

Real Time PCR Detection Kit

*Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance*  
Assay for BD MAX™ System

Brugsanvisning

CE IVD  
2797

Denne brugsanvisning gælder for følgende referencer:

PRODUKT	REFERENCE
VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	444224

Tabel A1. Reference til produktet, der skal bruges sammen med BD MAX™ System.

**EN** To download IFUs in other languages, please visit [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Once there, please follow the instructions to access the language required. If you need additional information, please contact: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**BG** За да изтеглите инструкциите за употреба (IFU) на други езици, моля, отидете на [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия Ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**CS** Chcete-li si stáhnout návody k použití (IFU) v jiných jazycích, přejděte na stránku [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**DA** Hvis du vil downloade brugsanvisninger på andre sprog, kan du gå til [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Når du er der, bedes du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**DE** Um die IFUs in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**EL** Για λήψη των Οδηγίες χρήσης (IFUs) σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**ES** Para descargar las Instrucciones de Uso (IFU) en otros idiomas, por favor, entre en [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**FR** Pour télécharger la notice d'utilisation (IFU) dans d'autres langues, consultez [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Une fois sur le site, suivez les instructions pour accéder à la langue de votre choix. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez : [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**HR** Za preuzimanje IFUs-a s drugih jezika unesite [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebate dodatne informacije, obratite se na: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**HU** A használati utasítások (IFU-k) más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling) weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**IT** Per scaricare le istruzioni per l'uso (IFU) in altre lingue, vai su [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Una volta che sei lì, segui le indicazioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**LT** Norėdami atsisiųsti naudojimo instrukciją kitomis kalbomis, apsilankykite adresu [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Atidarę šį tinklalapį vykdykite rodomas instrukcijas, kol rasite reikiamą kalbą. Jei reikia daugiau informacijos, kreipkitės adresu: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**LV** Lai lejupielādētu lietošanas pamācību citās valodās, lūdzu, apmeklējiet vietni [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Pēc vietnes lapas atvēršanas izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**NB** Hvis du vil laste ned en bruksanvisning (IFU) på et annet språk, kan du gå inn på [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Følg instruksjonene på nettsiden for å få tilgang til det språket du ønsker.. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du sende en e-post til: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**PT** Para transferir instruções de utilização (IFU) noutros idiomas europeus, aceda a [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Uma vez lá, siga as instruções para acessar ao idioma que pretende. Se necessitar de informações adicionais, entre em contacto conosco através do: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**RO** Pentru a descărca instrucțiunile IFU în alte limbi, vă rugăm să accesați [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). După ce ați accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**SV** För att ladda ner bruksanvisningen på andra språk, gå in på [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling) och följ instruktionerna. Om du behöver ytterligare information, kontakta: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**SK** Ak si chcete stiahnuť návody na použitie v iných jazykoch, prejdite na stránku [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Po otvorení stránky postupujte podľa pokynov na prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

**FI** Lataa suomenkielinen turvallisuusopas osoitteesta [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling). Seuraa annettuja ohjeita. Mikäli tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es).

Se [certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling) , hvis dit sprog ikke er på listen. Kontakt [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es), hvis dit sprog ikke findes på hjemmesiden.

*Bemærk: Brugeren skal underrette fabrikanten og den kompetente myndighed i landet, hvor den pågældende er bosiddende som bruger og/eller patient, om enhver alvorlig hændelse i forbindelse med produktet.*

## Indhold

1.	Erklæret formål .....	6
2.	Oversigt og forklaring .....	6
3.	Procedures princip .....	8
4.	Leverede reagenser .....	9
5.	Reagenser og udstyr, der skal anskaffes af brugeren .....	9
6.	Betingelser for transport, opbevaring og brug .....	10
7.	Forholdsregler for brugere .....	10
8.	Analysemetode.....	12
8.1.	Indsamling, transport og opbevaring af prøver .....	12
8.2.	Klargøring af prøver og DNA-ekstraktion .....	13
8.3.	PCR-protokol.....	13
8.3.1.	Oprettelse af et PCR-testprogram for VIASURE <i>Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance</i> Assay for BD MAX™ System .....	13
8.3.2.	Opsætning af BD MAX™ prøvestativ .....	18
8.3.3.	BD MAX™ Instrumentopsætning .....	19
8.3.4.	Resultatrapport for BD MAX™ .....	20
9.	Tolkning af resultater .....	20
10.	Begrænsninger i testen .....	24
11.	Kvalitetskontrol.....	26
12.	Analysens ydeevneegenskaber .....	27
12.1.	Analysens linearitet .....	27
12.2.	Analytisk sensitivitet. Detektionsgrænse (LoD) .....	28
12.3.	Måleområde.....	29
12.4.	Nøjagtighed .....	30
12.4.1.	Korrektthed (veracitet) .....	30
12.4.2.	Præcision .....	31
12.5.	Analytisk specificitet og reaktivitet.....	38
12.5.1.	Analytisk specificitet.....	39

---

12.5.2. Analytisk reaktivitet .....	45
12.6. Metrologisk sporbarhed .....	46
13. Egenskaber for klinisk ydeevne .....	46
14. Sammenfatning af sikkerhed og klinisk ydeevne .....	47
Bibliografi .....	48
Symboler for IVD-komponenter og -reagenser .....	48
Varemærker.....	48

---

## DANSK

---

### 1. Erklæret formål

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System er en automatiseret qPCR-test designet til kvalitativ påvisning af DNA fra *Mycoplasma genitalium* og specifikke punktmutationer (forårsaget af baseudskiftninger i *23S rRNA*), der er involveret i makrolidresistens i vaginalpodninger og urinprøver fra mænd og kvinder indsamlet fra patienter med mistanke om infektion med *M. genitalium* af deres sundhedspersonale. Denne test er beregnet som en hjælp til diagnosticering af infektion med *M. genitalium* og til påvisning af potentiel resistens over for makrolider i kombination med patientens kliniske tegn og symptomer og/eller epidemiologiske risikofaktorer. Positive resultater indikerer tilstedeværelsen af målet, nukleinsyrer (NA), men udelukker ikke tilstedeværelsen af andre patogener, som testen ikke påviser. Negative resultater udelukker ikke tilstedeværelsen af målene, nukleinsyrerne, og de må ikke anvendes som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger vedrørende patienthåndtering. Analysen anvender BD MAX™ System til automatisk ekstraktion af DNA og efterfølgende qPCR med anvendelse af de medfølgende reagenser kombineret med universelle reagenser og engangsartikler til BD MAX™ System. DNA ekstraheres fra prøverne, amplificeres ved brug af qPCR og påvises ved hjælp af specifikke primere og prober med fluorescerende reporterfarvestoffer for *M. genitalium* og mutationer i *23S rRNA*-genet, der er forbundet med makrolidresistens.

Produktet er beregnet til at blive anvendt af kvalificeret og uddannet klinisk laboratoriepersonale, der specifikt er instrueret og uddannet i teknikkerne, der er forbundet med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer (herunder uddannet i brugen af termocyklere (instrument til realtids-PCR) og systemer til nukleinsyreekstraktion).

### 2. Oversigt og forklaring

Seksuelt overførte infektioner er et stort folkesundhedsproblem på verdensplan, der påvirker livskvaliteten og forårsager alvorlig morbiditet og mortalitet.

*Mycoplasma genitalium* (MG) er en almindelig årsag til ikke-gonokok urethritis (NGU) og ikke-klamydial urethritis hos mænd og cervicitis hos kvinder og rapporteres at være forbundet med underlivsbetændelse, infertilitet og for tidlig fødsel (Baumann et al., 2018; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020). MG er en flaskeformet mikroorganisme med et let buet terminalt organel, der kan forårsage inflammation i urogenitalkanalen ved adhæsion til værtsens epitelceller, hvilket fremkalder akutte inflammatoriske signaler via medfødte immunsensorer med høj ekspresion (Gnanadurai & Fifer, 2020). Denne mikroorganisme er en langsomt voksende mikroorganisme, der vides at være den mindste prokaryot, der kan replikere uafhængigt, og som er fremkommet i løbet af de seneste årtier som et seksuelt overført patogen på grund af dets evne til

at kolonisere reproduktionskanalen hos mænd og kvinder (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022). MG-infektion under graviditeten har været forbundet med for tidlig fødsel og kan spille en rolle i spontan abort og neonatale infektioner (Heavey, 2017). Den kan forekomme samtidigt med *Chlamydia trachomatis* og andre seksuelt overførte infektioner, hvilket gør det vanskeligt at bestemme dens specifikke virkninger (Heavey, 2017).

Makrolider er en lægemiddelklasse, der anvendes til behandling af forskellige bakterielle infektioner, såsom lungebetændelse, bihulebetændelse, faryngitis, tonsillitis, ukomplicerede hudinfektioner og mellemørebetændelse eller *Helicobacter pylori*-infektion, men de anvendes også ofte til behandling af seksuelt overførte infektioner såsom gonokok- og klamydiainfektioner (Patel & Hashmi, 2023). Virkningsmekanismen består i, at den bakterielle 50S ribosomale underenhed binder sig til rester (tæt på peptidyltransferasestedet (V-regionen)) eller til A2058- og A2059-rester (*Escherichia coli*-nummerering) af *23S rRNA*, hvilket forårsager ophør af bakteriel proteinsyntese (van der Schalk et al., 2020).

Det stigende problem med makrolidresistens er et alvorligt problem med globale resistensrater, der spænder mellem 30 % og 100 % (Gnanadurai & Fifer, 2020). Bakterier udvikler primært resistens over for makrolider gennem to mekanismer: enkelt nukleotid-polymorfismer (SNP'er) og rRNA-methylering. Da MG imidlertid mangler de nødvendige enzymer til methylering, kan den kun udvikle resistens via modifikation af målet gennem SNP'er (van der Schalk et al., 2020). Resistens skyldes ofte en enkelt basemutation på position A2058 eller A2059 (baseret på *Escherichia coli*-nummerering) i *23S rRNA* med minimal indvirkning på bakteriel fitness, hvilket muliggør fortsat transmission (Gnanadurai & Fifer, 2020). Azithromycin er det mest anvendte makrolid til behandling af MG-infektioner, selvom josamycin og pristinamycin også anbefales på nuværende tidspunkt (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020).

Det er vanskeligt at dyrke MG, da den kræver uger til måneder til at vokse, hvilket gør følsomhedstestning med standardmetoder upraktisk. Selvom testning for antibiotikaresistens ved hjælp af MG-stammer dyrket i Vero-cellekulturer har givet resultater, der ligner traditionelle bouillonfortyndingsmetoder, er denne fremgangsmåde ikke mulig til primær diagnostik eller til testning i de fleste referencelaboratorier (Gnanadurai & Fifer, 2020).

På grund af fraværet af en cellevæg er MG ikke synlig på gram-farvede kønsssekreter. Antistofbaserede serologiske tests er desuden upålidelige på grund af krydsreaktivitet med andre mycoplasmaarter, herunder *Mycoplasma pneumoniae* (Gnanadurai & Fifer, 2020). Nukleinsyreamplifikationstests (NAAT'er), såsom polymerasekædereaktion og transkriptionsmedieret amplifikation, giver dog nøjagtig påvisning af MG (Baumann et al., 2018; Heavey, 2017; Jensen et al., 2022). NAAT'er kan udføres på flere typer genitale prøver, men vaginalpodninger fra kvinder og første portion urin (første stråle) fra mænd synes at give de bedste resultater ved testning for MG (Heavey, 2017). På grund af den høje hyppighed af antimikrobiel resistens anbefales det at udføre samtidig testning for genotypisk resistens og vejlede om den rette behandling (Gnanadurai & Fifer, 2020).

### 3. Procedurens princip

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System er designet til samtidig kvalitativ påvisning og differentiering af DNA fra *Mycoplasma genitalium* og specifikke genetiske markører, der er forbundet med makrolidresistens og -følsomhed i vaginalpodninger og urinprøver fra mænd og kvinder. Efter DNA-isolering foretages identifikationen af *M. genitalium* og genetiske markører for makrolidresistens og -følsomhed ved amplifikation af et specifikt område af *MgPa-adhæsin*-genet på *M. genitalium* og *23S rRNA*-genet, hvis specifikke punktmutationer er involveret i makrolidresistens og -følsomhed, ved hjælp af specifikke primere og fluorescensmærkede prober. Den tiltænkte population for testen omfatter personer med tegn på eller mistanke om STI, seksuelle partnere til personer diagnosticeret med *M. genitalium*-infektion og højrisikopopulationer såsom mænd, der har sex med mænd (MSM), personer med HIV og patienter, der besøger klinikker for seksuel sundhed.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System er baseret på DNA-polymerasens 5' exonucleaseaktivitet. Under DNA-amplifikationen hydrolyserer dette enzym proben, som er hybridiseret til den komplementære DNA-sekvens, hvilket medfører adskillelse af quencherfarvestoffet fra reporteren. Denne reaktion genererer en forøgelse af det fluorescerende signal, som er proportional med mængden af målskabelonen. Denne fluorescens måles af BD MAX™ System.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System indeholder alle komponenter til realtids-PCR (specifikke primere/prober, dNTP'er, buffer, polymerase) i en stabiliseret<sup>1</sup> form i hvert reaktionsrør samt en endogen intern kontrol (EIC) (*humant RNase P*-gen) til overvågning af prøvens integritet og ekstraktionsprocessen og/eller hæmning af polymeraseaktiviteten. Humane husholdningsgener deltager i basal cellulær vedligeholdelse og forventes derfor at være til stede i alle kerneholdige humane celler, hvor de opretholder relativt stabile ekspressionsniveauer.

