elueringsvolym
MagNA Pure 96 ^a	MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit	200 µL	Pathogen Universal 200	50 µL eller 100 µL
MagNA Pure 96 ^a	MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume Kit	1 000 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 spädda celler för intern kontroll tillsätta per prov Välj "Pause before PCR setup" (Pausa före PCR-konfiguration) för att endast utföra provextraktion	100 µl
QIAasymphony SP ^c	DSP Virus/Pathogen Mini Kit	200 µL	Complex200_V6_DSP	110 µL
NucliSENS [®] easyMAG ^{®d}	NucliSENS [®] easyMAG [®] reagents	200 µL-provtagningsspinne	Generic 2.01; "On-board"-arbetsflöde	100 µL
		1 000 µL urin	Generic 2.01; "On-board"-arbetsflöde	100 µL

^a Se 10.3.1 för användning av den interna kontrollen med MagNA Pure 96

^b Se 10.3.2 för användning av den interna kontrollen med STARlet IVD

^c Se 10.3.3 för användning av den interna kontrollen med QIAasymphony SP

^d Se 10.3.4 för användning av den interna kontrollen med NucliSENS[®] easyMAG[®]

[^] Klinisk prestanda för prover som samlats in med Aptima[®] provtagningssats har endast visats med detta extraktionsprotokoll. Se avsnitt 16.1.5 för ytterligare information.

10.3 Intern kontroll (IC)

Satsen omfattar en intern kontroll för att övervaka extraktionseffektivitet och qPCR-inhibition. Den interna kontrollanalysen tillhandahålls som en **kontrollblandning (VITT)** och **celler för intern kontroll (RÖTT)**. Kontrollblandningen tillsätts till PCR-masterblandningen (**Tabell 11**). Cellerna för intern kontroll innehåller DNA-mallen för den interna kontrollen. Cellerna för intern kontroll är spädda och bearbetade enligt nedan för specifika extraktionsinstrument. DNA-mallen för den interna kontrollen är därför samextraherad med provet och samamplifierad i reaktionen.

10.3.1 Intern kontroll på MagNA Pure 96

Späd cellerna för intern kontroll (**RÖTT**) 1 till 200 i 1 x PBS (**Tabell 5**). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor (se handbok för extraktionssats för minsta volym för nödvändigt antal prover). De spädda cellerna för intern kontroll laddas i röret för intern kontroll på MagNA Pure 96:

- För MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Pathogen Universal 200-protokoll) tillsätts 20 µL automatiskt till varje prov (standard).
- För MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume Kit (Viral NA Universal LV 1000 3.1-protokoll) delas provvolymen upp och bearbetas i två separata brunnar på MagNA Pure 96 Processing Cartridge. Totalt 40 µL av spädda celler för intern kontroll tillsätts automatiskt till varje prov (20 µL per brunn på bearbetningskassetten).

Obs! Förvara INTE spädda celler för intern kontroll.

Tabell 5. Spädning av celler för intern kontroll för MagNA Pure 96 (1 till 200-spädning)

Celler för intern kontroll (RÖTT) (µL)	1 x PBS (µL)	Total volym (µL)	Volym tillsatt till prov (µL)
18	3 582	3 600	20

10.3.2 Intern kontroll på MICROLAB STARlet IVD

Späd cellerna för intern kontroll (**RÖTT**) 1 till 20 i 1 x PBS (**Tabell 6**). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor (se handbok för extraktionssats för minsta volym för nödvändigt antal prover). De spädda cellerna för intern kontroll laddas i ett 2 mL-rör och placeras i reagensstället med 10 µL automatiskt tillsatt till varje prov.

Obs! Förvara INTE spädda celler för intern kontroll.

Tabell 6. Spädning av celler för intern kontroll för MICROLAB STARlet IVD (1 till 20-spädning)

Celler för intern kontroll (RÖTT) (µL)	1 x PBS (µL)	Total volym (µL)	Volym tillsatt till prov (µL)
50	950	1 000	10

10.3.3 Intern kontroll på QIAAsymphony® SP

Späd cellerna för intern kontroll (**RÖTT**) 1 till 50 i 1 x PBS (**Tabell 7**). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor enligt antalet prover som krävs.

Obs! Förvara INTE spädda celler för intern kontroll.

Tabell 7. Spädning av celler för intern kontroll för QIAAsymphony® SP (1 till 50-spädning)

Celler för intern kontroll (RÖTT) (µL)	1 x PBS (µL)	Total volym (µL)
40	1 950	2 000

De spädda cellerna för intern kontroll används sedan för att bereda en blandning av intern kontroll-bärr-RNA-buffert AVE enligt **Tabell 8** nedan. Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor för antalet prover som krävs (se handbok för extraktionssats för minsta volym för nödvändigt antal prover). Blandningen av intern kontroll-bärr-RNA-buffert AVE ska beredas omedelbart före start av körning.

Blandningen av intern kontroll-bärr-RNA-buffert AVE tillsätts till ett rör som placeras i en rörhållare och laddas i provlådans fack A i QIAAsymphony® SP. 120 µL (standard) av blandningen tillsätts till varje prov.

Tabell 8. Beredning av blandningen av intern kontroll-bärr-RNA-buffert AVE för QIAAsymphony SP

Rörtyyp	Antal prover	Volym av spädda celler för intern kontroll (µL)	Stambärr-RNA (µL)	Buffert AVE (µL)	Total volym (µL)
-	1	10	3	107	120
2 mL	1 + kastad volym [^]	40	12	428	480
14 mL	1 + kastad volym [^]	60	18	642	720

[^] 2 mL-rör kräver tre ytterligare prover (360 µL) för att svara för kastad volym

[#] 14 mL-rör kräver fem ytterligare prover (600 µL) för att svara för kastad volym

10.3.4 Intern kontroll på easyMAG®

Späd cellerna för intern kontroll (**RÖTT**) 1 till 200 i 1 x PBS (**Tabell 9**). Justera volymen efter behov med hjälp av samma spädningsfaktor. Bered en "förblandning" av spädda celler för intern kontroll och NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica för det antal prover som krävs (**Tabell 10**) 100 µL förblandad kiseldioxid krävs per prov.

Obs! Förvara INTE spädda celler för intern kontroll.

Tabell 9. Spädning av celler för intern kontroll för NucliSENS® easyMAG® (1 till 200-spädning)			
Celler för intern kontroll (RÖTT) (µL)	1 x PBS (µL)	Total volym (µL)	Spädningsfaktor
10	1 990	2 000	200

Tabell 10. Förblandning av NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica och spädda celler för intern kontroll			
Antal prover	Volym av spädda celler för intern kontroll (µL)	Volym av magnetisk kiseldioxid (µL)	Volym tillsatt till prov (µL)
1	50	50	100

"On-board"- eller "off-board"-arbetsflöde kommer att användas beroende på provtypen. "Off-board"-arbetsflöde används för optimalt nukleinsyrautbyte av urinprover. Se användarhandboken för NucliSENS® easyMAG® för mer information.

"On-board"-arbetsflöde (prover tagna med provtagningspinne)

Överför prover till provkärlet.

Ladda provkärlet på easyMAG.

Programmera följande extraktionsbegäran:

Protokoll: Generic 2.0.1 (för programvaruversion 2.0)

Matris: Annan

Volym (mL): 0,200

Eluat (µL): 100 µL

Typ: Primär

Efter "on-board"-lysering tillsätts 100 µL av förblandad kiseldioxid till varje prov.

Fortsätt extraktionsprocessen.

"Off-board"-arbetsflöde (urin)

Blanda röret med NucliSENS Lysis Buffer en kort stund och tillsätt 1 000 µL urin. Vortexblanda röret.

Låt blandningen stå i rumstemperatur i 10 minuter.

Efter lysering ska lysaten överföras till provkärlet och laddas på easyMAG.

Tillsätt 100 µL av förblandad kiseldioxid till varje prov.

Programmera följande extraktionsbegäran:

Protokoll: Generic 2.0.1 (för programvaruversion 2.0)

Matris: Annan

Volym (mL): 1,000

Eluat (µL): 100 µL

Typ: Lyserad

Fortsätt extraktionsprocessen.

10.4 Förberedelse av realtids-PCR

Obs! Tina reagenserna helt före användning och blanda noga genom kort vortexblandning

Se **Tabell 1 – Tabell 3** för beskrivning av satsinnehåll.

10.4.1 Beredning av masterblandning

Bered masterblandningen enligt beskrivning i **Tabell 11**.

För en 20 µL-reaktionsvolym krävs 15 µL masterblandning och 5 µL prov. Pipettera masterblandningen på PCR-plattan och tillsätt sedan extraherat prov till reaktionen.

En kontroll utan mall (NTC) ska ingå i varje körning. För NTC-reaktionen tillsätts *nukleasfritt vatten* (**NEUTRALT**) i stället för prov.

Förslut plattan, centrifugera och överför till termocykler.

Tabell 11. Masterblandning		
Reagens	Koncentration	Volym per 20 µL reaktion (µL)
Nukleasfritt vatten (NEUTRALT)	Ej tillämpligt	3,0
Plex Mastermix (BLÅTT)	2 x	10,0
MG+23S Mix (BRUNT)	20 x	1,0
Kontrollblandning* (VITT)	20 x	1,0
Total volym (µL)		15,0
Tillsätt 5 µL prov för en slutlig volym på 20 µL		

* Kontrollblandningen som ingår i varje sats är specifik för PCR-instrumentet som används; se **Tabell 1 – Tabell 3** för korrekt kontrollblandning att använda.

10.4.2 Hållbarhet för masterblandning

Masterblandningen kan beredas i bulkformat och förvaras vid -20 °C i upp till 4 veckor eller förvaras vid 4 °C i upp till 1 vecka.

11 Programmering och analys

Detaljer för programmering och analys beskrivs i **avsnitt 19 – avsnitt 22**.

Satsen **ResistancePlus®** MG har tre kanaler för detektion av *M. genitalium*, 23S rRNA-mutation och intern kontroll (**Tabell 12**).

Programvaran **ResistancePlus®** MG är begränsad till analys av resultat som motsvarar nukleinsyraextrakt, som erhållits utan tillsats

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

12 Tolkning av resultat

Datatolkning kräver analysprogramvaran **ResistancePlus®** MG. Medan **PlexPrime®**-primrar erbjuder större specificitet än andra allelspecifika primrar kan viss icke-specifik amplifiering från 23S rRNA-mutantanalysen påvisas i prover som innehåller höga koncentrationer av *M. genitalium* vildtyp 23S rRNA. Analysprogramvaran **ResistancePlus®** MG automatiserar datatolkningen av amplifieringsresultaten och strömlinjeformar arbetsflödet. Anvisningar om användning av analysprogramvaran beskrivs i **avsnitt 23**.

Se **Tabell 13** för lämplig analysprogramvara för varje realtids-PCR-instrument. Analysprogramvaran kan tillhandahållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Tabell 13. Analysprogramvaran ResistancePlus® MG		
Kat.nr	Analysprogramvara*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus® MG (LC480)	LC480 II
99002	ResistancePlus® MG (7500)	7500 Fast och 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus® MG (CFX)	CFX96 Dx och CFX96 Touch

* Se webbplatsen <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> för att säkerställa att du använder den mest aktuella versionen av analysprogramvara.

13 Begränsningar

- Analysen **ResistancePlus**® MG målsöker *MgPa*-genen för *M. genitalium* och mutationer vid positionerna 2058 och 2059 i 23S rRNA-genen (A2058G, A2059G, A2058T och A2058C, *E. coli*-numrering) som är förknippade med resistens mot azitromycin (makrolidbaserat antibiotikum).
- Analysen **ResistancePlus**® MG har påvisats korsreagera med *M. genitalium*, 23S rRNA A2059C-mutantsekvenser.
- Studier av klinisk prestanda för **ResistancePlus**® MG, som sammanfattas i avsnitt 16.1, inkluderar testning med urinprover från män och kvinnor samt vaginalprover. Ytterligare provtyper, t.ex. rektala, cervikala, endocervikala, uretrala, penila, penil meatala och faryngeala prover, har också testats. Dock finns begränsade data för närvarande som stödjer användningen av dessa provtyper.
- Analysen **ResistancePlus**® MG ska endast utföras av personal som är utbildad i förfarandet och ska utföras enligt dessa bruksanvisningar.
- Tillförlitliga resultat beror på lämplig provtagning, transport, förvaring och bearbetning. Det kan leda till inkorrekta resultat om lämpliga förfaranden inte följs i något av dessa steg.
- Analysen **ResistancePlus**® MG är en kvalitativ analys och ger inga kvantitativa värden eller information om organismbelastning.
- Resultat från testet måste korreleras med den kliniska historiken, epidemiologiska data, laboratoriedata och andra data som finns tillgängliga för kliniken.
- Förekomsten av *M. genitalium* och makrolidresistens kommer att påverka positiva och negativa förväntade värden för analysen.
- Detektion av antibiotikaresistensmarkörer korrelerar kanske inte med fenotypiskt genuttryck.
- Terapeutisk svikt eller framgång kan inte bestämmas baserat på analysresultaten eftersom nukleinsyra kan kvarstå efter lämplig antimikrobiell behandling.
- Negativa resultat utesluter inte risken för infektion på grund av olämplig provtagning, tekniskt fel, förekomst av hämmare, sammanblandning av prover eller lågt antal organismer i det kliniska provet.
- Negativa resultat för resistensmarkörer anger inte känslighet för detekterade mikroorganismer eftersom resistensmarkörer som inte mäts av analysen eller andra potentiella mekanismer av antibiotikaresistens kan förekomma.
- Falskt positiva resultat kan inträffa på grund av korskontaminering av målorganismer, deras nukleinsyror eller den amplifierade produkten.

14 Kvalitetskontroll

Satsen **ResistancePlus**® MG omfattar en intern kontroll för att övervaka extraktionseffektivitet och qPCR-hämning (**avsnitt 10.3**).

Satsen **ResistancePlus**® MG Positive Control (kat.nr 95001) rekommenderas som positivt kontrollmaterial för nukleinsyraamplifiering. Se **avsnitt 15** för bruksanvisning för **ResistancePlus**® MG Positive Controls. Ett känt negativt prov rekommenderas att användas som en negativ kontroll.

15 Anvisningar för ResistancePlus® MG Positive Control

Satsen **ResistancePlus®** MG Positive Control innehåller positivt kontrollmaterial för *M. genitalium* 23S rRNA-mutanter och en *M. genitalium* vildtyp 23S rRNA (**Tabell 14**)

Tabell 14. Innehåll i satsen ResistancePlus® MG Positive Control (kat.nr 95001)			
Lockfärg	Innehåll	Beskrivning	Mängd (10 reaktioner)
Neutral	MG, 23S rRNA-vildtyp	Mall för positiv kontroll för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA-vildtyp	1 x 50 µL
Grönt	MG, 23S rRNA A2058G	Mall för positiv kontroll för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058G-mutation	1 x 50 µL
Rött	MG, 23S rRNA A2059G	Mall för positiv kontroll för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2059G-mutation	1 x 50 µL
Blått	MG, 23S rRNA A2058T	Mall för positiv kontroll för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058T-mutation	1 x 50 µL
Gult	MG, 23S rRNA A2058C	Mall för positiv kontroll för detektion av <i>M. genitalium</i> , 23S rRNA A2058C-mutation	1 x 50 µL

15.1 Bruksanvisning

Bered qPCR-reaktioner enligt beskrivning i **avsnitt 10.4** med användning av positiv kontroll som prov.

Datatolkning kräver analysprogramvaran **ResistancePlus®** MG. Se **avsnitt 23.9** för exempel på resultat.

16 Prestandaegenskaper

16.1 Klinisk prestanda

16.1.1 Klinisk studie 1

En prospektiv-retrospektiv studie utfördes vid Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australien. Prover samlades in från och med maj 2016 till och med juni 2016, samt baserat på kliniska laboratorieresultat. 144 prover valdes för inklusion i studien. De 144 proverna bestod av 84 urinprover från män, 33 urinprover från kvinnor, 14 vaginalprover och 13 höga vaginalprover. För att bestämma prestanda för satsen **ResistancePlus**[®] MG jämfördes detektion av *M. genitalium* med kliniska laboratorieresultat från en väletablerad 16S rRNA qPCR som används för rutinmässig diagnostik vid RWH⁷ och detektion av 23S rRNA-mutant jämfördes med Sanger-sekvensering⁸. Satsen **ResistancePlus**[®] MG utfördes på LC480 II efter provextraktion på MagNA Pure 96-instrumentet med användning av MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Small Volume Kit med användning av Universal Pathogen 200-protokoll. För detektion av *M. genitalium* användes en sammansatt referens för avvikande prover med användning av en tredje qPCR-reaktion inriktad på MgPa-genen⁹. För detektion av 23S rRNA-mutant togs Sanger-sekvensering som det sanna resultatet. Lösta resultat samt sensitivitet och specificitet för satsen **ResistancePlus**[®] MG för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant visas i **Tabell 15**. Två prover uteslöts eftersom resultatet för den interna kontrollen var ogiltigt (ett urinprov från kvinna och ett urinprov från man). Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatus kunde bestämmas. Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 16**. Analys av 23S rRNA-mutation visas i **Tabell 17**.

