

Real Time PCR Detection Kit

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

CE IVD
2797

Die vorliegende Gebrauchsanweisung bezieht sich auf die folgenden Referenzen:

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

Tabelle A1. Verweis auf das mit dem BD MAX™ System zu verwendende Produkt.

EN To download IFUs in other languages, please visit 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.

BG За да изтеглите инструкциите за употреба (IFU) на други езици, моля, отидете на 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.

CS Chcete-li si stáhnout návody k použití (IFU) v jiných jazycích, přejděte na stránku 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.

DA Hvis du vil downloade brugsanvisninger på andre sprog, kan du gå til 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.

DE Um die IFUs in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu 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.

EL Για λήψη των Οδηγίες χρήσης (IFUs) σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση 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.

ES Para descargar las Instrucciones de Uso (IFU) en otros idiomas, por favor, entre en 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.

FR Pour télécharger la notice d'utilisation (IFU) dans d'autres langues, consultez 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.

HR Za preuzimanje IFUs-a s drugih jezika unesite 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.

HU A használati utasítások (IFU-k) más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a 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.

IT Per scaricare le istruzioni per l'uso (IFU) in altre lingue, vai su **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.

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

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

PT Para transferir instruções de utilização (IFU) noutros idiomas europeus, aceda a **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.

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

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

SK Ak si chcete stiahnuť návody na použitie v iných jazykoch, prejdite na stránku **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.

FI Lataa suomenkielinen turvallisuusopas osoitteesta certest.es/viasure/labeling. Seuraa annettuja ohjeita. Mikäli tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Besuchen Sie **certest.es/viasure/labeling**, wenn Ihre Sprache nicht in der Liste enthalten ist. Wenden Sie sich an viasure@certest.es, wenn Ihre Sprache nicht auf der Website aufgeführt ist.

Hinweis: Der Anwender sollte den Hersteller und die zuständige Behörde des Mitgliedstaates, in dem er als Anwender und/oder Patient niedergelassen ist, über jeden schwerwiegenden Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt informieren.

Inhalt

1.	Zweckbestimmung.....	6
2.	Zusammenfassung und Erläuterung.....	6
3.	Verfahrensprinzip.....	8
4.	Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien.....	9
5.	Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung.....	9
6.	Transport-, Lagerungs- und Handhabungsbedingungen.....	10
7.	Sicherheitshinweise für Anwender.....	11
8.	Testverfahren.....	13
8.1.	Probenentnahme, -Transport und -Lagerung.....	13
8.2.	Probenvorbereitung und DNA-Extraktion.....	14
8.3.	PCR-Protokoll.....	14
8.3.1.	Erstellen eines PCR-Testprogramms für den VIASURE <i>Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance</i> Assay for BD MAX™ System.....	14
8.3.2.	Einrichten der BD MAX™ Rack.....	19
8.3.3.	Einrichten des BD MAX™.....	20
8.3.4.	BD MAX™-Ergebnisbericht.....	21
9.	Ergebnisinterpretation.....	21
10.	Grenzen des Tests.....	26
11.	Qualitätskontrolle.....	28
12.	Analytische Leistungsmerkmale.....	29
12.1.	Analytische Linearität.....	29
12.2.	Analytische Sensitivität. Nachweisgrenze (LoD).....	31
12.3.	Messbereich.....	32
12.4.	Genauigkeit.....	32
12.4.1.	Richtigkeit (Verlässlichkeit).....	32
12.4.2.	Präzision.....	34
12.5.	Analytische Spezifität und Reaktivität.....	40
12.5.1.	Analytische Spezifität.....	41

12.5.2. Analytische Reaktivität	48
12.6. Metrologische Rückführbarkeit	49
13. Merkmale der klinischen Leistung	49
14. Kurzbericht über Sicherheit und Leistung	50
Literaturverzeichnis	51
Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien.....	51
Marken	51

DEUTSCH

1. Zweckbestimmung

Der VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System ist ein automatisierter qPCR-Test, der für den qualitativen Nachweis von DNA von *Mycoplasma genitalium* und spezifischen Punktmutationen (vermittelt durch Basensubstitutionen in *23S rRNA*) entwickelt wurde, die mit einer Makrolid-Resistenz in Vaginalabstrichen sowie in Urinproben von männlichen und weiblichen Patienten in Verbindung gebracht werden, die mit Verdacht auf eine Infektion mit *M. genitalium* durch deren behandelnden Arzt untersucht werden. Dieser Test soll die Diagnose einer Infektion mit *M. genitalium* und die Erkennung einer möglichen Resistenz gegenüber Makroliden in Kombination mit den klinischen Anzeichen und Symptomen und/oder epidemiologischen Risikofaktoren des Patienten erleichtern. Positive Ergebnisse weisen auf das Vorhandensein der Ziel-Nukleinsäuren (NA) hin, lassen jedoch das Vorhandensein von nicht durch den Test nachgewiesener NA anderer Pathogene nicht ausschließen. Negative Ergebnisse lassen das Vorhandensein von NA-Zielsequenzen nicht ausschließen und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Behandlung oder andere Entscheidungen hinsichtlich der Patientenversorgung herangezogen werden. Bei dem Assay wird das BD MAX™ System zur automatisierten DNA-Extraktion und anschließenden qPCR durch Einsatz der mitgelieferten Reagenzien in Kombination mit universellen Reagenzien und Einwegartikeln des BD MAX™ Systems verwendet. Die DNA wird aus den Proben entnommen, mittels qPCR amplifiziert und anschließend über spezifische Primer und Sonden mit fluoreszierendem Reportfarbstoff für *M. genitalium* sowie für Mutationen im *23S-rRNA*-Gen, das mit einer Makrolid-Resistenz in Verbindung gebracht wird, detektiert.

Das Produkt ist für die Verwendung durch qualifiziertes und geschultes klinisches Laborpersonal bestimmt, das speziell in die Techniken der Echtzeit-PCR und *In-vitro*-Diagnoseverfahren (einschließlich der Schulung am Echtzeit-PCR-Gerät (Thermocycler) und am Nukleinsäureextraktionssystem) eingewiesen und darin geschult worden ist.

2. Zusammenfassung und Erläuterung

Sexuell übertragbare Infektionen (STI) stellen weltweit ein großes Problem für die öffentliche Gesundheit dar, beeinträchtigen die Lebensqualität und sind mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität verbunden.

Mycoplasma genitalium (MG) ist eine häufige Ursache für nicht-gonokokkale Urethritis (NGU) und nicht-chlamydiale Urethritis bei Männern und Zervizitis bei Frauen und wird mit entzündlichen Erkrankungen des Beckens, Unfruchtbarkeit und Frühgeburten in Verbindung gebracht (Baumann et al., 2018; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020). MG ist ein flaschenförmiger Organismus mit einer leicht gekrümmten terminalen Organelle, der in der Lage ist, Entzündungen im urogenitalen Trakt durch Adhäsion an Wirts-

Epithelzellen zu verursachen und akute Entzündungssignale über hoch exprimierte angeborene Immunsensoren auszulösen (Gnanadurai & Fifer, 2020). Dieser Mikroorganismus ist ein langsam wachsender Organismus, von dem bekannt ist, dass er der kleinste Prokaryot ist, der zu einer unabhängigen Replikation fähig ist, und sich in den letzten Jahrzehnten aufgrund seiner Fähigkeit, den Fortpflanzungstrakt von Männern und Frauen zu besiedeln, als sexuell übertragbarer Erreger entwickelt hat (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022). Eine Infektion mit MG während der Schwangerschaft wurde mit Frühgeburten in Verbindung gebracht und kann eine Rolle bei Fehlgeburten in der Frühschwangerschaft und neonatalen Infektionen spielen (Heavey, 2017). Es kann zusammen mit *Chlamydia trachomatis* und anderen sexuell übertragbaren Infektionen auftreten, was die Bestimmung seiner unabhängigen Auswirkungen erschwert (Heavey, 2017).

Makrolide sind eine Klasse von Arzneimitteln, die bei der Behandlung und Therapie verschiedener bakterieller Infektionen wie Lungenentzündung, Nasennebenhöhlenentzündung, Rachenentzündung, Mandelentzündung, unkomplizierten Hautinfektionen und Mittelohrentzündung oder Infektionen mit *Helicobacter pylori*, jedoch auch häufig zur Behandlung von sexuell übertragbaren Infektionen wie Gonokokken- und Chlamydieninfektionen eingesetzt werden (Patel & Hashmi, 2023). Der Wirkmechanismus besteht in der Bindung an die bakterielle 50S-ribosomale Untereinheit (in der Nähe der Peptidyltransferasestelle (V-Region)) oder an die Reste A2058 und A2059 (*Escherichia-coli*-Nummerierung) der *23S-rRNA*, wodurch die bakterielle Proteinsynthese unterbunden wird (van der Schalk et al., 2020).

Das zunehmende Problem der Makrolid-Resistenz stellt angesichts weltweiter Resistenzraten zwischen 30 % und 100 % ein ernstes Problem dar (Gnanadurai & Fifer, 2020). Bakterien entwickeln hauptsächlich auf zwei Wegen eine Resistenz gegen Makrolide: Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP) und rRNA-Methylierung. Da MG jedoch die notwendigen Enzyme zur Methylierung nicht besitzt, kann es nur über eine Modifizierung der Zielsequenz mittels SNP eine Resistenz entwickeln (van der Schalk et al., 2020). Die Resistenz resultiert häufig aus einer einzelnen Basenmutation an Position A2058 oder A2059 (nach der *Escherichia-coli*-Nummerierung) in der *23S-rRNA*, mit minimalen Auswirkungen auf die bakterielle Fitness, was eine fortlaufende Übertragung ermöglicht (Gnanadurai & Fifer, 2020). Azithromycin ist das am häufigsten verwendete Makrolid zur Behandlung von MG-Infektionen, obwohl inzwischen auch Josamycin und Pristinamycin empfohlen werden (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020).

Die Kultivierung von MG ist schwierig, da die Aufzucht Wochen bis Monate dauert, was standardmäßige Empfindlichkeitstests unzuverlässig macht. Während Tests auf Antibiotikaempfindlichkeit unter Verwendung von in Vero-Zellkulturen gezüchteten MG-Stämmen ähnliche Ergebnisse wie herkömmliche Bouillon-Verdünnungsmethoden lieferten, ist dieser Ansatz für die primäre Diagnostik oder die meisten Referenzlabors nicht durchführbar (Gnanadurai & Fifer, 2020).

Aufgrund des Fehlens einer Zellwand ist MG in gramgefärbten Genitalsekreten nicht sichtbar. Darüber hinaus sind serologische Tests, die auf Antikörpern basieren, aufgrund von Kreuzreaktionen mit anderen

Mykoplasmen, einschließlich *Mycoplasma pneumoniae*, unzuverlässig (Gnanadurai & Fifer, 2020). Nukleinsäure-Amplifikationstests (NAAT) wie die Polymerase-Kettenreaktion und die transkriptionsvermittelte Amplifikation ermöglichen hingegen einen präzisen Nachweis von MG (Baumann et al., 2018; Heavey, 2017; Jensen et al., 2022). NAAT können an verschiedenen Arten von Genitalproben durchgeführt werden; Vaginalabstriche bei Frauen und Erststrahlurinproben bei Männern scheinen jedoch die besten Ergebnisse beim Testen auf MG zu liefern (Heavey, 2017). Aufgrund der hohen Rate der antimikrobiellen Resistenz wird empfohlen, gleichzeitig auf genotypische Resistenz zu testen, um eine geeignete Behandlung zu ermöglichen (Gnanadurai & Fifer, 2020).

3. Verfahrensprinzip

Der VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System ist für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis und die Differenzierung von DNA von *Mycoplasma genitalium* und spezifischen genetischen Markern konzipiert, die mit Makrolid-Resistenz und -Empfindlichkeit in vaginalen Abstrichen sowie in männlichen und weiblichen Urinproben in Verbindung gebracht werden. Nach der DNA-Isolierung aus Proben erfolgt die Identifizierung von *M. genitalium* und genetischen Markern für Makrolid-Resistenz und -Empfindlichkeit durch Amplifikation einer spezifischen Region des *MgPa-Adhäsion*-Gens von *M. genitalium* und des *23S-rRNA*-Gens, dessen spezifische Punktmutationen mit Makrolid-Resistenz und -Empfindlichkeit in Verbindung gebracht werden, unter Verwendung spezifischer Primer und fluoreszenzmarkierter Sonden. Zur Zielpopulation des Tests gehören Personen mit Anzeichen von oder Verdacht auf STI, Sexualpartner von Personen mit einer Infektion mit *M. genitalium* sowie Hochrisikopopulationen wie Männer, die Sexualverkehr mit Männern haben (MSM), Personen mit HIV und Patienten, die Kliniken für sexuelle Gesundheit aufsuchen.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System nutzt die 5'-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase. Während der DNA-Amplifikation spaltet dieses Enzym die an die komplementäre DNA-Sequenz gebundene Sonde, wodurch der Quencher-Farbstoff vom Reporter getrennt wird. Diese Reaktion erzeugt eine zur Quantität des Ziel-Templates proportionale Steigerung des Fluoreszenzsignals. Diese Fluoreszenz wird mit dem BD MAX™ System gemessen.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System enthält in jedem Gefäß bereits die für den Echtzeit-PCR-Test erforderlichen Komponenten (spezifische Primer/Sonden, dNTP, Puffer, Polymerase) in stabilisierter¹ Form sowie eine endogene interne Kontrolle (EIC) (humanes *RNAse P*-Gen), um die Integrität der Probe zu überwachen, den Extraktionsprozess zu kontrollieren und/oder die Inhibition der Polymeraseaktivität auszuschließen. Humane Housekeeping-Gene sind an den grundlegenden

¹ Bitte beachten Sie, dass die Begriffe „stabilisiert“ und „lyophilisiert“ im gesamten Dokument nicht unterscheidbar und als Synonyme verwendet werden.