Mål	Kanal	Gen
Makrolidresistens	475/520 (FAM)	<i>23S rRNA</i>
Makrolidfølsomhed	530/565 (HEX)	<i>23S rRNA</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	585/630 (ROX)	<i>MgPa-adhæsin</i>
Endogen intern kontrol (EIC)	680/715 (Cy5.5)	<i>RNase P</i>

Tabel 1. Mål, kanal og gener.

<sup>1</sup> Bemærk, at både udtrykkene "stabiliseret" og "lyofiliseret" anvendes vilkårligt og som synonyme i hele dokumentet.

## 4. Leverede reagenser

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System omfatter følgende materialer og reagenser, som er angivet i Tabel 2:

Reagens/Materiale	Beskrivelse	Koncentrationsområde	Kode	Mængde
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube	Lyoprotektorer og stabilisatorer	± 6 g/100 mL*	1F-folie	2 poser med 12 transparente rør
	Nukleotid-trifosfat (dNTP'er)	± 1 mM*		
	Primere og prober	0,2-1 nMol/μL*		
	Enzymer	10-100 U/rxn*		
Rehydration Buffer tube	Saline Solution Mixture	± 13 mM	11 folie	1 pose med 24 transparente rør
	Buffer (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabel 2. Reagenser og materialer leveret i VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med kat. nr. 444224.

\* Ved komponenter i stabiliseret format angiver koncentrationsområdet værdierne efter rehydrering.

## 5. Reagenser og udstyr, der skal anskaffes af brugeren

Følgende angiver materialer, der er nødvendige til brug, men ikke er inkluderet i VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

- Instrument til realtids-PCR: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 eller 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortexer.
- Mikropipetter (nøjagtighed mellem 2 og 1000 μL).
- Nukleasefrit vand.
- Filterspidser.
- Pulverfrie engangshandsker.

Valgfrit:

- Eksterne kontrolmaterialer kan køres som en del af kvalitetskontrolproceduren for analysens ydeevne. Kommercielt tilgængeligt kontrolmateriale og/eller prøver, der tidligere er karakteriseret som positive eller negative, kan anvendes som henholdsvis ekstern positiv kontrol (EPC) eller ekstern negativ kontrol (ENC). Udvælgelsen og valideringen af EPC og ENC skal udføres i overensstemmelse med gældende lokale, regionale og/eller nationale bestemmelser og standardprocedurerne i laboratoriets kvalitetskontrol. Desuden skal brugeren følge de respektive brugsanvisninger, når der anvendes kommercielt tilgængeligt kontrolmateriale.

## 6. Betingelser for transport, opbevaring og brug

- Sættene kan sendes og opbevares ved 2-30°C indtil udløbsdatoen, der er angivet på sættets etiket.
- Undgå vibrationer under transport for at forhindre væskelækage.
- Efter åbning af aluminiumsposerne, der indeholder reaktionsrørene, kan produktet bruges i op til 28 dage ved 2-30°C. Hold hætteglasset væk fra lys.

Nedenstående tabel indeholder en oversigt over betingelserne for transport, opbevaring og brug af det samlede prøvesæt og hver komponent:

Komponent	Transportforhold	Opbevaringsforhold	Opbevaring efter anbrud
Hele VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	2-30°C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket.	<b>Før brug:</b> 2-30°C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket.	* Se brugsbetingelserne for hver komponent.
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube (1F-folie)		<b>Før brug:</b> 2-30°C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket. <b>Når posen med silicagel er åbnet:</b> 2-30°C i op til 28 dage.	Rumtemperatur.
Rehydration Buffer tube		<b>Før brug:</b> 2-30°C i holdbarhedsperioden, der er angivet på sættets etiket. <b>Når posen med silicagel er åbnet:</b> 2-30°C i op til 28 dage.	Rumtemperatur.

Tabel 3. Sammenfatning af betingelserne for transport, opbevaring og brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System og hver enkelt komponent.

## 7. Forholdsregler for brugere

- Produktet er beregnet til at blive anvendt af kvalificeret og uddannet klinisk laboratoriepersonale, der specifikt er instrueret og uddannet i teknikkerne forbundet med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer.
- Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- Brugsanvisningen til VIASURE-produktet og BD MAX™ System brugermanual skal læses omhyggeligt, før brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Udfør ikke analysen, før oplysningerne om procedurer, sikkerhedsforanstaltninger og begrænsninger, der er beskrevet heri, er forstået.
- Brug ikke reagenser og/eller materialer, hvis udløbsdatoen er overskredet.
- Brug ikke sættet, hvis etiketten, der forsejler den ydre æske, er i stykker.
- Brug ikke reagenser, hvis beskyttelsesæsken er åben eller i stykker ved ankomsten.
- Brug ikke reagenser, hvis beskyttelsesposerne er åbne eller i stykker ved modtagelsen.
- Brug ikke reagenser, hvis tørremidlet ikke er til stede eller er i stykker inden i reagensposerne.
- Tørremidlet må ikke fjernes fra reagensposerne.

- Brug ikke reagenser, hvis folien er blevet anbrudt eller er beskadiget.
- Reagenser fra forskellige poser og/eller sæt og/eller partier må ikke blandes.
- Luk straks beskyttelsesposer med reagenser med lynlåsforseglingen efter hver brug. Fjern eventuel overskydende luft i poserne inden forsegling.
- Beskyt reagenserne mod fugt. Længerevarende eksponering for fugt kan påvirke produktets ydeevne.
- For at undgå forringelse af etiketten må produktet ikke anvendes i nærheden af opløsningsmidler.
- Et udseende af reaktionsblandingen i stabiliseret format, som normalt findes i bunden af røret, der er forskelligt fra det sædvanlige (uden konisk form, inhomogent, mindre/større i størrelse og/eller en anden farve end hvidlig) ændrer ikke testens funktionalitet.
- Sørg for, at reaktionsrøret og rehydreringsbufferrøret sidder sikkert fast, mens BD MAX™ prøvestativet opstilles.
- I tilfælde, hvor andre PCR-tests udføres i det samme område i laboratoriet, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3-ekstraktionssættet eller eventuelle yderligere reagenser, der kræves til testning, samt BD MAX™ System, ikke kontamineres. Undgå altid mikrobiel kontaminering samt kontaminering med ribonuklease (RNase) og deoxyribonuklease (DNase) af reagenserne. Det anbefales at anvende sterile RNase/DNase-fri aerosolresistente engangspipettespidser eller positive fortrængningspipettespidser. Brug en ny spids til hver prøve. Handsker skal udskiftes før håndtering af reagenser og kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- For at undgå kontaminering af miljøet med amplikoner må BD MAX™ PCR Cartridge ikke brydes fra hinanden efter brug. Forseglingerne på BD MAX™ PCR Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- Tilrettelæg en ensrettet arbejdsgang. Den skal begynde i ekstraktionsområdet og derefter flyttes til forstærknings- og detektionsområdet. Prøver, udstyr og reagenser må ikke returneres til det område, hvor det foregående trin blev udført.
- Følg god laboratoriepraksis. Bær beskyttelsesbeklædning, anvend engangshandsker, beskyttelsesbriller og maske. Man må ikke spise, drikke, ryge eller lægge makeup i arbejdsområdet. Vask hænder efter endt test. Undgå kontaminering og kontakt med hud, øjne og tøj.
- Prøverne skal behandles som potentielt smitsomme og/eller biologisk farlige, samt alle reagenser og materialer, der er blevet eksponeret for prøverne, og skal håndteres i overensstemmelse med de nationale sikkerhedsforskrifter. Træf de nødvendige forholdsregler under indsamling, transport, opbevaring, behandling og bortskaffelse af prøver.
- Prøver og reagenser skal håndteres i et biologisk sikkerhedsskab. Anvend personlige værnemidler (PPE) i overensstemmelse med gældende retningslinjer for håndtering af potentielt smitsomme prøver. Affald bortskaffes i overensstemmelse med lokale retningslinjer.
- Regelmæssig dekontaminering af almindeligt anvendt udstyr anbefales, især mikropipetter og arbejdsflader.

- I overensstemmelse med Forordning (EF) nr. 1907/2006 (REACH), kræver VIASURE Assays for BD MAX™ System ikke sikkerhedsdatablade som en del af deres klassificering som værende ufarlige for helbredet og miljøet, da de ikke indeholder stoffer og/eller blandinger, som opfylder kriterierne for fareklassificering iht. forordning (EF) nr. 1272/2008 (CLP), eller forefindes i koncentrationer, der er højere end den værdi, der er angivet i den nævnte forordning til deres erklæring. En erklæring om, at der ikke er behov for et sikkerhedsdatablad, kan rekvireres hos Certest Biotec S.L.
- Sørg for, at definitionen af PCR-testprogrammet på BD MAX™ System er udført ved at følge instruktionerne i afsnittet 'PCR-protokol' (parametre for prøveekstraktion, brugerdefinerede stregkoder, PCR-indstillinger osv.).
- Se brugsanvisningen til BD MAX™ System for yderligere advarsler, forholdsregler og procedurer.
- Analysecertifikatet er ikke inkluderet i enheden; det kan dog downloades fra Certest Biotec S.L. website ([www.certest.es](http://www.certest.es)) efter behov.

## 8. Analysemetode

### 8.1. Indsamling, transport og opbevaring af prøver

VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System er blevet testet på klinikerindsamlede vaginale podningsprøver ved hjælp af Copan eSwab® (Liquid Amies Elution Swab fra Copan) og selvindsamlede første portion urin (første stråle) fra mænd og kvinder i en steril prøveopsamlingskop uden konserveringsmidler. Andre typer prøver skal valideres af brugeren.

Indsamling, opbevaring og transport af prøver skal foregå i overensstemmelse med de betingelser, som er godkendt af brugeren. Generelt skal kliniske prøver indsamles og etiketteres på passende vis i rene beholdere med eller uden transportmedium (afhængigt af prøvetypen). Efter indsamling skal prøverne anbringes i en pose til farligt biologisk materiale og transporteres og behandles hurtigst muligt for at sikre testens kvalitet. Prøver, der indsendes til molekylær testning, skal opbevares under kontrollerede forhold, så nukleinsyrerne ikke nedbrydes under opbevaringen. Gentagne fryse-tø-cykluser bør undgås for at forhindre nedbrydning af prøven og nukleinsyrerne.

De kliniske prøver skal indsamles, transporteres og opbevares i overensstemmelse med relevante retningslinjer for laboratorier og/eller retningslinjerne i laboratorievejledninger.

Der blev udført en intern stabilitetsundersøgelse med VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System ved hjælp af negative vaginale matricer indsamlet i Copan eSwab®, urinmatricer fra mænd og kvinder tilsat den makrolidfølsomme referencestamme (Amplirun® Total Macrolide Resistant MGE Control) ved 3xLoD-koncentration. Stabiliteten blev analyseret ved hjælp af to forskellige analyser: primær stabilitet (25°C: 4 timer og 2 dage; 4°C: 1 og 2 dage; -20°C: 12 måneder) og nestet stabilitet.

Til stabilitetsanalysen blev prøverne inkuberet ved 25°C i 4 timer, og prøverne, der blev inkuberet ved 4°C på 1 dag blev analyseret 3 dage efter tilsætning til sample buffer tube (SBT); prøver inkuberet ved 25°C i 2 dage og prøver inkuberet ved 4°C i 2 dage blev analyseret 7 dage efter tilsætning til SBT. Desuden blev prøverne analyseret efter at have gennemgået fem fryse- (ved -80°C) og optøningscyklusser (ved 25°C). Resultaterne viste en god ydeevne for prøver, der blev opbevaret under alle testede forhold, og de opfyldte de oprindeligt fastsatte acceptkriterier.

## 8.2. Klargøring af prøver og DNA-ekstraktion

Klargør prøverne ved at følge brugsanvisningen til det anvendte ekstraktionskit, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetter 400 µL af vaginalpodningen eller 750 µL af urinprøven i et BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube (prøvebufferrør), og luk røret med en septumhætte. Der sikres fuldstændig blanding ved at vortexe prøven ved høj hastighed i 1 minut. Fortsæt til BD MAX™ System Operation.

Bemærk: Vortex prøven et par minutter, før kørslen startes. Hvis det samme BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube bruges til gentestning, anbefales det at ryste røret manuelt et par minutter, før testen startes. Dette sikrer korrekt homogenisering af prøven.

Bemærk, at applikationsspecifikke forberedende ekstraktionsprocedurer bør udvikles og valideres af brugeren, og at visse andre typer prøver kan kræve forbehandling.

## 8.3. PCR-protokol

Bemærk: Der henvises til brugeranvisningen til BD MAX™ System User's Manual for at få detaljerede instruktioner.