Tabell 15. Klinisk utvärdering av satsen ResistancePlus [®] MG (klinisk studie 1)						
		Detektion av <i>M. genitalium</i> 16S rRNA qPCR			Detektion av 23S rRNA-mutant Sekvensering	
		Positivt	Negativt		Mutant	Vildtyp
ResistancePlus [®] MG	Positivt	83	0	Mutant detekterad	52	2
	Negativt	1	58 [^]	Mutant inte detekterad	2	21
Sensitivitet		98,8 % (95 % KI 93,5–100,0 %)		Sensitivitet	96,3 % (95 % KI 87,3–99,6 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,8–100,0 %)		Specificitet	91,3 % (95 % KI 72,0–98,9 %)	

95 % KI – 95 % konfidensintervall, mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

[^] Satsen **ResistancePlus**[®] MG detekterade ett sant *M. genitalium*-negativt resultat med användning av sammansatt referens, tabellen representerar lösta resultat.

Tabell 16. Analys av kliniskt resultat i enlighet med prov[^] (klinisk studie 1)

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urinprov från man	28/28	8/10 ¹	41/42 ¹
Urinprov från kvinna	12/13	11/11	4/6 ²
Vaginal provtagningspinne	8/8	1/1	2/2 ³
Hög vaginal provtagningspinne	9/9	1/1	4/4 ⁴

Mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner

[^] 2 urinprover från kvinna, 3 urinprover från man, 1 vaginal provtagningspinne exkluderades, eftersom sekvensering misslyckades och mutantstatus inte kunde fastställas

¹ Urinprov från man: 2 *M. genitalium* av vildtyp felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant detekterad, 18 A2058G, 20 A2059G, 3 A2058T korrekt detekterade; 1 A2058G felaktigt identifierad som *M. genitalium* ej detekterad

² Urinprov från kvinna: 1 A2058G, 3 A2059G korrekt detekterade; 2 A2059G felaktigt identifierade som *M. genitalium* detekterad, mutant ej detekterad

³ Vaginal provtagningspinne: 2 A2059G korrekt detekterad

⁴ Hög vaginal provtagningspinne: 3 A2058G, 1 A2059G korrekt detekterade

Tabell 17. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalys (Klinisk studie 1)

Referensresultat [^]	<i>ResistancePlus</i> [®] MG-resultat
Vildtyp	21/33 ¹
A2058G	22/23 ²
A2059G	26/28 ³
A2058T	3/3

[^] Endast för *M. genitalium*-positiva prover

¹ Vildtyp: 2 urinprover från man, felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant, detekterade

² A2058G: 1 urinprov från man, felaktigt identifierat som *M. genitalium*-mutant, ej detekterad

³ A2059G: 2 urinprover från kvinna felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant, ej detekterade

16.1.2 Klinisk studie 2

En underuppsättning av de extraherade proverna från Studie 1 kördes på ABI 7500 Fast. Resultaten jämfördes med de kliniska resultaten från 16S rRNA qPCR (Twin 2011) och Sanger-sekvensering (Twin 2012). Avvikande prover för *M. genitalium*-detektion, testades om med 16S rRNA qPCR (Twin 2011) på grund av misstänkt provdegradering. Lösta resultat samt sensitivitet och specificitet för satsen *ResistancePlus*[®] MG₍₅₅₀₎, för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant, visas i **Tabell 18**. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatusen kunde bestämmas.

Tabell 18. Klinisk utvärdering av satsen *ResistancePlus*[®] MG₍₅₅₀₎ (klinisk studie 2)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> 16S rRNA qPCR				Detektion av 23S rRNA-mutant Sekvensering	
		Positivt	Negativt			Mutant	Vildtyp
<i>ResistancePlus</i> [®] MG	Positivt	79	0 [^]		Mutant detekterad	47	1
	Negativt	2	43 [#]		Mutant inte detekterad	4	19
Sensitivitet		97,5 % (95 % KI 91,4–99,7 %)			Sensitivitet	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 % konfidensintervall, mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

[^] Satsen *ResistancePlus*[®] MG₍₅₅₀₎ detekterade ett sant *M. genitalium*-positivt resultat med användning av referenstest, tabellen anger lösta resultat.

[#] Satsen *ResistancePlus*[®] MG₍₅₅₀₎ detekterade 10 sanna *M. genitalium*-negativa resultat med användning av referenstest, tabellen anger lösta resultat.

16.1.3 Klinisk studie 3

En retrospektiv studie utfördes vid Canterbury Health Laboratories (CHL), Christchurch, Nya Zeeland på karakteriserade och arkiverade prover från 2010–2016 insamlade med multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott). De 137 proverna bestod av 110 urinprover från män, 11 urinprover från kvinnor, 15 vaginalprover, 1 uretral-/vaginalprov och 1 vaginal-/cervikalprov. För att bestämma prestanda för satsen *ResistancePlus*[®] MG jämfördes detektion av *M. genitalium* med kliniska laboratorieresultat från en väletablerad MgPa qPCR som används för rutinmässig diagnostik vid CHL (Jensen 2004) och detektion av 23S rRNA-mutant jämfördes med Sanger-sekvensering (Jensen 2008). Satsen *ResistancePlus*[®] MG utfördes på LC480 II efter provextraktion på MagNA Pure 96-instrumentet med användning av MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Small Volume Kit med användning av Universal Pathogen 200-protokoll. För detektion av *M. genitalium* upprepades det rutinmässiga MgPa-testet för avvikande prover. För detektion av 23S rRNA-mutant togs Sanger-sekvensering som det sanna resultatet. Sensitivitet och specificitet för satsen *ResistancePlus*[®] MG för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant visas i **Tabell 19**. Ett prov uteslöts eftersom resultatet för intern kontroll var ogiltigt. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatusen kunde bestämmas. Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 20**. Analys av 23S rRNA-mutation visas i **Tabell 21**.

Tabell 19. Klinisk utvärdering av satsen *ResistancePlus*[®] MG (klinisk studie 3)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> 16S rRNA qPCR				Detektion av 23S rRNA-mutant Sekvensering	
		Positivt	Negativt			Mutant	Vildtyp
<i>ResistancePlus</i> [®] MG	Positivt	76	0		Mutant detekterad	52	1
	Negativt	3	57 [^]		Mutant inte detekterad	5	19
Sensitivitet		96,2 % (95 % KI 89,3–99,2 %)			Sensitivitet	91,2 % (95 % KI 80,7–97,1 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 93,7–100,0 %)			Specificitet	95,0 % (95 % KI 75,1–99,9 %)	

95 % KI – 95 % konfidensintervall, mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

[^] Tabell representerar lösta resultat.

Tabell 20. Analys av kliniskt resultat i enlighet med prov (klinisk studie 3)

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> av vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urinprov från man	45/45	17/18 ¹	38/45 ¹
Urinprov från kvinna	4/4	1/1	6/6 ²
Vaginal provtagningspinne	6/6	1/1	8/8 ³
Uretral/vaginal provtagningspinne	1/1	0/0	0/0
Vaginal/cervikal provtagningspinne	1/1	0/0	0/0

Mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

¹ Urinprov från man: 1 *M. genitalium*-vildtyp felaktigt identifierad som *M. genitalium*-mutant detekterad, 4 A2058G, 32 A2059G, 1 A2058T, 1 A2058C korrekt detekterad; 1 A2058G och 1 A2059G felaktigt identifierade som *M. genitalium* ej detekterad, 3 A2058G och 2 A2059G felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant ej detekterad

² Urinprov från kvinna: 2 A2058G, 4 A2059G korrekt detekterade

³ Vaginal provtagningspinne: 1 A2058G, 7 A2059G korrekt detekterade

Tabell 21. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalys (Klinisk studie 3)

Referensresultat [^]	<i>ResistancePlus</i> ® MG-resultat
Vildtyp	19/20 ¹
A2058G	7/10 ²
A2059G	43/45 ³
A2058T	1/1
A2058C	1/1

[^] Endast för *M. genitalium*-positiva prover

¹ Vildtyp: 1 urinprov från man felaktigt identifierat som *M. genitalium*-mutant detekterad

² A2058G: 3 urinprover från man felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant ej detekterad

³ A2059G: 2 urinprover från man felaktigt identifierade som *M. genitalium*-mutant ej detekterad

16.1.4 Klinisk studie 4

En retrospektiv klinisk studie utfördes vid Vall d'Hebron University Hospital (HUVH), Barcelona, Spanien, för att utvärdera prestanda för satsen *ResistancePlus*® MG₍₆₇₅₎ för detektion av *M. genitalium*- och azitromycin-resistensassocierade mutationer i retrospektiva prover, insamlade mellan december 2017 och april 2018. Prover samlades in med användning av DeltaSwab ViCUM® (Deltalab, Spanien) för provtagningspinnar eller Vacumed® Urine (FL medical, Italien) för urin. 86 prover bestod av 46 urinprover och 40 vaginala provtagningspinnar. Prover extraherades med STARlet IVD (Hamilton) och kördes på CFX96 Dx (Bio-Rad)-instrumentet. För att utvärdera prestanda jämfördes *M. genitalium*-detektion med Allplex™ STI Essential (Seegene) samt med satsen *ResistancePlus*® MG (SpeedX) på LC480 II för både *M. genitalium*-detektion och 23S rRNA-status. Sensitivitet och specificitet för satsen *ResistancePlus*® MG₍₆₇₅₎ för *M. genitalium*-detektion, jämfört med Allplex™ STI Essential (Seegene), visas i **Tabell 22**. . Sensitivitet och specificitet för *ResistancePlus*® MG₍₆₇₅₎ jämfört med *ResistancePlus*® MG är såsom visas i **Tabell 23**. . Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 24**. .

Tabell 22. Jämförelse av satsen *ResistancePlus*® MG₍₆₇₅₎ med Allplex™ STI Essential (klinisk studie 4)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> Allplex™ STI Essential	
		Positivt	Negativt
<i>ResistancePlus</i> ® MG ₍₆₇₅₎	Positivt	40	0
	Negativt	0	46
Sensitivitet		100,0 % (95 % KI 91,2–100,0 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3–100,0 %)	

Tabell 23. Klinisk utvärdering av satsen *ResistancePlus*® MG₍₆₇₅₎ (klinisk studie 4)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> ® MG (LC480 II)				Detektion av 23S rRNA- mutant [†] <i>ResistancePlus</i> ® MG (LC480 II)	
		Positivt	Negativt			Mutant detekterad	Mutant inte detekterad
<i>ResistancePlus</i> ® MG ⁽⁶⁷⁵⁾	Positivt	40	0		Mutant detekterad	20	0
	Negativt	0	46		Mutant inte detekterad	1	20
Sensitivitet		100,0 % (95 % KI 91,2–100,0 %)			Sensitivitet	100,0 % (95 % KI 83,2–100,0 %)	
Specificitet		100,0 % (95 % KI 92,3–100,0 %)			Specificitet	100,0 % (95 % KI 83,2–100,0 %)	

95 % KI – 95 % konfidensintervall, mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

[#] 1 prov exkluderades från analys eftersom det sekvenserades som blandad vildtyp och mutant

Tabell 24. Analys av kliniskt resultat i enlighet med prov (klinisk studie 4)

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urinprov från man	26/26	5/5	15/15
Vaginal provtagningspinne för kvinnor	20/20	15/15	5/5

16.1.5 Klinisk studie 5

En retrospektiv klinisk studie utfördes vid Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australien med användning av insamlade urinprover och vaginalprover med Aptima® från juni 2017–november 2017. Matchade patientprover samlades in som okonserverad urin (rutinmässigt prov) eller med Aptima® Urine Specimen Collection kit (Hologic) eller som torrt prov taget med provtagningspinne (rutinmässigt prov) eller med Aptima® Unisex Swab Specimen Collection kit (Hologic). 147 prover bestod av 122 urinprover och 25 vaginalprover. För att bestäma prestanda för insamlade prover med Aptima® med satsen **ResistancePlus®** MG jämfördes detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant med de kliniska diagnostiska resultaten erhållna från satsen **ResistancePlus®** MG (SpeedX) med användning av det rutinmässiga provet. Testning av insamlade prover med Aptima® utfördes på LC480 II efter provextraktion på MagNA Pure 96-instrumentet med användning av MagNA Pure 96 DNA och Viral NA Small Volume Kit med användning av Viral NA Universal LV 1000-protokoll. Kliniska diagnostiska resultat från RWH, erhållna från ett matchat diagnostiskt prov testat med satsen **ResistancePlus®** MG (SpeedX), togs som det sanna resultatet för *M. genitalium*. För detektion av 23S rRNA-mutant jämfördes resultatet med det diagnostiska resultatet och Sanger-sekvensering.

Sensitivitet och specificitet för satsen **ResistancePlus®** MG för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant visas i **Tabell 25**. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatusen kunde bestämmas. Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 26**.

Tabell 25. Klinisk utvärdering av satsen *ResistancePlus*® MG (klinisk studie 5)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> ® MG (rutinmässigt prov)				Detektion av 23S rRNA-mutant <i>ResistancePlus</i> ® MG (rutinmässigt prov)	
		Positivt	Negativt			Mutant	Vildtyp
<i>ResistancePlus</i> ® MG (med 1 ml Aptima-prov)	Positivt	77	3		Mutant detekterad	51	0
	Negativt	3	64		Mutant inte detekterad	2	24
Sensitivitet		96,3 % (95 % KI 89,4–99,2 %)			Sensitivitet	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 %)	

Tabell 26. Analys av klinisk resultat i enlighet med provtyp (klinisk studie 5)

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> av vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urin	50/52 ¹	21/22 ¹	45/48 ¹
Vaginal provtagningspinne	14/15 ²	3/4 ²	6/6

Mutant – 23S rRNA-mutation vid positionerna A2058G, A2059G, A2058T och A2058C (*E. coli*-numrering), vildtyp – frånvaro av mutation vid dessa positioner.

¹ Urin: 2 *M. genitalium*-negativa felaktigt identifierade som *M. genitalium* av vildtyp respektive -mutant; 1 *M. genitalium* av vildtyp felaktigt identifierad som *M. genitalium*-negativ; 2 *M. genitalium*-mutanter felaktigt identifierade som *M. genitalium* av vildtyp, 1 *M. genitalium*-mutant felaktigt identifierad som *M. genitalium*-negativ

² Vaginal provtagningspinne 1 *M. genitalium*-negativt felaktigt identifierat som *M. genitalium* av vildtyp; 1 *M. genitalium* av vildtyp felaktigt identifierad som *M. genitalium*-negativ

16.1.6 Klinisk studie 6

En retrospektiv studie utfördes vid University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Australien, med användning av cobas® x480-extrakt från urin- och pinnprover, som samlades in från februari 2017 till februari 2019. Prover samlades in som okonserverade urinprover med cobas® PCR media insamlingsatts (Roche) och extraherades på cobas® x480 (cobas® 4800, Roche)-instrument med användning av "Full Workflow"- och "CT/NG"-protokollet, utan tillägg av SpeedX celler för intern kontroll. De 109 extrakten bestod av 10 vaginalprover, 5 höga vaginalprover, samt 84 urinprover från män och 10 urinprover från kvinnor.

För att bestämma prestanda för Cöbas®-extrakt med satsen **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ jämfördes detektion av *M. genitalium* med det rutinmässiga diagnostiska resultatet (MgPa PCR-analys (Trembizki *et al.*, 2017)) och detektion av 23S rRNA-mutant jämfördes med Sanger-sekvensering. Satsen **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ utfördes på ABI 7500 Fast Dx. Sensitivitet och specificitet för satsen **ResistancePlus®** MG₍₅₅₀₎ för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant, visas i **Tabell 27**. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatusen kunde bestämmas. Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 28**. Analys av 23S rRNA-mutation visas i **Tabell 29**.