Zellerhaltungsfunktionen beteiligt. Daher wird davon ausgegangen, dass sie in allen kernhaltigen menschlichen Zellen vorliegen und relativ konstante Expressionsniveaus zeigen.

Zielsequenz	Kanal	Gen
Makrolid-Resistenz	475/520 (FAM)	<i>23S rRNA</i>
Makrolid-Empfindlichkeit	530/565 (HEX)	<i>23S rRNA</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	585/630 (ROX)	<i>MgPa-Adhäsion</i>
Endogene interne Kontrolle (EIC)	680/715 (Cy5.5)	<i>RNAse P</i>

Tabelle 1. Zielsequenz, Kanal und Gene.

4. Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien

VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System enthält die in Tabelle 2 aufgeführten Materialien und Reagenzien:

Reagenz/Material	Beschreibung	Konzentrationsbereich	Code	Menge
<i>Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance</i> reaction tube	Lyoprotektoren und Stabilisatoren	± 6 g/100 mL*	1F-Folie	2 Beutel mit je 12 transparenten Röhrchen
	Desoxyribonukleosidtriphosphat (dNTP)	± 1 mM*		
	Primer und Sonden	0,2–1 nMol/µL*		
	Enzyme	10–100 U/Reaktion*		
Rehydration Buffer tube	Kochsalzlösungsgemisch	± 13 mM	11-Folie	1 Beutel mit je 24 transparenten Röhrchen
	Puffer (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabelle 2. Reagenzien und Materialien im VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System mit Kat.-Nr. 444224.

* Bei Komponenten in stabilisierter Form bezieht sich der Konzentrationsbereich auf Konzentrationen nach der Rehydrierung.

5. Vom Benutzer bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung

Nachfolgend sind die erforderlichen, jedoch nicht im Lieferumfang des VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System enthaltenen Materialien aufgeführt.

- Echtzeit-PCR-Gerät: BD MAX™ System (Ref.-Nr.: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref.-Nr.:442827 oder 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Kartuschen) (Ref.-Nr.: 437519).
- Vortexmischer
- Mikropipetten (präzise zwischen 2 und 1000 µL)
- Nuklease-freies Wasser

- Filterspitzen
- Puderfreie Einweghandschuhe

Optional:

- Externe Kontrollmaterialien können im Rahmen des Qualitätskontrollverfahrens zur Beurteilung der Assay-Leistung eingesetzt werden. Handelsübliches Kontrollmaterial und/oder Proben, die zuvor als positiv oder negativ charakterisiert worden sind, können als externe Positivkontrolle (EPC) bzw. externe Negativkontrolle (ENC) verwendet werden. Die Auswahl und Validierung der EPC und ENC muss in Übereinstimmung mit den geltenden lokalen, staatlichen und/oder nationalen Vorschriften sowie den standardmäßigen Qualitätskontrollverfahren des Labors erfolgen. Darüber hinaus hat der Anwender bei der Verwendung von handelsüblichem Kontrollmaterial die entsprechenden Gebrauchsanweisungen zu befolgen.

6. Transport-, Lagerungs- und Handhabungsbedingungen

- Die Kits können bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfalldatum bei 2°C bis 30°C transportiert und gelagert werden.
- Erschütterungen beim Transport vermeiden, um das Auslaufen von Flüssigkeit zu verhindern.
- Nach dem Öffnen der Aluminiumbeutel können die darin enthaltenen Reaktionsgefäße über bis zu 28 Tage bei 2°C bis 30°C verwendet werden. Das Fläschchen lichtgeschützt aufbewahren.

In der folgenden Tabelle sind die Bedingungen für Transport, Lagerung und Handhabung des Kits sowie für jede einzelne Komponente zusammengefasst:

Komponente	Transportbedingungen	Lagerungsbedingungen	Handhabungsbedingungen
Kompletter VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	2°C bis 30°C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer.	Vor dem Gebrauch: 2°C bis 30°C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer.	* Siehe <i>Handhabungsbedingungen der einzelnen Komponenten.</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube (1F-Folie)		Vor dem Gebrauch: 2°C bis 30°C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer. Nach Öffnen des Beutels mit dem Trockenmittel: 2°C bis 30°C für bis zu 28 Tage.	Raumtemperatur.
Rehydration Buffer tube		Vor dem Gebrauch: 2°C bis 30°C über die auf dem Etikett des Kits angegebene Haltbarkeitsdauer. Nach Öffnen des Beutels mit dem Trockenmittel: 2°C bis 30°C für bis zu 28 Tage.	Raumtemperatur.

Tabelle 3. Zusammenfassung der Bedingungen für Transport, Lagerung und Verwendung des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System und der einzelnen Komponenten.

7. Sicherheitshinweise für Anwender

- Das Produkt ist für die Verwendung durch qualifiziertes und geschultes klinisches Laborpersonal bestimmt, das speziell in den Techniken der Echtzeit-PCR und *In-vitro*-Diagnoseverfahren unterwiesen und geschult wurde.
- *In-vitro*-Diagnostikum.
- Die Gebrauchsanweisung für das VIASURE Produkt und das BD MAX™ System Anwenderhandbuch sind vor der Verwendung des VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System aufmerksam durchzulesen. Führen Sie den Test erst dann durch, wenn Sie sich mit den darin angegebenen Informationen über Verfahren, Sicherheitsvorkehrungen und Einschränkungen vertraut gemacht haben.
- Keine abgelaufenen Reagenzien und/oder Materialien verwenden.
- Das Kit nicht verwenden, wenn das Etikett, das die Außenverpackung versiegelt, aufgerissen ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbehälter bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei Ankunft bereits geöffnet oder beschädigt sind.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn sich in den Reagenzbeuteln kein Trockenmittel befindet oder dieses beschädigt ist.
- Trockenmittel nicht aus Reagenzbeuteln entfernen.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Folie gerissen oder beschädigt ist.
- Reagenzien unterschiedlicher Beutel und/oder Kits und/oder Chargen nicht vermischen.
- Schutzbeutel von Reagenzien nach jedem Gebrauch sofort mit dem Zippverschluss schließen, um den Mastermix vor Sonneneinstrahlung zu schützen. Vor dem Verschließen überschüssige Luft aus den Beuteln entfernen.
- Reagenzien vor Feuchtigkeit schützen. Sollten diese für längere Zeit Feuchtigkeit ausgesetzt sein, wirkt sich dies nachteilig auf die Produktleistung aus.
- Zur Vermeidung von Beschädigungen des Etiketts das Produkt nicht in der Nähe von Lösemitteln verwenden.
- Zeigt das Reaktionsgemisch in stabilisierter Form, das sich in der Regel am Boden des Röhrchens befindet, ein anderes Erscheinungsbild als üblich (keine konische Form, Inhomogenität, kleineres/größeres Volumen und/oder eine andere Färbung als weißlich), so hat dies keinen Einfluss auf die Funktionsfähigkeit des Tests.
- Sicherstellen, dass das Reaktionsgefäß und das Rehydrationspuffer-Röhrchen bei der Einrichtung des BD MAX™ Racks sicher einrasten.
- In Fällen, in denen andere PCR-Tests in demselben allgemeinen Laborbereich durchgeführt werden, ist Sorge dafür zu tragen, dass der VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System, das Extraktions-Kit BD MAX™ ExK™ TNA-3, sonstige zusätzlich für den Test erforderliche Reagenzien und das BD MAX™-System nicht kontaminiert werden. Eine Kontamination

der Reagenzien durch Mikroorganismen sowie durch Ribonuklease (RNase)/Desoxyribonuklease (DNase) ist unter allen Umständen zu vermeiden. Die Verwendung von RNase-/DNase-freien aerosolresistenten Einweg-Pipettenspitzen oder Direktverdrängungspipettenspitzen wird empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Spitze. Vor dem Umgang mit Reagenzien und Kartuschen (BD MAX™ PCR Cartridge) müssen die Handschuhe gewechselt werden.

- Um die Kontamination der Umgebung durch Amplikons zu vermeiden, zerbrechen Sie die BD MAX™ PCR Cartridge nicht nach Gebrauch. Die Versiegelung der BD MAX™ PCR Cartridge ist darauf ausgelegt, Kontaminationen zu verhindern.
- Einen Arbeitsfluss in eine Richtung einrichten. Der Arbeitsfluss sollte im „Extraction Area“ (Extraktionsbereich) beginnen und zum „Amplification and Detection Area“ (Amplifikations- und Detektionsbereich) übergehen. Bringen Sie Proben, Ausrüstungsgegenstände oder Reagenzien nicht in einen Bereich zurück, in dem ein vorheriger Schritt durchgeführt wurde.
- Die Grundsätze der guten Laborpraxis befolgen. Schutzkleidung, Einweghandschuhe, Schutzbrillen und Schutzmasken verwenden. Im Arbeitsbereich nicht essen, trinken, rauchen und keine Kosmetikprodukte anwenden. Nach Abschluss des Tests die Hände waschen. Kontamination sowie Kontakt mit Haut, Augen und Kleidung vermeiden.
- Proben sowie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit den Proben in Berührung gekommen sind, immer als potenziell infektiös und/oder biologisch gefährlich betrachten und entsprechend den nationalen Sicherheitsrichtlinien behandeln. Während der Entnahme, des Transports, der Lagerung, Handhabung und Entsorgung von Proben die erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen befolgen.
- Proben und Reagenzien müssen in einer biologischen Sicherheitswerkbank gehandhabt werden. Persönliche Schutzausrüstung (PSA) verwenden, die den aktuellen Richtlinien für den Umgang mit potenziell infektiösen Proben entspricht. Abfall in Übereinstimmung mit den örtlichen und Landesvorschriften entsorgen.
- Eine regelmäßige Dekontaminierung von häufig genutzten Ausrüstungsgegenständen und Flächen, insbesondere Mikropipetten und Arbeitsoberflächen, wird empfohlen.
- Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH) sind für die VIASURE Assays for BD MAX™ System aufgrund ihrer Einstufung als nicht gesundheits- und umweltgefährdend keine Sicherheitsdatenblätter erforderlich, da sie keine Substanzen und/oder Gemische enthalten, welche die in der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP) festgelegten Kriterien für die Gefahreneinstufung erfüllen oder deren Konzentration den in der genannten Verordnung festgelegten Wert für die Deklaration überschritten. Eine Erklärung, der zufolge kein Sicherheitsdatenblatt erforderlich ist, kann bei Certest Biotec S.L angefordert werden.
- Vergewissern Sie sich, dass die Definition des PCR-Testprogramms auf dem BD MAX™ System entsprechend den Anweisungen im Abschnitt „PCR-Protokoll“ (Probenextraktionsparameter, benutzerdefinierte Barcodes, PCR-Einstellungen usw.) erfolgt.

- Weitere Warn-, Sicherheits- und Verfahrenshinweise finden Sie im Benutzerhandbuch zum BD MAX™ System.
- Das Analysezertifikat ist diesem Gerät nicht beigelegt, kann bei Bedarf jedoch über die Website von Certest Biotec S.L. (www.certest.es) heruntergeladen werden.

8. Testverfahren

8.1. Probenentnahme, -Transport und -Lagerung

Der VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde mit von Klinikärzten entnommenen Vaginalabstrichen unter Verwendung von Copan eSwab® (Liquid Amies Elution Swab von Copan) und selbst genommenen männlichen und weiblichen Erststrahlurinproben in einem sterilen, konservierungsmittelfreien Probenentnahmebecher getestet. Andere Arten von Proben bedürfen der Validierung durch den Anwender.

Die Entnahme, die Lagerung und der Transport von Proben sollte unter den vom Anwender validierten Bedingungen erfolgen. Klinische Proben sind grundsätzlich in geeigneter Weise in sauberen Behältern mit oder ohne Transportmedium (je nach Probentyp) aufzufangen und zu kennzeichnen. Nach der Gewinnung sollten die Proben in einem Beutel für biogefährliche Materialien gegeben und so schnell wie möglich weitertransportiert und verarbeitet werden, um eine gute Qualität des Tests zu gewährleisten. Proben, die für molekulare Tests eingereicht wurden, müssen unter kontrollierten Bedingungen gelagert werden, damit die Nukleinsäuren während der Lagerung nicht abgebaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden, um eine Zersetzung der Proben und Nukleinsäuren zu vermeiden.

Die klinischen Proben müssen gemäß den entsprechenden Laborrichtlinien und/oder Verfahrensrichtlinien für Labore entnommen, transportiert, und gelagert werden.

Mit dem VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde eine interne Stabilitätsstudie an Proben durchgeführt, die mit einer negativen Vaginalmatrix, die mit Copan eSwab® entnommen wurde, sowie mit einer weiblichen und männlichen Urinmatrix dotiert wurden, wobei die Referenz-Makrolid-empfindlichen Stämme (Amplirun® Total Macrolide Resistant MGE Control) in einer Konzentration von 3 x LoD vorlagen. Die Stabilität wurde anhand von zwei verschiedenen Assays analysiert: Primärstabilität (25°C: 4 Stunden und 2 Tage; 4°C: 1 und 2 Tage; -20°C: 12 Monate) und verschachtelte Stabilität. Für den Test zur verschachtelten Stabilität wurden bei 25°C für 4 Stunden und bei 4°C für 1 Tag inkubierte Proben jeweils 3 Tage nach der Zugabe zum Sample Buffer Tube (SBT) analysiert; und bei 25°C für 2 Tage und bei 4°C für 2 Tage inkubierte Proben jeweils 7 Tage nach der Zugabe zum SBT analysiert. Außerdem wurden die Proben nach fünfmaligem Einfrieren (auf -80°C) und Wiederauftauen (auf 25°C) analysiert. Die Ergebnisse zeigten eine gute Leistung der Proben, die unter allen getesteten Bedingungen gelagert wurden, womit sie die eingangs festgelegten Akzeptanzkriterien erfüllen.

