

Real Time PCR Detection Kit

Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance
Assay for BD MAX™ System
Instrucțiuni de utilizare

CE IVD
2797

Aceste instrucțiuni de utilizare se aplică pentru următoarele referințe:

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

Tabelul A1. Referință pentru produsul care urmează să fie utilizat cu sistemul BD MAX™.

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.

Consultați **certest.es/viasure/labeling** dacă limba dumneavoastră nu se află pe listă. Contactați viasure@certest.es dacă limba dumneavoastră nu se află pe site-ul web.

Notă: Utilizatorul trebuie să notifice producătorul și autoritatea competentă a statului membru în care este stabilit ca utilizator și/sau pacient cu privire la orice incident grav legat de produs.

Cuprins

1.	Scopul propus	6
2.	Rezumat și explicare	6
3.	Principiile procedurii.....	8
4.	Reactivi furnizați	9
5.	Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator	9
6.	Condiții de transport, depozitare și utilizare	10
7.	Precauții pentru utilizatori	10
8.	Procedura de testare.....	12
8.1.	Recoltarea, transportul și depozitarea probei	12
8.2.	Pregătirea probei și extragerea DNA	13
8.3.	Protocol PCR	13
8.3.1.	Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE <i>Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay</i> for BD MAX™ System	13
8.3.2.	Configurarea stativului BD MAX™.....	18
8.3.3.	Configurarea instrumentului BD MAX™	19
8.3.4.	Raport de rezultate BD MAX™	20
9.	Interpretarea rezultatelor	20
10.	Limitările testului.....	25
11.	Controlul de calitate.....	27
12.	Caracteristici de performanță analitică	27
12.1.	Linearitate analitică	27
12.2.	Sensibilitate analitică. Limita de detecție (LoD)	29
12.3.	Intervalul de măsurare.....	30
12.4.	Acuratețe	31
12.4.1.	Fidelitate.....	31
12.4.2.	Precizie	32
12.5.	Specificitate analitică și reactivitate.....	39
12.5.1.	Specificitate analitică	39

12.5.2. Reactivitate analitică	45
12.6. Trasabilitate metrologică.....	47
13. Caracteristici de performanță clinică	47
14. Rezumatul caracteristicilor de siguranță și performanță.....	48
Bibliografie.....	49
Simboluri pentru componentele și reactivii IVD	49
Mărci comerciale.....	49

ROMÂNĂ

1. Scopul propus

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System este un test qPCR automatizat conceput pentru detectarea calitativă de DNA de la *Mycoplasma genitalium* și mutații punctuale specifice (conferite de substituirea bazelor în *23S rRNA*) implicate în rezistența la macrolide, în tampoane vaginale și în specimene de urină de la bărbați și femei, colectate de la pacienți cu suspiciune de infecție cu *M. genitalium* de către profesionistul din domeniul sănătății (PDS) al acestora. Acest test este destinat pentru utilizare ca ajutor în diagnosticul infecțiilor cu *M. genitalium* și detectarea potențialei rezistențe la macrolide în combinație cu semnele și simptomele clinice ale pacientului și/sau cu factorii de risc epidemiologic. Rezultatele pozitive indică prezența țintei de acid nucleic (NA), dar nu exclud prezența de NA ale altor agenți patogeni nedetecțaiți de test. Rezultatele negative nu exclud prezența țintelor NA și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de tratament sau de gestionare a pacientului. Testul utilizează sistemul BD MAX™ pentru extragerea automată a DNA și efectuarea ulterioară a qPCR, utilizând reactivii furnizați în combinație cu reactivi universali și cu consumabile pentru sistemul BD MAX™. DNA este extras din probe, amplificat utilizând qPCR și detectat cu ajutorul unor primeri specifici și al unor sonde reporter cu pigment fluorescent pentru *M. genitalium* și mutațiile genei *23S rRNA* asociate cu rezistența la macrolide.

Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic *in vitro* (inclusiv instruirea pe instrumentul PCR în timp real (termociclator) și pe sistemul de extracție a acidului nucleic).

2. Rezumat și explicare

Infecțiile cu transmitere sexuală (ITS) sunt o problemă majoră de sănătate publică la nivel mondial, care afectează calitatea vieții și provoacă morbiditate și mortalitate grave.

Mycoplasma genitalium (MG) este o cauză frecventă de uretrită non-gonococică (UNG) și uretrită non-clamydială la bărbați și de cervicită la femei și se raportează că este asociată cu boala inflamatorie pelviană, infertilitatea și nașterea prematură (Baumann et al., 2018; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020). MG este un organism în formă de balon cu un organit terminal ușor curbat, capabil să provoace inflamații în tractul urogenital prin aderența la celulele epiteliale gazdă, declanșând semnale inflamatorii acute prin senzori imuni înnăscuți foarte exprimați (Gnanadurai & Fifer, 2020). Acest microorganism este un organism cu creștere lentă cunoscut ca fiind cel mai mic procariot capabil de replicare independentă, care a apărut în ultimele decenii ca agent patogen cu transmitere sexuală datorită capacității sale de a coloniza tractul reproducător la bărbați și femei (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022). Infecția cu MG în timpul sarcinii a fost asociată cu nașterea prematură și poate juca un rol în pierderea timpurie a sarcinii și în infecțiile

neonatale (Heavey, 2017). Poate coexista cu *Chlamydia trachomatis* și alte infecții cu transmitere sexuală, ceea ce face dificilă determinarea efectelor sale independente (Heavey, 2017).