Tabell 27. Klinisk utvärdering av satsen *ResistancePlus*® MG₍₅₅₀₎ (klinisk studie 6)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> MgPa qPCR				Detektion av 23S rRNA-mutant Sanger-sekvensering	
		Positivt	Negativt			Mutant	Vildtyp
ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎	Positivt	54	0		Mutant detekterad	37 [^]	0
	Negativt	1	51		Mutant inte detekterad	0	17
Sensitivitet		98,2 % (95 % KI 90,3–100,0 %)			Sensitivitet	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 vaginalprov gav ett blandat resultat för vildtyp/A2059G-sekvensering, som korrekt identifierades som mutant med analysen **ResistancePlus[®] MG₍₅₅₀₎**

Tabell 28. Analys av klinisk resultat i enlighet med prov (klinisk studie 6) [#]

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA av vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urinprov från man	42/42	13/13	26/27 ¹
Urinprov från kvinna	6/6	1/1	3/3 ²
Vaginal provtagningspinne	1/1	1/1	7/7 ^{3*}
Hög vaginal provtagningspinne	2/2	2/2	1/1 ⁴

3 prover exkluderades, eftersom sekvensering misslyckades och sann 23S-status inte kunde bestämmas, inklusive: 2 urinprover och 1 vaginalprov

¹ Urinprov från man 8 A2058G, 3 A2058T och 15 A2059G korrekt identifierade; 1 A2058T identifierades felaktigt som *M. genitalium* ej detekterat

² Urinprov från kvinna: 2 A2058G och 1 A2059G korrekt identifierade

³ Vaginal provtagningspinne: 3 A2058G, 2 A2058T och 1 A2059G korrekt identifierade; [^] 1 vaginalprov identifierades som en blandning av vildtyp/A2059G

⁴ Hög vaginal provtagningspinne: 1 A2059G korrekt identifierat

Tabell 29. *M. genitalium* 23S rRNA-mutationsanalys (klinisk studie 6)

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

[^] Endast för *M. genitalium*-positiva prover

¹ A2059G: 1 vaginalprov med blandad vildtyp/A2059G identifierades korrekt som *M. genitalium*, 23S-mutation detekterad

16.1.7 Klinisk studie 7

En retrospektiv klinisk studie utfördes vid Microbiological Diagnostic Unit Public Health Unit (MDU), Victoria, Australien med användning av torra prover tagna med provtagningspinne och okonservade urinprover insamlade från oktober 2018–januari 2019. Proverna bestod av 19 vaginalprover, 2 höga vaginalprover och 44 urinprover.

Satsen ResistancePlus[®] MG utfördes på LC480 II efter provextraktion på QIAAsymphony SP (QIAGEN)-instrumentet med användning av satsen DSP Virus/Pathogen Mini och Complex200 V6_DSP-protokollet. Resultat jämfördes med rutinmässiga diagnostiska resultat erhållna från satsen ResistancePlus[®] MG (SpeedX) med användning av prover extraherade på MagNA Pure 96-instrumentet (MP96). För avvikande resultat utfördes ett 16S rRNA qPCR (Twin 2011)-test för detektion av *M. genitalium* och Sanger-sekvensering (Twin 2012) utfördes för detektion av 23S rRNA-mutant. Sensitivitet och specificitet för satsen ResistancePlus[®] MG för detektion av *M. genitalium* och detektion av 23S rRNA-mutant visas i **Tabell 30**. Analys av detektion av 23S rRNA-mutation omfattar endast prover där mutantstatusen kunde bestämmas. Analys av resultat i enlighet med provtyp visas i **Tabell 31**.

Tabell 30. Klinisk utvärdering av satsen ResistancePlus[®] MG (klinisk studie 7)

		Detektion av <i>M. genitalium</i> ResistancePlus [®] MG (MP96)				Detektion av 23S rRNA-mutant ResistancePlus [®] MG (MP96)	
		Positivt	Negativt			Mutant	Vildtyp
ResistancePlus [®] MG (QIAAsymphony SP)	Positivt	36	0	Mutant detekterad		16	1
	Negativt	1	27	Mutant inte detekterad		1	18
Sensitivitet		97,3 % (95 % KI 85,8–99,9 %)		Sensitivitet		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 %)	

Tabell 31. Analys av kliniskt resultat i enlighet med prov (klinisk studie 7) [#]

Prov	Förväntade <i>M. genitalium</i> -negativa	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA av vildtyp	Förväntade <i>M. genitalium</i> 23S rRNA-mutant
Urinprov från man	17/17	9/9	12/14 ¹
Urinprov från kvinna	1/1	1/2 ²	1/1
Vaginal provtagningspinne	8/8 [#]	7/7	3/3
Hög vaginal provtagningspinne	1/1	1/1	-

[#] 1 vaginal provtagningspinne exkluderades, eftersom den producerade ett ogiltigt resultat med satsen **ResistancePlus**® MG

¹ Urinprov från man: 1 *M. genitalium* 23S rRNA-mutant identifierades felaktigt som *M. genitalium* ej detekterat; 1 *M. genitalium* 23S rRNA-mutant identifierades felaktigt som *M. genitalium* detekterat, 23S-mutation ej detekterad

² Urinprov från kvinna: 1 felaktigt identifierat som *M. genitalium* detekterat, 23S rRNA-mutation detekterad

16.2 Analytisk prestanda

16.2.1 Reproducerbarhet och repeterbarhet

Reproducerbarhet och repeterbarhet för satsen **ResistancePlus**® MG på LC480 II bedömdes med användning av kvantifierad syntetisk mall för *M. genitalium* MgPa- och 23S rRNA-mål (A2058G, A2059G, A2058T och A2058C), vid 10 000 och 3x LOD-kopior per reaktion med användning av 6 replikat (om inte annat specificeras). Experiment utfördes på LC480 II.

För att bestämma variabilitet mellan partier testades två partier och kördes på en maskin av en operatör (**Tabell 32**). De två partierna uppvisade bra reproducerbarhet med en variationskoefficient (% CV) mellan 0,35 och 2,37 % för alla mål.

Tabell 32. Variabilitet mellan partier

	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	16,9	0,15	0,89	12/12
MgPa 30 kopior	25,5	0,52	2,05	12/12
A2058G 10 000 kopior	20,4	0,48	2,37	12/12
A2058G 36 kopior	27,8	0,43	1,54	12/12
A2059G 10 000 kopior	18,0	0,06	0,35	12/12
A2059G 30 kopior	25,6	0,50	1,94	12/12
A2058T 10 000 kopior	18,7	0,09	0,46	12/12
A2058T 30 kopior	26,2	0,30	1,14	12/12
A2058C 10 000 kopior	17,7	0,13	0,75	12/12
A2058C 30 kopior	25,4	0,29	1,15	12/12

För att bestämma variabilitet mellan dagar utfördes testning under tre dagar av en operatör på samma maskin (**Tabell 33**). De tre körningarna uppvisade bra reproducerbarhet mellan olika dagar med en variationskoefficient mellan 0,88 och 2,31 % för alla mål.

Tabell 33. Variabilitet mellan dagar				
	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	17,0	0,18	1,09	18/18
MgPa 30 kopior	25,6	0,59	2,31	18/18
A2058G 10 000 kopior	20,2	0,37	1,83	18/18
A2058G 36 kopior	27,9	0,51	1,84	18/18
A2059G 10 000 kopior	18,1	0,24	1,34	18/18
A2059G 30 kopior	25,7	0,32	1,23	18/18
A2058T 10 000 kopior	18,7	0,23	1,22	18/18
A2058T 30 kopior	26,3	0,31	1,17	18/18
A2058C 10 000 kopior	17,8	0,16	0,88	18/18
A2058C 30 kopior	25,5	0,31	1,22	18/18

För att bestämma variabilitet mellan körningar jämfördes tre qPCR-körningar under samma dag av samma operatör (**Tabell 34**). De tre körningarna uppvisade bra reproducerbarhet med en variationskoefficient mellan 0,40 och 3,20 % för alla mål.

Tabell 34. Variabilitet mellan körningar				
	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	17,0	0,07	0,40	18/18
MgPa 30 kopior	25,7	0,47	1,83	18/18
A2058G 10 000 kopior	19,8	0,63	3,20	18/18
A2058G 36 kopior	27,5	0,51	1,85	18/18
A2059G 10 000 kopior	18,4	0,11	0,61	18/18
A2059G 30 kopior	25,7	0,39	1,52	18/18
A2058T 10 000 kopior	18,7	0,22	1,18	18/18
A2058T 30 kopior	26,4	0,42	1,59	18/18
A2058C 10 000 kopior	17,8	0,08	0,46	18/18
A2058C 30 kopior	25,5	0,31	1,22	18/18

För att bestämma variabilitet mellan operatörer jämfördes två körningar av två operatörer (**Tabell 35**). De två körningarna av olika operatörer uppvisade bra reproducerbarhet med en variationskoefficient mellan 0,54 och 1,62 % för alla mål.

Tabell 35. Variabilitet mellan operatörer				
	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	16,8	0,12	0,73	12/12
MgPa 30 kopior	25,3	0,41	1,61	12/12
A2058G 10 000 kopior	20,2	0,24	1,21	12/12
A2058G 36 kopior	27,9	0,45	1,62	12/12
A2059G 10 000 kopior	17,9	0,10	0,58	12/12
A2059G 30 kopior	25,5	0,39	1,53	12/12
A2058T 10 000 kopior	18,6	0,10	0,54	12/12
A2058T 30 kopior	26,1	0,31	1,20	12/12
A2058C 10 000 kopior	17,7	0,13	0,71	12/12
A2058C 30 kopior	25,2	0,27	1,06	12/12

För att bestämma variabilitet mellan instrument jämfördes två körningar på två maskiner utförda av samma operatör (**Tabell 36**). Körningarna på olika instrument uppvisade bra reproducerbarhet med en variationskoefficient mellan 0,30 och 2,62 % för alla mål.

Tabell 36. Variabilitet mellan instrument				
	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	16,7	0,10	0,60	12/12
MgPa 30 kopior	25,4	0,67	2,62	12/12
A2058G 10 000 kopior	20,0	0,07	0,33	12/12
A2058G 36 kopior	27,8	0,51	1,82	12/12
A2059G 10 000 kopior	17,8	0,05	0,30	12/12
A2059G 30 kopior	25,3	0,36	1,41	12/12
A2058T 10 000 kopior	18,5	0,09	0,50	12/12
A2058T 30 kopior	25,9	0,30	1,16	12/12
A2058C 10 000 kopior	17,6	0,13	0,75	12/12
A2058C 30 kopior	25,3	0,36	1,44	12/12

För att bestämma variabilitet inom körningar jämfördes tre experiment med separat utförande av samma operatör med körning av varje mål på samma platta (**Tabell 37**). De tre experimenten uppvisade bra reproducerbarhet med en variationskoefficient mellan 0,57 och 3,12 % för alla mål.

Tabell 37. Variabilitet inom körningar				
	Genomsnittligt Cq	STDEV	%CV	Antal prover
MgPa 10 000 kopior	17,3	0,36	2,09	18/18
MgPa 30 kopior	25,9	0,81	3,12	18/18
A2058G 10 000 kopior	20,2	0,11	0,57	18/18
A2058G 36 kopior	28,0	0,65	2,31	18/18
A2059G 10 000 kopior	17,9	0,15	0,83	18/18
A2059G 30 kopior	25,8	0,38	1,46	18/18
A2058T 10 000 kopior	18,8	0,12	0,66	18/18
A2058T 30 kopior	26,8	0,38	1,41	18/18
A2058C 10 000 kopior	17,8	0,15	0,83	18/18
A2058C 30 kopior	25,5	0,36	1,41	18/18

16.2.2 Analytisk sensitivitet

Den analytiska sensitiviteten för satsen **ResistancePlus®** MG på LC480 II bestämdes genom att köra begränsade spädningsserier med användning av kvantifierad syntetisk mall för *M. genitalium* MgPa- och 23S rRNA-mål (A2058G, A2059G, A2058T och A2058C). Sensitiviteten för varje mål bestämdes som antalet kopior per reaktion med ≥ 95 % detektion som visas i **Tabell 38**.

Tabell 38. Analytisk sensitivitet	
	Analytisk sensitivitet (kopior/reaktion)
MgPa	10
A2058G	12
A2059G	10
A2058T	10
A2058C	10

16.2.3 Analytisk specificitet

Denna studie utfördes för att utvärdera satsen **ResistancePlus®** MG när icke-målorganismer förekommer vid höga koncentrationer. En panel utvärderades med 65 mikroorganismer (4 virus, 2 protozoer, 4 svampar och 55 bakterier), som representerar patogener eller flora som vanligtvis förekommer i urinvägarna eller som är nära relaterade till *M. genitalium*. Varje bakteriestam testades vid 1×10^6 genom/ml, om inte annat anges. Virusstammar testades vid 1×10^5 genom/ml, om inte annat anges. Alla andra organismer testades vid de angivna koncentrationerna. Alla organismer kvantifierades med qPCR, förutom de som kvantifierades som kolonibildande enheter (CFU) eller plackbildande enheter (PFU) (**Tabell 39**). Alla mikroorganismer testades i triplikat. Alla mikroorganismer späddes i en negativ klinisk matris (antingen urinprov eller vaginalprov).

Resultat anger att ingen av dessa organismer uppvisade falskt positiva resultat i *M. genitalium*-negativa matriser (**Tabell 39**).

En *in silico*-analys utfördes även för att utvärdera om oligonukleotiderna i analysen **ResistancePlus®** MG kunde amplifiera och detektera nukleinsyrasekvenser från icke-målorganismer tillgängliga i BLAST. Inga signifikanta interaktioner detekterades.

Tabell 39. Mikroorganismer testade för analytisk specificitet

Organism	Koncentration (genom/ml)	Organism	Koncentration (genom/ml)	Organism	Koncentration (genom/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-typ 18 (HeLa-celler) [^]	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		

* Siffror inom parentes betecknar antalet testade stammar.

[^] Kvantifierad som PFU/ml.

[#] Kvantifierad som CFU/ml.

16.2.4 Potentiellt interfererande substanser

En studie om interfererande substanser utfördes för att undersöka om substanser eller tillstånd som kan förekomma i urinprover eller vaginalprover kan påverka prestandan för analysen **ResistancePlus**® MG. Panelen bestod av endogena substanser, t.ex. blod, mucin och leukocyter, och läkemedel (receptbelagda och receptfria) som skulle kunna användas för att behandla tillstånd i urinvägarna. Alla substanser utvärderades genom prestanda för den interna kontrollen som övervakar extraktion och qPCR-hämning. Alla testprover testades i tripplikat. Substanser späddes i en negativ klinisk matris (antingen urinprov eller vaginalprov) enligt vad som är lämpligt.

Resultat angav att ingen av substanserna och tillstånden interfererade med detektion av den interna kontrollen eller gav falskt positiva resultat.

Resultat sammanfattas i **Tabell 40** och **Tabell 41**.

Tabell 40. Potentiellt interfererande substanser i urinprover

Klass/substans	Produktnamn	Testkoncentration
Helblod	--	1 volymprocent
Sädesvätska	--	5,0 volymprocent
Slem	Mucin	0,8 viktprocent
Antibiotika	Azitromycin	1,8 mg/ml
	Doxycyklin	3,6 mg/ml
Analgetika	Aspirin	40 mg/ml
	Paracetamol	3,2 mg/ml
Intravaginella hormoner	--	7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-östradiol
Leukocyter	--	10 ⁵ celler/ml
Albumin	Bovint serumalbumin	10 mg/ml
Glukos	--	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

Tabell 41. Potentiellt interfererande substanser i vaginalprover

Klass/substans	Produktnamn	Testkoncentration
Blod	--	60 volymprocent
Sädesvätska	--	5,0 volymprocent
Slem	Mucin	0,8 viktprocent
Receptfria vaginalprodukter och preventivmedel	Vagisil Anti-Itch Crème (1.0 oz)	0,25 viktprocent
	K-Y Jelly (4.0 oz)	0,25 viktprocent
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel	0,25 viktprocent
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1.5 oz)	0,25 viktprocent
	Vagisil Sensitive Skin Formula Maximum Strength Anti-Itch Creme with Oatmeal (1.0 oz)	0,25 viktprocent
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0.2 oz x 8 pack)	0,25 viktprocent
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,25 viktprocent
	Summer's Eve Medicated Douche	0,25 volymprocent
Deodoranter och pulver	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25 volymprocent
Hemorroidkräm	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25 viktprocent
Receptbelagda läkemedel	Metronidazole Vaginal Gel, 0.75%	0,25 viktprocent

Tabell 41. Potentiellt interfererande substanser i vaginalprover

Klass/substans	Produktnamn	Testkoncentration
	Estrace® (vaginalkräm med östradiol, USP 0,01 %)	0,25 viktprocent
Leukocyter	--	10 ⁵ celler/mL
Intravaginella hormoner	--	7 mg/ml progesteron + 0,07 mg/ml beta-östradiol

16.2.5 Korsreaktivitet med andra 23S rRNA-mutationer

Korsreaktivitet för satsen **ResistancePlus**® MG bedömdes med användning av kvantifierad syntetisk mall för *M. genitalium* MgPa- och 23S rRNA-mål (A2059C) vid 10 000 och 45 kopior per reaktion. Resultaten påvisade att testet **ResistancePlus**® MG korsreagerar med *M. genitalium* A2059C 23S rRNA-mål med en träfffrekvens på 100 %.