8.2. Probenvorbereitung und DNA-Extraktion

Die Probenvorbereitung gemäß den in der Gebrauchsanweisung des verwendeten Extraktions-Kits BD MAX™ ExK™ TNA-3 aufgeführten Empfehlungen durchführen.

1. Pipettieren Sie 400 µL des Vaginalabstrichs oder 750 µL der Urinprobe in ein BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube und verschließen Sie das Röhrchen mit einem Septumverschluss. Sorgen Sie für eine vollständige Vermischung, indem Sie die Probe mit hoher Drehzahl 1 Minute auf dem Vortex durchmischen. Führen Sie die Bearbeitung am BD MAX™ System Operation fort.

Hinweis: Achten Sie darauf, dass das Vortexen einige Minuten vor dem Start des Durchlaufs stattfindet. Wird dasselbe BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube für die Wiederholung eines Tests verwendet, sollte das Röhrchen kurz vor Beginn des Tests manuell geschüttelt werden, um eine ausreichende Homogenisierung der Probe sicherzustellen.

Beachten Sie, dass anwendungsspezifische Vorbereitungsmaßnahmen für die Extraktion entwickelt und vom Benutzer validiert werden sollten und dass andere Proben möglicherweise eine Vorbehandlung erfordern.

8.3. PCR-Protokoll

Hinweis: Ausführliche Anweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

8.3.1. Erstellen eines PCR-Testprogramms für den VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System

Hinweis: Wenn Sie bereits den Test für den VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System angelegt haben, können Sie Schritt 8.3.1 überspringen und direkt mit Schritt 8.3.2 fortfahren.

- 1) Wählen Sie im Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des BD MAX™ System die Registerkarte „Test Editor“ (Test-Assistent).
- 2) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Create“ (Erstellen).

Im Tab „Basic Information“ (Grundlegende Informationen):

- 3) Geben Sie im Feld „Test Name“ (Testbezeichnung) einen Namen für Ihren Test ein: z. B. VIASURE MGM.

Hinweis: Die Testbezeichnung muss eindeutig sein und darf eine Länge von 20 Zeichen nicht überschreiten.

- 4) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Extraction Type“ (Extraktionstyp) die Option „ExK TNA-3“.

- 5) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Master Mix Format“ (Format Master Mix) die Option „Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer“ (Typ 5: Konzentrierter lyophilisierter MM mit Rehydrationspuffer).
- 6) Wählen Sie im Feld „Sample Extraction Parameters“ (Probenextraktionsparameter) die Option „User Defined“ (Benutzerdefiniert) und stellen Sie die folgenden Parameterwerte ein (Tabelle 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Probenextraktionsparameter)	<i>Value (units)</i> (Wert (Einheiten))
<i>Lysis Heat Time</i> (Lyse-Erhitzungsdauer)	15 (min)
<i>Lysis Temperature</i> (Lyse-Temperatur)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Höhe der Probenpipettenspitze)	1600 (steps)
<i>Sample Volume</i> (Probenvolumen)	500 (µL) (Urinproben-Protokoll) 425 (µL) (Vaginalabstrich-Protokoll)
<i>Wash Volume</i> (Spülvolumen)	500 (µL)
<i>Neutralization Volume</i> (Neutralisierungsvolumen)	n. a.
<i>DNase Heat Time</i> (DNase-Erhitzungsdauer)	n. a.

Tabelle 4. Parameter der mit dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 durchgeführten Probenextraktion. n. a. = entfällt.

- 7) Wählen Sie im Feld „Ct Calculation“ (Ct-Berechnung) die Option „Call Ct at Threshold Crossing“ (Ct bei Grenzwertüberschreitung abrufen) (Voreinstellung) aus.
- 8) Wenn Sie die Software-Version 5.00 oder höher verwenden und barcodierte Folien-Snap-in-Röhrchen einsetzen, wählen Sie im Feld „Custom Barcodes“ (Kundendefinierte Barcodes) die folgende Konfiguration:
 - a. Snap-In 2 Barcode (Barcode für Snap-In 2): 1F (betreffend *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tube).
 - b. Snap-In 3 Barcode (Barcode für Snap-In 3): 11 (für das Rehydration Buffer tube).

Im Register „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen):

- 9) Geben Sie im Feld „PCR Settings“ (PCR-Einstellungen) die folgenden in Tabelle 5 beschriebenen Parameter ein: „Alias“ (bis zu sieben alphanumerische Zeichen), „PCR Gain“ (PCR-Verstärkung), „Threshold“ (Schwellenwert), „Ct Min“ und „Ct Max“.

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (PCR-Verstärkung)	<i>Threshold</i> (Schwellenwert)	<i>Ct Min</i> (Ct Min)	<i>Ct Max</i> (Ct Max)
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*

Tabelle 5. PCR-Einstellungen.

Hinweis: Es empfiehlt sich, die oben für die einzelnen Kanäle aufgelisteten Mindest-Schwellenwerte als Ausgangspunkt einzustellen. Die endgültigen Einstellungen müssen jedoch vom Endanwender bei der Ergebnisinterpretation festgelegt werden, um sicherzugehen, dass die Schwellenwerte in der exponentiellen Phase der Fluoreszenzkurven und über einem etwaigen Hintergrundsignal liegen. Der Schwellenwert für verschiedene Geräte kann aufgrund verschiedener Signalintensitäten variieren.

* Aufgrund der Variabilität der Anzahl menschlicher Zellen in Urinproben wird der Cutoff-Wert bzgl. der Zielsequenzen der endogenen internen Kontrolle (EIC) auf 35 für Vaginalabstriche und auf 40 für weibliche und männliche Urinproben festgelegt, um eine ordnungsgemäße Probenahme sicherzustellen.

10) Geben Sie im Feld „Color compensation“ (Farbkompensation) die folgenden (in Tabelle 6 beschriebenen) Parameter ein:

		<i>False Receiving Channel (Falsch-empfangender Kanal)</i>				
<i>Channel (Kanal)</i>		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
<i>Excitation Channel (Exzitationskanal)</i>	475/520	–	3,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	3,0	–	0,0	0,0	0,0
	585/630	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

Tabelle 6. Parameter für „Color compensation“ (Farbkompensation).

Im Register „Melt Settings“ (Schmelzkurve-Einstellungen) sind keine Aktionen erforderlich, da es für dieses Produkt nicht relevant ist.

Im Register „Test Steps“ (Testschritte):

11) Geben Sie die Schritt-Bezeichnung (bis zu zwanzig Zeichen) ein und stellen Sie die folgenden Parameter ein, um die einzelnen Schritte des PCR-Protokolls zu definieren: „Profile Type“ (Profiltyp), „Cycles“ (Zyklen), „Time“ (Dauer) und „Temperature“ (Temperatur) und aktivieren Sie das Feld „Detect“ (Detektion), um den Detektionsschritt zu definieren (Tabelle 7). Klicken Sie auf die Schaltfläche „Add“ (Hinzufügen), um einen neuen Schritt hinzuzufügen, und wiederholen Sie dies, bis alle erforderlichen Schritte definiert sind.

Hinweis: Das Feld „Type“ (Typ) muss leer sein.

<i>Step (Schritt)</i>	<i>Step name (Schrittbezeichnung)</i>	<i>Profile Type (Profiltyp)</i>	<i>Cycles (Zyklen)</i>	<i>Time (s) (Zeit (s))</i>	<i>Temperature (Temperatur)</i>	<i>Detect (Detektion)</i>
Initial denaturation (Initiale Denaturierung)	IN-denaturation	Hold	1	120	95°C	–
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturierung und Hybridisierung/Extension (Datenerfassung))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95°C	–
				58	60°C	✓

Tabelle 7. PCR-Protokoll.

In der Registerkarte „Result Logic“ (Ergebnislogik):

12) Geben Sie im Feld „Target“ (Ziel) einen Namen für Ihr Ziel ein: z. B. Res (maximal sieben alphanumerische Zeichen). Wiederholen Sie die Schritte 12–15 für jedes Ziel (d. h. Sen oder Mg) anhand der Tabellen, die für das Ziel, das Sie definieren, spezifisch sind.

13) Klicken Sie auf das Kontrollkästchen „Analyze“ (Analysieren), um die gewünschten Wellenlängen (PCR-Kanäle) in die Zielergebnisanalyse einzubeziehen (Tabellen 8-10).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analyse)
475/520	Res	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 8. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum Ziel „Res“ (Makrolid-Resistenz).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analyse)
530/565	Sen	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 9. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum Ziel „Sen“ (Makrolid-Empfindlichkeit).

<i>Wavelength</i> (Wellenlänge)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Typ)	<i>Analyze</i> (Analyse)
585/630	Mg	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelle 10. Auswahl der PCR-Kanäle in der Registerkarte „Result logic“ (Ergebnislogik) zum Ziel „Mg“ (*Mycoplasma genitalium*).

14) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Edit Logic“ (Logik bearbeiten).

15) Im Fenster „Edit Logic“ (Logik bearbeiten) sind alle Kombinationen von Ergebnistypen aufgelistet. Wählen Sie für jede Zeile in der Dropdown-Liste „Result“ (Ergebnis) das Ergebnis aus, das auftritt, wenn die Bedingungen in dieser Zeile erfüllt sind, und orientieren Sie sich dabei an den Tabellen 11–13 für Vaginalabstrich- und Tabellen 14–16 für Urinproben.

Vaginalabstrichproben

<i>Result</i> (Ergebnis)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 11. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Res-(Makrolid-Resistenz-)Ziel im Vaginalabstrichproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 12. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Sen-(Makrolid-Empfindlichkeits-)Ziel im Vaginalabstrichproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
UNR	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 13. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Mg-Ziel (*Mycoplasma genitalium*) im Vaginalabstrichproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

Urinproben

<i>Result</i> (Ergebnis)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
POS	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 14. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Res-(Makrolid-Resistenz-)Ziel im Urinproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
POS	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 15. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Sen-(Makrolid-Empfindlichkeits-)Ziel im Urinproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

<i>Result</i> (Ergebnis)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Gültig)	Valid (Gültig)
POS	Valid (Gültig)	Invalid (Ungültig)
NEG	Invalid (Ungültig)	Valid (Gültig)
UNR	Invalid (Ungültig)	Invalid (Ungültig)

Tabelle 16. Liste der Kombinationen von Ergebnistypen und Ergebnislogik für das Mg-Ziel (*Mycoplasma genitalium*) im Urinproben-Protokoll. Die verfügbaren Ergebnisse sind POS (positiv), NEG (negativ) oder UNR (unklar).

Hinweis: Gemäß dem zuvor definierten Wert Ct Max (Tabelle 5):

- i. Der Ergebnistyp für die Kanäle Res (475/520), Sen (530/565) bzw. Mg (585/630) gilt als „Valid“ (gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 40 beträgt, und als „Invalid“ (ungültig), wenn ein Ct-Wert > 40 erhalten wird.
- ii. Der Ergebnistyp für den Kanal EIC (680/715) gilt als „Valid“ (gültig), wenn der erhaltene Ct-Wert ≤ 35 bei Vaginalabstrichproben bzw. ≤ 40 bei Urinproben beträgt, und als „Invalid“ (ungültig), wenn der erhaltene Ct-Wert > 35 bzw. > 40 ausfällt.

* Obwohl der Cutoff-Wert für das EIC-Ziel bei Urinproben auf 40 festgelegt ist, besteht die Möglichkeit, dass keine Amplifikationskurve bei der EIC beobachtet wird, wenn ein positives Signal sowohl beim Res- oder Sen-Ziel als auch beim Mg-Ziel zu verzeichnen ist. In diesem Fall ist die Ergebnislogik POS (positiv). Siehe Abschnitt 9. Ergebnisinterpretation.

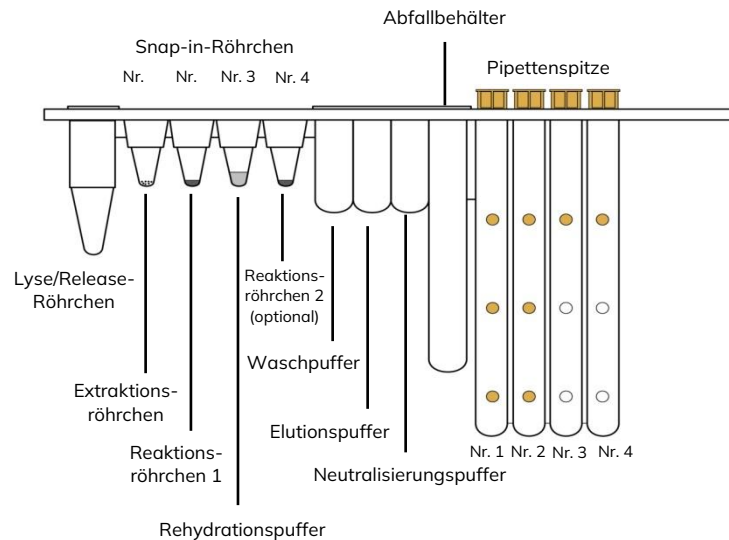
16) Klicken Sie auf die Schaltfläche „Save“ (Speichern), um den Test zu speichern.