### 8.3.1. Oprettelse af et PCR-testprogram for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System

Bemærk: Hvis testen for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System allerede er oprettet, kan trin 8.3.1 springes over. Gå i stedet direkte til 8.3.2.

- 1) Vælg fanen "Run" (Kør) på skærmen på BD MAX™ System, og vælg fanen "Test Editor" (Testredigering).
- 2) Klik på knappen "Create" (Opret).

På fanen "Basic Information" (Grundlæggende oplysninger):

- 3) I feltet "Test Name" (Testnavn) angives navnet på testen: dvs. VIASURE MGM.

Bemærk: Testnavnet skal være unikt og må maksimalt bestå af tyve tegn.

- 4) Vælg "ExK TNA-3" i rullemenuen "Extraction Type" (Ekstraktionstype).
- 5) I rullemenuen "Master Mix Format" (Master Mix-format) vælges "Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer" (Type 5: koncentreret frysetørret MM med rehydreringsbuffer).
- 6) Vælg "User Defined" (Brugerdefineret) i feltet "Sample Extraction Parameters" (Prøveekstraktionsparametre), og juster følgende parameterværdier (Tabel 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Prøveekstraktionsparametre)	<i>Value (units)</i> (Værdi (enheder))
<i>Lysis Heat Time</i> (Opvarmningtid, lysis)	15 (min.)
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatur, lysis)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Prøvespidshøjde)	1600 (steps)
<i>Sample Volume</i> (Prøvevolumen)	500 (µL) (protokol for urinprøver) 425 (µL) (protokol for vaginalprøver)
<i>Wash Volume</i> (Skyllevolumen)	500 (µL)
<i>Neutralization Volume</i> (Neutraliseringsvolumen)	I/R
<i>DNase Heat Time</i> (Opvarmningtid, DNase)	I/R

Tabel 4. Parametre for prøveekstraktion udført med BD MAX™ ExK™ TNA-3. I/R = ikke relevant.

- 7) I feltet "Ct Calculation" (Ct-beregning) vælges "Call Ct at Threshold Crossing" (Beregn Ct når tærsklen krydses) (valgt som standard).
- 8) Hvis softwareversion 5.00 eller nyere køres, og rørene har kliklås og stregkodet folie, vælges følgende konfiguration i "Custom Barcodes" (Brugerdefinerede stregkoder):
  - a. "Snap-In 2 Barcode" (Kliklås 2-stregkode): 1F (vedørende *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tube).
  - b. "Snap-In 3 Barcode" (Kliklås 3-stregkode): 11 (ved Rehydration Buffer tube).

På fanen "PCR Settings" (PCR-indstillinger):

- 9) I feltet "PCR settings" (PCR-indstillinger) indtastes følgende parametre, der er beskrevet i Tabel 5: "Alias" (op til syv alfanumeriske tegn), "PCR Gain" (PCR-forstærkning), "Threshold" (Tærskel), "Ct Min" (Ct min.) og "Ct Max" (Ct maks.).

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (PCR-forstærkning)	<i>Threshold</i> (Tærskel)	<i>Ct Min</i> (Ct Min)	<i>Ct Max</i> (Ct maks.)
475/520 (FAM)	Res	40	200	0	40
530/565 (HEX)	Sen	40	200	0	40
585/630 (ROX)	Mg	40	200	0	40
630/665 (Cy5)	-	-	-	-	-
680/715 (Cy5.5)	EIC	60	200	0	35/40*

Tabel 5. PCR settings (PCR-indstillinger).

Bemærk: Det anbefales at angive minimumsgrænsseværdierne angivet ovenfor for hver kanal som udgangspunkt, men de endelige indstillinger bør bestemmes af slutbrugeren ved fortolkning af resultaterne for at sikre, at tærskler falder inden for eksponentiel fase af fluorescenskurverne og over ethvert baggrundssignal. Tærskelværdien for forskellige instrumenter kan variere på grund af forskellige signalintensiteter.

\*På grund af variationen i antallet af humane celler i urinprøver er cut-off-værdien for målet for den endogene interne kontrol (EIC) sat til 35 for vaginalpodninger og til 40 for urinprøver fra kvinder og mænd for at sikre en korrekt prøveindsamling.

10) Indtast følgende parametre i feltet "Color compensation" (Farvekompensering) (Tabel 6):

		<i>False Receiving Channel (Falsk modtagerkanal)</i>					
		<i>Channel (Kanal)</i>	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
<i>Excitation Channel (Excitationskanal)</i>	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	3,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabel 6. Parametre for "Color compensation" (Farvekompensering).

På fanen "Melt Settings" (Smelteindstillinger) er der ikke behov for at foretage nogen handling, da den ikke er relevant for dette produkt.

På fanen "Test Steps" (Testtrin):

11) Indtast trinnavnet (op til tyve tegn) og indstil følgende parametre til definition af hvert trin i PCR-protokollen: "Profile Type" (Profiltype), "Cycles" (Cyklusser), "Time" (Tid) og "Temperature" (Temperatur), og vælg feltet "Detect" (Detektér) for at definere detektionstrinnet (Tabel 7). Klik på knappen "Add" (Tilføj) for at tilføje et nyt trin, og gentag, indtil alle de nødvendige trin er defineret.

Bemærk: Feltet "Type" skal være tomt.

<i>Step (Trin)</i>	<i>Step name (Navn på trin)</i>	<i>Profile Type (Profiltype)</i>	<i>Cycles (Cyklusser)</i>	<i>Time (s) (Tid (sek.))</i>	<i>Temperature (Temperatur)</i>	<i>Detect (Detekter)</i>
Initial denaturation (Indledende denaturering)	IN-denaturation	Hold	1	120	95°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering og annotering/udvidelse (dataindsamling))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95°C	-
				58	60°C	✓

Tabel 7. PCR-protokol.

På fanen "Result Logic" (Resultatlogik):

12) I feltet "Target" (Mål) angives målet: dvs. Res. (op til syv alfanumeriske tegn). Gentag trin 12-15 for hvert mål (dvs. Sen eller Mg) ved at følge tabellerne, der er specifikke for det mål, der defineres.

- 13) Klik på afkrydsningsfeltet “Analyze” (Analysér) for at inkludere de ønskede bølgelængder (PCR-kanaler) i analysen af resultatet for målet (Tabel 8-10).

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analysér)
475/520	Res	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabel 8. Valg af PCR-kanaler på fanen “Result logic” (Resultatlogik) for målet Res (makrolidresistens).

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analysér)
530/565	Sen	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabel 9. Valg af PCR-kanaler på fanen “Result logic” (Resultatlogik) for målet Sen (makrolidfølsomhed).

<i>Wavelength</i> (Bølgelængde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analysér)
585/630	Mg	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabel 10. Valg af PCR-kanaler på fanen “Result logic” (Resultatlogik) for målet Mg (*Mycoplasma genitalium*).

- 14) Klik på knappen “Edit Logic” (Rediger Logik).
- 15) I vinduet “Edit Logic” (Rediger Logik) vises alle kombinationer af resultatyper. For hver række skal du i rullemenuen “Result” (Resultat) vælge det resultat, der kaldes frem, når betingelserne i den pågældende række er opfyldt ifølge Tabel 11-13 for vaginalpodninger og Tabel 14-16 for urinprøver.

### Vaginale podningsprøver

<i>Result</i> (Resultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 11. Liste over kombinationen af resultatyper og Resultatlogik for Res-mål (makrolidresistens) i protokollen for vaginalprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 12. Liste over kombinationen af resultatyper og Resultatlogik for Sen-mål (makrolidfølsomhed) i protokollen for vaginalprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 13. Liste over kombinationen af resultattyper og Resultatlogik for Mg-mål (*Mycoplasma genitalium*) i protokollen for vaginalprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

### Urinprøver

<i>Result</i> (Resultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
POS	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 14. Liste over kombinationen af resultattyper og Resultatlogik for Res-mål (makrolidresistens) i protokollen for urinprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
POS	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 15. Liste over kombinationen af resultattyper og Resultatlogik for Sen-mål (makrolidfølsomhed) i protokollen for urinprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

<i>Result</i> (Resultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gyldig)	Valid (Gyldig)
POS	Valid (Gyldig)	Invalid (Ugyldig)
NEG	Invalid (Ugyldig)	Valid (Gyldig)
UNR	Invalid (Ugyldig)	Invalid (Ugyldig)

Tabel 16. Liste over kombinationen af resultattyper og Resultatlogik for Mg-mål (*Mycoplasma genitalium*) i protokollen for urinprøver. Tilgængelige resultater er POS (positive), NEG (negative) og UNR (kan ikke bestemmes).

Bemærk: I henhold til den tidligere definerede Ct maks. (Tabel 5):

- i. Resultattypen for kanalerne Res (475/520), Sen (530/565) eller Mg (585/630) betragtes som "Valid" (Gyldig), når den opnåede Ct-værdi er  $\leq 40$ ; og "Invalid" (Ugyldig), når den opnåede Ct-værdi er  $> 40$ .
- ii. Resultattypen for kanalen EIC (680/715) betragtes som "Valid" (Gyldig), når den opnåede Ct-værdi er  $\leq 35$  for vaginalpodningsprøver og  $\leq 40$  for urinprøver og "Invalid" (Ugyldig), når den opnåede Ct-værdi er henholdsvis  $> 35$  og  $> 40$ .

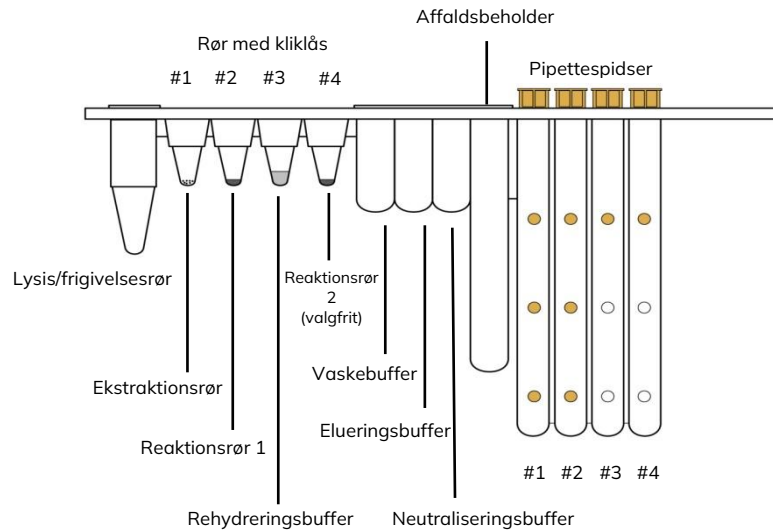
\* Selvom cut-off for EIC-mål i urinprøver er 40, er det muligt ikke at observere amplifikationskurven i EIC i tilfælde af et positivt signal for både Res-mål eller Sen-mål og Mg-mål. I dette tilfælde er resultatlogikken POS (positiv). Se afsnit 9. Fortolkning af resultater.

16) Klik på knappen "Save" (Gem) for at gemme testen.

### 8.3.2. Opsætning af BD MAX™ prøvestativ

- 1) For hver prøve, der skal testes, fjernes en Unitized Reagent Strips fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Bank forsigtigt hver strimmel mod en hård overflade for at sikre, at alle væskerne ligger i bunden af rørene, og anbring dem i BD MAX™ Systems prøvestativer.
- 2) Fjern det nødvendige antal BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (hvid folie) fra deres beskyttelsespose. Sæt Extraction Tube(s) (hvid folie) i de tilsvarende positioner i TNA-strimlen (klik-position 1, hvid farvekodning på stativet. Se Figur 1). Fjern overskydende luft, og luk posen med lynlåsforseglingen.
- 3) Bestem og adskil det passende antal *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* -reaction tubes (1F-folie), og klik dem ind i deres respektive positioner i strimlen (klik-position 2, grøn farvekodning på stativet. se Figur 1).
  - a. Fjern overskydende luft, og luk aluminiumsposerne med lynlåsforseglingen.
  - b. Rehydreringen udføres korrekt ved at sørge for, at det frysetørrede produkt ligger i bunden af røret og ikke er i kontakt med rørets top eller folieforseglingen. Bank forsigtigt hvert rør mod en hård overflade for at sikre, at alt produktet er i bunden af røret.
- 4) Fjern det nødvendige antal Rehydration Buffer tubes (11 folie), og klik dem fast på deres tilsvarende pladser på strimlen (klik-position 3, ikke-farvet kodning på prøvestativet. Se Figur 1).
  - a. Fjern overskydende luft, og luk aluminiumsposerne med lynlåsforseglingen.
  - b. For at sikre, at overførslen udføres korrekt, skal man sørge for, at væsken ligger i bunden af røret og ikke er i kontakt med rørets top eller folieforseglingen. Bank forsigtigt på hvert rør på en hård overflade for at sikre, at al bufferen er i bunden af røret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent strimmel (TNA) fra BD MAX™ ExK™ TNA-3 prøvesæt.