17 Kundtjänst och teknisk service

Kontakta teknisk service för frågor om reaktionsinställning, cykliska förhållanden och annat.

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

18 Referenser

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. Kapitel 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 Bilaga 1: LightCycler® 480 Instrument II

Följande information är baserad på programvaran LightCycler® 480 (version 1.5).

ResistancePlus® MG-kittet innehåller färgämnen för LightCycler® 480 Instrument II. **PlexPCR®** Colour Compensation-kit (kat. nr. 90001) måste köras och tillämpas för LC480 II-analys (se **avsnitt 19.2**). Detta kit kan erhållas på begäran.

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

Detection Format (Detektionsformat)

Skapa ett anpassat **Detection Format (Detektionsformat)**

Öppna **Tools (Verktyg) > Detection Formats (Detektionsformat)**

Skapa ett nytt detektionsformat och ge det namnet '**SpeedX PlexPCR**' (kan skapas när filen för SpeedX färgkompensation skapas) (Se **figur 3**)

För **Filter Combination Selection (Val av filterkombination)**, välj följande (Excitation-Emission) som visas i **tabell 42**.

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

[^] Dessa filterkombinationer är standardnamnen för kanalerna

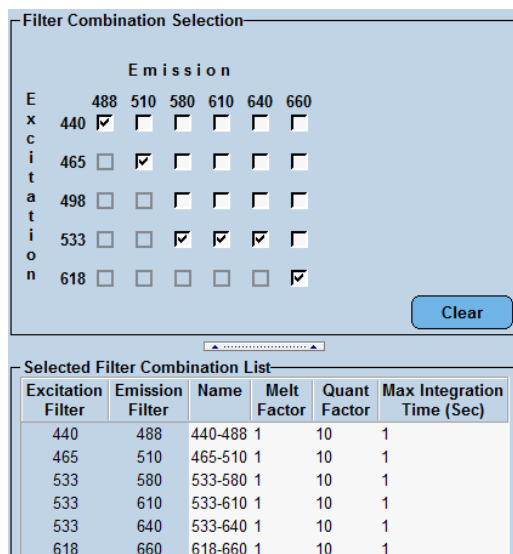
Ställ in **Selected Filter Combination List (Vald filterkombinationslista)** för alla kanaler enligt följande:

Melt Factor (Smältfaktor): 1

Quant Factor (Kvantfaktor): 10

Max Integration Time (sec) (Max. integrationstid (s)): 1

Figur 3. Anpassa 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

Instrument Settings (Instrumentinställningar)

Skapa ett anpassat **Detection Format (Detektionsformat)**

Öppna **Tools (Verktyg) > Instruments (Instrument)**

Under **Instrument Settings (Instrumentinställningar) > välj Barcode Enabled (Streckkodsaktiverad)**

Experiment setup (Konfigurera experiment)

Välj **New Experiment (Nytt experiment)**

Under fliken **Run Protocol (Kör protokoll)**

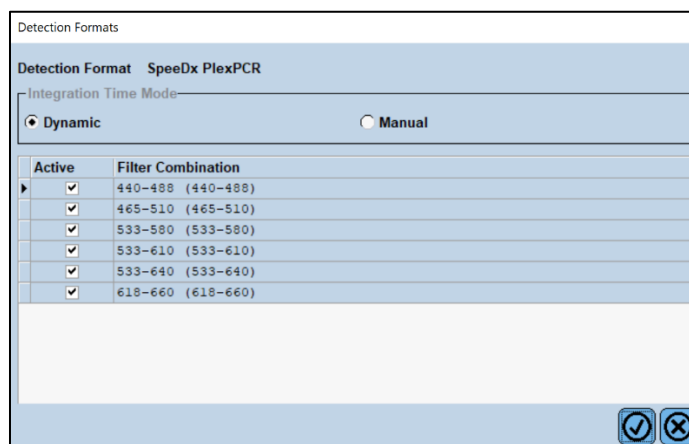
För **Detection Format (Detektionsformat)** välj det anpassade formatet '**SpeedX PlexPCR**' (figur 4)

Välj **Customize (Anpassa)** >

Välj **Integration Time Mode (Integrationstidläge)** > **Dynamic (Dynamiskt)**

Välj alla aktiva **Filter Combinations (Filterkombinationer)** som visas i **figur 4**.

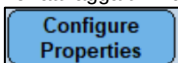
Figur 4. Anpassa detektionsformat



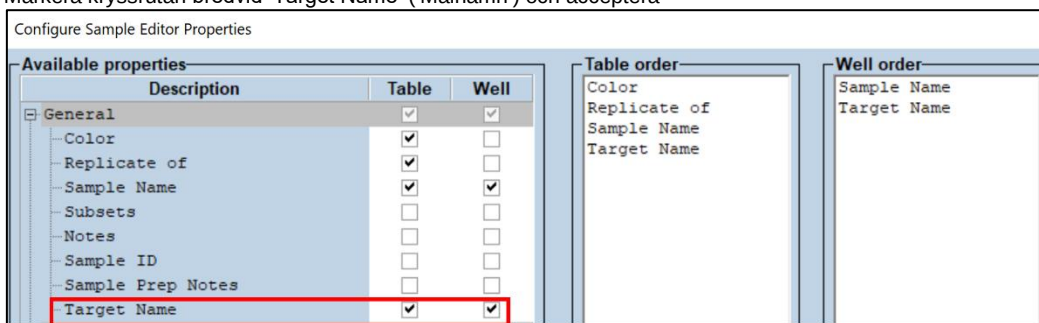
Tilldela etiketter till brunnarna på plattan för att aktivera automatisk provdetektion i analysprogrammet

Öppna modulen **Sample Editor (Provredigerare)**

För att lägga till målnamn, välj **Configure Properties (Konfigurera egenskaper)**



Markera kryssrutan bredvid 'Target Name' ('Målnamn') och acceptera



Redigera **Target Name (Målnamn)** för varje kanal så att det överensstämmer med **målinstrumentreferensen** som definierats i menyn Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser) i analysprogramvaran och som visas i **Tabell 43**.

Tabell 43. Kanaler för *ResistancePlus*® MG-mål

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

För att tilldela etiketter, välj brunn

Redigera **Sample Name (Provnamn)** så att det överensstämmer med etiketten som definierats i menyn Lab Configuration (Labkonfiguration) > Assays (Analyser) i analysprogramvaran (se **avsnitt 23.3**)

Prover ska märkas med etikett-prefix. Standardetiketter finns tillgängliga för reaktionskontrollerna (som visas i **tabell 44** och **figur 5**). Ytterligare etiketter kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran.

Obs: Provetiketterna är skiftlägeskänsliga. Etiketten måste överensstämja exakt med den tilldelade i körfilen.

Tabell 44. Provetiketter för analysprogramvara	
Provtyp	Standardprefix (i analysprogramvaran)
Vanligt prov	Ingen standard – definieras av användaren
Negativ kontroll	NC
Kontroll utan mall	NTC
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-mutanttyp) (Pa)	Pa
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-vildtyp) (Pb)	Pb

Figur 5. Provredigerare – Tilldela etiketter till brunnar

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

Ställ in **Reaction Volume (Reaktionsvolym)** > 20 µL

Skapa följande program som visas i **tabell 45** (visas mer detaljerat i **figur 6 – figur 9**):

Tabell 45. Termocyklingsprogram				
Program name (Programnamn)	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-C)	Hold (Pausad)	Ramp rate (Ramphastighet) (°C/s)*
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min	4,4
Touch down cycling (Nedåtgående cykling) ⁵ : Step down (Gå ned) -0,5 °C/cykel	10	95 °C	5 s	4,4
		61 °C–56,5 °C ⁵	30 s	2,2
Quantification cycling (Kvantifieringscykling)*: Acquisition/Detection (Insamling/detektering)	40	95 °C	5 s	4,4
		52 °C*	40 s	2,2
Cooling (Kylning)	1	40 °C	30 s	2,2

* Standardramphastighet (96-brunnsplatta)

⁵ **Stegstorlek:** -0,5 °C/cykel, **S-mål:** 56 °C

* **Analysläge:** kvantifiering, **Insamlingsläge:** enkelt

Figur 6. Termocyklingsprogram – Polymerasaktivering

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

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

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

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

Color Comp ID Lot No Test ID

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

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. Termocyklingsprogram – Nedåtgående cykling

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

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

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

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

Color Comp ID Lot No Test ID

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

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	66	0.5	0	0

Figur 8. Termocyklingsprogram – Kvantifiseringscykling

LightCycler® 480 Software release 1.5.1.62 SP2

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

Window: New Experiment

Run Protocol Data Run Notes

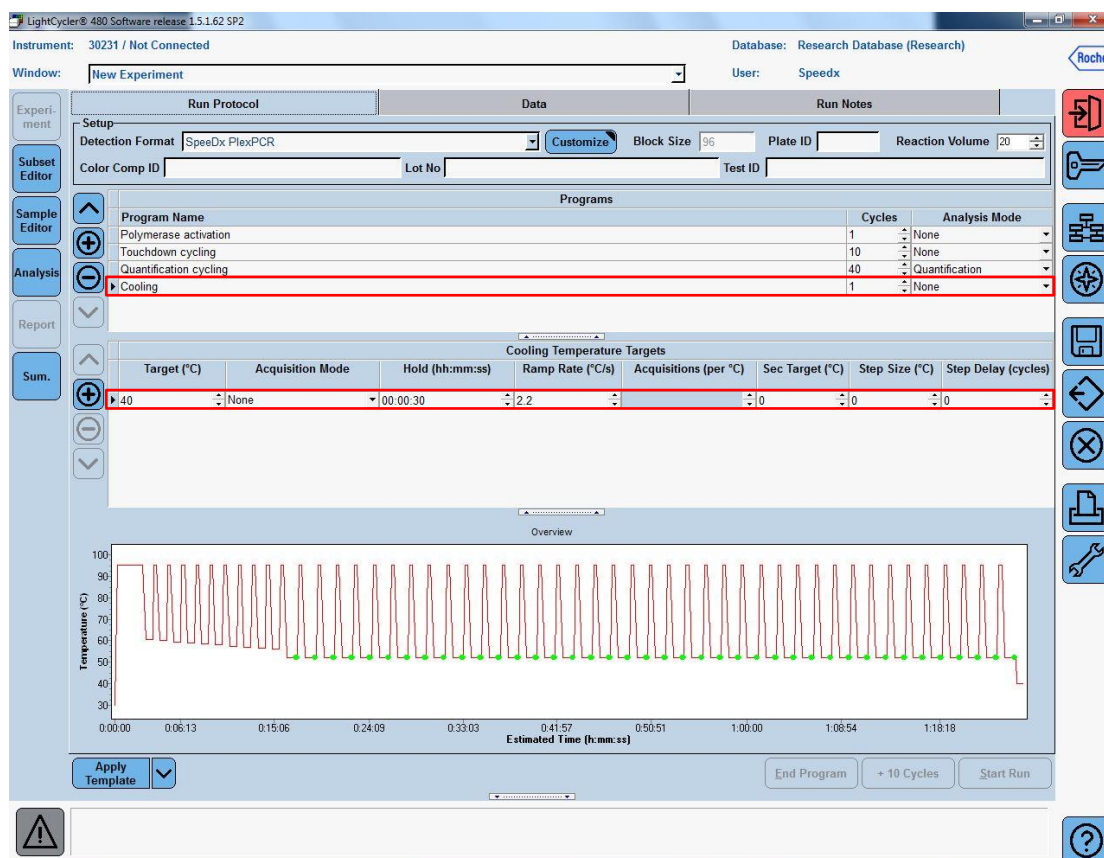
Setup Detection Format SpeedX PlexPCR Customize Block Size 96 Plate ID Reaction Volume 20

Color Comp ID Lot No Test ID

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

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

Figur 9. Termocyklingsprogram – Kylning



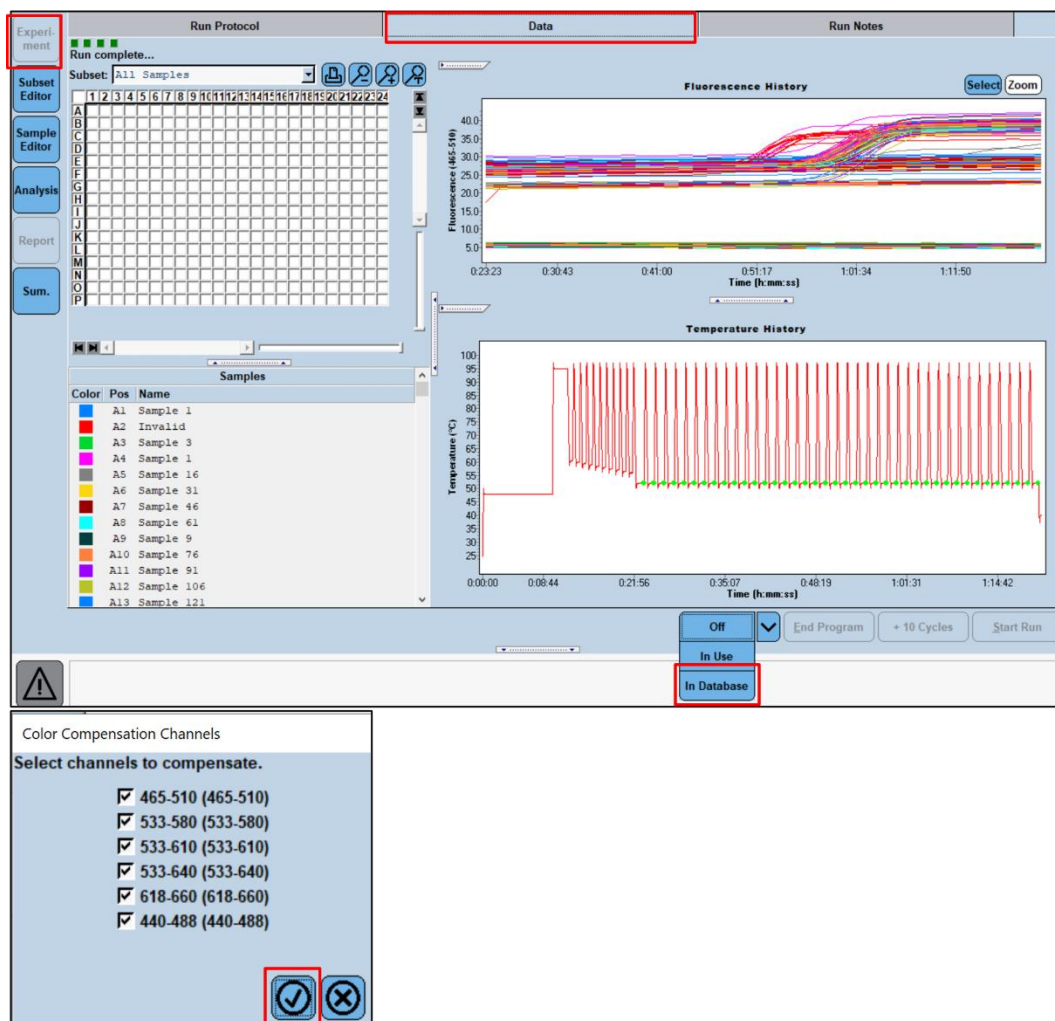
> Start Run (Starta körning)

När cyklingsprogrammet har avslutats, lägg CC-objektet till körfilen såsom visas i **figur 10** och exportera en .ixo-fil för analys i analysprogramvaran **ResistancePlus® MG**. För instruktioner om hur CC-objektet ska skapas och lagras i databasen för programvaran LightCycler 480, se **avsnitt 19.2**.