8.3.2. Einrichten der BD MAX™ Rack

- 1) Nehmen Sie für jede zu testende Probe einen Unitized Reagent Strip (Einzel-Reagenzstreifen) aus dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit. Klopfen Sie jeden Streifen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich alle Flüssigkeiten am Boden der Röhrchen befinden, und laden Sie sie in die Probenracks des BD MAX™ Systems.
- 2) Nehmen Sie die benötigte Anzahl an BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (Extraktionsröhrchen, B4, weiße Folie) aus den Schutzbeuteln. Lassen Sie das bzw. die Extraction Tube(s) – weiße Folie – in ihre entsprechenden Positionen im TNA-Streifen einrasten (Einrastposition 1, weiße Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1). Entfernen Sie überschüssige Luft, und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
- 3) Bestimmen und separieren Sie die erforderliche Anzahl an *VIASURE Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tubes (1F-Folie) und lassen Sie diese in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 2, grüne Farbkodierung am Rack. siehe Abbildung 1).
 - a. Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie die Aluminiumbeutel mit dem Zippverschluss.
 - b. Stellen Sie zur Durchführung einer korrekten Rehydratation bitte sicher, dass sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegelfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.
- 4) Entnehmen Sie die benötigte Anzahl an Rehydration Buffer tubes (11-Folie), und lassen Sie sie in ihre entsprechenden Positionen im Streifen einrasten (Einrastposition 3, ohne Farbkodierung am Rack; siehe Abbildung 1).

- a. Entfernen Sie überschüssige Luft und verschließen Sie den Beutel mit dem Zippverschluss.
- b. Achten Sie für eine korrekte Überführung bitte darauf, dass sich die Flüssigkeit am Boden des Gefäßes befindet und nicht im oberen Bereich des Gefäßes oder an der Siegfolie anhaftet. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich der gesamte Puffer am Boden des Röhrchens befindet.

Abbildung 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) aus dem BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit.



8.3.3. Einrichten des BD MAX™

- 1) Wählen Sie im Bildschirm „Run“ (Durchlauf) des Systems BD MAX™ (Software v4.50A oder höher) die Registerkarte „Worklist“ (Arbeitsliste).
- 2) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Test“ den gewünschten Test, d. h. VIASURE MGM (falls nicht bereits erstellt, siehe Abschnitt 8.3.1).
- 3) Wählen Sie im Dropdown-Menü „Kit Lot Number“ (Kit-Losnummer) die entsprechende Losnummer zum Kit aus (diese ist der Außenverpackung des verwendeten Extraktions-Kits zu entnehmen) (optional).

Hinweis: Losnummern müssen im Bildschirm „Inventory“ (Bestand) definiert werden, bevor sie an dieser Stelle ausgewählt werden können.

- 4) Geben Sie die Identifikationsnummer des Probenpufferröhrchens im Feld „Sample tube“ (Probenröhrchen) durch Scannen des Barcodes mit dem Scanner oder durch manuelle Eingabe ein.
- 5) Füllen Sie das Feld „Patient ID“ (Patienten-ID) und/oder „Accession“ (Zugangsnummer) aus, und klicken Sie auf die Tabulator- oder die Eingabetaste. Wiederholen Sie das beschriebene Verfahren, bis alle Sample-Buffer-Tube-(Probenpufferröhrchen-)Strichcodes erfasst sind. Vergewissern Sie sich, dass die „specimen/patient ID“ (Proben/Patienten-ID) und die „Sample Buffer Tubes“ (Probenpufferröhrchen) genau zugehörig sind.

- 6) Setzen Sie das/die vorbereitete(n) Sample-Buffer-Tube-Probenpufferröhrchen in das/die BD MAX™-Rack(s) ein.
- 7) Laden Sie das/die Rack(s) in das BD MAX™ System (Rack A befindet sich auf der linken Seite des BD MAX™ Systems und Rack B auf der rechten Seite).
- 8) Setzen Sie die erforderliche Anzahl an BD MAX™ PCR Cartridge(s) in das BD MAX™ System ein.
- 9) Schließen Sie die Tür des BD MAX™ Systems.
- 10) Klicken Sie auf „Start“ (Starten), um den Vorgang zu starten.

8.3.4. BD MAX™-Ergebnisbericht

- 1) Klicken Sie in der Menüleiste auf die Schaltfläche „Results“ (Ergebnisse).
- 2) Doppelklicken Sie auf Ihren Durchlauf in der Liste oder betätigen Sie die Schaltfläche „View“ (Ansicht).
- 3) Die Schaltflächen „Print“ (Drucken) und „Export“ (Exportieren) am unteren Rand des Bildschirms werden aktiviert.

Zum Drucken der Ergebnisse:

1. Klicken Sie auf „Print“ (Drucken).
2. Wählen Sie in der Druckvorschau des Durchlaufberichts die Optionen: „Run Details“ (Durchlaufdetails), „Test Details“ (Testdetails) und „Plots“ (Graphiken).
3. Klicken Sie auf „Print“ (Drucken), um den Bericht zu drucken, oder klicken Sie auf „Export“ (Exportieren), um eine PDF-Datei des Berichts auf einen USB-Stick zu exportieren.

Zum Exportieren der Ergebnisse:

1. Klicken Sie auf die Schaltfläche „Export“ (Exportieren), um den Bericht (PDF- und CSV-Datei) auf einen USB-Stick zu übertragen.
2. Nach Abschluss des Exports wird im Fenster „Results Export“ (Ergebnisse Export) ein Symbol für Erfolg/Misserfolg angezeigt.

9. Ergebnisinterpretation

Nähere Angaben zur Auswertung von Daten erhalten Sie im Benutzerhandbuch des BD MAX™ Systems.

Die Datenanalyse durch die BD MAX™ Software erfolgt entsprechend den Herstelleranweisungen. Die BD MAX™ Software gibt die Ct-Werte und Amplifikationskurven für jeden Detektionskanal aller getesteten Proben auf folgende Weise an:

- Ein Ct-Wert von 0 gibt an, dass kein Ct-Wert mit dem spezifizierten Schwellenwert von der Software berechnet wurde (siehe Tabelle 5). Eine Amplifikationskurve einer Probe mit einem Ct-Wert von „0“ muss manuell geprüft werden.

- Ein Ct-Wert von -1 zeigt an, dass kein Amplifikationsprozess stattgefunden hat, dass kein Ct-Wert von der Software berechnet worden ist oder dass der berechnete Ct-Wert unter dem festgelegten Schwellenwert oder über dem festgelegten Ct-Max-Wert (Cut-off) liegt.

- Jeder andere Ct-Wert ist in Übereinstimmung mit der Amplifikationskurve und entsprechend der definierten Ergebnislogik in Einklang mit den Leitlinien für die Probenauswertung in den Tabellen 17 und 18 auszuwerten.

Überprüfen Sie das Signal der endogenen internen Kontrolle (EIC), um die korrekte Funktionsweise der Amplifikationsmischung sicherzustellen. Überprüfen Sie zusätzlich, dass keine Störungsmeldung zum System BD MAX™ vorliegt. Bitte beachten Sie, dass es gemäß der festgelegten Ergebnislogik möglich ist, dass bei Urinproben keine Amplifikationskurve bei der EIC zu beobachten ist, wenn ein positives Signal sowohl beim Mg- als auch beim Res- oder Sen-Ziel zu verzeichnen ist. Lesen Sie die Interpretation der einzelnen Urinproben des Patienten (Tabelle 18) aufmerksam durch.

Die Ergebnisse sind anhand folgenden Tabellen abzulesen und auszuwerten:

Interpretation der Ergebnisse bei Vaginalabstrich-Proben

Makrolid-Resistenz (Name des Ziels: Res)	Makrolid-Empfindlichkeit (Name des Ziels: Sen)	<i>M. genitalium</i> (Name des Ziels: Mg)	Interpretation bei Patienteneinzelproben
NEG	POS	POS	Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz-DNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	Makrolid-Resistenz- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nicht nachgewiesen
POS	POS	POS	Makrolid-Resistenz-, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
POS	POS	NEG	Makrolid-Resistenz- und Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nachgewiesen, <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
POS	NEG	NEG	Makrolid-Resistenz-DNA nachgewiesen, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
NEG	POS	NEG	Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
NEG	NEG	POS	<i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz- und Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ^{1,2}

Makrolid-Resistenz (Name des Ziels: Res)	Makrolid-Empfindlichkeit (Name des Ziels: Sen)	<i>M. genitalium</i> (Name des Ziels: Mg)	Interpretation bei Patienteneinzelpben
NEG	NEG	NEG	Makrolid-Resistenz-, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen
UNR	UNR	UNR	Unresolved (UNR): Ungelöstes Testergebnis aufgrund der Gegenwart von Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion, einer Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze oder eines allgemeinen (nicht durch einen Fehlercode angezeigten) Problems bei der Probenverarbeitung und/oder den Amplifikationsschritten. ³
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Nicht bestimmtes Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines mit einem Fehlercode verbundenen Gerätefehlers angezeigt. ⁴
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Unvollständiges Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines nicht vollständig durchgeführten Durchlaufs angezeigt. ⁴

Tabelle 17. Interpretation der Ergebnisse bei Vaginalabstrichen.

1 Testung muss wiederholt werden. Es wird empfohlen, den Assay entweder mit demselben Sample Buffer Tube (SBT) oder mit der Originalprobe und einem neuen SBT durchzuführen. Sollte das Ergebnis weiterhin uneindeutig sein, ist eine neue Probe (nach Möglichkeit von höherer Konzentration) zu entnehmen und der Test zu wiederholen.

HINWEIS: Vaginalabstrich-Proben können ohne Überführung in das SBT bis zu 2 Tage bei 25°C oder 4°C aufbewahrt werden. Bei einem wiederholten Testlauf aus demselben SBT wird empfohlen, das SBT manuell zu schütteln, um eine hinreichende Homogenisierung der Probe sicherzustellen. Bitte beachten Sie, dass Vaginalabstrich-Proben bis zu 7 Tage bei 25°C oder 4°C (wenn sie zuvor maximal 2 Tage bei 25°C oder 4°C gelagert wurden) im Probenpufferröhrchen aufbewahrt werden können.

2 Das Kit erkennt die folgenden Mutationen, die mit einer Makrolid-Resistenz in Verbindung gebracht werden: *23S-rRNA*-Gen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Im Falle des Vorliegens einer anderen Mutation ist das Kit nicht für deren Nachweis validiert, wodurch eine Amplifikation im ROX-Kanal (Nachweis von *M. genitalium*) und nicht in den FAM- und HEX-Kanälen (Nachweis von Makrolid-Resistenz bzw. -Empfindlichkeit) beobachtet wird.

3 Die endogene interne Kontrolle (EIC) muss ein Amplifikationssignal mit einem Ct-Wert ≤ 35 aufweisen, um berücksichtigt zu werden. Wenn zur EIC kein Signal vorhanden ist oder der Ct-Wert > 35 beträgt, gilt das Ergebnis als Unresolved (UNR, unklar), und der Test muss wiederholt werden. Überprüfen Sie den Ergebnisbericht und die Ct-Werte der ausgewählten Zielsequenzen, und ergreifen Sie geeignete Maßnahmen unter Berücksichtigung der folgenden Punkte:

- I. Wenn die Ergebnisse der Zielgene ungültig sind (Ct > 40), muss der Assay mit demselben SBT oder der Primärprobe und einem neuen SBT wiederholt werden. Wenn erneut ein UNR-Ergebnis erhalten wird, sind zwei mögliche Szenarien in Betracht zu ziehen. Zum einen kann die Konzentration der Probe unterhalb der LoD liegen. In einem solchen Falle wird empfohlen, zu einer höher konzentrierten Probe zu gelangen. Zum anderen ist ein mögliches Vorliegen von Inhibitoren in der PCR-Reaktion in Betracht zu ziehen. In einem solchen Falle wird empfohlen, die betreffenden Proben im Verhältnis 1:10 zu verdünnen. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

- II. Wenn die Ergebnisse für die Zielgene bzgl. Makrolid-Resistenz, Makrolid-Empfindlichkeit und/oder *M. genitalium* gültig sind ($Ct \leq 40$), besteht die Möglichkeit, dass aufgrund einer präferenziellen Amplifikation der für das Ziel spezifischen Nukleinsäuren keine Amplifikation oder eine Amplifikation aus der EIC mit einem Ct-Wert > 35 beim Testen hochkonzentrierter Proben zu sehen ist. Falls dies für notwendig erachtet wird, verdünnen Sie diese Proben im Verhältnis 1:10, bereiten Sie das Probenpufferröhrchen (SBT) erneut vor, und wiederholen Sie den Test. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

4 Infolge eines Systemausfalls können indeterminierte (IND) oder unvollständige (INC) Ergebnisse erzielt werden, woraufhin dann eine erneute Testung erforderlich ist. Informationen zur Interpretation von Warn- und Fehlercodes finden Sie im Benutzerhandbuch zum System BD MAX™.