### 8.3.3. BD MAX™ Instrumentopsætning

- 1) Vælg fanen "Worklist" (Arbejdsliste) på skærmen "Run" (Kør) på BD MAX™ Systemsoftware v4.50A eller nyere.
- 2) Vælg den ønskede test: dvs. VIASURE MGM (hvis den ikke allerede er oprettet, se afsnit 8.3.1) i rullemenuen "Test".
- 3) Vælg det relevante lotnummer for sættet (findes på den udvendige æske til ekstraktionssættet, der anvendes) (valgfrit) i rullemenuen "Kit Lot Number" (Sættets lotnummer).

Bemærk: Lotnumre skal defineres i visningen "Inventory" (Beholdning), før de kan vælges her.

- 4) Indtast identifikationsnummeret for "Sample Buffer Tube" i feltet "Sample tube" (Prøverør), ved enten at scanne stregkoden med scanneren eller ved manuel indtastning.
- 5) Udfyld feltet "Patient ID" (Patient-id) og/eller feltet "Accession" (Adgang), og klik på tabulatortasten eller Enter-tasten. Fortsæt, indtil alle stregkoder til Sample Buffer Tubes (prøvebufferrør) er indtastet. Sørg for, at "Specimen/patient ID" (prøve-/patient-id) og Sample Buffer Tubes (prøvebufferrør) matcher nøjagtigt.
- 6) Anbring det klargjorte Sample Buffer Tube i BD MAX™ prøvestativet/-stativerne.
- 7) Sæt stativet/stativerne i BD MAX™ System (stativ A er placeret i venstre side af BD MAX™ System og stativ B i højre side).
- 8) Anbring det nødvendige antal BD MAX™ PCR Cartridge(s) i BD MAX™ System.
- 9) Luk lågen til BD MAX™ System.
- 10) Klik på "Start" for at starte proceduren.

### 8.3.4. Resultatrapport for BD MAX™

- 1) Klik på knappen "Results" (Resultater) på menubjælken.
- 2) Dobbeltklik enten på din kørsel på listen, eller tryk på knappen "View" (Vis).
- 3) Knapperne "Print" (Udskriv) og "Export" (Eksporter) nederst på skærmen aktiveres.

Sådan udskrives resultaterne:

1. Klik på knappen "Print" (Udskriv).
2. I forhåndsvisningsvinduet "Print" (Udskriv) vælges: "Run Details" (Kør detaljer), "Test Details" (testdetaljer) og "Plots" (tegn grafik).
3. Klik på "Print" (Udskriv) for at udskrive rapporten, eller klik på "Export" (Eksporter) for at eksportere en PDF-fil af rapporten til et USB-stik.

Sådan eksporteres resultaterne:

1. Klik på knappen "Export" (Eksporter) for at overføre rapporten (PDF- og CSV-fil) til et USB-stik.
2. Når eksporten er fuldført, vises ikonet for succes/mislykket i vinduet "Results Export" (Resultater eksporteret).

## 9. Tolkning af resultater

For en detaljeret beskrivelse af, hvordan man analyserer data, se BD MAX™ Systems brugermanual.

Analysen af data udføres som BD MAX™-software i overensstemmelse med producentens anvisninger. BD MAX™-softwaren rapporterer Ct-værdier og stigningskurver for hver detektorkanal for hver prøve, som er testet på følgende måde:

- En Ct-værdi på 0 angiver, at der ikke blev beregnet nogen Ct-værdi af softwaren ved den angivne tærskelværdi (se Tabel 5). En forstærkningskurve for prøven, der viser en Ct-værdi på "0", skal kontrolleres manuelt.
- En Ct-værdi på -1 angiver, at der ikke er sket nogen forstærkningsproces, at der ikke blev beregnet nogen Ct-værdi af softwaren, eller at den beregnede Ct-værdi ligger under den angivne tærskel eller over den fastlagte Ct maks. (detektionsgrænse).
- Enhver anden Ct-værdi skal fortolkes i sammenhæng med forstærkningskurven og i henhold til den definerede resultatlogik i overensstemmelse med retningslinjerne for tolkning af prøven som anført i Tabel 17-18.

Kontrollér signalet fra endogen intern kontrol (EIC) for at verificere, at forstærkningsblandingen fungerer korrekt. Desuden skal du kontrollere, at der ikke foreligger nogen rapport over BD MAX™ Systemfejl. Bemærk,

at det i henhold til den definerede resultatlogik er muligt ikke at observere forstærkningskurven i EIC i urinprøver i tilfælde af et positivt signal for både Mg-mål og Res.-mål eller Sen-mål. Læs fortolkningen af patientens individuelle urinprøver (Tabel 18) grundigt.

Resultaterne skal læses og analyseres ved hjælp af følgende tabeller:

#### Fortolkning af resultater for vaginale podningsprøver

Makrolidresistent (navn på mål: Res)	Makrolidfølsomhed (navn på mål: Sen)	<i>M. genitalium</i> (navn på mål: Mg)	Tolkning af patientens individuelle prøver
NEG	POS	POS	Makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidresistent DNA ikke påvist
POS	NEG	POS	Makrolidresistent og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidfølsomhed DNA ikke påvist
POS	POS	POS	Makrolidresistent, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA påvist INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
POS	POS	NEG	Makrolidresistent og makrolidfølsomhed DNA påvist, <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
POS	NEG	NEG	Makrolidresistent DNA påvist, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
NEG	POS	NEG	Makrolidfølsomhed DNA påvist, makrolidresistent og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
NEG	NEG	POS	<i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidresistent og makrolidfølsomhed DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1,2</sup>
NEG	NEG	NEG	Makrolidresistent, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist
UNR	UNR	UNR	Resultatet Unresolved (UNR) (Kan ikke bestemmes) fremkommer under tilstedeværelsen af hæmmere i PCR-reaktionen, prøver under detektionsgrænsen, eller når der opstår et generelt problem (der ikke rapporteres med en fejlkode) under prøvebehandlingen og/eller amplificeringstrinnene. <sup>3</sup>
IND	IND	IND	Analyseresultatet er Indeterminate (ubestemmeligt) (IND). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultat, der vises i tilfælde af en instrumentfejl, der er knyttet til en fejlkode. <sup>4</sup>
INC	INC	INC	Analyseresultatet er Incomplete (ufuldstændigt) (INC). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises, hvor en fuldstændig kørsel ikke kunne gennemføres. <sup>4</sup>

Tabel 17. Fortolkning af prøver for vaginalpodninger.

**1** Gentestning er påkrævet. Det anbefales at gentage analysen med samme prøvebufferrør (SBT) eller med den oprindelige prøve ved at forberede et nyt SBT. I tilfælde af et fortsat inkonklusivt resultat skal der indhentes en ny prøve (mere koncentreret, hvis det er muligt), til testning.

BEMÆRK: Prøver fra vaginalpodninger kan opbevares uden overførsel til SBT i op til 2 dage ved opbevaring ved 25°C eller ved 4°C. Ved gentestning fra samme SBT anbefales det at ryste SBT manuelt for at sikre tilstrækkelig homogenisering af prøven. Bemærk, at vaginalpodningsprøver kan opbevares i SBT i maksimalt 7 dage ved 25°C eller 4°C (hvis de tidligere har været opbevaret ved 25°C eller 4°C i maksimalt 2 dage).

**2** Prøvesættet registrerer følgende mutationer forbundet med makrolidresistens: *23S rRNA-genet* (*A2058T*, *A2058C*, *A2058G*, *A2059C*, *A2059G*). I tilfælde af tilstedeværelse af en anden mutation er prøvesættet ikke valideret til påvisning af denne. Derfor vil der blive observeret amplifikation i ROX-kanalen (påvisning af *M. genitalium*) og ikke i FAM- og HEX-kanalerne (påvisning af henholdsvis makrolidresistens og makrolidfølsomhed).

**3** Den endogene interne kontrol (EIC) skal vise et forstærkningssignal med en Ct-værdi  $\leq 35$  for at blive taget i betragtning. Hvis der mangler signal for EIC, eller Ct-værdien er  $> 35$ , betragtes resultatet som "Kan ikke bestemmes" (UNR), og det er nødvendigt at teste igen. Kontrollér resultatrapporten og Ct-værdierne for de valgte mål og foretag passende handlinger under hensyntagen til følgende:

- I. Når resultaterne for mål-gener er ugyldige (Ct  $> 40$ ), skal analysen gentages med samme SBT eller fra den oprindelige prøve med en ny SBT. Hvis der opnås et UNR-resultat igen, skal der overvejes to scenarier. På den ene side kan koncentrationen af prøven være under LoD. Derfor vil det blive anbefalet at indhente en mere koncentreret prøve. På den anden side skal den potentielle tilstedeværelse af hæmmere i PCR-reaktionen overvejes, og det anbefales at fortynde disse prøver 1/10. Følg laboratoriets retningslinjer og/eller mikrobiologilaboratoriets vejledninger.
- II. Når resultaterne for mål-generne for makrolidresistens, makrolidfølsomhed og/eller *M. genitalium* er gyldige (Ct  $\leq 40$ ), er det muligt, at der ikke ses forstærkning, eller at der er forstærkning af den interne kontrol (EIC) med en Ct-værdi  $> 35$  ved testning af stærkt koncentrerede prøver på grund af en præferentiel forstærkning af mål-specifikke nukleinsyrer. Hvis det skønnes nødvendigt, fortyndes disse prøver 1/10. Sample Buffer Tube (SBT) forberedes igen, og testningen gentages. Følg laboratoriets retningslinjer og/eller mikrobiologilaboratoriets vejledninger.

**4** Ubestemmelige (IND) eller ufuldstændige (INC) resultater kan opnås på grund af en systemfejl, og der vil kræves en ny test. Se brugsanvisningen til BD MAX™ System for oplysninger om fortolkning af advarsels- og fejkoder.

### **Fortolkning af resultater for urinprøver**

Makrolidresistent (navn på mål: Res)	Makrolidfølsomhed (navn på mål: Sen)	<i>M. genitalium</i> (navn på mål: Mg)	Tolkning af patientens individuelle prøver
NEG	POS	POS	Makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidresistent DNA ikke påvist
POS	NEG	POS	Makrolidresistent og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidfølsomhed DNA ikke påvist
POS	POS	POS	Makrolidresistent, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA påvist INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
POS	POS	NEG	Makrolidresistent og makrolidfølsomhed DNA påvist, <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>

Makrolidresistent (navn på mål: Res)	Makrolidfølsomhed (navn på mål: Sen)	<i>M. genitalium</i> (navn på mål: Mg)	Tolkning af patientens individuelle prøver
POS	NEG	NEG	Makrolidresistent DNA påvist, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
NEG	POS	NEG	Makrolidfølsomhed DNA påvist, makrolidresistent og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1</sup>
NEG	NEG	POS	<i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidresistent og makrolidfølsomhed DNA ikke påvist. INKONKLUSIVT RESULTAT <sup>1,2</sup>
NEG	NEG	NEG	Makrolidresistent, makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA ikke påvist
UNR	POS	POS	Makrolidfølsomhed og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidresistent DNA ikke påvist <sup>3</sup>
POS	UNR	POS	Makrolidresistent og <i>M. genitalium</i> DNA påvist, makrolidfølsomhed DNA ikke påvist <sup>3</sup>
UNR	UNR	UNR	Resultatet Unresolved (UNR) (Kan ikke bestemmes) fremkommer under tilstedeværelsen af hæmmere i PCR-reaktionen, eller når der opstår et generelt problem (der ikke rapporteres med en fejlkode) under prøvebehandlingen og/eller forstærkningstrinnene. <sup>4</sup>
POS	POS	UNR	Kan ikke bestemmes (UNR) – gentag test <sup>1</sup>
POS	UNR	UNR	Kan ikke bestemmes (UNR) – gentag test <sup>1</sup>
UNR	POS	UNR	Kan ikke bestemmes (UNR) – gentag test <sup>1</sup>
UNR	UNR	POS	Kan ikke bestemmes (UNR) – gentag test <sup>1</sup>
IND	IND	IND	Analyseresultatet er Indeterminate (ubestemmeligt) (IND). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultat, der vises i tilfælde af en instrumentfejl, der er knyttet til en fejlkode. <sup>5</sup>
INC	INC	INC	Analyseresultatet er Incomplete (ufuldstændigt) (INC). Skyldes en fejl i BD MAX™ System. Analyseresultatet vises, hvor en fuldstændig kørsel ikke kunne gennemføres. <sup>5</sup>

Tabel 18. Fortolkning af urinprøver.

**1** Gentestning er påkrævet. Det anbefales at gentage analysen med samme prøvebufferrør (SBT) eller med den oprindelige prøve ved at forberede et nyt SBT. I tilfælde af et fortsat inkonklusivt resultat skal der indhentes en ny prøve (mere koncentreret, hvis det er muligt), til testning.

BEMÆRK: Urinprøver kan opbevares uden overførsel til SBT i op til 4 timer, hvis de opbevares ved 25°C, eller i 1 dag, hvis de opbevares ved 4°C. I tilfælde af gentestning fra samme SBT anbefales det at ryste SBT manuelt for at sikre korrekt homogenisering af prøven. Bemærk, at urinprøver kan opbevares i SBT i op til 3 dage ved 25°C (hvis de tidligere har været opbevaret ved 25°C i maksimalt 4 timer) eller i op til 3 dage ved 4°C (hvis de tidligere har været opbevaret ved 4°C i maksimalt 1 dag).