Välj **Experiment (Experiment) > Data (Data)**

Klicka på rullgardinsmenyn bredvid **Colour Comp (Off) (Färgkompensation (Av))** och välj **In Database (I databas)**

Figur 10. Lägga CC-objektet till körflen



Välj lämpligt CC-objekt, kontrollera att alla kanaler är markerade och välj kryssikonen



Välj ikonen **Save (Spara)**



Välj ikonen **Export (Exportera)**



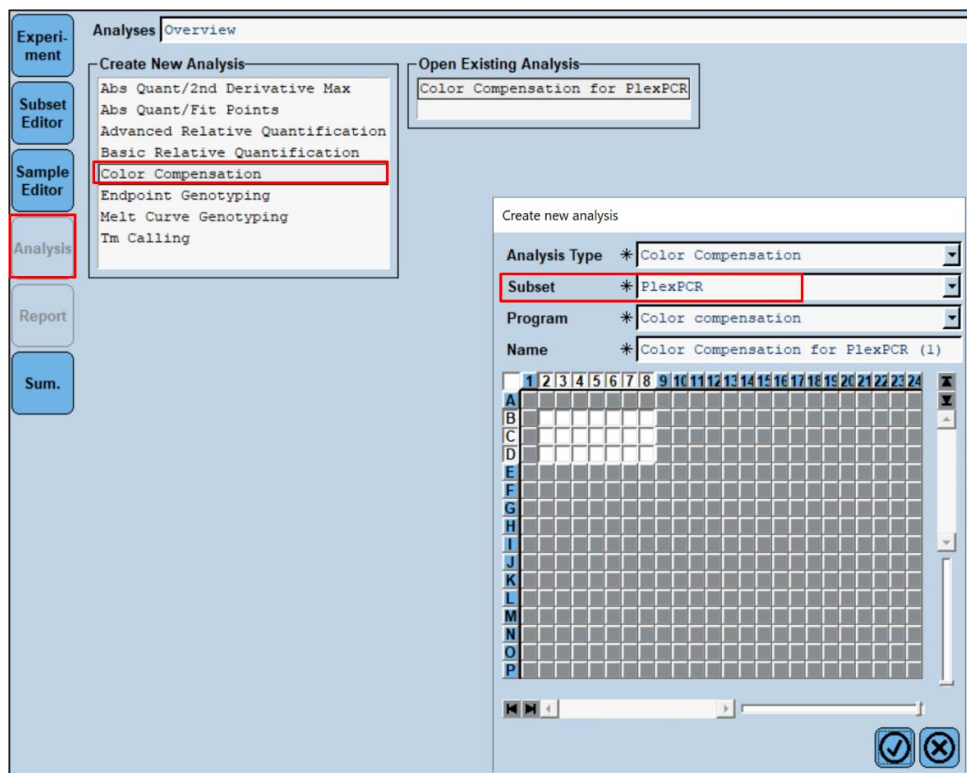
Spara på en lätt identifierbar plats

19.2 Colour Compensation (Färgkompensation) för LightCycler® 480 Instrument II

OBS: *PlexPCR*® Colour Compensation-kit (kat. nr. 90001) måste köras och tillämpas för LC480 II-analys. Detta kit kan erhållas på begäran.

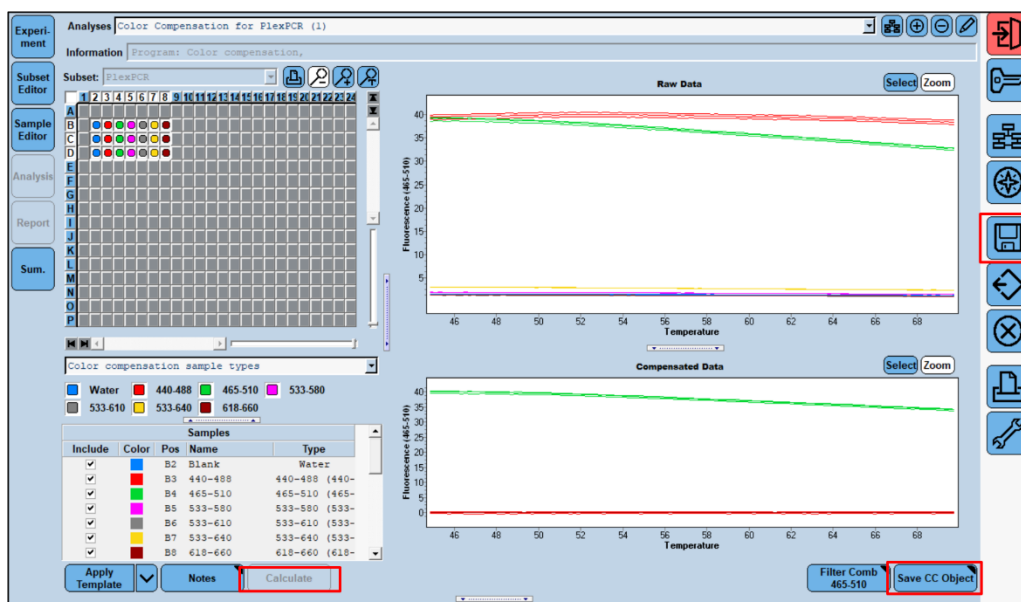
Analysera filen för färgkompensation via **Analysis (Analys) > Colour Compensation (Färgkompensation)** och välj korrekt subset (underenhet) som visas i **figur 11**.

Figur 11. Analys – Färgkompensation



Välj Calculate (Beräkna) (Figur 12)

Figur 12. Beräkna och spara CC-objekt



För att säkerställa att filen för färgkompensation har skapats korrekt, se bruksanvisningen för PlexPCR Colour Compensation (IF-IV0001).

Välj **Save (Spara)**

19.3 Tolkning av resultat

ResistancePlus[®] MG (LC480)-analysprogramvaran krävs för tolkning av data. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 23** för instruktioner om hur man använder **ResistancePlus[®]** MG (LC480)-analysprogramvaran.

20 Bilaga 2: Applied Biosystems® 7500 Fast

Följande information baseras på 7500 programvara v2.3.

ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎-kittet innehåller färger för Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Standardfärgkalibreringar används för alla kanaler. Anpassad kalibrering krävs inte.

20.1 Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast

Välj **Advanced Setup (Avancerad konfiguration)**

I **Setup (Konfiguration)** > öppna **Experiment Properties (Experimentegenskaper)** och välj följande

Name the experiment (Namnge experimentet)

Instrument > 7500 Fast (96 Wells) (7500 Fast (96 brunnar))

Type of experiment (Typ av experiment) > Quantitation – Standard Curve (Kvantifiering – standardkurva)

Reagents (Reagenser) > Other (Övriga)

Ramp Speed (Ramphastighet) > Standard

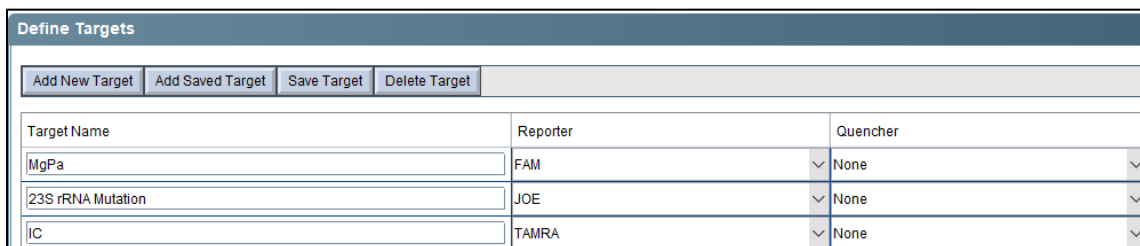
Under **Setup (Konfiguration)** > öppna **Plate Setup (Plattinställningar)**

Under fliken **Define Targets and Samples (Definiera mål och prover)** >

Define Targets (Definiera mål) såsom visas nedan i **Tabell** och **figur 13** (define colours as required) (definiera färg såsom behövs)

Tabell 46. Definiera mål		
Målnamn	Reporter	Quencher
MgPa	FAM	Ingen
23S rRNA mutation	JOE	Ingen
IC	TAMRA	Ingen

Figur 13. Definiera mål och prover



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

Define Targets (Definiera mål) (define colours as required) (definiera färg såsom behövs)

För att möjliggöra automatisk provdetektion i analysprogramvaran måste Target Name (Målnamn) (visas i **tabell 46**) överensstämma med Target Instrument Reference (Målinstrumentreferens) som definieras i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration)** > **Assays (Analyser)** i analysprogramvaran

Dessutom måste provetiketter tilldelas till brunnarna på plattan

Under **Setup (Konfiguration)** > öppna **Plate Setup (Plattinställningar)**

Under fliken **Define Targets and Samples (Definiera mål och prover)** >

Define Samples (Definiera prover)

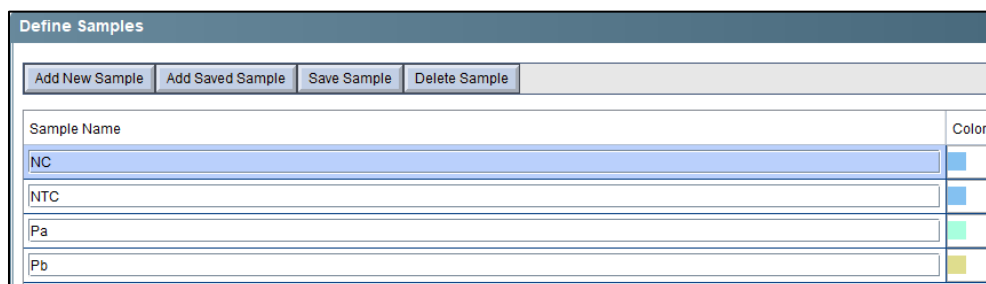
Redigera **Sample Name** (Provnamn) så att det överensstämmer med etiketten som definierats i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser)** i analysprogramvaran (avsnitt 23.3).

Prover ska märkas med etikett-prefix. Standardetiketter finns tillgängliga för reaktionskontrollerna (såsom visas i **tabell 47** och **figur 14**). Ytterligare etiketter kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran.

Obs: Provetiketterna är skiftlägeskänsliga. Etiketten måste överensstämma exakt med den tilldelade i körfilen.

Tabell 47. Provetiketter för analysprogramvara	
Provtyp	Standardprefix (i analysprogramvaran)
Vanligt prov	Ingen standard – definieras av användaren
Negativ kontroll	NC
Kontroll utan mall	NTC
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-mutanttyp) (Pa)	Pa
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-vildtyp) (Pb)	Pb

Figur 14. Provredigerare – tilldela etiketter till brunnar



Under fliken **Assign Targets and Samples (Tilldela mål och prover) >**

Välj brunnar och tilldela mål och prover till de valda brunnarna

Välj **Passive reference (Passiv referens) > None (Ingen)**

Under **Setup (Konfiguration) > öppna Run Method (Körningsmetod)**

Ställ in **Reaction Volume Per Well (Reaktionsvolym per brunn) > 20 µL**

Skapa följande program som visas i **tabell 48** (visas mer detaljerat i grafisk vy (**figur 15** och **figur 16**) och i tabellvy (**figur 17**):

Tabell 48. Termocyklingsprogram

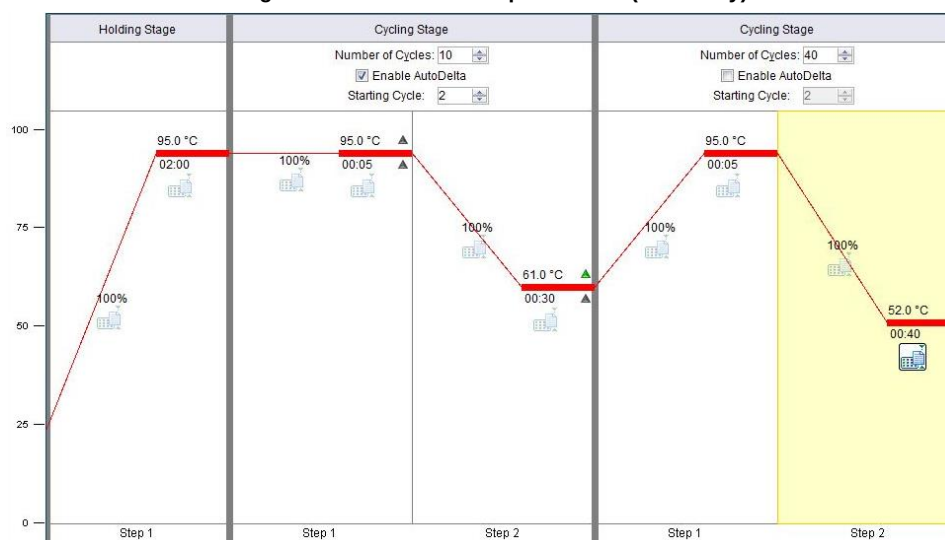
Program name (Programnamn)	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-C)	Hold (Pausad)	Ramp*
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min	100 %
Touch down cycling (Nedåtgående cykling): Step down (Gå ned) -0,5 °C/cykel ^δ	10	95 °C	5 s	100 %
		61 °C–56,5 °C ^δ	30 s	100 %
Quantification cycling (Kvantifieringscykling) ⁺ : Acquisition/Detection (Insamling/detektering)	40	95 °C	5 s	100 %
		52 °C ⁺	40 s	100 %

* Standard ramphastighet

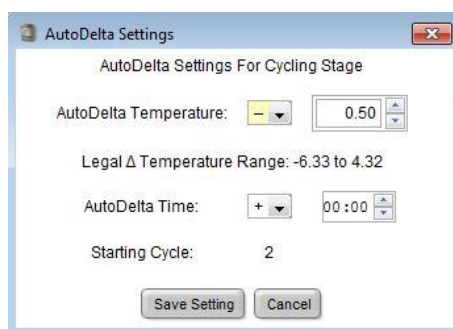
δ Enable AutoDelta (Aktivera AutoDelta): -0,5 °C/cykel

+ Samla in data pausad

Figur 15. Kör metod – Graphical View (Grafisk vy)



Figur 16. Kör metod – Graphical View (Grafisk vy) – Enable AutoDelta (Aktivera AutoDelta)



Figur 17. Kör metod – Tabular View (Tabellvy)

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

I **Setup (Konfiguration)** > öppna **Run Method (Kör metod)**

Välj **Start Run (Starta körning)**

20.2 Tolkning av resultat

ResistancePlus® MG (7500)-analysprogramvaran krävs för tolkning av data. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 23** för instruktioner om hur man använder **ResistancePlus®** MG (7500)-analysprogramvaran.

21 Bilaga 3: Applied Biosystems 7500 Fast Dx

Följande information baseras på SDS-programvara v1.4.1 för 7500 Fast Dx.

ResistancePlus® MG₍₅₅₀₎ -kittet innehåller färger för Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast Dx. Standardfärgkalibreringar används för alla kanaler. Anpassad kalibrering krävs inte.