Interpretation der Ergebnisse bei Urinproben

Makrolid-Resistenz (Name des Ziels: Res)	Makrolid-Empfindlichkeit (Name des Ziels: Sen)	<i>M. genitalium</i> (Name des Ziels: Mg)	Interpretation bei Patienteneinzelnproben
NEG	POS	POS	Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz-DNA nicht nachgewiesen
POS	NEG	POS	Makrolid-Resistenz- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nicht nachgewiesen
POS	POS	POS	Makrolid-Resistenz-, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
POS	POS	NEG	Makrolid-Resistenz- und Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nachgewiesen, <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
POS	NEG	NEG	Makrolid-Resistenz-DNA nachgewiesen, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
NEG	POS	NEG	Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ¹
NEG	NEG	POS	<i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz- und Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nicht nachgewiesen. ERGEBNIS UNEINDEUTIG ^{1,2}
NEG	NEG	NEG	Makrolid-Resistenz-, Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nicht nachgewiesen
UNR	POS	POS	Makrolid-Empfindlichkeits- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Resistenz-DNA nicht nachgewiesen ³
POS	UNR	POS	Makrolid-Resistenz- und <i>M.-genitalium</i> -DNA nachgewiesen, Makrolid-Empfindlichkeits-DNA nicht nachgewiesen ³

Makrolid-Resistenz (Name des Ziels: Res)	Makrolid-Empfindlichkeit (Name des Ziels: Sen)	<i>M. genitalium</i> (Name des Ziels: Mg)	Interpretation bei Patienteneinzelnproben
UNR	UNR	UNR	Unresolved (UNR): Ungelöstes Testergebnis aufgrund der Gegenwart von Hemmsubstanzen in der PCR-Reaktion oder eines allgemeinen (nicht durch einen Fehlercode angezeigten) Problems bei der Probenverarbeitung und/oder den Amplifikationsschritten. ⁴
POS	POS	UNR	Unresolved (UNR) – Testung muss wiederholt werden ¹
POS	UNR	UNR	Unresolved (UNR) – Testung muss wiederholt werden ¹
UNR	POS	UNR	Unresolved (UNR) – Testung muss wiederholt werden ¹
UNR	UNR	POS	Unresolved (UNR) – Testung muss wiederholt werden ¹
IND	IND	IND	Indeterminate assay result (IND). Nicht bestimmtes Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines mit einem Fehlercode verbundenen Gerätefehlers angezeigt. ⁵
INC	INC	INC	Incomplete assay result (INC). Unvollständiges Testergebnis. Aufgrund einer Störung im BD MAX™ System. Das Testergebnis wird im Falle eines nicht vollständig durchgeführten Durchlaufs angezeigt. ⁵

Tabelle 18. Interpretation der Ergebnisse bei Urinproben.

1 Testung muss wiederholt werden. Es wird empfohlen, den Assay entweder mit demselben Sample Buffer Tube (SBT) oder mit der Originalprobe und einem neuen SBT durchzuführen. Sollte das Ergebnis weiterhin uneindeutig sein, ist eine neue Probe (nach Möglichkeit von höherer Konzentration) zu entnehmen und der Test zu wiederholen.

HINWEIS: Urinproben können ohne Überführung in das SBT bis zu 4 Stunden bei 25°C oder 1 Tag bei 4°C aufbewahrt werden. Im Falle einer erneuten Testung mit demselben SBT wird empfohlen, dieses manuell zu schütteln, um eine ordnungsgemäße Homogenisierung der Probe sicherzustellen. Bitte beachten Sie, dass Urinproben bis zu 3 Tage bei 25°C (wenn sie zuvor maximal 4 Stunden bei 25°C gelagert wurden) oder bis zu 3 Tage bei 4°C (wenn sie zuvor maximal 1 Tag bei 4°C gelagert wurden) im SBT aufbewahrt werden können.

2 Das Kit erkennt die folgenden Mutationen, die mit einer Makrolid-Resistenz in Verbindung gebracht werden: *23S-rRNA*-Gen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Im Falle des Vorliegens einer anderen Mutation ist das Kit nicht für dessen Nachweis validiert, wodurch eine Amplifikation im ROX-Kanal (Nachweis von *M. genitalium*) und nicht im FAM- oder HEX-Kanal (Nachweis von Makrolid-Resistenz bzw. Makrolid-Empfindlichkeit) beobachtet wird.

3 Obwohl der Cutoff-Wert für das Ziel der endogenen internen Kontrolle (EIC) bei Urinproben auf 40 festgelegt ist, ist es aufgrund der geringen Anzahl menschlicher Zellen in der Urinprobe zulässig, dass keine Amplifikationskurve bei der EIC beobachtet wird, wenn ein positives Signal sowohl beim Makrolid-Resistenz-Ziel (FAM-Kanal) oder Makrolid-Empfindlichkeits-Ziel (HEX-Kanal) als

auch beim *Mycoplasma-genitalium*-Ziel (ROX-Kanal) zu verzeichnen ist. In einem solchen Fall besteht keine Gefahr eines falsch-positiven Ergebnisses, da die Amplifikation gleichzeitig in zwei verschiedenen Kanälen beobachtet werden sollte.

4 Die EIC muss ein Amplifikationssignal mit einem Ct-Wert ≤ 40 aufweisen, um berücksichtigt zu werden. Wenn zur EIC kein Signal vorhanden ist oder der Ct-Wert > 40 beträgt, gilt das Ergebnis als Unresolved (UNR, unklar), und der Test muss wiederholt werden. Es wird empfohlen, den Test entweder mit demselben Probenpufferröhrchen (SBT) oder mit der Originalprobe unter Vorbereitung eines neuen SBT zu wiederholen oder eine höher konzentrierte Probe zu gewinnen. Es kann außerdem vorkommen, dass das Ergebnis „Unresolved“ (UNR, Unklar) auf das Vorhandensein von Inhibitoren in der PCR-Reaktion zurückzuführen ist. In solchen Fällen wird empfohlen, die Proben 1:10 zu verdünnen. Befolgen Sie die Laborrichtlinien und/oder die Handbücher mit den Laborrichtlinien für die Mikrobiologie.

5 Infolge eines Systemausfalls können indeterminierte (IND) oder unvollständige (INC) Ergebnisse erzielt werden, woraufhin dann eine erneute Testung erforderlich ist. Informationen zur Interpretation von Warn- und Fehlercodes finden Sie im Benutzerhandbuch zum System BD MAX™.

Hinweis: Bei Verwendung externer Kontrollen sollten diese die folgenden erwarteten Ergebnisse liefern: negativ für ENC und positiv für EPC (es wird erwartet, dass bekannte positive Proben nur für den/die in der Probe vorhandenen Mikroorganismus/Mikroorganismen positiv sind). Wenn es zu einem Ausfall einer externen Kontrolle kommt, ist eine erneute Testung erforderlich.

Im Falle eines weiterhin zweifelhaften Ergebnisses wird empfohlen, die Gebrauchsanweisung und das vom Benutzer verwendete Extraktionsverfahren zu prüfen, die ordnungsgemäße Ausführung aller PCR-Schritte sowie die Korrektheit der Parameter zu verifizieren und die Sigmoidität der Kurvenform und die Intensität der Fluoreszenz zu kontrollieren.

Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Anamnese, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einem Arzt/einer medizinischen Fachkraft bewertet werden.

10. Grenzen des Tests

- Das Testergebnis muss vor dem Hintergrund der Anamnese, der klinischen Symptome und anderer diagnostischer Tests von einem Arzt/einer medizinischen Fachkraft bewertet werden.
- Der VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde nur mit Vaginalabstrichen und männlichen und weiblichen Urinproben validiert.
- Um einen optimalen Ablauf des Tests zu gewährleisten, sollte sich das lyophilisierte Produkt am Boden des Röhrchens befinden und nicht im oberen Bereich des Röhrchens oder an der Verschlussfolie haften. Klopfen Sie jedes Röhrchen leicht auf eine harte Oberfläche, damit sich das gesamte Produkt am Boden des Röhrchens befindet.
- Ein mögliches Übersprechen kann in leeren Kanälen des BD MAX™ Systems beobachtet werden, wenn keine Zielsequenz nachgewiesen werden kann; daher sind bei der Auswertung der Ergebnisse nur die Kanäle auszuwählen, in denen diese amplifiziert wurden. Wenden Sie sich bei Fragen bitte an viasuresupport@certest.es.

- Die Qualität des Tests hängt von der Qualität der Probe ab; die Nukleinsäure muss auf geeignete Weise aus den klinischen Proben extrahiert werden.
- Bei diesem Test handelt es sich um einen qualitativen Test, der weder quantitative Werte liefert noch die Anzahl vorliegender Keime angibt. Es ist nicht möglich, die durch PCR erhaltenen Ct-Werte mit der Konzentration der Probe zu korrelieren, da sie von dem verwendeten Thermocycler und dem Durchlauf selbst abhängen.
- Unter Umständen können extrem niedrige, unterhalb der Nachweisgrenze liegende Kopienzahlen der Zielsequenz nachgewiesen werden, wobei die Ergebnisse eventuell nicht reproduzierbar sind.
- Bitte beachten Sie den vorgesehenen Messbereich des Tests, da Proben mit Konzentrationen oberhalb oder unterhalb dieses Bereichs zu falschen Ergebnissen führen können.
- Es besteht die Möglichkeit falsch-positiver Ergebnisse aufgrund einer Kreuzkontamination mit Makrolid-resistenten *M. genitalium*- und/oder Makrolid-Empfindlichkeits- und/oder *M. genitalium*-Proben, die hohe Konzentrationen der Ziel-DNA enthalten, oder aufgrund einer Kontaminierung durch PCR-Produkte früherer Reaktionen.
- Falsch negative Resultate können sich durch verschiedene Faktoren (auch in Kombinationen) wie die folgenden ergeben:
 - Unsachgemäße Methoden der Entnahme, des Transports, der Lagerung und/oder der Handhabung von Proben.
 - Unsachgemäße Verfahren der Verarbeitung (einschließlich DNA-Extraktion).
 - Abbau der DNA während des Transports/der Lagerung und/oder der Verarbeitung von Proben.
 - Mutationen oder Polymorphismen in Primer- oder Sondenbindungsregionen, die den Nachweis neuer oder unbekannter *M.-genitalium*-Stämme oder genetischer Marker für Makrolid-Resistenz und Makrolid-Empfindlichkeit beeinträchtigen können.
 - Eine Bakterienlast in der Probe, die unter der Nachweisgrenze des Assays liegt.
 - Das Vorliegen von qPCR-Inhibitoren oder anderen Arten von Störsubstanzen. Der Einfluss von Impfstoffen, bestimmten antiviralen Therapeutika, Antibiotika, Chemotherapeutika, Immunsuppressiva oder auch Antimykotika, die zur Prävention der Infektion oder zur Behandlung eines solchen eingesetzt werden, wurde nicht untersucht.
 - Die Wirkung von Störsubstanzen wurde nur für die in Abschnitt 12.5.1 (Untersuchung von Störsubstanzen) der vorliegenden Gebrauchsanweisung genannten Substanzen beurteilt. In diesem Abschnitt finden Sie die häufigsten endogenen und exogenen Substanzen, die zu einer vollständigen oder partiellen Störung der qPCR-Reaktion führen. Andere, nicht in diesem Abschnitt genannte Substanzen könnten falsche Ergebnisse hervorrufen.
 - Nichtbefolgen der Gebrauchsanweisung und des Assay-Protokolls.
- Das Kit erkennt die folgenden Mutationen, die mit einer Makrolid-Resistenz in Verbindung gebracht werden: *23S-rRNA*-Gen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Ein Makrolid-resistenter *M.-genitalium*-Stamm, der die weniger verbreitete A2059T-Mutation enthält, kann von dem Assay nicht

nachgewiesen werden. In einem solchen Falle besteht die Möglichkeit, dass eine Amplifikation im ROX-Kanal (Nachweis von *M. genitalium*) und nicht im FAM- oder HEX-Kanal (Nachweis von Makrolid-Resistenz bzw. Makrolid-Empfindlichkeit) beobachtet wird.

- Ein positives Testergebnis zeigt nicht unbedingt an, dass lebensfähige Mikroorganismen vorliegen oder diese infektiös oder der Auslöser klinischer Symptome sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf das Vorliegen von Makrolid-resistenten *M.-genitalium*- und Makrolid-empfindlichen *M.-genitalium*-Zielsequenzen hin.
- Negative Ergebnisse lassen das Vorhandensein von Makrolid-resistenten und/oder Makrolid-Empfindlichkeits- und/oder *M. genitalium*-DNA in einer klinischen Probe nicht ausschließen und sollten nicht als alleinige Grundlage für die Behandlung oder andere Entscheidungen hinsichtlich der Patientenversorgung herangezogen werden. Die optimalen Probenarten sowie der Zeitpunkt während der durch *M. genitalium* verursachten Infektion, zu dem mikrobielle Spitzenwerte auftreten, wurden nicht bestimmt. Zum Nachweis des Erregers kann die Entnahme mehrerer Proben (unterschiedlich nach Art und Zeitpunkt) desselben Patienten erforderlich sein.
- Wenn diagnostische Tests auf andere sexuell übertragbare Krankheiten (STD) negativ sind und klinische Befunde, die Anamnese des Patienten sowie die epidemiologischen Informationen nahelegen, dass eine Infektion mit *M. genitalium* möglich ist, sollte ein falsch negatives Ergebnis in Betracht gezogen und ein erneuter Test des Patienten erwogen werden.
- Die Fluoreszenzwerte können aufgrund verschiedener Faktoren variieren, wie z. B.: PCR-Gerät (auch bei gleichem Modell), Extraktionssystem, Art der Probe, vorherige Behandlung der Probe usw.
- Positive und negative Vorhersagewerte sind bei allen *in-vitro*-Diagnostetests stark von der Prävalenz abhängig. Die Leistung des VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System kann je nach Prävalenz und untersuchter Population variieren.
- Im Fall von unklaren (UNR), unbestimmten (IND) oder unvollständigen (INC) Ergebnissen bei Verwendung des VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System ist eine Testwiederholung erforderlich. Unklare Ergebnisse können durch Hemmsubstanzen in der Probe oder eine nicht korrekte Rehydratation des lyophilisierten Reaktionsmix-Gefäßes entstehen. Nicht bestimmbare oder unvollständige Ergebnisse sind auf eine Gerätestörung zurückzuführen.