**2** Prøvesættet registrerer følgende mutationer forbundet med makrolidresistens: *23S rRNA-genet* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). I tilfælde af tilstedeværelse af en anden mutation er prøvesættet ikke valideret til påvisning af denne. Derfor vil der blive observeret forstærkning i ROX-kanalen (påvisning af *M. genitalium*) og ikke i FAM- og HEX-kanalerne (påvisning af henholdsvis makrolidresistens og makrolidfølsomhed).

**3** Selvom cut-off-værdien for endogen intern kontrol (EIC) -mål i urinprøver er 40, på grund af det lave antal humane celler i urinen er det tilladt ikke at observere forstærkningskurven i EIC i tilfælde af en positiv signal på både makrolidresistens (FAM-kanal) eller følsomhed (HEX-kanal) -mål og *Mycoplasma genitalium* (ROX-kanal) -mål. I dette tilfælde er der ingen risiko for at rapportere et falsk-positivt resultat, fordi amplifikation skal observeres samtidigt i to forskellige kanaler.

**4** EIC skal vise et forstærkningssignal med en Ct-værdi  $\leq 40$  for at blive taget i betragtning. Hvis der mangler signal for EIC, eller Ct-værdien er  $> 40$ , betragtes resultatet som "Kan ikke bestemmes" (UNR), og det er nødvendigt at teste igen. Det anbefales at gentage analysen fra samme prøvebufferrør (SBT) eller fra den oprindelige prøve ved at tilberede et nyt SBT eller fra en ny prøve (med højere koncentration, hvis muligt). Det kan også forekomme, at resultatet Kan ikke bestemmes (UNR) skyldes tilstedeværelsen af hæmmere i PCR-reaktionen, og det anbefales at fortynde disse prøver 1/10. Følg laboratoriets retningslinjer og/eller mikrobiologilaboratoriets vejledninger.

**5** Ubestemmelige (IND) eller ufuldstændige (INC) resultater kan opnås på grund af en systemfejl, og der vil kræves en ny test. Se brugsanvisningen til BD MAX™ System for oplysninger om fortolkning af advarsels- og fejlkoder.

Bemærk: Når der anvendes eksterne kontroller, skal de give følgende forventede resultater; negativ for ENC og positiv for EPC (det forventes, at kendte positive prøver kun er positive for de mikroorganismer, der er til stede i prøven). Hvis der opstår en fejl med en ekstern kontrol, er det nødvendigt at genteste.

I tilfælde af et fortsat tvetydigt resultat anbefales det at gennemgå brugsanvisningen, den ekstraktionsproces, som brugeren anvender; til at verificere den korrekte ydeevne for hvert PCR-trin og gennemgå parametrene og kontrollere kurvens sigmoide form og fluorescensintensiteten.

Resultaterne af testen bør evalueres af en sundhedsperson og sammenholdes med sygehistorie, kliniske symptomer og andre diagnostiske tests.

## 10. Begrænsninger i testen

- Resultaterne af testen bør evalueres af en sundhedsperson og sammenholdes med sygehistorie, kliniske symptomer og andre diagnostiske tests.
- VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System er kun blevet valideret med vaginalpudninger og urinprøver fra mænd og kvinder.
- For at opnå en tilfredsstillende testydeevne skal det lyofiliserede (frysetørrede) produkt ligge i bunden af røret og ikke klæbe til det øverste område af røret eller folieforseglingen. Bank forsigtigt hvert rør mod en hård overflade for at sikre, at alt produktet er i bunden af røret.
- Mulig krydstale kan observeres i tomme kanaler i BD MAX™ System, hvis der ikke er noget mål, der skal detekteres. Det er derfor nødvendigt kun at vælge de kanaler, hvor disse forstærkes, når der udføres fortolkning af resultaterne. Kontakt [viasuresupport@certest.es](mailto:viasuresupport@certest.es) for eventuelle spørgsmål.

- Kvaliteten af testen afhænger af prøvens kvalitet; nukleinsyrerne skal ekstraheres omhyggeligt fra kliniske prøver.
- Denne test er en kvalitativ test og giver ikke kvantitative værdier eller angiver antallet af tilstedeværende organismer. Det er ikke muligt at korrelere de Ct-værdier, der blev opnået ved PCR, med koncentrationen af prøven, da de afhænger af den anvendte termocykler og af selve kørslen.
- Meget lave målniveauer under detektionsgrænsen kan påvises, men resultaterne er muligvis ikke reproducerbare.
- Bemærk det tilsigtede måleområde for analysen, da prøver med koncentrationer over eller under dette område kan give fejlagtige resultater.
- Der er mulighed for falsk positive resultater som følge af krydskontaminering med makrolidresistente *M. genitalium* og/eller makrolidfølsom prøver med *M. genitalium*, der indeholder høje koncentrationer af mål-DNA eller kontaminering som følge af PCR-produkter fra tidligere reaktioner.
- Falsk-negative resultater kan skyldes flere faktorer og kombinationer som angivet herunder:
  - Forkerte metoder til indsamling, transport, opbevaring og/eller håndtering af prøver.
  - Forkerte behandlingsprocedurer (herunder DNA-ekstraktion).
  - Nedbrydning af DNA under forsendelse/opbevaring og/eller behandling af prøver.
  - Mutationer eller polymorfismer i primernes eller probens bindingsregioner, der kan påvirke påvisning af nye eller ukendte *M. genitalium*-stammer eller makrolidresistente og makrolidfølsomme genetiske markører.
  - En bakteriemængde i prøven under detektionsgrænsen for analysen.
  - Tilstedeværelsen af qPCR-hæmmere eller andre typer interfererende stoffer. Virkningen af vacciner, visse antivirale lægemidler, antibiotika, kemoterapi eller immunsuppressive lægemidler, der anvendes til at forebygge infektionen eller anvendes under behandlingen af infektionen, er ikke blevet evalueret.
  - Virkningen af interfererende stoffer er kun blevet evalueret for de stoffer, der er angivet i afsnit 12.5.1. (Undersøgelse af interfererende stoffer) i denne brugsanvisning. Se dette afsnit for at kontrollere de mest almindelige endogene og eksogene stoffer, der fremkalder total eller delvis interferens med qPCR-reaktionen. Andre stoffer, der ikke er angivet i denne del, kan føre til fejlagtige resultater.
  - Manglende overholdelse af brugsanvisningen og analyseproceduren.
- Prøvesættet registrerer følgende mutationer forbundet med makrolidresistens: *23S rRNA-genet* (*A2058T*, *A2058C*, *A2058G*, *A2059C*, *A2059G*). Makrolidresistent *M. genitalium*-stamme, der indeholder *A2059T*-mutationen, som er mindre udbredt, kan ikke påvises af enheden. Kun i dette tilfælde er det muligt at observere forstærkning i ROX-kanalen (påvisning af *M. genitalium*) og ikke i FAM- og HEX-kanalerne (påvisning af henholdsvis makrolidresistens og makrolidfølsomhed).

- Et positivt testresultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelsen af levedygtige mikroorganismer og det betyder ikke, at disse mikroorganismer er smitsomme, eller at de forårsager kliniske symptomer. Et positivt resultat er dog en indikation af tilstedeværelsen af målsekvenser fra makrolidresistent *M. genitalium* og makrolidfølsom *M. genitalium*.
- Negative resultater udelukker ikke tilstedeværelsen af DNA fra makrolidresistent og/eller makrolidfølsom *M. genitalium* i en klinisk prøve, og de bør ikke anvendes som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger om patientbehandling. Optimale prøvetyper og tidspunktet for maksimale niveauer af mikroorganismer under infektioner forårsaget af *M. genitalium* er ikke blevet fastslået. Det kan være nødvendigt at indsamle flere prøver (typer og tidspunkter) fra den samme patient for at detektere patogenet.
- Hvis diagnostiske tests for andre seksuelt overførte sygdomme (STD) og/eller antimikrobiel resistens er negative, og kliniske observationer, patientens sygehistorie og epidemiologiske oplysninger antyder, at infektion med *M. genitalium* er mulig, bør et falsk negativt resultat overvejes, og en ny test af patienten bør overvejes.
- Fluorescensværdier kan variere på grund af flere faktorer som f.eks.: PCR-udstyr (selv samme model), ekstraktionssystem, prøvetype, tidligere behandling af prøven osv.
- Positive og negative prædiktive værdier er stærkt afhængige af prævalens i alle *in vitro*-diagnostiske tests. Ydeevnen af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System kan variere afhængigt af prævalensen og den testede population.
- Gentestning vil være nødvendig, hvis resultaterne kan ikke bestemmes, ubestemmelige eller ufuldstændige opnås under brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System. Resultater, der ikke kan bestemmes, kan skyldes tilstedeværelsen af hæmmere i prøven eller forkert rehydrering af rør med lyofiliseret reaktionsblanding. Hvis der opstår en instrumentfejl, kan det medføre ubestemmelige eller ufuldstændige resultater.

## 11. Kvalitetskontrol

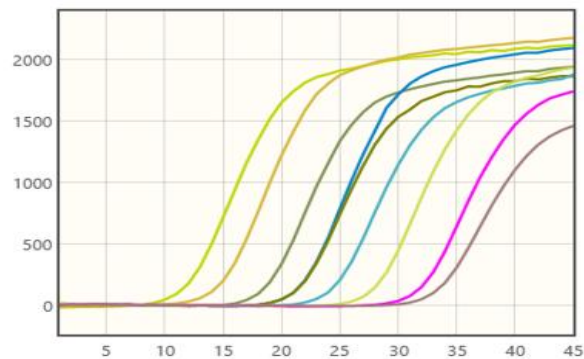
VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System indeholder en endogen intern kontrol (EIC) i hvert reaktionsrør, som bekræfter korrekt præstation af teknikken. Desuden muliggør brugen af eksterne kontroller (EPC og ENC) bekræftelse af analysens ydeevne. Eksterne kontroller anvendes ikke af BD MAX™ System til fortolkning af resultater, men betragtes som en prøve. Den eksterne positive kontrol (EPC) er beregnet til at overvåge en eventuel fejl i analysereagenserne, mens den eksterne negative kontrol (ENC) er beregnet til at detektere miljømæssig kontaminering eller kontaminering af reagenser med mål-nukleinsyrer.

## 12. Analysens ydeevneegenskaber

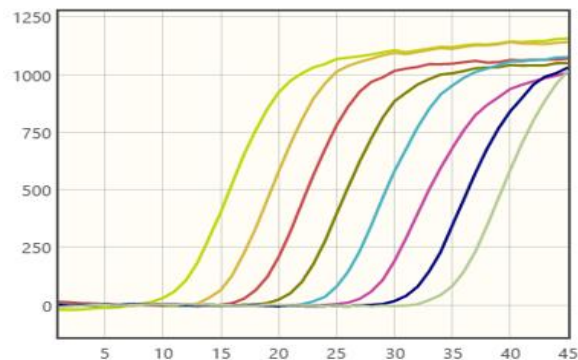
### 12.1. Analysens linearitet

Analysens linearitet blev bestemt og bekræftet ved at teste en række tifoldsfortyndinger af vaginal matrix samt urinprøver fra mænd og kvinder, der indeholder en kendt koncentration af specifikt og syntetisk DNA, der tilhører makrolidfølsom eller makrolidresistent *M. genitalium* (i intervallet  $2E+07$  til  $2E+00$  kopier/ $\mu$ L). Den aritmetiske middelværdi, standardafvigelsen og variationskoefficienten for Ct-værdierne samt effektiviteten og regressionskoefficienten for PCR-reaktionen blev beregnet, og eksempler på forstærkningsplottet, der resulterede fra en analyse i en af de evaluerede matricer, er inkluderet nedenfor.

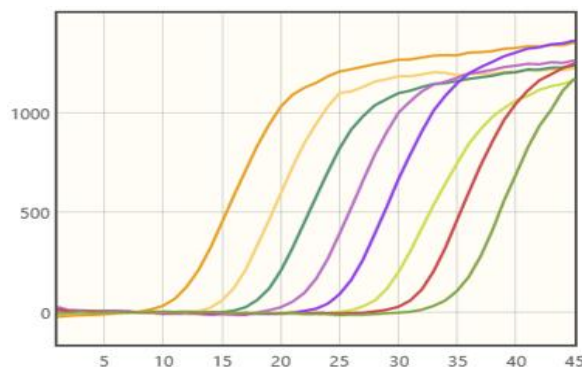
Figur 2. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidfølsom *M. genitalium* (*23S rRNA*-gen (vildtype) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon ( $2E+07$  til  $2E+00$  kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (530/565-kanal (HEX)).