21.1 Programmering av Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Välj Create New Document (Skapa nytt dokument)

I **New Document Wizard (Guide för nytt dokument)**, välj följande (**Figur 18**):

Assay (Analys) > Standard Curve (Absolute Quantification) (Standardkurva (absolut kvantifiering))

Container (Behållare) > 96-Well Clear (96-brunn klar)

Template (Mall) > Blank document (Tomt dokument)

Run mode (Körläge) > Standard 7500

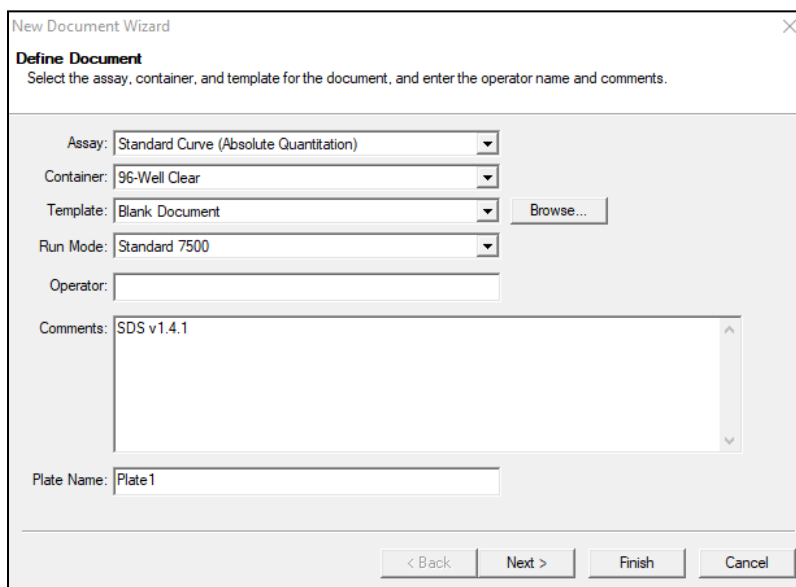
Operator (Användare) > Ange användarens namn

Comments (Kommentarer) > Ange eventuella kommentarer eller anteckningar för körfilen

Plate Name (Plattnamn) > Ge körfilen ett unikt namn

Välj **Next (Nästa)**

Figur 18. Fönstret New Document Wizard (Guide för nytt dokument)



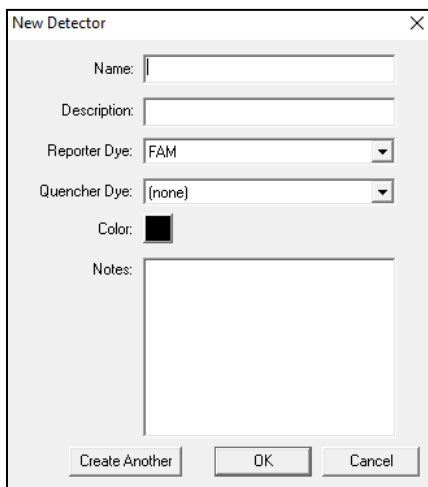
I **Select Detectors (Välj detektorer)** > välj **New Detector (Ny detektor)**

Definiera detektorer enligt nedan (definiera färger vid behov) (så som visas i **Tabell 49** och **Figur 19**)

Tabell 49. Definiera detektorer			
Detektorer	Detektornamn	Rapporterarfärg	Quencher
Detektor 1	MgPa	FAM	None (ingen)
Detektor 2	23S rRNA mutation	JOE	None (ingen)
Detektor 3	IC	TAMRA	None (ingen)

Välj **OK**

Figur 19. Fönstret Ny detektor



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

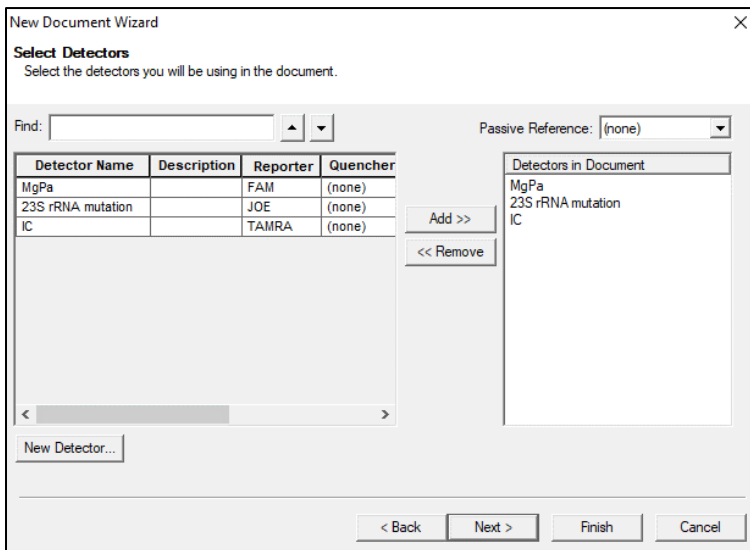
- Name:
- Description:
- Reporter Dye:
- Quencher Dye:
- Color:
- Notes:
- Buttons: Create Another, OK, Cancel

Välj detektorer (Figur 20)

Välj detektorer och klicka på **Add (Lägg till)** för att lägga till dem i dokumentet

Välj **Passive reference (Passiv referens) > None (Ingen)**

Figur 20. Fönstret Select Detectors (Välj detektorer)



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

- Find:
- Passive Reference:
- Table with columns: Detector Name, Description, Reporter, Quencher
- Buttons: Add >>, << Remove
- Detectors in Document list
- Buttons: < Back, Next >, Finish, Cancel

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

I Set Up (Konfigurera) provplatta >

Välj brunnar och tilldela 3 detektorer till de valda brunnarna

- MgPa
- 23S rRNA mutation
- IC

Välj Next (Nästa)

För att möjliggöra automatisk provdetektion i analysprogramvaran måste Detector Name (Detektionsnamn) (visas i **tabell 49**) överensstämma med Target Instrument Reference (Målinstrumentreferens) som definieras i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser)** i analysprogramvaran

Dessutom måste provetiketter tilldelas till brunnarna på plattan

Under **Setup (Konfiguration) > öppna Plate Setup (Plattinställningar)**

Redigera **Sample Name (Provnamn)** så att det överensstämmer med etiketten som definieras i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser)** i analysprogramvaran (se **avsnitt 23.3**)

Prover ska märkas med etikett-prefix. Standardetiketter finns tillgängliga för reaktionskontroller (såsom visas i **Tabell 50**) Ytterligare etiketter kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran.

Obs: Provetiketterna är skiftlägeskänsliga. Etiketten måste överensstämma exakt med de tilldelade i körfilen.

Tabell 50. Provetiketter för analysprogramvara	
Provtyp	Standardprefix_ (i analysprogramvaran)
Vanligt prov	Ingen standard – definieras av användare
Negativ kontroll	NC
Kontroll utan mall	NTC
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-mutanttyp) (Pa)	Pa
Positive control (MG, 23S rRNA-vildtyp) (Pb)	Pb

På fliken **Instrument**

I rutan **Settings (Inställningar)**

För **Sample Volume (Provvolum) (µL)**: ange 20 µL

Skapa följande termocyklingsprotokoll (**Tabell 51, Figur 21 och Figur 22**)

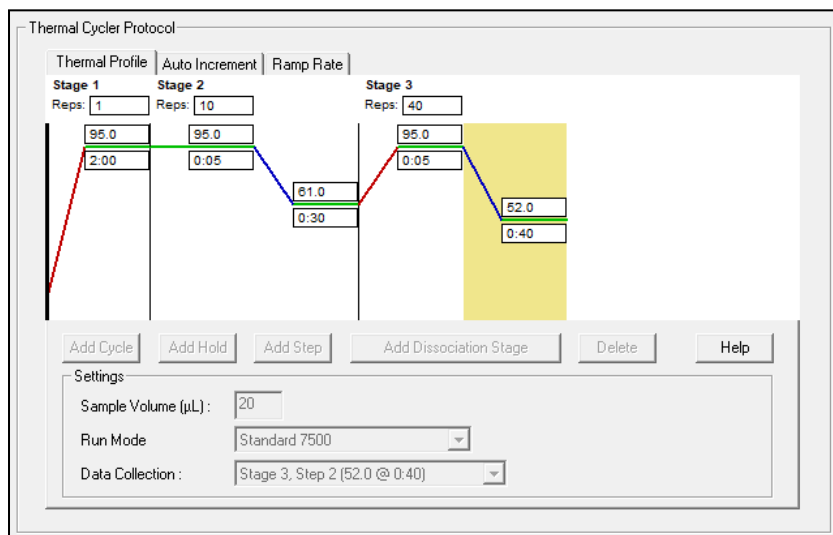
Tabell 51. Termocyklingsprotokoll				
Program name (Programnamn)	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-C)	Hold (Pausad)	Ramp [‡]
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min	100 %
Touch down cycling (Nedåtgående cykling): Step down (Gå ned) -0,5 °C/cykel [§]	10	95 °C	5 s	100 %
		61 °C–56,5 °C [§]	30 s	100 %
Quantification cycling (Kvantifieringscykling)*: Acquisition/Detection (Insamling/detektering)	40	95 °C	5 s	100 %
		52 °C ⁺	40 s	100 %

[‡] Standard ramphastighet

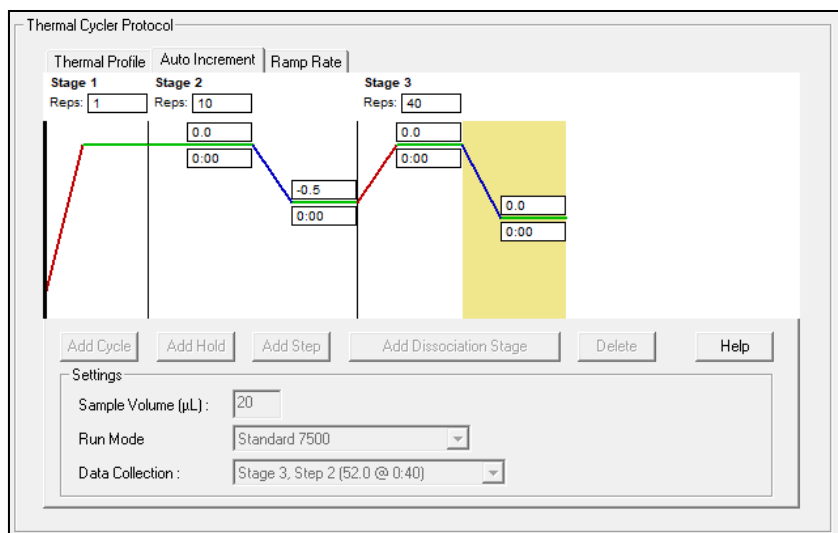
[§] (Aktivera AutoDelta): -0,5 °C/cykel

⁺ Samla in data pausad

Figur 21. Termocyklingsprotokoll – Termoprofil



Figur 22. Termocyklingsprotokoll – Automatisk ökning



21.2 Tolkning av resultat

ResistancePlus® MG (7500)-analysprogramvaran krävs för tolkning av data. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 23** för instruktioner om hur man använder **ResistancePlus**® MG (7500)-analysprogramvaran.

22 Bilaga 4: Bio-Rad CFX96™ Dx och CFX96 Touch™ Real-Time PCR System

Den följande informationen baseras på Bio-Rad CFX Manager v3.1

The **ResistancePlus®** MG₍₆₇₅₎-kittet innehåller färger för CFX96 Real-Time PCR System. Standardfärgkalibreringar används för alla kanaler. Anpassad kalibrering krävs inte.

22.1 Programming the CFX96™ Dx och CFX96 Touch™ Real-time PCR System

Välj **View (Vy)** > öppna **Run Setup (Körkonfiguration)**

I fiiken **Run Setup (Körkonfiguration)** > **Protocol (Protokoll)** > Välj **Create New (Skapa nytt)**

I **Protocol Editor (Protokollredigerare)** (se: Figur 23):

Ställ in **Sample Volume (Provvolyum)** > 20 µL

Skapa följande termocyklingsprogram (**Tabell 52**) och spara som "**SpeedX PCR**". Detta protokoll kan väljas för framtida körningar.

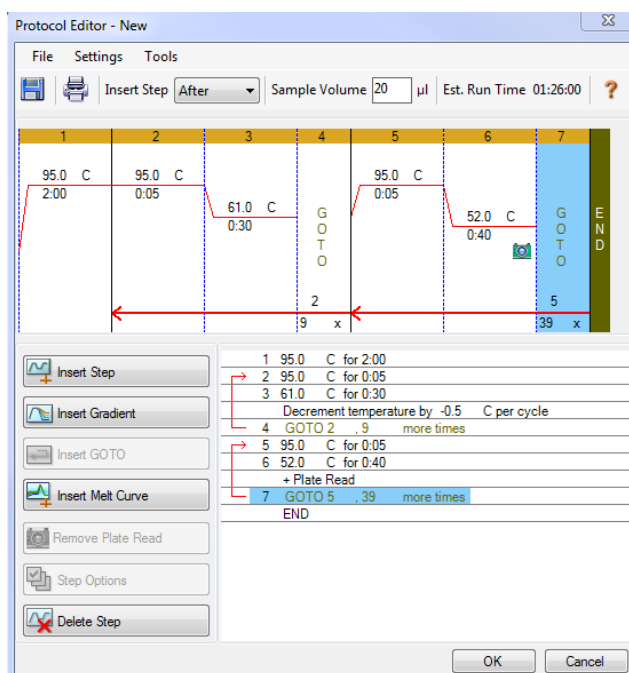
For Touch down cycling (Nedåtgående cykling) väljer du steg 3 och därefter **Step options (Stegalternativ)** > Increment (Ökning): -0.5 °C/cykel (visas mer detaljerat i **Figur 24**)

Tabell 52. Termocyklingsprogram			
Program name (Programnamn)	Cycles (cykler)	Target °C (Mål-C)	Hold (Pausad)
Polymerase activation (Polymerasaktivering)	1	95 °C	2 min
Touch down cycling (Nedåtgående cykling) ^δ :	10	95 °C	5 s
Step down (Gå ned) -0,5 °C/cykel		61 °C–56,5 °C ^δ	30 s
Quantification cycling (Kvantifieringscykling) ⁺ : Acquisition/Detection (Insamling/detektering)	40	95 °C	5 s
		52 °C ⁺	40 s

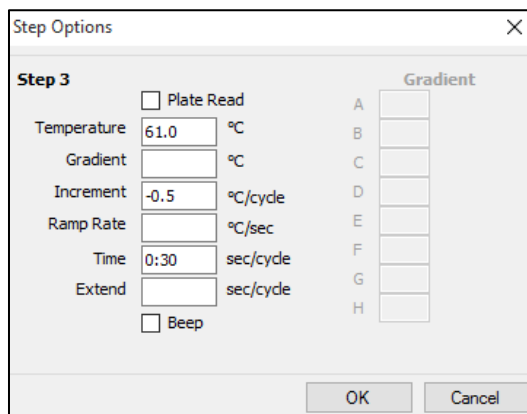
^δ **Step options (Stegalternativ)** > Ökning: -0,5 °C/cykel

⁺ **Lägg till plattavläsning till steg**

Figur 23. Thermocycling Protocol (Termocykelprotokoll) – Graphical view (Grafisk vy)



Figur 24. Step Options (Stegalternativ)



I fliken **Run Setup (Körkonfiguration)** > **Plate (Platta)**

Välj **Create New (Skapa ny)**

Välj **Settings (Inställningar)** > **Plate Type (Platttyp)** > välj **BR Clear (BR klar)**

Ställ in **Scan mode (Skanningsläge)** > All channels (Alla kanaler)

Välj **Fluorophores (Fluoroforer)** > FAM, HEX, Quasar 705 (se **Tabell 53**)

Välj brunnar som innehåller prover och tilldela **Sample Type (Provtyp)** och kontrollera **Load (Ladda)** avseende fluoroforer (FAM, HEX, Quasar 705)

Save plate (Spara platta)

Tabell 53. Kanaler för <i>ResistancePlus</i> ® MG ₍₆₇₅₎ -mål		
MgPa	23S	IC
FAM	HEX	Quasar 705

På fliken **Run Setup (Körkonfiguration)** > **Start Run (Starta körning)**

Välj block

Start Run (Starta körning)

För att möjliggöra automatisk provdetektion i analysprogramvaran måste Target Name (Målnamn) och kanal (såsom visas i **tabell 53**) överensstämma med Target Instrument Reference (Målinstrumentreferens) som definieras i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration)** > **Assays (Analyser)** i analysprogramvaran

Dessutom måste provetiketter tilldelas till brunnarna på plattan

Öppna modulen **Plate Setup (Plattinställningar)**

Välj brunn

Redigera **Sample Name (Provnamn)** så att det överensstämmer med etiketten som definierats i modulen **Lab Configuration (Labbkonfiguration)** > **Assays (Analyser)** i analysprogramvaran (se **avsnitt 23.3**)

Prover ska märkas med etikett-prefix. Standardetiketter finns tillgängliga för reaktionskontrollerna (såsom visas i **tabell 54** och **figur 25**). Ytterligare etiketter kan definieras för både vanliga prover och kontroller i analysprogramvaran.

OBS: Provetiketterna är skiftlägeskänsliga. Etiketten måste överensstämma exakt med de tilldelade i körfilen.

Tabell 54. Provetiketter för analysprogramvara	
Provtyp	Standardprefix_ (i analysprogramvaran)
Vanligt prov	Ingen standard – definieras av användare
Negativ kontroll	NC
Kontroll utan mall	NTC
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-mutanttyp) (Pa)	Pa
Positiv kontroll (MG, 23S rRNA-vildtyp) (Pb)	Pb

Figur 25. Provredigerare – Tilldela etiketter till brunnar

	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 Tolkning av resultat

ResistancePlus® MG (CFX)-analysprogramvaran krävs för tolkning av data. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Se **avsnitt 23** för instruktioner om hur du använder **ResistancePlus®** MG (CFX)-analysprogramvaran.

23 Bilaga A: Tolkning av resultat

ResistancePlus® MG-analysprogramvaran krävs för tolkning av data. Även om **PlexPrime®**-primrar erbjuder högre specificitet än andra allelspecifika primrar, kan viss icke-specifik amplifikation från 23S rRNA-mutantanalysen ses i prover som innehåller höga koncentrationer av *M. genitalium* vildtyp 23S rRNA. **ResistancePlus®** MG-analysprogramvaran tolkar data från amplifieringsresultat automatiskt och effektiviserar arbetsflödet.