11. Qualitätskontrolle

In jedem Reaktionsgefäß des VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System ist eine endogene interne Kontrolle (EIC) enthalten, mit der die korrekte Funktionsweise des Tests bestätigt wird. Darüber hinaus lässt sich die Assay-Leistung anhand von externen Kontrollen (EPC und ENC) bestätigen. Externe Kontrollen werden vom BD MAX™ System nicht zur Ergebnisauswertung verwendet, sondern als Proben betrachtet. Die externe Positivkontrolle (EPC) dient zur Überwachung eines möglichen Ausfalls der Testreagenzien, während die externe Negativkontrolle (ENC) zum Nachweis einer Kontamination der Umgebung oder der Reagenzien durch Ziel-Nukleinsäuren vorgesehen ist.

12. Analytische Leistungsmerkmale

12.1. Analytische Linearität

Die Linearität des Assays wurde durch Testung einer zehnfachen Verdünnungsreihe einer Vaginalmatrix sowie von männlichen und weiblichen Urinproben mit einer bekannten Konzentration an spezifischer und synthetischer DNA von *M. genitalium*-Stämmen, die entweder Makrolid-empfindlich oder -resistent waren, (im Bereich von $2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ L) bestimmt und bestätigt. Der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung und der Variationskoeffizient der Ct-Werte sowie die Effizienz und der Regressionskoeffizient der PCR-Reaktion wurden berechnet. Nachfolgend sind Beispiele für die Amplifikationskurve aufgeführt, die aus einem Assay in einer der evaluierten Matrices resultierte:

Abbildung 2. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-empfindlichen *M.-genitalium*-(23S rRNA-Gen (Wildtyp) + *MgPA-Adhäsion*-Gen)-DNA-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ L), analysiert mit dem BD MAX™ System (530/565-(HEX-)Kanal).

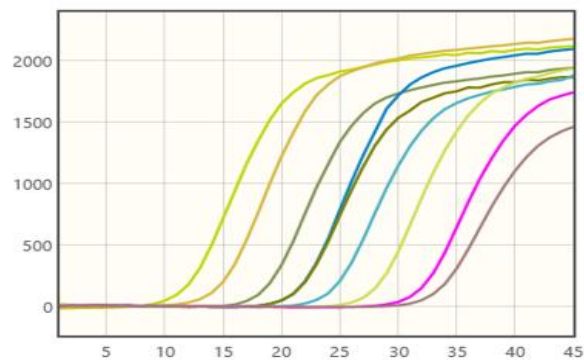


Abbildung 3. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-resistenten *M.-genitalium*-(23S rRNA-Gen (A2058C-Mutation) + *MgPA-Adhäsion*-Gen)-DNA-Templates ($2E+07$ bis $2E+00$ Kopien/ μ L), analysiert mit dem BD MAX™ System (475/520-(FAM-)Kanal).

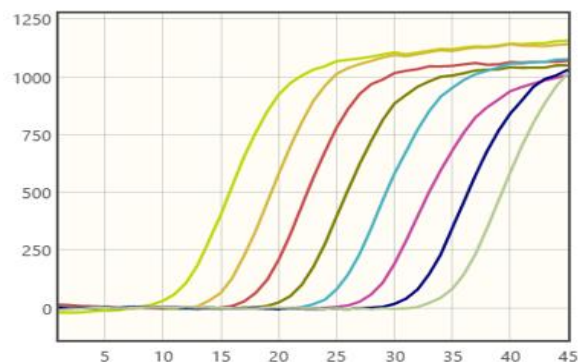


Abbildung 4. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-resistenten *M.-genitalium*-(23S rRNA-Gen (A2058G-Mutation) + MgPA-Adhäsion-Gen)-DNA-Templates (2E+07 bis 2E+00 Kopien/μL), analysiert mit dem BD MAX™ System (475/520-(FAM-)Kanal).

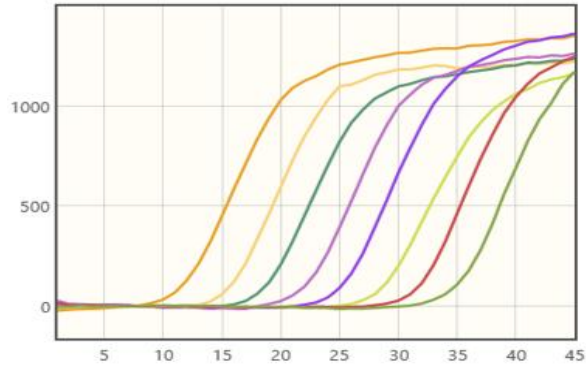


Abbildung 5. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-resistenten *M.-genitalium*-(23S rRNA-Gen (A2058T-Mutation) + MgPA-Adhäsion-Gen)-DNA-Templates (2E+07 bis 2E+00 Kopien/μL), analysiert mit dem BD MAX™ System (475/520-(FAM-)Kanal).

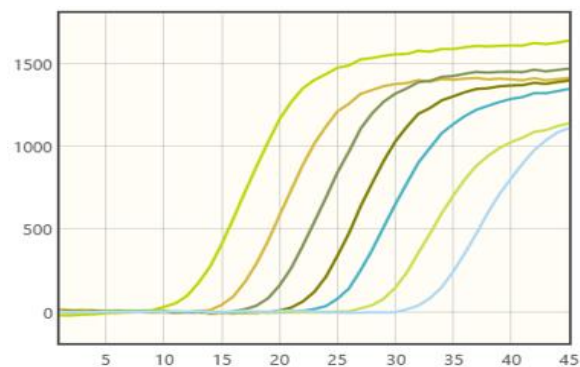


Abbildung 6. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-resistenten *M.-genitalium*-(23S rRNA-Gen (A2059C-Mutation) + MgPA-Adhäsion-Gen)-DNA-Templates (2E+07 bis 2E+00 Kopien/μL), analysiert mit dem BD MAX™ System (475/520-(FAM-)Kanal).

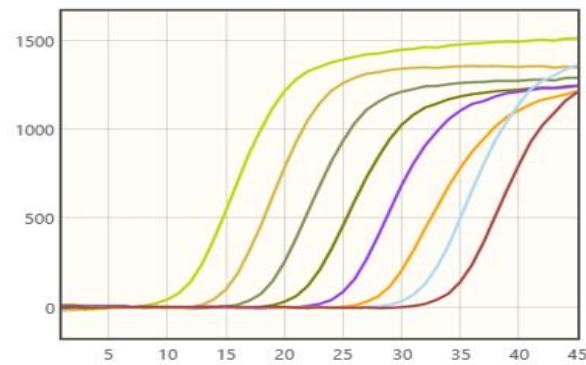
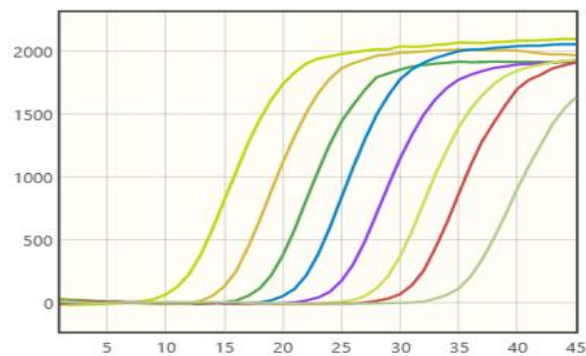


Abbildung 7. Verdünnungsreihe eines synthetischen Makrolid-resistenten *M. genitalium* (23S rRNA-Gen (A2059G-Mutation) + MgPA-Adhäsion-Gen)-DNA-Templates (2E+07 bis 2E+00 Kopien/μL), analysiert mit dem BD MAX™ System (475/520-(FAM-)Kanal).



12.2. Analytische Sensitivität. Nachweisgrenze (LoD)

Die analytische Sensitivität oder Nachweisgrenze (LoD) des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System wurde mit drei Chargen unter Verwendung von Vaginalmatrices sowie von männlichen und weiblichen Urinproben analysiert. Die verwendeten Referenzstämme oder die synthetische DNA (im Fall nicht verfügbarer Stämme) sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

Zielsequenz	Stamm/Synthetische DNA	Externe Referenz	
Makrolid-Empfindlichkeit + <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>23S-rRNA</i> -Gen (Wildtyp) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	<i>Mycoplasma-genitalium</i> Stamm M30	49895™	
Makrolid-resistent + <i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>23S-rRNA</i> -Gen (A2058C-Mutation) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	Synthetische DNA (MGRXPC)	n. a.
	<i>23S-rRNA</i> -Gen (A2058G-Mutation) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029
	<i>23S-rRNA</i> -Gen (A2058T-Mutation) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	Synthetische DNA (MGRXPC)	n. a.
	<i>23S-rRNA</i> -Gen (A2059C-Mutation) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	Synthetische DNA (MGRXPC)	n. a.
	<i>23S-rRNA</i> -Gen (A2059G-Mutation) + <i>MgPA-Adhäsion</i> -Gen	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029

Tabelle 19. Referenzstämme und synthetische DNA, die für den Nachweisgrenzen-Assay verwendet wurden.

Der VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System lieferte die in der folgenden Tabelle wiedergegebene Nachweisgrenze mit einer Positivrate von $\geq 95\%$.

Nachweisgrenze (LoD) (Kopien/ μ l)						
Matrix	Makrolid-empfindliches <i>M. genitalium</i>	Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2059G)	Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058G)	Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058C)	Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058T)	Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2059C)
Weiblicher Urin	3,33E-02	3,00E+00	9,99E-01	6,00E+00	6,00E+00	2,00E+00
Männlicher Urin	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

Tabelle 20. Nachweisgrenze des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Sensitivität des VIASURE-Produkts chargenübergreifend konsistent und zuverlässig ist.

12.3. Messbereich

Der Messbereich des Assays wurde anhand von Tests einer Reihe von zehnfachen Verdünnungen einer bekannten Konzentration spezifischer und synthetischer DNA von Makrolid-empfindlichen und Makrolid-resistenten *M. genitalium* enthielten. Die Ergebnisse ermöglichten die Bestätigung der korrekten Erkennung der Zielsequenzen im Messbereich, der in der folgenden Tabelle wiedergegeben ist:

Zielsequenz	Messbereich (Kopien/ μ L)					
	Matrix aus weiblichem Urin		Matrix aus männlichem Urin		Vaginalmatrix	
Makrolid-empfindliches <i>M. genitalium</i>	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2059G)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058G)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00
Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2058T)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01
Makrolid-resistentes <i>M. genitalium</i> (A2059C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00

Tabelle 21. Messbereich des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Messbereich des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System erfolgreich nach den eingangs festgelegten Akzeptanzkriterien validiert wurde. Dies gewährleistet zuverlässige, genaue und reproduzierbare Ergebnisse über ein breites Spektrum von Bakterienlasten hinweg und bestätigt seine Nützlichkeit in verschiedenen klinischen Diagnoseszenarien.

12.4. Genauigkeit

12.4.1. Richtigkeit (Verlässlichkeit)

Die Richtigkeit des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde anhand des nachfolgend aufgeführten Referenzmaterials getestet.

1. Synthetische cDNA-Fragmente

- Synthetisches cDNA-Fragment zu *23S rRNA* (Wildtyp) und *MgPA-Adhäsion*-Genen von Makrolid-empfindlichem *M. genitalium*: MGRXPC, HEX- und ROX-Kanäle.
- Synthetisches cDNA-Fragment für *23S rRNA* (A2058C-Mutation) und *MgPA-Adhäsion*-Gene von Makrolid-resistentem *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- und ROX-Kanäle.
- Synthetisches cDNA-Fragment für *23S rRNA* (A2058G-Mutation) und *MgPA-Adhäsion*-Gene von Makrolid-resistentem *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- und ROX-Kanäle.

- Synthetisches cDNA-Fragment für *23S rRNA* (A2058T-Mutation) und *MgPA-Adhäsion*-Gene von Makrolid-resistentem *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- und ROX-Kanäle.
- Synthetisches cDNA-Fragment für *23S rRNA* (A2059C-Mutation) und *MgPA-Adhäsion*-Gene von Makrolid-resistentem *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- und ROX-Kanäle.
- Synthetisches cDNA-Fragment für *23S rRNA* (A2059G-Mutation) und *MgPA-Adhäsion*-Gene von Makrolid-resistentem *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- und ROX-Kanäle.

2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten
49895	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm M30
33530	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm G37
49898	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm TW48-5G
49123	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm TW10-5G
49899	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm UMTB-10G
49896	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm TW10-6G
49897	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Stamm R32G [R32]

Tabelle 22. Referenzmaterial von der American Type Culture Collection (ATCC®).

3. Kontrollen

Externe Referenz	Mikroorganismus	Produktname	Varianten
MBTC029	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	Stamm vom empfindlichen Typ - A2059G-Mutation im <i>23-rRNA</i> -Gen - A2058G-Mutation im <i>23-rRNA</i> -Gen

Tabelle 23. Kontrollmaterial von Vircell S.L.

4. Programme zur externen Qualitätsbewertung (EQA)

Externe Referenz	Herkunft	Mikroorganismus	Produktname	Varianten
MG23S-03	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> G37	Stamm G37
MG23S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	<i>23S-rDNA</i> , Mutation A2059G, Makrolid-resistent
MG23S-07	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	<i>23S-rDNA</i> , Mutation A2059G, Makrolid-resistent
MG101S-04	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	Makrolid-resistent
MG101S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	Makrolid-resistent

Tabelle 24. Referenzmaterial aus externen Qualitätsbewertungs-(EQA-)Programmen.

12.4.2. Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurden Intra-Assay- (Wiederholbarkeit), Inter-Assay-, Inter-Batch- und Inter-Equipment- (Reproduzierbarkeit) Assays durchgeführt unter Verwendung einer Vaginalmatrix, einer weiblichen und einer männlichen Urinmatrix, die mit einer bekannten Konzentration der Referenzstämme: *Mycoplasma genitalium*, Stamm M30 (Ref.: 49895™) für Makrolid-empfindliches *M. genitalium* und AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref.: MBTC029) für Makrolid-resistentes *M. genitalium* dotiert wurde.