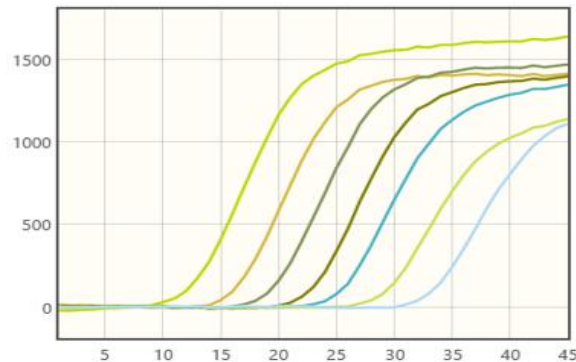
Figur 3. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidresistent *M. genitalium* (*23S rRNA*-gen (A2058C-mutation) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon ( $2E+07$  til  $2E+00$  kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (475/520-kanal (FAM)).



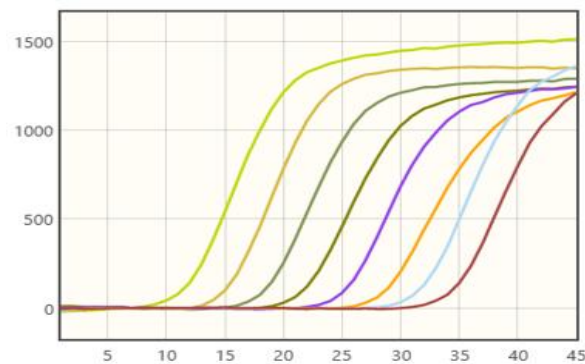
Figur 4. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidresistent *M. genitalium* (*23S rRNA*-gen (A2058G-mutation) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon ( $2E+07$  til  $2E+00$  kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (475/520-kanal (FAM)).



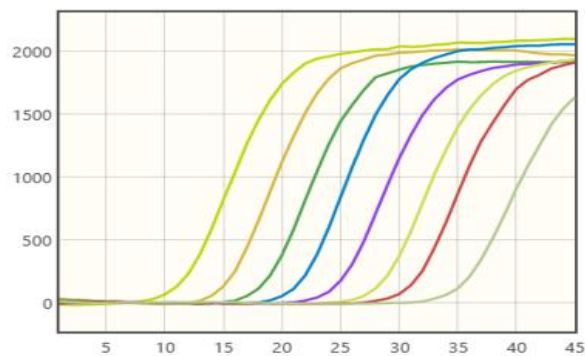
Figur 5. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2058T-mutation) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon (2E+07 til 2E+00 kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (475/520-kanal (FAM)).



Figur 6. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2059C-mutation) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon (2E+07 til 2E+00 kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (475/520-kanal (FAM)).



Figur 7. Fortyndingsserie af syntetisk makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2059G-mutation) + *MgPA-adhæsin*-gen) DNA-skabelon (2E+07 til 2E+00 kopier/ $\mu$ L) kørt på BD MAX™ System (475/520-kanal (FAM)).



## 12.2. Analytisk sensitivitet. Detektionsgrænse (LoD)

Den analytiske sensitivitet eller detektionsgrænsen (LoD) for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System blev analyseret med tre partier ved hjælp af vaginal matrix samt urinprøver fra mænd og kvinder. De anvendte referencestammer eller det syntetiske DNA (i tilfælde af manglende stamme) er beskrevet i følgende tabel:

Mål	Stamme/syntetisk DNA	Ekstern reference	
Makrolidfølsomhed + <i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>23S rRNA</i> -gen (vildtype) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme M30	49895™
Makrolidresistent + <i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>23S rRNA</i> -gen (A2058C-mutation) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	Syntetisk DNA (MGRXPC)	I/R
	<i>23S rRNA</i> -gen (A2058G-mutation) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029
	<i>23S rRNA</i> -gen (A2058T-mutation) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	Syntetisk DNA (MGRXPC)	I/R
	<i>23S rRNA</i> -gen (A2059C-mutation) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	Syntetisk DNA (MGRXPC)	I/R
	<i>23S rRNA</i> -gen (A2059G-mutation) + <i>MgPA-adhæsin</i> -gen	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029

Tabel 19. Referencestammer og syntetisk DNA anvendt til detektionsgrænseanalyse.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System viste den detektionsgrænse, der er angivet i følgende tabel, med en positiv rate på  $\geq 95$  %.

Detektionsgrænse (LoD) (kopier/ $\mu$ L)						
Matrix	Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i>	Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059G)	Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058G)	Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058C)	Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058T)	Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059C)
Urin, kvinde	3,33E-02	3,00E+00	9,99E-01	6,00E+00	6,00E+00	2,00E+00
Urin, mand	1,00E-01	9,00E-01	3,00E-01	2,00E+00	2,00E+00	2,00E+00
Vaginal	1,00E-01	2,70E+00	3,33E-01	2,00E+00	6,00E+00	2,00E+00

Tabel 20. Detektionsgrænse for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Derfor viser de opnåede resultater, at VIASURE-enhedens sensitivitet er ensartet og pålidelig på tværs af produktions-batches.

### 12.3. Måleområde

Måleområdet for analysen blev bestemt ved at teste en række tifoldsfortyndinger, der indeholder en kendt koncentration af specifik og syntetisk DNA tilhørende makrolidfølsom *M. genitalium* og makrolidresistent *M. genitalium*. Resultaterne gjorde det muligt at bekræfte den korrekte målpåvisning af målene inden for måleområdet, der er angivet i følgende tabel:

Mål	Måleområde (kopier/ $\mu$ L)					
	Matrix med urin fra kvinde		Matrix med urin fra mand		Vaginal matrix	
Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i>	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059G)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058G)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00
Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058T)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01
Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00

Tabel 21. Måleområde for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Konklusionen er, at bestemmelsen af måleområdet for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System i henhold til de acceptvalideringskriterier, der oprindeligt blev angivet, var vellykket, hvilket sikrer pålidelige, nøjagtige og reproducerbare resultater på tværs af et bredt spektrum af bakteriel belastning, og dets anvendelighed i forskellige kliniske diagnostiske scenarier kan bekræftes.

## 12.4. Nøjagtighed

### 12.4.1. Korrekthed (veracitet)

Korrektheden af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System er testet på referencematerialet nedenfor.

#### 1. Syntetiske cDNA-fragmenter

- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (vildtype) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidfølsom *M. genitalium*: MGRXPC, HEX- og ROX-kanaler.
- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (A2058C-mutation) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- og ROX-kanaler.
- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (A2058G-mutation) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- og ROX-kanaler.
- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (A2058T-mutation) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- og ROX-kanaler.
- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (A2059C-mutation) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- og ROX-kanaler.
- Syntetiske cDNA-fragmenter for *23S rRNA* (A2059G-mutation) og *MgPA-adhæsin*-gener for makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- og ROX-kanaler.

## 2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Ekstern reference	Mikroorganisme	Handelsnavn	Varietet
49895	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme M30
33530	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme G37
49898	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme TW48-5G
49123	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme TW10-5G
49899	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme UMTB-10G
49896	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme TW10-6G
49897	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamme R32G [R32]

Tabel 22. Referencemateriale fra American Type Culture Collection (ATCC).

## 3. Kontroller

Ekstern reference	Mikroorganisme	Handelsnavn	Varietet
MBTC029	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	- følsom typestamme - A2059G-mutation i 23 rRNA-genet - A2058G-mutation i 23 rRNA-genet

Tabel 23. Kontrolmateriale fra Vircell S.L.

## 4. Programmer til ekstern kvalitetsvurdering (EQA)

Ekstern reference	Oprindelse	Mikroorganisme	Handelsnavn	Varietet
MG23S-03	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> G37 (WT)	Stamme G37
MG23S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	23S rDNA-mutation A2059G, makrolidresistent
MG23S-07	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	23S rDNA-mutation A2059G, makrolidresistent
MG101S-04	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	Makrolidresistent
MG101S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	Makrolidresistent

Tabel 24. Referencemateriale fra eksterne kvalitetskontrolprogrammer (EQA).

### 12.4.2. Præcision

For at bestemme præcisionen af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System blev der udført intra-assay (repeterbarhed), inter-assay, inter-batch og inter-udstørsanalyser (reproducerbarhed) ved hjælp af vaginale matricer samt urinmatricer (kvinder og mænd), der blev tilsat en kendt koncentration af referencestammerne: *Mycoplasma genitalium*, stamme M30 (Ref: 49895™) for makrolidfølsom *M. genitalium* og AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) for makrolidresistent *M. genitalium*.

## Intra-assay

Intra-assay blev testet ved at analysere seks replikater af alle prøver i samme kørsel ved brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,02	0,27	0,85
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,98	0,32	1,03
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,57	0,34	1,09
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,72	0,26	0,86
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,38	0,80	2,32
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,05	0,53	1,55
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	35,23	1,20	3,41
Urin, kvinde	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,02	0,83	2,44
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,50	0,67	2,01
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	33,65	0,28	0,84
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,05	0,54	1,64
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,75	0,50	1,53
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,22	0,37	1,12
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	32,97	0,23	0,71
Vaginal	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,48	0,29	0,88
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,90	0,71	2,30
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,32	0,44	1,41
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,10	0,66	2,19
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,47	1,50
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,61	1,97
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	31,23	0,25	0,80

Tabel 25. Intra-assay-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med en makrolidfølsom *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,17	0,62	1,70
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,05	0,63	1,81
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	35,00	0,99	2,84
		5 x LoD	585/630 (ROX)	34,08	0,50	1,48
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,58	1,24	3,80
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,12	0,39	1,22
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,28	0,66	1,99
Urin, kvinde	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,72	0,51	1,52
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,30	0,37	1,12
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,67	0,48	1,48
		5 x LoD	585/630 (ROX)	31,62	0,27	0,86
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,45	0,29	0,92
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,73	0,56	1,83
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,45	0,44	1,27
Vaginal	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,33	1,34	3,90
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,75	0,27	0,79
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,55	1,15	3,52
		5 x LoD	585/630 (ROX)	32,02	0,34	1,07
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,13	0,73	2,28
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,72	2,29
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,15	0,50	1,46

Tabel 26. Intra-assay-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidresistent *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

### Inter-assay

Inter-assay blev evalueret ved analyse af fire replikater af de forskellige prøver på tre forskellige dage af tre forskellige operatører ved brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,48	0,85	2,46
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,66	0,75	2,22
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,05	0,60	1,75
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,38	0,56	1,68
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,06	1,65	4,85
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,04	1,85	5,44
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,10	1,74	5,09
Urin, kvinde	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,36	1,80	5,24
		5 x LoD	530/565 (HEX)	34,01	1,84	5,42
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,56	1,84	5,33
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,78	1,33	3,94
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,81	1,75	5,18
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,29	0,98	2,94
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,04	1,39	4,10
Vaginal	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	33,06	0,90	2,73
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,90	0,68	2,13
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,04	0,89	2,77
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,98	0,69	2,24
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,21	0,51	1,62
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,03	0,55	1,76
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	30,84	0,77	2,49

Tabel 27. Inter-assay-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidfølsom *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	35,98	1,00	2,78
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,31	0,90	2,56
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,61	1,08	3,12
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,52	0,59	1,76
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,10	0,76	2,30
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,54	0,74	2,27
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,65	1,30	3,74

Urin, kvinde	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,08	1,28	3,87
		5 x LoD	475/520 (FAM)	31,98	0,79	2,48
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,92	1,01	3,15
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,91	0,70	2,27
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,15	0,43	1,40
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,14	0,54	1,78
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,54	1,09	3,25
Vaginal	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,72	1,34	3,87
		5 x LoD	475/520 (FAM)	34,22	1,27	3,71
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,52	1,16	3,57
		5 x LoD	585/630 (ROX)	32,36	1,33	4,11
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,61	0,44	1,42
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,59	0,64	2,08
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	30,98	0,55	1,78

Tabel 28. Inter-assay-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidresistent *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

### Inter-batch

Inter-batch blev evalueret med seks replikater af de forskellige prøver ved hjælp af tre batches af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,77	0,89	2,71
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,46	0,57	1,81
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,70	0,47	1,48
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,52	0,50	1,64
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,74	0,67	1,92
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,96	1,48	4,22
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	35,44	1,01	2,85
Urin, kvinde	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,72	0,81	2,34
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,39	0,77	2,39
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r

	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,24	1,19	3,46
		5 x LoD	585/630 (ROX)	32,96	0,77	2,32
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	35,46	1,79	5,08
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,58	1,15	3,32
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,53	0,58	1,74
Vaginal	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,62	0,98	3,11
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,88	0,83	2,67
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,02	0,94	3,03
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,37	0,73	2,40
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,29	0,46	1,47
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,26	0,38	1,23
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	31,06	0,39	1,27

Tabel 29. Inter-batch-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidfølsom *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,46	1	2,73
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,47	0,76	2,14
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,68	0,76	2,20
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,85	0,63	1,86
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,57	1,25	3,73
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,55	0,61	1,88
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	32,49	0,73	2,24
Urin, kvinde	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	32,81	0,96	2,93
		5 x LoD	475/520 (FAM)	32,38	0,84	2,59
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,27	1,15	3,68
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,57	0,92	3,02
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,25	0,91	3,02
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,13	0,58	1,92
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,51	1,02	3,06
Vaginal	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,34	1,39	4,05
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,96	0,62	1,82
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,66	1,26	3,85
		5 x LoD	585/630 (ROX)	32,23	0,51	1,60
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r

Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,43	0,75	2,40
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,76	0,58	1,87
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	32,24	1,44	4,46

Tabel 30. Inter-batch-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidresistent *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

### Inter-equipment

Inter-equipment blev bestemt med seks replikater af de samme prøver, der blev anvendt til intra-assay, inter-assay og inter-batch ved brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Disse analyser blev kørt på tre laboratoriesteder med tre forskellige BD MAX™ Systems. En sammenfatning af resultaterne er vist i tabellen nedenfor.