Se **Tabell 55** för lämplig analysprogramvara för varje realtids-PCR-instrument. Analysprogramvaran kan erhållas på begäran. Kontakta tech@speedx.com.au för mer information.

Tabell 55. ResistancePlus® MG-analysprogramvara		
Kat.nr	Analysprogramvara*	Realtids-PCR-instrument
99003	ResistancePlus® MG (LC480)	LC480 II
99002	ResistancePlus® MG (7500)	7500 Fast och 7500 Fast Dx
99008	ResistancePlus® MG (CFX)	CFX96 Dx och CFX96 Touch

* Se webbplatsen <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> för att kontrollera att du använder den senaste versionen av analysprogramvaran

OBS! Följ standardiserad laboratoriepraxis för överföring, rapportering och förvaring av resultat för att förhindra förlust av provresultat.

23.1 FastFinder-plattform – Minimikrav för IT

Analysprogramvaran är tillgänglig i FastFinder-plattformen (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Det rekommenderas att programvaruplattformen öppnas från ett säkert och tillförlitligt nätverk och en säker dator. Minimikraven för IT för åtkomst till och användning av FastFinder-plattformen listas nedan.

Hårdvarukrav

Internetanslutning Kabel eller DSL

Minsta skärmapplösning: 1366x768 pixlar, optimalt 1920x1080 pixlar eller högre

Webbläsare som stöds

- Microsoft Edge 88 eller senare
- Firefox 83 eller senare
- Google Chrome 88 eller senare.

Brandväggskrav

Följande värdar måste vara nåbara över HTTPS (port 443):

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

*.analysis.windows.net

*.pbideldicated.windows.net

*.content.powerapps.com

Om det krävs måste brandväggsundantag konfigureras för dessa värdar. För att få tillgång till allt innehåll i användarhandböckerna i applikationen måste värden *.player.vimeo.com också vara nåbar.

För mer detaljerade instruktioner om FastFinder-plattformen, se FastFinders bruksanvisning som finns tillgänglig under menyn **Support (Hjälp)**.

För att komma till supportmenyn

- Välj Support i listan med menyalternativ på vänster sida
- Välj **Download Instructions For Use here (Ladda ned bruksanvisning här)** under avsnittet "User Documentation (Användardokumentation)"

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 Analys-plugin (ny användare)

För detaljerade instruktioner om konfiguration av analyser, se **FastFinders bruksanvisning** som är tillgänglig under menyn **Support (Hjälp)**.

FastFinder kan nås direkt via en webbläsare genom att du loggar in med ditt unika användarnamn och lösenord på <https://customer.fastfinder.app>.

- Välj **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser)** i vänstermenyn
- Välj **Add New Assay (Lägg till ny analys)**
 - > För LC480 II > Välj **ResistancePlus MG (LC480)** från listan
 - > För 7500 Fast och 7500 Fast Dx > Välj **ResistancePlus MG (7500)** från listan
 - > För CFX96 Dx och CFX96 Touch > Välj **ResistancePlus MG (CFX)** från listan
- Välj **Import Selected (Importera valda)**

För att aktivera eller avaktivera en analys-plugin

- > Under fliken **General (Allmänt)**
- > Navigera till Status
- > Välj ☒ Active för att aktivera eller avaktivera analysversionen

23.3 Provnamn

Provetiketter kan tilldelas en analys-plugin för att automatisera detekteringen av brunnar och provtyper för analys.

Välj **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > Assays (Analyser)** i vänstermenyn

- Under fliken **General (Allmänt)**, navigera till **Sample types (Provtyper)** tabell Provetiketter (prefix), välj  för att lägga till en etikett
 - > Lägg till lämpligt ord, akronym eller bokstav i textrutan
 - > Standardetiketter finns tillgängliga för kontrollerna. Dessa kan tas bort genom att  bredvid etiketten väljs
- Tilldela samma etikett till lämpliga brunnar (före eller efter avslutad körning) i instrumentets programvara
 - > För **LC480 II** se **avsnitt 19** för instruktioner om programmering av provetiketter i körfilen
 - > För **7500 Fast** se **avsnitt 20** för instruktioner om programmering av provetiketter i körfilen
 - > För **7500 Fast Dx** se **avsnitt 21** för instruktioner om programmering av provetiketter i körfilen
 - > För **CFX96 Dx** och **CFX96 Touch** se **avsnitt 22** för instruktioner om programmering av provetiketter i körfilen

OBS: Provetiketterna är skiftlägeskänsliga. Etiketten måste överensstämma exakt med den tilldelade i körfilen.

23.4 Analys

Välj **Analyses (Analyser)** i vänstermenyn för att starta en ny analys

Välj **+ Create New Analysis (+ Skapa ny analys)** uppe till höger på skärmen

Sök efter den fil som ska laddas upp för analys från angiven katalog

- Välj kör (data) fil från relevant mapp
 - > Välj **Open (Öppna)**

Analysen visas som en ny rad i tabellen under fliken **Open (Öppna)**

- Om alla etiketter har applicerats och lästs korrekt visas statusen som **Ready for review (Klar för granskning)**
- Om analysinformation behöver tilldelas till brunnarna manuellt visas statusen som **Manual PCR setup required (Manuell PCR-konfiguration krävs)**

Tilldela analysinformationen till plattan manuellt om provetiketter inte har konfigurerats i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration) > (Analyser)** eller om provetiketter/mål inte har tilldelats i instruments programvara

Välj körfilen från fliken **Open (Öppna)** i menyn **Analyses (Analyser)**

Plattkonfigurationen visas under fliken **PCR setup (PCR-konfiguration)** för den öppna analysen

- För **LC480 II** > Välj **ResistancePlus MG (LC480)**



- För **7500 Fast** and **7500 Fast Dx** > Välj **ResistancePlus MG (7500)**



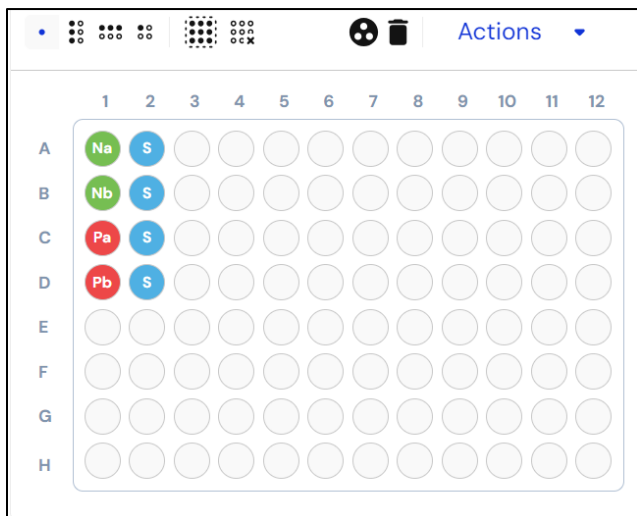
- För **CFX96 Dx** och **CFX96 Touch** > Välj **ResistancePlus MG (CFX)**



- Välj brunnar och definiera dem som:
 - > Vanligt prov (S)
 - > Negativ kontroll (Na)
 - > Kontroll utan mall (Nb)
 - > Positiv kontroll (MG 23S rRNA-mutant) (Pa)
 - > Positiv kontroll (MG 23S rRNA-vildtyp) (Pb)

För att tilldela brunnar på plattan, antingen:

- Klicka och dra färgsymbolerna för att placera dem på plattan
- Välj en eller flera brunnar (använd Ctrl- och shift-tangenterna) och klicka sedan på de relevanta färgsymbolerna för att tilldela dem till valet



- Välj **Analyze (Analysera)**

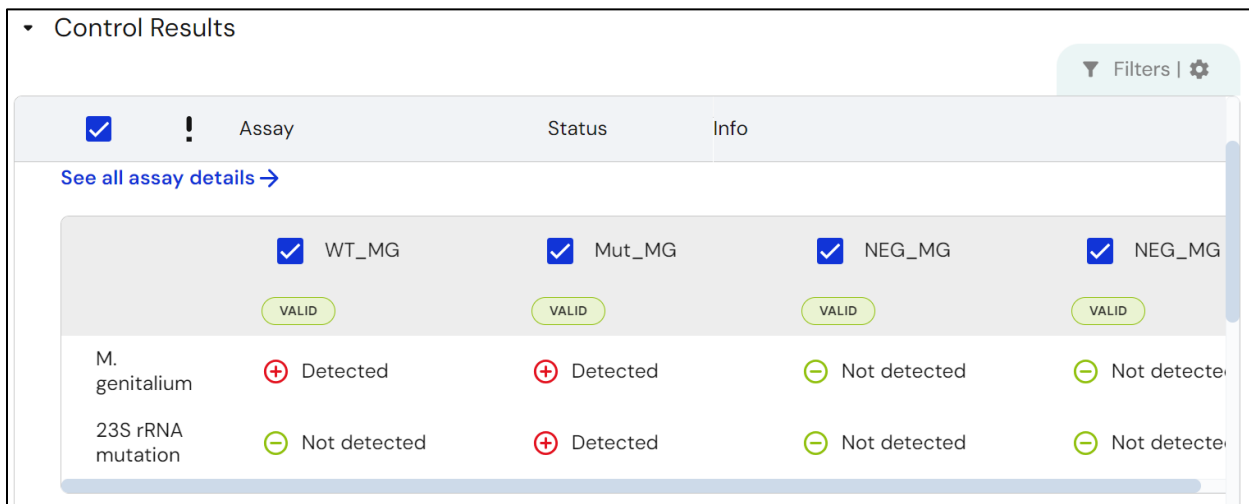
23.5 Resultat

Se **Tabell** för en sammanfattning av möjliga rapporterade provresultat.

OBS: Det rekommenderas starkt att amplifieringskurvor bekräftas för alla positiva prover.

23.5.1 Fliken Sammanfattning

Kontrollresultat för varje analys visas uppe till vänster i fliken Summary (Sammanfattning), vilket gör det möjligt att utvärdera kontrollens giltighet för körningen. Ytterligare information fås genom att expandera blocket och visa informationen per protokoll.



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

Om en kontroll är ogiltig kan alla prover markeras som icke godkända genom att **Fail all samples for this assay (Underkänn alla prover för denna analys)** väljs

☐ Fail all samples for this assay

Failure reason

En felorsak måste väljas från rullgardinsmenyn

Provresultaten visas nere till vänster i fliken Summary (Sammanfattning). Bredvid rubriken ger ytterligare ikoner en översikt av analysresultaten och visar det totala antalet prover som motsvaras av en viss 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

Varje prov visas som en rad i tabellen med provresultat.

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	

I rullgardinsmenyn finns ytterligare information om varje målresultat och Cq per prov (Se exemplen som visas i **avsnitt 23.10**)

Vid behov (t.ex. om provet är ogiltigt) kan enskilda prover markeras som icke godkända genom att **Fail this sample for this assay (Underkänn detta prov för denna analys)** väljs

☐ Fail this sample for this assay

Failure reason ▼

En felorsak måste väljas från rullgardinsmenyn

Fluorescensgrafer kan visas uppe till höger i fliken Summary (Sammanfattning)

En plattlayout kan visas nere till höger i fliken Summary (Sammanfattning)

Exempel på informations- och varningsmeddelanden sammanfattas i **tabell 56** nedan.

Tabell 56. Exempel på informations- och varningsmeddelanden för analysprogramvaran ResistancePlus® MG*		
Provtyp	Fel	Meddelande
Analys-meddelanden		
Vanligt prov	Ogiltig – Icke godkänd IC	Varning: IC ogiltig. Extrahera och testa provet igen.
	Giltig men kontroll ogiltig – Varning för ogiltig kontroll på vanligt prov med giltigt resultat	Varning: Förekomst av ogiltig kontroll. Extrahera och testa provet igen
Negativ kontroll	Ogiltig - Kontaminering	Varning: Möjlig kontaminering detekterad.
Kontroll utan mall		
Gen-meddelanden		
Vanligt prov	Mål Cq utanför gränsvärdet	Info: Cq utanför gränsvärdet
Positiv kontroll	Ogiltig – Mål ej detekterat	Varning: Ingen förväntad reaktion hos kontrollen.
Negativ kontroll	Ogiltig - Kontaminering	Varning: Möjlig kontaminering
	Ogiltig – IC ej detekterad	Varning: IC ej detekterad
	Ogiltig – IC Cq utanför gränsvärdet	Varning: Cq utanför gränsvärdet
Kontroll utan mall	Ogiltig - Kontaminering	Varning: Möjlig kontaminering
Vanligt prov eller kontroll	Osäker fluorescenssignal	Varning: Osäker fluorescenssignal. Granskning krävs.
	Cq med låg fluorescens detekterad	dRn slutfluorescens under gränsvärdet

* De exempel som listas här är eventuellt inte applicerbara på alla analys-plugins. För samtliga meddelanden, se FastFinders bruksanvisning som finns tillgänglig under supportmenyn.

23.5.2 Fliken Details (Detaljer)

Alla mål visas för varje prov som separata rader i tabellen på vänster sida. När en eller flera rader väljs visas motsvarande fluorescenskurvor i grafen uppe till höger och brunnarna i plattlayouten nere till höger markeras.

Välj **Filters (Filter)** för att visa resultat enligt parametrar såsom analysnamn, provtyp, mål och resultat.

För att slutföra analysen och förhindra ytterligare användarredigeringar

- > Välj **Authorize (Auktorisera)**
- > Välj **Authorize (Auktorisera)** igen för att bekräfta
- För att tilldela en andra granskning
 - > Välj **Actions (Åtgärder)**, **Assign label (Tilldela etikett)** och **Second Review (Andra granskning)**
- För att tilldela analysen till en annan användare
 - > Välj **Actions (Åtgärder)** och **Assign User (Tilldela användare)**
 - > Välj lämplig användare i rullgardinsmenyn
- För att avvisa analysen
 - > Välj **Actions (Åtgärder)** och **Discard Analysis (Avvisa analys)**
 - > Lägg till en kommentar och välj **Discard (Avvisa)** för att bekräfta

23.6 Referenskurva

En referenskurva kan sparas och användas för att jämföra med prover på samma platta eller över olika plattor

- Välj provet av intresse i antingen fliken **Summary (Sammanfattning)** eller **Details (Detaljer)**
- Från menyn **amplifieringsdiagram** > Välj 
 - > Markera kryssrutan för kurvan av intresse och välj **Mark as reference (Markera som referens)**

Denna referenskurva kommer nu vara länkad till analysen i menyn **Lab Configuration (Labbkonfiguration)** > **Assays (Analyser)** i fliken **PCR** och kan inaktiveras när som helst.

23.7 Exportera resultat

- För att exportera resultat från en enskild auktoriserad körning som antingen en CSV- eller PDF-fil:
 - > Välj **Actions (Åtgärder)** > **Downloads (Ladda ned)** i övre högra hörnet
 - > Välj någon av följande rapporttyper: **Analysis (CSV) (Analys (CSV))** eller **Analysis (PDF) (analys (PDF))**
- För att exportera resultat från flera tidigare auktoriserade körningar som en enda CSV-fil:
 - > Navigera till menyn **Archive (Arkiv)** > **Sample Results (Provresultat)**
 - > Använd filtren högst upp på sidan för att visa de resultat som är av intresse (CSV-filen är begränsad till högst 10 000 resultat)
 - > Välj **Export CSV (EXPORTERA CSV)** i det övre högra hörnet

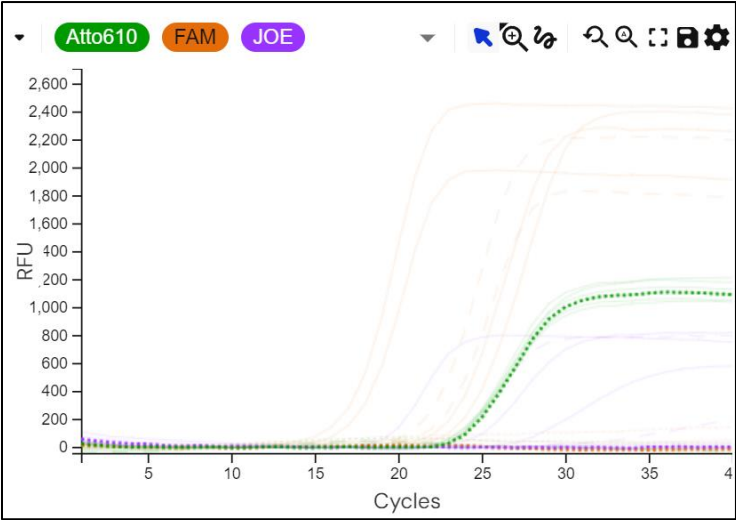
23.8 Hämta auktoriserade analyser

- Alla auktoriserade analyser finns tillgängliga genom att **Archive (Arkiv)** > **Analysis Results (Analysresultat)** väljs. Välj en rad för att återgå till resultatöversikten för den specifika analysen
- Alla auktoriserade vanliga prover lagras under menyn **Archive (Arkiv)** > **Sample Results (Provresultat)**. När ett prov väljs visas ytterligare information, inklusive analysens namn och resultatdetaljer
- Individuella målresultat för alla auktoriserade vanliga prover och kontroller lagras i menyn **Archive (Arkiv)** > **Target Results (Målresultat)**. När ett mål väljs markeras det i fluorescensgrafiken. Välj **Analysis Name (Analysnamn)** för att återgå till resultatöversikten för den aktuella analysen.