Intra-Assay

Der Intra-Assay wurde durch Analyse von sechs Replikaten sämtlicher Proben desselben Durchlaufs unter Verwendung des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System geprüft. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Makrolid-empfindlicher <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,02	0,27	0,85
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,98	0,32	1,03
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	35,23	1,20	3,41
Weiblicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,02	0,83	2,44
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,50	0,67	2,01
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	32,97	0,23	0,71
Vaginal	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,48	0,29	0,88
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,90	0,71	2,30
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	31,23	0,25	0,80

Tabelle 25. Intra-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-empfindlichem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Makrolid-resistenter <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,17	0,62	1,70
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,05	0,63	1,81
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,28	0,66	1,99
Weiblicher Urin	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,72	0,51	1,52
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,30	0,37	1,12
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,45	0,44	1,27
Vaginal	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,33	1,34	3,90
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,75	0,27	0,79
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,15	0,50	1,46

Tabelle 26. Intra-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-resistentem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Assay

Zur Bestimmung des Inter-Assay wurden vier Replikate der verschiedenen Proben an drei verschiedenen Tagen von drei verschiedenen Bedienpersonen mit dem VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System getestet. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Makrolid-empfindlicher <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,48	0,85	2,46
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,66	0,75	2,22
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,10	1,74	5,09
Weiblicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,36	1,80	5,24
		5 x LoD	530/565 (HEX)	34,01	1,84	5,42
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,04	1,39	4,10
Vaginal	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	33,06	0,90	2,73
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,90	0,68	2,13
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	30,84	0,77	2,49

Tabelle 27. Inter-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-empfindlichem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Makrolid-resistenter <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	35,98	1,00	2,78
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,31	0,90	2,56
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,65	1,30	3,74
Weiblicher Urin	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,08	1,28	3,87
		5 x LoD	475/520 (FAM)	31,98	0,79	2,48
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.

Makrolid-resistenter <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,54	1,09	3,25
Vaginal	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,72	1,34	3,87
		5 x LoD	475/520 (FAM)	34,22	1,27	3,71
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	30,98	0,55	1,78

Tabelle 28. Inter-Assay-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-resistentem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Batch

Die Werte des Inter-Batch-Vergleichs wurden anhand von sechs Replikaten der verschiedenen Proben unter Verwendung von drei Chargen des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System bestimmt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Makrolid-empfindlicher <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,77	0,89	2,71
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,46	0,57	1,81
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	35,44	1,01	2,85
Weiblicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,72	0,81	2,34
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,39	0,77	2,39
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.

Vaginal	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,53	0,58	1,74
	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,62	0,98	3,11
		5 x LoD	530/565 (HEX)	30,88	0,83	2,67
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
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	
	Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	31,06	0,39	1,27	

Tabelle 29. Inter-Batch-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-empfindlichem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Makrolid-resistenter <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,46	1	2,73
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,47	0,76	2,14
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	32,49	0,73	2,24
Weiblicher Urin	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	32,81	0,96	2,93
		5 x LoD	475/520 (FAM)	32,38	0,84	2,59
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,51	1,02	3,06
Vaginal	Makrolid-resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,34	1,39	4,05
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,96	0,62	1,82
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	32,24	1,44	4,46

Tabelle 30. Inter-Batch-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-resistentem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Inter-Equipment

Die Inter-Equipment-Werte wurden anhand von sechs Replikaten derselben Proben, die bei den Intra-Assay-, Inter-Assay- und Inter-Batch-Assays verwendet wurden, mithilfe des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System bestimmt. Diese Tests wurden an drei Laborstandorten mit drei verschiedenen BD MAX™ System durchgeführt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Makrolid-empfindlicher <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,96	0,43	1,35
		5 x LoD	530/565 (HEX)	31,00	0,40	1,30
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	32,46	0,62	1,92
Weiblicher Urin	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,31	0,97	2,81
		5 x LoD	530/565 (HEX)	33,72	0,52	1,54
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,08	0,62	1,87
Vaginal	Makrolid-empfindlich	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,55	0,81	2,48
		5 x LoD	530/565 (HEX)	32,57	0,52	1,60
		Negativkontrolle	530/565 (HEX)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	30,84	0,50	1,61

Tabelle 31. Inter-Equipment-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-empfindlichem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Makrolid-resistenter <i>M.-genitalium</i> -Stamm						
Matrix	Zielsequenz	Probe	Kanal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Männlicher Urin	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,58	1,31	3,58
		5 x LoD	475/520 (FAM)	35,13	0,53	1,51
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	32,89	0,77	2,34
Weiblicher Urin	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,67	0,43	1,28
		5 x LoD	475/520 (FAM)	32,85	0,64	1,96
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	34,59	0,65	1,87
Vaginal	Makrolid- resistent	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,47	0,89	2,59
		5 x LoD	475/520 (FAM)	33,46	0,61	1,84
		Negativkontrolle	475/520 (FAM)	Neg	n. a.	n. a.
	<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
		Negativkontrolle	585/630 (ROX)	Neg	n. a.	n. a.
	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
		Negativkontrolle	680/715 (CY5.5)	33,72	0,54	1,61

Tabelle 32. Inter-Equipment-Ergebnisse des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System mit Makrolid-resistentem *M.-genitalium*-Stamm. (Ct) = Schwellenwertzyklus. (\bar{x}) = arithmetisch mittlerer Ct-Wert, (σ) = Standardabweichung, (CV %) = Variationskoeffizient, Neg = negativ, n. a. = entfällt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Präzisionsstudie eine zuverlässige Leistung und Konsistenz über alle getesteten Matrices hinweg bestätigte, womit die eingangs festgelegten Akzeptanzvalidierungskriterien erfüllt wurden.

12.5. Analytische Spezifität und Reaktivität

Die analytische Spezifität und analytische Reaktivität wurden für den VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System *in silico* und experimentell unter Verwendung von unterschiedlichem Ausgangsmaterial wie zertifizierten Referenzstämmen, zertifizierter Referenz-RNA/DNA und Material aus den EQA-Programmen bewertet.

12.5.1. Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität bezeichnet das Vermögen des Assays, das beabsichtigte Ziel zu erkennen. Hinsichtlich der analytischen Spezifität sind zwei Komponenten zu berücksichtigen: Kreuzreaktivität und Interferenz. Eine Kreuzreaktivität kann auftreten, wenn genetisch verwandte Sequenzen in einer Patientenprobe vorliegen, während eine Interferenz auftreten kann, wenn die Anwesenheit spezifischer Substanzen, die möglicherweise in der Probenmatrix vorhanden sind, die Leistung der qPCR beeinträchtigt.

In-silico-Analyse der Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität wurde anhand von Referenzsequenzen von Pathogenen aus der NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) und/oder Such- und/oder Alignment-Tools wie BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) sowie einer internen bioinformatischen Analysesoftware bewertet. Es wurde eine BLAST-Analyse für jeden Primer und jede Sonde anhand der NCBI Genbank Nucleotide Database sowie eine interne bioinformatische Analyse durchgeführt.

Der Nachweis von alignierten Sequenzen mit einer prozentualen Homologie von weniger als 80 % wurde als unwahrscheinlich eingestuft. Folgendes sind die Ergebnisse:

Mycoplasma genitalium (MgPA-Adhäsion-Gen)

Alle analysierten Sequenzen wiesen eine Homologie von weniger als 80 % mit den Primern und dem Sondenset zum *Mycoplasma-genitalium* (MgPA Adhesin)-Gen) auf.

Daher sollte es mit VIASURE-*Mycoplasma-genitalium*-Targetdesigns beim Nachweis von *Mycoplasma genitalium* in Gegenwart anderer Organismen zu keinen falsch-positiven Ergebnissen kommen.

Mycoplasma genitalium (23S rRNA-Gen)

Eine BLAST-Analyse gefiltert nach dem 23S-rRNA-Gen von *M. genitalium* (unter Ausschluss von *M. genitalium*) zeigt eine hohe Homologie zwischen den Primern und Sonden und mehreren „Uncultured *Mycoplasma* sp. (taxonomie-ID:-167967)“-Sequenzen und einer „Synthetic *Mycoplasma genitalium* JCVI-1.0 (taxonomie-ID:-488339)“-Sequenz.

„Uncultured *Mycoplasma* sp. (taxonomie-ID: 167967)“ wird mit den Primern und Sonden für Makrolid-resistentes und Makrolid-empfindliches *M. genitalium* nachgewiesen. Daher besteht keine Gefahr einer Kreuzreaktivität im Produkt, da es für einen positiven Befund sowohl zum Nachweis des Mikroorganismus (*M. genitalium*) als auch zum Nachweis von Makrolid-Resistenz oder -Empfindlichkeit im jeweiligen Kanal kommen muss.

„Synthetic *Mycoplasma genitalium* JCVI-1.0 (taxonomie-ID: 488339)“ wird mit den Makrolid-empfindlichen Primern und der Sonde nachgewiesen. Es handelt sich um eine Sequenz, die dem Zielmikroorganismus entspricht und nachgewiesen werden muss. Diese Sequenz erscheint in der Kreuzreaktivität, da sie eine andere Taxonomie-ID als die bei der Ausschlussreaktion verwendete aufweist.

Keine der analysierten Sequenzen, einschließlich derjenigen mit einer Homologie von über 80 %, konnte daher die korrekte Erkennung des *Mycoplasma-genitalium*-(23S-rRNA)-Gens beeinträchtigen.

Analytische Spezifität: experimentelle Tests

Kreuzreaktivität: experimentelle Tests

Die Kreuzreaktivität des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde durch Testung eines Panels verschiedener Mikroorganismen überprüft, die mit Symptomen sexuell übertragbarer Infektionen oder mit phylogenetisch relevanten Mikroorganismen in Verbindung gebracht werden. Falls möglich und falls entsprechende Konzentrationsdaten verfügbar waren, wurden die interferierenden Mikroorganismen bei medizinisch relevanten Konzentrationen ausgewertet (in der Regel 1E+05 – 1E+06 KBE (koloniebildende Einheit)/mL im Falle von Bakterien und 1E+04 – 1E+05 PBE (Plaque-bildende Einheit)/mL im Falle von Viren). Mit Ausnahme der anvisierten Mikroorganismen wurde zwischen keinen der nachfolgenden untersuchten Mikroorganismen eine Kreuzreaktivität festgestellt.

Test auf Kreuzreaktionen					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	–	<i>Haemophilus ducreyi</i>	–	<i>Mycoplasma genitalium</i> , Stamm TW48-5G	-/+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	<i>Haemophilus influenzae</i>	–	<i>Mycoplasma genitalium</i> , Stamm UMTB-10G	-/+
<i>Atopobium vaginae</i>	–	Herpes simplex virus 2	–	<i>Mycoplasma genitalium</i> , Tully et al., Stamm TW10-5G	-/+
<i>Bacteroides fragilis</i>	–	Human Herpesvirus 1, Stamm 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. <i>ivanovii</i>	–	<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> , Stamm G37	-/+	<i>Treponema pallidum</i>	–
<i>Enterococcus faecium</i>	–	<i>Mycoplasma genitalium</i> , Stamm R32G [R32]	-/+	<i>Trichomonas vaginalis</i>	–
<i>Escherichia coli</i>	–	<i>Mycoplasma genitalium</i> , Stamm TW10-6G	-/+	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	–
<i>Gardnerella vaginalis</i>	–				

Tabelle 33. Referenz-Mikroorganismen, die in den Kreuzreaktivitäts-Assay einbezogen wurden. Das Ergebnis +/- bezieht sich auf das positive oder negative Ergebnis, das in den verschiedenen Kanälen abhängig von der nachgewiesenen Zielsequenz ermittelt wird. Handelt es sich bei einem getesteten Mikroorganismus um eine der durch das Gerät erfassten Zielsequenzen, wird ein positives Ergebnis in dem entsprechenden Kanal ermittelt, während in den anderen Kanälen ein negatives Ergebnis ermittelt wird.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse der Kreuzreaktivitätsassays die Akzeptanzvalidierungskriterien erfüllten und auf eine hohe Spezifität des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System für den Nachweis der Zielsequenzen von Makrolid-resistentem *M. genitalium* und Makrolid-empfindlichem *M. genitalium* hinweisen, wodurch das Risiko von falsch-positiven Ergebnissen minimiert wird. Da bei anderen verwandten Mikroorganismen keine unspezifischen Amplifikationen beobachtet wurden, deutet dies darauf hin, dass das Produkt in der Lage ist, die Zielsequenzen präzise zu unterscheiden.

Untersuchung von interferierenden mikrobiellen Agenzien

Zur Analyse potentiell interferierender mikrobieller Agenzien für den VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System wurde eine Untersuchung mit solchen Agenzien durchgeführt. Ein Panel von verschiedenen klinisch, umwelt- und phylogenetisch relevanten Mikroorganismen wurde in Gegenwart der folgenden Referenzstämme getestet: *Mycoplasma genitalium*, Stamm M30 (Ref.: 49895™) für Makrolid-empfindliches *M. genitalium* und AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref.: MBTC029) für Makrolid-resistentes *M. genitalium*. Falls möglich und falls entsprechende Konzentrationsdaten verfügbar waren, wurden die interferierenden Mikroorganismen bei medizinisch relevanten Konzentrationen ausgewertet (in der Regel 1E+05 – 1E+06 KBE (koloniebildende Einheit)/mL im Falle von Bakterien und 1E+04 – 1E+05 PBE (Plaque-bildende Einheit)/mL im Falle von Viren). Jede Punktanalyse wurde pro Probe einmal durchgeführt.