Makrolidfølsom <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,96	0,43	1,35
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,00	0,40	1,30
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,78	0,56	1,75
		5 x LoD	585/630 (ROX)	30,88	0,9	0,94
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,48	0,87	2,53
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,51	0,87	2,51
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	32,46	0,62	1,92
Urin, kvinde	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,31	0,97	2,81
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,72	0,52	1,54
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	33,85	0,80	2,35
		5 x LoD	585/630 (ROX)	33,38	0,63	1,88
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,16	0,56	1,69
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,06	0,44	1,32
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,08	0,62	1,87
Vaginal	Makrolidfølsom	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,55	0,81	2,48
		5 x LoD	530/565 (HEX)	32,57	0,52	1,60
		Negativ kontrol	530/565 (HEX)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,42	0,88	2,81
		5 x LoD	585/630 (ROX)	31,54	0,44	1,40
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,33	1,07
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,58	0,56	1,68
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	30,84	0,50	1,61

Tabel 31. Inter-equipment-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidfølsom *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stamme						
Matrix	Mål	Prøve	Kanal	Ct ( $\bar{x}$ )	$\sigma$	CV %
Urin, mand	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,58	1,31	3,58
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,13	0,53	1,51
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,81	0,86	2,46
		5 x LoD	585/630 (ROX)	34,00	0,44	1,30
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,29	0,90	2,79
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,88	0,67	2,11
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	32,89	0,77	2,34
Urin, kvinde	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,67	0,43	1,28
		5 x LoD	475/520 (FAM)	32,85	0,64	1,96
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,46	0,44	1,35
		5 x LoD	585/630 (ROX)	31,44	0,42	1,34
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,40	0,26	0,82
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,66	0,43	1,41
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	34,59	0,65	1,87
Vaginal	Makrolidresistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,47	0,89	2,59
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,46	0,61	1,84
		Negativ kontrol	475/520 (FAM)	Neg	i/r	i/r
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,75	0,77	2,35
		5 x LoD	585/630 (ROX)	31,77	0,63	1,97
		Negativ kontrol	585/630 (ROX)	Neg	i/r	i/r
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,87	0,57	1,78
		5 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,27	0,59	1,88
		Negativ kontrol	680/715 (CY5.5)	33,72	0,54	1,61

Tabel 32. Inter-equipment-resultater for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for en makrolidresistent *M. genitalium*-stamme. (Ct) = tærskelcyklus. ( $\bar{x}$ ) = aritmetisk gennemsnitlig Ct-værdi, ( $\sigma$ ) = standardafvigelse, (CV%) = variationskoefficient, Neg = negativ, i/r = ikke relevant.

Konklusionen er, at præcisionsundersøgelsen bekræftede den pålidelige ydeevne og ensartethed på tværs af alle testede matricer, hvilket er i overensstemmelse med de oprindeligt fastsatte valideringskriterier.

## 12.5. Analytisk specificitet og reaktivitet

Den analytiske specificitet og reaktivitet blev evalueret for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System *in silico* og eksperimentelt ved anvendelse af forskellige startmaterialer, såsom certificerede referencestammer, certificerede reference-RNA'er/DNA'er og materiale fra EQA-programmerne.

### 12.5.1. Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er analysens evne til at detektere den tilsigtede målsekvens. Der er to komponenter, der skal overvejes med hensyn til analytisk specificitet: Krydsreaktivitet og interferens. Krydsreaktivitet kan forekomme, når genetisk beslægtede sekvenser er til stede i en patientprøve, mens interferens kan forekomme, hvis tilstedeværelsen af specifikke stoffer, der potentielt er til stede i prøve-matricerne, påvirker ydelsen af qPCR.

#### Krydsreaktivitet: *in silico* analyse

Krydsreaktiviteten blev vurderet ved brug af referencesekvenser for patogener fra NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) og/eller søge- og/eller alignment-værktøjer såsom BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) og intern bioinformatisk analysesoftware. BLAST-analyse af hver primer og probe i NCBI Genbank Nucleotide Database og en intern bioinformatikanalyse blev udført.

Justerede sekvenser med en procentdel af justering mindre end 80 % af homologien blev anset for usandsynligt at blive detekteret. Der blev opnået følgende resultater:

#### *Mycoplasma genitalium* (MgPA adhæsin-gen)

Alle analyserede sekvenser havde en homologi på under 80 % med primere og probesættet for *Mycoplasma genitalium* (MgPA adhæsin-genet) .

Derfor bør mål-designs for VIASURE *Mycoplasma genitalium* ikke forårsage falsk-positive resultater ved påvisning af *Mycoplasma genitalium*, når der er andre organismer til stede.

#### *Mycoplasma genitalium* (23S rRNA-gen)

BLAST-analysen, filtreret efter 23S rRNA-genet fra *M. genitalium* (eksklusive *M. genitalium*), viser en høj grad af homologi mellem primere og prober samt flere sekvenser fra “*Uncultured Mycoplasma sp.* (taksonomi-ID: 167967)” og en “*Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (taksonomi-ID: 488339-sekvens)” sekvens.

Sekvenser af “*Uncultured Mycoplasma sp.* (taksonomi-ID: 167967)” , påvises med primere og prober for makrolidresistent og makrolidfølsom *M. genitalium*. Derfor er der ingen risiko for krydsreaktivitet i produktet, da det for at bedømme en prøve som positiv er nødvendigt med påvisning i kanalen for mikroorganismen (*M. genitalium*) og i kanalen for makrolidresistens eller makrolidfølsomhed.

“*Syntetisk Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (taxonomi-ID: 488339)” påvises med de makrolidfølsomme primere og proben. Det er en sekvens, der svarer til mål-mikroorganismen, og den skal påvises. Denne sekvens vises som krydsreagerende, da den har et andet taksonomi-ID end det, der blev anvendt til eksklusion.

Derfor kan ingen af de analyserede sekvenser, herunder dem med en homologi der er højere end 80 %, påvirke en korrekt detektion af *Mycoplasma genitalium* (23S rRNA-genet).

**Analytisk specificitet: eksperimentel test****Krydsreaktivitet: eksperimentel test**

Krydsreaktiviteten af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System blev bekræftet ved at teste et panel af en række forskellige mikroorganismer forbundet med symptomer på seksuelt overførte infektioner eller miljømæssigt og fylogenetisk relevante mikroorganismer. Hvor det var muligt, og når data over koncentrationer var tilgængelige, blev de interfererende mikroorganismer evalueret på medicinsk relevante niveauer (normalt 1E+05 - 1E+06 CFU (kolonidannende enheder)/mL for bakterier og 1E+04 - 1E+05 PFU (plakdannende enheder)/mL for vira). Der blev ikke påvist nogen krydsreaktivitet mellem nogen af de testede mikroorganismer, med undtagelse af mål-mikroorganismene.

Testning af krydsreaktivitet					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme TW48-5G	-/+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	Haemophilus influenzae	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme UMTB-10G	-/+
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes simplex virus 2	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al., stamme TW10-5G	-/+
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Human Herpesvirus 1, stamme HF	-	<i>Mycoplasma hominis</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	Human papillomavirus 16	-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
<i>Candida dubliniensis</i>	-	Human papillomavirus 18	-	<i>Neisseria meningitidis</i>	-
<i>Candida glabrata</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Proteus mirabilis</i>	-
<i>Candida krusei</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Serratia marcescens</i>	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. ivanovii	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> , Serovars Panel	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme G37	-/+	<i>Treponema pallidum</i>	-
<i>Enterococcus faecium</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme R32G [R32]	-/+	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , stamme TW10-6G	-/+	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	-				

Tabel 33. Referencemikroorganismer der er inkluderet i analysen af krydsreaktivitet. +/- resultatet henviser til det positive eller negative resultat, der opnås i de forskellige kanaler afhængigt af det påviste mål. Hvis en testet mikroorganisme er et af målene, der påvises af testen, opnås et positivt resultat i den tilsvarende kanal, men et negativt resultat i de øvrige kanaler.

Konklusionen er, at resultaterne af krydsreaktivitetsanalysen opfyldte de fastsatte valideringskriterier og indikerer en høj specificitet af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System til påvisning af makrolidresistent og makrolidfølsom *M. genitalium*, hvorved risikoen for falsk-positive resultater minimeres. Da der ikke blev observeret nonspecifikke amplifikationer med andre beslægtede mikroorganismer, tyder det på, at enheden er i stand til nøjagtigt at skelne målene.

### Undersøgelse af interfererende mikrobielle agens

Der blev foretaget en undersøgelse af interfererende mikrobielle agens for at analysere de potentielt interfererende mikrobielle agens for VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Et panel af forskellige klinisk, miljømæssigt og fylogenetisk relevante mikroorganismer blev testet i tilstedeværelse af referencestammerne: *Mycoplasma genitalium*, stamme M30 (Ref: 49895™) for makrolidfølsom *M. genitalium* og AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) for makrolidresistent *M. genitalium*. Hvor det var muligt, og når data over koncentrationer var tilgængelige, blev de interfererende mikroorganismer evalueret på medicinsk relevante niveauer (normalt 1E+05 - 1E+06 CFU (kolonidannende enhed)/mL for bakterier og 1E+04 - 1E+05 PFU (plakdannende enhed)/mL for vira). Hvert punktanalyse blev udført én gang pr. prøve.

Positiv matrixkontrol (Positive Matrix Control, PMC) og negativ matrixkontrol (Negative Matrix Control, NMC) er inkluderet som testkontrol. PMC svarer til vaginal-matrix og urin-matrix fra kvinder og mænd tilsat specifikke makrolidfølsomme og makrolidresistente stammer af *M. genitalium* uden nogen interfererende mikrobielle agens, og NMC svarer til de negative matricer uden nogen interfererende mikrobielle agens.

Mikroorganismens navn	Testkoncentration	Resultat
PMC	-	i/r
NMC	-	i/r
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8,10E+05 CFU/mL	N.I.
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4,40E+01 CFU/μL	N.I.
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+02 CFU/μL	N.I.
Herpes simplex virus 1	1,60E+05 TCID50/mL	N.I.
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,80E+06 CFU/mL	N.I.
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,70E+06 CFU/mL	N.I.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,09E+05 CFU/mL	N.I.
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+05 CFU/mL	N.I.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+01 CFU/μL	N.I.
<i>Treponema pallidum</i>	3,40E+04 celler/mL	N.I.
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7,60E+03 kopier/μL	N.I.
<i>Escherichia coli</i>	i/r	N.I.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	i/r	N.I.
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Candida albicans</i>	4,18E+04 CFU/μL	N.I.
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Candida tropicalis</i>	2,88E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Chlamydia trachomatis</i> , serovar E	6,40E+05 IFU/mL	N.I.
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,00E+04 CFU/mL	N.I.
<i>Enterococcus faecium</i>	3,50E+04 CFU/mL	N.I.

Herpes simplex virus 2	7,24E+03 TCID50/mL	N.I.
Humant papillomavirus 16	1,00E+02 IE/μL	N.I.
Humant papillomavirus 18	1,00E+02 IE/μL	N.I.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Listeria monocytogenes</i>	i/r	N.I.
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 CFU/μL	N.I.
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Serratia marcescens</i>	i/r	N.I.
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 CFU/μL	N.I.
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 CFU/μL	N.I.

Tabel 34. Analyse af interfererende mikrobielle agens. N.I. = ingen interferens., i/r = ikke relevant.

Konklusionen er, at der ikke blev observeret nogen interferens ved påvisning af RNA fra makrolidfølsom og/eller makrolidresistente *M. genitalium* i vaginal matrix og urin fra kvinder og mænd med nogen af de testede mikroorganismer.

### Undersøgelse af interfererende stoffer

En undersøgelse af interfererende stoffer blev gennemført for at undersøge den potentielle interfererende effekt af endogene og eksogene stoffer på VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. I alt 17, 25 og 28 potentielt interfererende stoffer blev tilsat den negative vaginalpodning, matrix med urin fra kvinder og mænd, henholdsvis beriget med referencestammerne: *Mycoplasma genitalium*, stamme M30 (Ref: 49895™) for makrolidfølsom *M. genitalium* og AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) for makrolidresistent *M. genitalium* og evalueret med seks replikater.

Positiv matrixkontrol (Positive Matrix Control, PMC) og negativ matrixkontrol (Negative Matrix Control, NMC) er inkluderet som testkontrol. PMC svarer til vaginal-matrix indsamlet i Copan eSwab®, urin-matrix fra kvinder og mænd tilsat specifikke makrolidfølsom og makrolidresistente stammer af *M. genitalium* uden nogen interfererende mikrobiel agens, og NMC svarer til de negative matricer uden interfererende stoffer eller tilsatte mikroorganismer/referencemateriale. Der blev opnået følgende resultater:

Vaginal matrix		
Navn på stof	Testkoncentration	Resultat
PMC	-	i/r
NMC	-	i/r
Acyclovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Clotrimazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Miconazolnitrat	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Conceptrol præventionsgel (Nonoxynol-9)	2,50E+00 mg/mL	N.I.

Tioconazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Leukocytter/monocytter	2,00E+06 celler/mL	N.I.
Premeno Duo (hyaluronsyre og mælkesyre)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Deodorantspray til kvinder	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Vaginalt smøremiddel – vandbaseret Durex Frescor	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Vaginalt smøremiddel – oliebaseret SOIVRE Intim Oil	5,00E+01 µL/mL	N.I.
DermoVagisil vaginalcreme	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Preparation H, hæmorrhoid-gel HEMOAL	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Estradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Progesteron	6,00E+00 ng/mL	N.I.
Sæd	5%	N.I.
Fuldblod	1%	N.I.

Tabel 35. Potentielt interfererende stoffer i vaginal matrix. N.I.: Ingen rapporterbar interferens/l: interferens, i/r = ikke relevant.

Urin, mand		
Navn på stof	Testkoncentration	Resultat
PMC	-	i/r
NMC	-	i/r
Ibuprofen	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxen	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicillin	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azithromycin	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Ceftriaxon	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Erythromycin	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfamethoxazol	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Tetracyclin hydrochlorid	2,40E-02 µg/mL	N.I.
Trimethoprim	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumin	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubin	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucose (Dextrose)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leukocytter/monocytter	2,00E+06 celler/mL	N.I.
Lav pH (HCl)	I/R	N.I.
Høj pH (NaOH)	I/R	N.I.
Sæd	5%	N.I.
Urea	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Urinsyre	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Fuldblod	1%	I.*
	0,25%	N.I.
	0,125%	N.I.
Antocianin (tranebær vaccinium macrocarpon)	1,09E-01 mg/mL	N.I.

Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acetamidophenol	1,56E-01 mg/mL	N.I.
Phenazopyridinhydrochlorid	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Salicylsyre	1,50E-01 mg/mL	N.I.

Tabel 36. Potentielt interfererende stoffer i matrix med urin fra mand. N.I.: Ingen rapporterbar interferens/l: interferens, i/r = ikke relevant.

\* Hæmning kun observeret for målet makrolidresistent *Mycoplasma genitalium*.

Matrix med urin fra kvinde		
Navn på stof	Testkoncentration	Resultat
PMC	-	i/r
NMC	-	i/r
Ibuprofen	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxen	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicillin	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azithromycin	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Ceftriaxon	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Erythromycin	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfamethoxazol	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Tetracyclin hydrochlorid	2,40E-02 µg/mL	N.I.
Trimethoprim	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumin	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubin	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucose (Dextrose)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leukocytter/monocytter	2,00E+06 celler/mL	N.I.
Lav pH (HCl) 4	I/R	I.*
Lav pH (HCl) 5	I/R	I.*
Lav pH (HCl) 6	I/R	N.I.
Høj pH (NaOH)	I/R	N.I.
Sæd	5%	N.I.
Urea	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Urinsyre	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Fuldblod	1%	N.I.
Antocianin (tranebær vaccinium macrocarpon)	1,09E-01mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acetamidophenol	1,56E-01 mg/mL	I.*
	3,90E-02 mg/mL	N.I.
	9,75E-03 mg/mL	N.I.
Phenazopyridinhydrochlorid	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Salicylsyre	1,50E-01 mg/mL	N.I.

17- $\alpha$ -ethinylestradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Norethindron	1,60E+01 ng/mL	N.I.
Deodorantspray til kvinder	5,00E+01 $\mu$ L/mL	N.I.

Tabel 37. Potentielt interfererende stoffer i matrix med urin fra kvinde. N.I.: Ingen rapporterbar interferens/I: interferens, i/r = ikke relevant.

\* Hæmning blev kun observeret for målet makrolidfølsom *Mycoplasma genitalium*.

Forskellige potentielt interfererende stoffer, både endogene og eksogene, blev testet på VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System. Ud fra de opnåede resultater kunne det konkluderes, at der ved de undersøgte koncentrationer ikke kunne observeres interferens fra de evaluerede stoffer.

### 12.5.2. Analytisk reaktivitet

Analytisk reaktivitet kan defineres som procentdelen af mikrobielle målstammer, eller DNA/RNA-prøver, der giver det korrekte positive resultat. Analytisk reaktivitet blev undersøgt *in silico* og ved eksperimentel analyse.

#### Analytisk reaktivitet: *in silico* analyse

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System blev evalueret ved hjælp af offentligt tilgængelige nukleotidsekvensdatabaser som f.eks. NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) og intern bioinformatisk analysesoftware for at demonstrere, at målgenerne kan påvises korrekt af udstyret, der undersøges. *in silico*-analyse af primere og probedesign blev udført ved alignment med i alt 2.399 analyserede sekvenser (sekvenser hentet fra databasen, hvor dubletter var fjernet). De opnåede resultater er vist i følgende tabel:

<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gen	Alignede sekvenser: 486				
	Uden uoverensstemmelser	Med uoverensstemmelser	Sekvenser med bekræftet påvisning	Sekvenser uden påvisning	Sekvenser med ukendt påvisning
<i>MgPa-adhæsin</i>	74,07%	25,93%	74,07%	0%	25,93%*
<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gen	Alignede sekvenser: 17				
	Uden uoverensstemmelser	Med uoverensstemmelser	Sekvenser med bekræftet påvisning	Sekvenser uden påvisning	Sekvenser med ukendt påvisning
<i>23S RNA</i>	82,35%	17,65%	100%	0%	0%

Tabel 38. Analytisk reaktivitet *in silico*-analyse. "Alignede sekvenser" = antal sekvenser alignet uden eller med uoverensstemmelser af det samlede antal analyserede sekvenser, "Sekvenser med bekræftet påvisning" = sekvenser uden uoverensstemmelser eksperimentelt analyserede sekvenser, hvor påvisning er bekræftet, "Sekvenser uden påvisning" = sekvenser tidligere *in silico*-analyseret, hvis eksperimentelle påvisning ikke kan garanteres på grund af tidligere negativ eksperimentel evidens, "Sekvenser med ukendt påvisning" = sekvenser tidligere *in silico*-analyseret, hvis eksperimentelle påvisning ikke kan garanteres på grund af manglende eksperimentel evidens.

\*Det skal bemærkes, at 20,78% af alle alignede sekvenser (101/486) præsenterede ikke-kritiske uoverensstemmelser, som betragtes som detekteret.

Sammenfattende viste inklusivitetsanalysen en korrekt detektion af *MgPA-adhæsin*- og *23S rRNA*-generne fra *M. genitalium* med VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System.

### Analytisk reaktivitet: eksperimentel analyse

Den analytiske reaktivitet af VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System for *Mycoplasma genitalium* blev evalueret mod DNA ekstraheret fra følgende stammer:

- *Mycoplasma genitalium*, stamme G37 (ATCC-kode: 33530)
- *Mycoplasma genitalium*, stamme TW48-5G (ATCC-kode: 49898)
- *Mycoplasma genitalium*, stamme TW10-5G (ATCC-kode: 49123)
- *Mycoplasma genitalium*, stamme UMTB-10G (ATCC-kode: 49899)
- *Mycoplasma genitalium*, stamme TW10-6G (ATCC-kode: 49896)
- *Mycoplasma genitalium*, stamme R32G [R32] (ATCC-kode: 49897)

## 12.6. Metrologisk sporbarhed

Denne analyse er ikke beregnet til måleformål.

## 13. Egenskaber for klinisk ydeevne

Den kliniske ydeevne af VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System blev testet ved brug af vaginal- og urinprøver. Resultaterne var følgende:

	Center	Prøvetype	Arbejdsgang	Mål
1	Certest Biotec S.L. i samarbejde med Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spanien)	Vaginalpodninger	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	Makrolidfølsom <i>Mycoplasma genitalium</i>
				Makrolidresistent <i>Mycoplasma genitalium</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) ved brug af prøver fra Cerba Xpert	Urin	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	Makrolidfølsom <i>Mycoplasma genitalium</i>
				Makrolidresistent <i>Mycoplasma genitalium</i>

Tabel 39. Sted, prøvetype, arbejdsproces og mål.

Sande positive og negative værdier, falsk-positive og falsk-negative værdier, følsomhed, specificitet, positive prognoseværdier (PPV), negative prognoseværdier (NPV) og sandsynlighedskvotienter (LR) for VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System blev beregnet i forhold til hver komparatoranalyse som vist i følgende tabel:

Center	Komparatoranalyse	Mål	TP	TN	FP	FN	Sensitivitet	Specificitet	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Allplex™ MG & AziR Assay (Seegene)	MG makrolid resistent	43	96	0	2	0,96 (0,85-0,99)	1,00 (0,96-1,00)	1,00 (0,91-1,00)	0,98 (0,93-1,00)	183,46 (11,55-2914)	0,055 (0,016-0,182)
		MG makrolid følsom	50	86	3	2	0,96 (0,87-0,99)	0,97 (0,91-0,99)	0,94 (0,85-0,99)	0,98 (0,92-1,00)	28,53 (9,37-86,88)	0,040 (0,010-0,155)
2	Allplex™ MG & AziR Assay (Seegene)	MG makrolid resistent	44	107	0	0	1,00 (0,92-1)	1,00 (0,97-1)	1,00 (0,92-1)	1,00 (0,97-1)	213,6 (13,4-3394)	0,011 (0,001-0,176)
		MG makrolid følsom	54	95	0	2	0,96 (0,88-0,99)	1,00 (0,96-1)	1,00 (0,93-1)	0,98 (0,93-0,99)	183,6 (11,6-2916)	0,044 (0,013-0,148)

Tabel 40. Sande positive (TP) og negative værdier (TN), falsk-positive (FP) og falsk-negative (FN) værdier, følsomhed, specificitet, positive prognoseværdier (PPV), negative prognoseværdier (NPV) og sandsynlighedskvotienter (LR) for VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System.

Konklusionen er, at resultaterne viser en høj grad af overensstemmelse til at påvise makrolidfølsom og makrolidresistent *Mycoplasma genitalium* ved brug af VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System.

## 14. Sammenfatning af sikkerhed og klinisk ydeevne

Sammenfatningen af sikkerhed og klinisk ydeevne af VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System kan downloades fra webstedet: [certest.es/viasure/labeling](http://certest.es/viasure/labeling). Denne sammenfatning kan også findes på EUDAMED-websstedet (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

## Bibliografi

Baumann, L., Cina, M., Egli-Gany, D., Goutaki, M., Halbeisen, F. S., Lohrer, G.-R., Ali, H., Scott, P., & Low, N. (2018). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in different population groups: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*, *94*, 254–261. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2017-053384>

Gnanadurai, R., & Fifer, H. (2020). *Mycoplasma genitalium*: A review. *Microbiology*, *166*, 21–29. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000830>













Heavey, E. (2017). *Mycoplasma genitalium*. *Nursing*, *47*(7), 61–62. <https://doi.org/10.1097/01.NURSE.0000520524.30192.07>

Jensen, J. S., Cusini, M., Gomberg, M., Moi, H., Wilson, J., & Unemo, M. (2022). 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *36*, 641–650. <https://doi.org/10.1111/jdv.17972>

Patel, P. H., & Hashmi, M. F. (2023). Macrolides. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551495/>

van der Schalk, T. E., Braam, J. F., & Kusters, J. G. (2020). Molecular basis of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *55*, 105911. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105911>

## Symboler for IVD-komponenter og -reagenser

 Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 Opbevares tørt	 Anvendes inden	 Producent	 Batchkode
 Se brugsanvisningen	 Temperaturbegrænsning	 Indeholder nok til <n> tests	 Unik udstyrsidentifikation	 Katalognummer
 CE-mærkning	 Må ikke udsættes for sollys			

## Varemærker

BD MAX™ er et registreret varemærke, der tilhører Becton, Dickinson and Company.

Rettigheder til ændring forbeholdes. Alle rettigheder forbeholdes. © Certest Biotec, S.L.

Alle andre varemærker og mærker, der kan forekomme i denne indlægsseddel, er deres respektive ejeres ejendom.



Certest Biotec, S.L.

Po. Industrial Río Gállego II, Calle J, nr. 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spanien)

Tlf. (+34) 976 520 354 | [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es) | [www.certest.es](http://www.certest.es)

**Oplysninger om sponser i Australien:** Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.  
Macquarie Park NSW 2113, Australien

**Oplysninger om sponsor i New Zealand:** Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.  
MT. Wellington Auckland 1060, New Zealand

Kontrol af ændringer		
Versionsnr.	Ændringer	Dato
00	Original version, Denne version er en oversættelse af det originale engelske dokument: IUo-444224en0226.00	18/02/2026

Tabel A2. Tabel over ændringskontrol.

Revision: 18. februar 2026





# VIASURE

by **certest**



 Certest Biotec, S.L.  
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 50840,  
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

 (+34) 976 520 354

 [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es)

 [www.certest.es](http://www.certest.es)

**certest**  
F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.  
The products, services and data set out in this document may suffer changes  
and/or variations on the texts and pictures shown.