23.9 Exempelkurvor för kontroller

Följande exempel visar amplifieringskurvor (baseline-korrigerade amplifieringskurvor) och resultatöversikt från analysprogramvaran **ResistancePlus MG (LC480)** för kontrollprover.

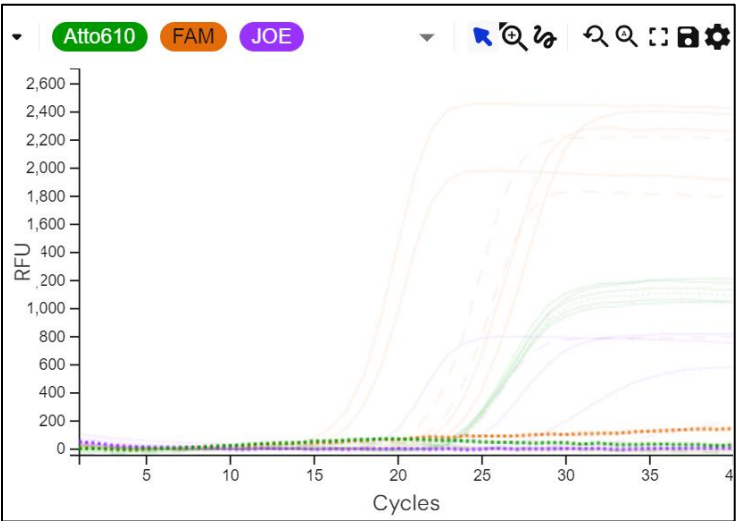
23.9.1 Negativ kontroll (Na) *M. genitalium* (negativt prov)



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prov	Analys	Resultat
Na	ResistancePlus MG (LC480)	Giltig
M. genitalium ⊖ Not detected 23S rRNA mutation ⊖ Not detected		

23.9.2 Kontroll utan mall (Nb)

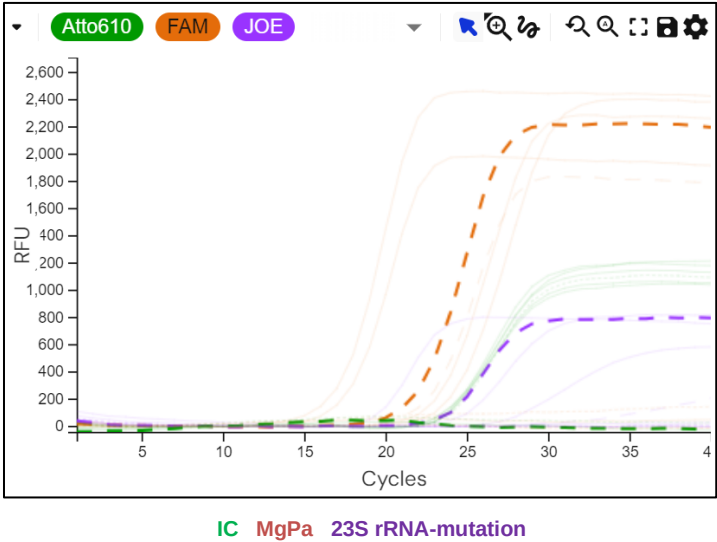


IC MgPa 23S-rRNA mutation

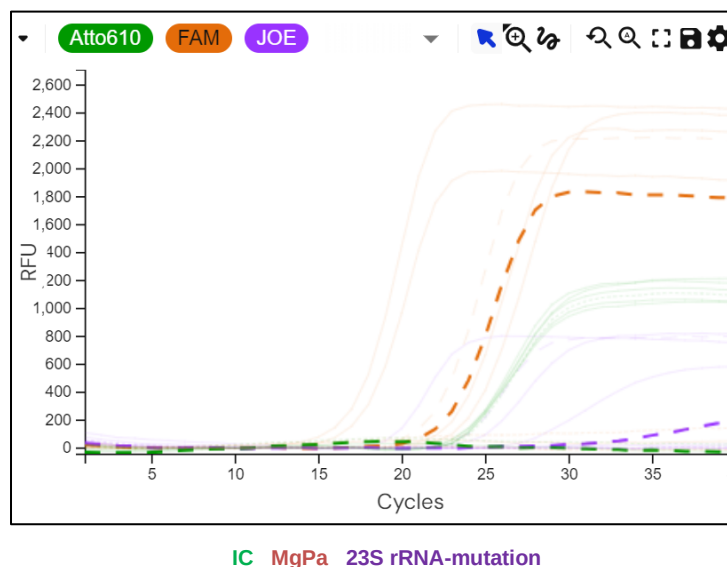


Prov	Analys	Resultat
Nb	ResistancePlus MG (LC480)	Giltig
M. genitalium  Not detected 23S rRNA mutation  Not detected		

23.9.3 Kontroll (Pa) *M. genitalium*, 23S rRNA-mutant



Prov	Analys	Resultat
Pa	ResistancePlus MG (LC480)	Giltig
M. genitalium  Detected 23S rRNA mutation  Detected		

23.9.4 Kontroll (Pb) *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtyp

Prov	Analys	Resultat
Pb	ResistancePlus MG (LC480)	Giltig
M. genitalium ⊕ Detected 23S rRNA mutation ⊖ Not detected		

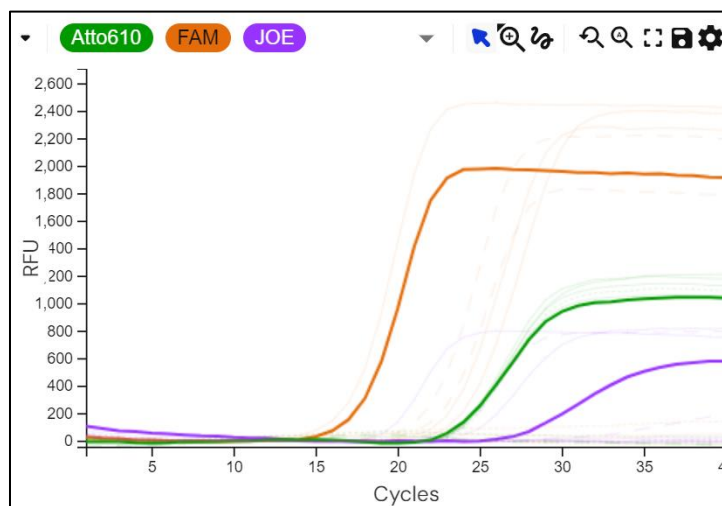
23.10 Exempel

Exempelresultat för analysprogramvaran **ResistancePlus®** MG visas i **tabell 57**.

Tabell 57. Exempel för tolkning av resultat från analysprogramvaran ResistancePlus® MG			
	Prov	Analys	Resultat
	Prov 101	ResistancePlus MG (LC480)	Ej detekterad
	Prov 102	ResistancePlus MG (LC480)	Detekterad: M. genitalium
	Prov 103	ResistancePlus MG (LC480)	Ej detekterad: M. genitalium, 23S rRNA-mutation
¹	Prov 104	ResistancePlus MG (LC480)	Ogiltig: M. genitalium, 23S rRNA-mutation

¹ Ett prov som tolkas som ogiltigt flaggas med  Varning: IC ogiltig. Extrahera och testa provet igen.

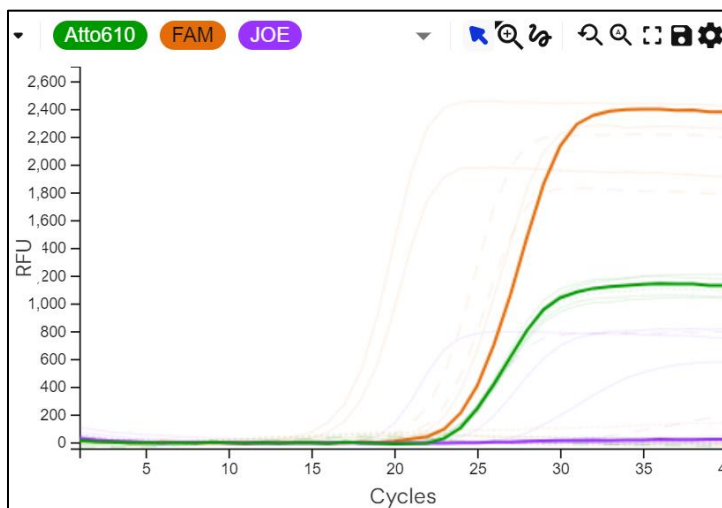
23.10.1 Exempel 1. Hög kopia *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtyp (prov)



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prov	Analys	Resultat
Prov 105	ResistancePlus MG (LC480)	Detekterad: <i>M. genitalium</i>
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		

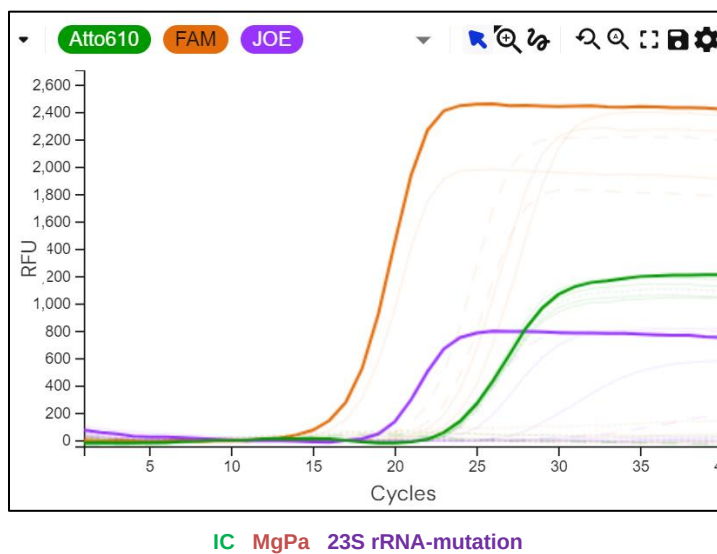
23.10.2 Exempel 2. Låg kopia *M. genitalium*, 23S rRNA-vildtyp (prov)



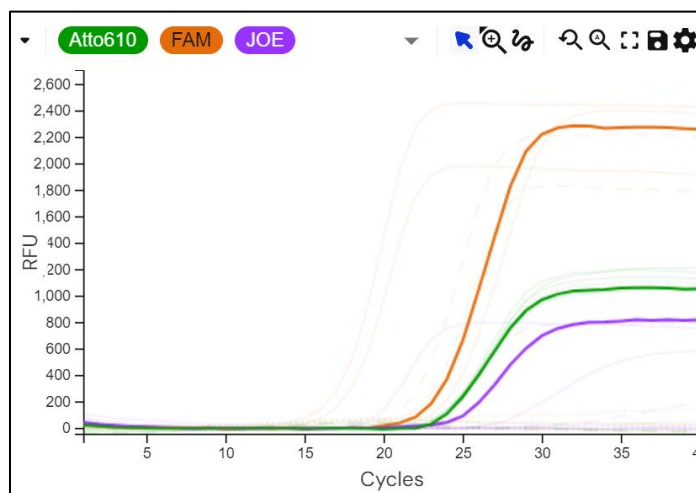
IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prov	Analys	Resultat
Prov 106	ResistancePlus MG (LC480)	Detekterad: 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 Exempel 3. Hög kopia *M. genitalium*, 23S rRNA-mutant (prov)



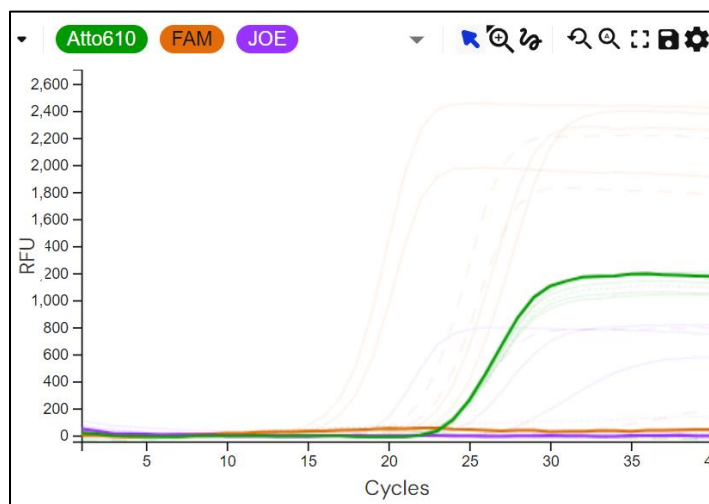
Prov	Analys	Resultat
Prov 107	ResistancePlus MG (LC480)	Detekterad: M. genitalium, 23S rRNA-mutation
Assay results M. genitalium ⊕ Detected 23S rRNA mut... ⊕ Detected MgPa ↳ D2 • Detected 16.767 23S rRNA mutation ↳ D2 • Detected 19.125 IC ↳ D2 • Detected 23.421		

23.10.4 Exempel 4. Låg kopia *M. genitalium*, 23S rRNA-mutant (prov)

IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prov	Analys	Resultat
Prov 108	ResistancePlus MG (LC480)	Detekterad: 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		

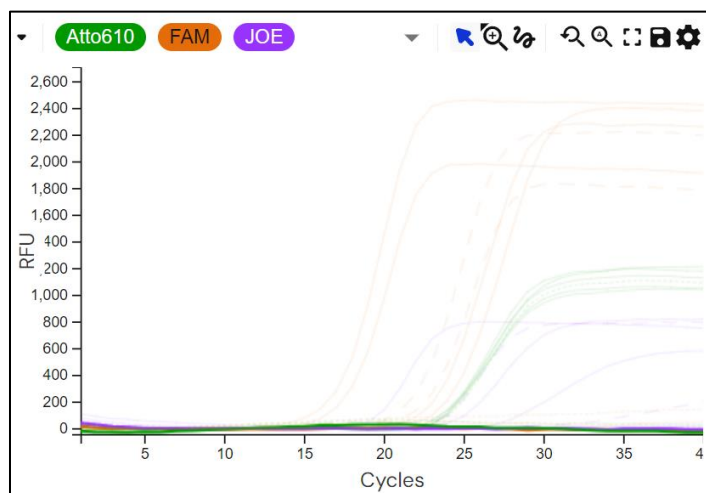
23.10.5 Exempel 5. Negativt prov



IC MgPa 23S rRNA-mutation

Prov	Analys	Resultat
Prov 109	ResistancePlus MG (LC480)	Ej detekterad
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 Exempel 6. Ogiltigt prov



Prov	Analys	Resultat
Prov 110	ResistancePlus MG (LC480)	Ogiltig: 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

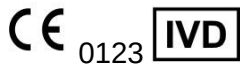
↳ B2 ● Not detected ▼

IC

↳ B2 ● Not detected ▼

I det här exemplet har IC inte amplifierats och har därför inte detekterats. För prover med ogiltig IC, extrahera och testa provet igen.

24 Ordlista



Europeisk överensstämmelse
För *in vitro*-diagnostisk användning



Katalognummer



Satskod



Auktoriserad representant
I Europeiska gemenskapen



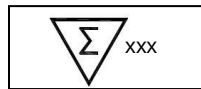
Tillverkare



Tillverkningsdatum



Temperaturbegränsning



Innehåller tillräckligt för
xxx bestämningar



Utgångsdatum



Europeisk importör



Bedömningsmärke för
överensstämmelse i Storbritannien

SpeedX-produkter kan täckas av en eller flera lokala eller främmande patent. Se www.plexpcr.com/patents för utförlig information om patent.

PlexPCR®, **ResistancePlus**®, **PlexPrime**® och **PlexZyme**® är varumärken som tillhör SpeedX. Andra copyright och varumärken är respektive ägares egendom.

© Copyright 2025 SpeedX Pty. Ltd.