Jeweils eine Matrix-Positiv- und -Negativkontrolle (Positive Matrix Control (PMC) bzw. Negative Matrix Control (NMC)) wurden zur Überprüfung in den Test aufgenommen. Die PMC entspricht der Vaginalmatrix sowie der weiblichen und männlichen Urinmatrix, die mit den spezifischen Makrolid-empfindlichen und -resistenten *M.-genitalium* -Stämmen ohne jegliches interferierendes mikrobielles Agens dotiert wurde, während die NMC den negativen Matrices wiederum ohne jegliches interferierendes mikrobielles Agens entspricht.

Bezeichnung des Mikroorganismus	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	–	n. a.
NMC	–	n. a.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8,10E+05 KBE/mL	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4,40E+01 KBE/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+02 KBE/μL	N.I
Herpes-simplex-Virus Typ 1	1,60E+05 TCID50/mL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,80E+06 KBE/mL	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,70E+06 KBE/mL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,09E+05 KBE/mL	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+05 KBE/mL	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+01 KBE/μL	N.I

Bezeichnung des Mikroorganismus	Getestete Konzentration	Ergebnis
<i>Treponema pallidum</i>	3,40E+04 Zellen/mL	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7,60E+03 Kopien/ μ L	N.I
<i>Escherichia coli</i>	n. a.	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	n. a.	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+04 KBE/ μ L	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	2,88E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serotyp E	6,40E+05 IFE/mL	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,00E+04 KBE/mL	N.I
<i>Enterococcus faecium</i>	3,50E+04 KBE/mL	N.I
Herpes-simplex-Virus Typ 2	7,24E+03 TCID ₅₀ /mL	N.I
Humanes Papillomavirus 16	1,00E+02 IE/ μ L	N.I
Humanes Papillomavirus 18	1,00E+02 IE/ μ L	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	n. a.	N.I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 KBE/ μ L	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	n. a.	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 KBE/ μ L	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 KBE/ μ L	N.I

Tabelle 34. Test auf störende mikrobielle Agenzien. N.I. = keine Interferenz, n. a. = entfällt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass beim Nachweis von Makrolid-empfindlicher und/oder -resistenter *M. genitalium*-RNA in Vaginalmatrices sowie in weiblicher und männlicher Urinmatrix keine Interferenz durch die getesteten Mikroorganismen festgestellt werden konnte.

Studie zu Störsubstanzen

Um eine potentiell störende Wirkung von endogenen und exogenen Substanzen auf das VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System zu testen, wurde eine Untersuchung von Störsubstanzen durchgeführt. Insgesamt wurden 17, 25 bzw. 28 potentielle Störsubstanzen zu den negativen Vaginalabstrichen sowie zu weiblichen und männlichen Urinproben gegeben, die mit den folgenden Referenzstämmen angereichert worden waren: *Mycoplasma genitalium* Stamm M30 (Ref.: 49895™) für Makrolid-empfindliches *M. genitalium* und AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref.: MBTC029) für Makrolid-resistentes *M. genitalium*; und mit sechs Replikaten ausgewertet.

Jeweils eine Matrix-Positiv- und -Negativkontrolle (Positive Matrix Control (PMC) bzw. Negative Matrix Control (NMC)) wurden zur Überprüfung in den Test aufgenommen. Die PMC entspricht der Vaginalmatrix, die mit Copan eSwab® entnommen wurde, sowie der weiblichen und männlichen Urinmatrix, die mit den spezifischen Makrolid-empfindlichen bzw. -resistenten *M. genitalium*-Stämmen ohne Störsubstanzen dotiert wurde, während die NMC den negativen Matrices ohne Störsubstanzen oder hinzugefügte Mikroorganismen/hinzugefügtes Referenzmaterial entspricht. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Vaginalmatrix		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	–	n. a.
NMC	–	n. a.
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 Contraceptive Gel (Nonoxynol-9)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Tioconazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Leukozyten/Monozyten	2,00E+06 Zellen/mL	N.I.
Premeno Duo (Hyaluronsäure und Milchsäure)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Deodorant-Spray für Frauen	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Vaginales Gleitmittel, wasserbasiert, Durex Frescor	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Vaginales Gleitmittel, ölbasiert, SOIVRE Intimöl	5,00E+01 µL/mL	N.I.
DermaVagisil Vaginalcreme	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Preparation H Hämorrhoiden-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.
Samenflüssigkeit	5 %	N.I.
Vollblut	1 %	N.I.

Tabelle 35. Potentielle Störsubstanzen in Vaginalmatrices. N.I (No reportable interference): Keine relevanten Störungen / I: Störungen, n. a. = entfällt.

Männlicher Urin		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	–	n. a.
NMC	–	n. a.
Ibuprofen	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxen	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicillin	5,40E-02 mg/mL	N.I.

Männlicher Urin		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
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.
Tetracyclinhydrochlorid	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.
Leukozyten/Monozyten	2,00E+06 Zellen/mL	N.I.
Niedriger pH-Wert (HCl)	n. a.	N.I.
Hoher pH-Wert (NaOH)	n. a.	N.I.
Samenflüssigkeit	5 %	N.I.
Harnstoff	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Harnsäure	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Vollblut	1 %	I.*
	0,25 %	N.I.
	0,125 %	N.I.
Anthocyanin (Cranberry, Vaccinium macrocarpon)	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acetamidophenol (Paracetamol)	1,56E-01 mg/mL	N.I.
Phenazopyridinhydrochlorid	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Salicylsäure	1,50E-01 mg/mL	N.I.

Tabelle 36. Potentielle Störsubstanzen in männlicher Urinmatrix. N.I. (No reportable interference): Keine relevanten Störungen / I: Störungen, n. a. = entfällt

*Hemmung nur beim Makrolid-resistentem *Mycoplasma-genitalium*-Ziel beobachtet.

Matrix aus weiblichem Urin		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
PMC	–	n. a.
NMC	–	n. a.
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.

Matrix aus weiblichem Urin		
Bezeichnung der Substanz	Getestete Konzentration	Ergebnis
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfamethoxazol	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Tetracyclinhydrochlorid	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.
Leukozyten/Monozyten	2,00E+06 Zellen/mL	N.I.
Niedriger pH-Wert (HCl) 4	n. a.	I.*
Niedriger pH-Wert (HCl) 5	n. a.	I.*
Niedriger pH-Wert (HCl) 6	n. a.	N.I.
Hoher pH-Wert (NaOH)	n. a.	N.I.
Samenflüssigkeit	5 %	N.I.
Harnstoff	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Harnsäure	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Vollblut	1 %	N.I.
Anthocyanin (Cranberry, Vaccinium macrocarpon)	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acetamidophenol (Paracetamol)	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.
Salicylsäure	1,50E-01 mg/mL	N.I.
17- α -Ethinylestradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Norethindron	1,60E+01 ng/mL	N.I.
Deodorantspray für Frauen	5,00E+01 µL/mL	N.I.

Tabelle 37. Potentielle Störsubstanzen in weiblicher Urinmatrix. N.I (No reportable interference) : Keine relevanten Störungen / I: Störungen, n. a. = entfällt.

*Hemmung nur beim Makrolid-empfindlichem *Mycoplasma genitalium*-Ziel beobachtet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auf dem VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System verschiedene potentielle Störsubstanzen, endogene wie exogene, getestet wurden. Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass bei den getesteten Konzentrationen keine Störung durch die beurteilten Substanzen festgestellt werden kann.

12.5.2. Analytische Reaktivität

Die analytische Reaktivität kann als Prozentsatz der mikrobiellen Zielstämme oder DNA/RNA-Proben definiert werden, die das richtige positive Ergebnis liefern. Die analytische Reaktivität wurde *in silico* und anhand von experimentelle tests untersucht.

In-silico-Analyse der analytischen Reaktivität

Die analytische Reaktivität des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde unter Verwendung der öffentlich zugänglichen Nukleotidsequenzdatenbank wie die NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) und einer internen bioinformatischen Analysesoftware bewertet, um zu zeigen, dass die Zielgene durch das zu untersuchende Produkt korrekt nachgewiesen werden können. Die *In-silico*-Analyse des Primer- und Sondendesigns wurde durch das Alignment mit insgesamt 2.399 analysierten Sequenzen durchgeführt (Sequenzen, die aus der Datenbank heruntergeladen und von Duplikaten bereinigt wurden). Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gen	Alignierte Sequenzen: 486				
	Ohne Fehlpaarungen	Mit Fehlpaarungen	Sequenzen mit bestätigtem Nachweis	Sequenzen ohne Nachweis	Sequenzen mit unbekanntem Nachweis
<i>MgPA-Adhäsın</i>	74,07 %	25,93 %	74,07 %	0 %	25,93 %*
<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gen	Alignierte Sequenzen: 17				
	Ohne Fehlpaarungen	Mit Fehlpaarungen	Sequenzen mit bestätigtem Nachweis	Sequenzen ohne Nachweis	Sequenzen mit unbekanntem Nachweis
<i>23S RNA</i>	82,35 %	17,65 %	100 %	0 %	0 %

Tabelle 38. *In-silico*-Tests der analytische Reaktivität „Alignierte Sequenzen“ = Anzahl der Sequenzen, die ohne oder mit Fehlpaarungen aus der Gesamtzahl der analysierten Sequenzen aligniert wurden, „Sequenzen mit bestätigtem Nachweis“ = Sequenzen ohne Fehlpaarungen oder experimentell bestätigte Sequenzen, deren Nachweis als gewährleistet angesehen wird, „Sequenzen ohne Nachweis“ = Sequenzen, die zuvor *in silico* analysiert wurden und deren experimenteller Nachweis aufgrund früherer negativer experimenteller Belege nicht garantiert werden kann, „Sequenzen mit unbekanntem Nachweis“ = Sequenzen, die zuvor *in silico* analysiert wurden und deren experimenteller Nachweis aufgrund fehlender experimenteller Belege nicht garantiert werden kann.

*Es ist zu beachten, dass 20,78 % der insgesamt alignierten Sequenzen (101/486) nicht-kritische Fehlpaarungen aufwiesen, die als nachgewiesen gelten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Inklusivitätsanalyse eine korrekten Nachweis der *MgPA-Adhäsın*- und *23S-rRNA*-Gene von *M. genitalium* mit dem VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System erkennen lässt.

Analytischen Reaktivität: experimentelle Tests

Die analytische Reaktivität des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System gegenüber *Mycoplasma genitalium* wurde gegenüber der DNA der folgenden Stämme bewertet, wobei positive Ergebnisse erzielt wurden:

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

12.6. Metrologische Rückführbarkeit

Dieser Assay ist nicht zu Messzwecken ausgelegt.

13. Merkmale der klinischen Leistung

Die klinische Leistung des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurde anhand von Vaginalabstrichen und Urinproben getestet. Als Ergebnisse wurden dabei erhalten:

	Standort	Probentyp	Arbeitsablauf	Zielsequenz
1	Certest Biotec S.L. in Zusammenarbeit mit Hospital Universitario Miguel Servet (Saragossa, Spanien)	Vaginalabstriche	BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit + BD MAX™ System	Makrolid-empfindliches <i>Mycoplasma genitalium</i>
				Makrolid-resistentes <i>Mycoplasma genitalium</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spanien) unter Verwendung von Proben von Cerba Xpert	Urin	BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit + BD MAX™ System	Makrolid-empfindliches <i>Mycoplasma genitalium</i>
				Makrolid-resistentes <i>Mycoplasma genitalium</i>

Tabelle 39. Standort, Probentyp, Arbeitsablauf und Zielsequenzen.

Richtig positive und richtig negative Werte, falsch positive und falsch negative Werte sowie Sensitivität, Spezifität, positive prädiktive Werte (PPV) und negative prädiktive Werte (NPV) sowie Likelihood-Verhältnisse (LR) zum VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System wurden in Relation zu verschiedenen Vergleichs-Assays berechnet, wie in der folgenden Tabelle wiedergegeben ist:

Standort	Vergleichstest	Zielsequenz	TP	TN	FP	FN	Sensitivität	Spezifität	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-empfindlich	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-empfindlich	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)

Tabelle 40. Richtig positive (TP) und richtig negative (TN) Werte, falsch positive (FP) und falsch negative (FN) Werte, Sensitivität, Spezifität, positive prädiktive Werte (PPV), negative prädiktive Werte (NPV) und Likelihood-Ratios (LR) für den VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse eine hohe Übereinstimmung beim Nachweis von Makrolid-empfindlichem und -resistentem *Mycoplasma genitalium* mit dem VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System zeigen.

14. Kurzbericht über Sicherheit und Leistung

Der Kurzbericht über Sicherheit und Leistung des VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System kann von der folgenden Webseite heruntergeladen werden: **certest.es/viasure/labeling**. Dieser Kurzbericht ist auch auf der Website der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (EUDAMED) (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>) zu finden.

Literaturverzeichnis

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>

Symbole auf IVD-Komponenten und Reagenzien

 IVD <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	 Trocken halten	 Verfallsdatum	 Hersteller	 LOT Chargennummer
 Siehe Gebrauchsanweisung	 Temperaturbegrenzung	 Ausreichend für <n> Test(s)	 UDI Eindeutige Gerätekennung	 REF Katalognummer
 CE CE-Kennzeichnung	 Vor Sonnenlicht schützen			

Marken

BD MAX™ ist eine eingetragene Marke von Becton, Dickinson and Company.

Änderungsrechte vorbehalten. Alle Rechte vorbehalten. © Certest Biotec, S.L.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spanien)

Tel. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Informationen zum australischen Sponsor: Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australien

Informationen zum neuseeländischen Sponsor: Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Neuseeland

Änderungshistorie		
Versionsnr.	Änderungen	Datum
00	Ursprüngliche Version. Diese Version ist eine Übersetzung des englischen Originaldokuments: IUo-444224en0226.00	18/02/2026

Tabelle A2. Tabelle Änderungshistorie.

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

 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.