Macrolidele sunt o clasă de medicamente utilizate în gestionarea și tratamentul diferitelor infecții bacteriene, cum ar fi pneumonia, sinuzita, faringita, amigdalita, infecțiile necomplicate ale pielii și otita medie sau infecția cu *Helicobacter pylori*, dar sunt, de asemenea, utilizate frecvent pentru a trata infecțiile cu transmitere sexuală, cum ar fi infecțiile gonococice și clamidiene (Patel & Hashmi, 2023). Mecanismul de acțiune constă în legarea de subunitatea ribozomală 50S bacteriană (aproape de situsul peptidil transferazei (regiunea V)) sau de reziduurile A2058 și A2059 (numerotare *Escherichia coli*) ale 23S rRNA, provocând încetarea sintezei proteinelor bacteriene (van der Schalk et al., 2020).

Problema tot mai mare a rezistenței la macrolide este o preocupare serioasă, cu rate de rezistență globală cuprinse între 30 % și 100 % (Gnanadurai & Fifer, 2020). Bacteriile dezvoltă în principal rezistență la macrolide prin două mecanisme: polimorfismele uninucleotidice (SNP) și metilarea rRNA. Cu toate acestea, deoarece MG nu are enzimele necesare pentru metilare, aceasta poate dezvolta rezistență doar prin modificarea țintei prin SNP (van der Schalk et al., 2020). Rezistența rezultă adesea dintr-o mutație cu o singură bază în poziția A2058 sau A2059 (pe baza numerotării *Escherichia coli*) în 23S rRNA, cu un impact minim asupra adaptării bacteriene, permițând transmiterea continuă (Gnanadurai & Fifer, 2020). Azitromicina este cea mai frecvent utilizată macrolidă pentru tratarea infecțiilor cu MG, deși acum sunt recomandate și josamicina și pristinamicina (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020).

Cultivarea MG este dificilă, deoarece necesită de la săptămâni până la luni pentru creștere, ceea ce face ca testarea standard a sensibilității să fie nepractică. Deși testarea sensibilității la antibiotice folosind tulpini de MG crescute în culturi de celule Vero a produs rezultate similare cu metodele tradiționale de diluție în bulion, această abordare nu este fezabilă pentru laboratoarele de diagnostic primar sau pentru majoritatea laboratoarelor de referință (Gnanadurai & Fifer, 2020).

Datorită absenței peretelui celular, MG nu este vizibilă pe secrețiile genitale colorate Gram. În plus, testele serologice bazate pe anticorpi nu sunt fiabile din cauza reactivității încrucișate cu alte micoplasme, inclusiv *Mycoplasma pneumoniae* (Gnanadurai & Fifer, 2020). Cu toate acestea, testele de amplificare a acidului nucleic (NAAT), cum ar fi reacția în lanț a polimerazei și amplificarea mediată de transcripție, oferă o detectare precisă a MG (Baumann et al., 2018; Heavey, 2017; Jensen et al., 2022). Testele NAAT pot fi efectuate pe mai multe tipuri de probe genitale, dar tampoanele vaginale pentru femei și probele de urină de la prima micțiune pentru bărbați par să ofere cele mai bune rezultate atunci când se testează pentru MG (Heavey, 2017). Din cauza ratei ridicate de rezistență antimicrobiană, se recomandă efectuarea simultană de teste pentru rezistența genotipică pentru a ghida tratamentul adecvat (Gnanadurai & Fifer, 2020).

3. Principiile procedurii

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System este conceput pentru detectarea calitativă simultană și diferențiată de DNA de la *Mycoplasma genitalium* și de la markerii genetici specifici asociați cu rezistența și sensibilitatea la macrolide, în tampoane vaginale și în specimene de urină de la bărbați și femei. După izolarea DNA, identificarea de *M. genitalium* și de markeri genetici de rezistență și sensibilitate la macrolide se efectuează prin amplificarea unei regiuni specifice a genei *adezină MgPa* a *M. genitalium* și a genei *23S rRNA*, ale căror mutații punctuale specifice sunt implicate în rezistența și sensibilitatea la macrolide, utilizând primeri specifici și sonde marcate cu fluorescență. Populația vizată de test include persoane cu semne sau suspiciune de ITS, parteneri sexuali ai persoanelor diagnosticate cu infecție cu *M. genitalium* și populații cu risc ridicat, cum ar fi bărbații care fac sex cu bărbați (MSM), persoanele cu HIV și pacienții care frecventează clinicile de sănătate sexuală.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System se bazează pe activitatea de tip 5' exonuclează a DNA polimerazei. În cursul amplificării DNA, această enzimă clivează sonda legată la secvența de DNA complementar, separând molecula blocantă de substanța fluoroforă. Această reacție generează o creștere a semnalului fluorescent care este proporțională cu cantitatea de model țintă. Această fluorescență este măsurată de sistemul BD MAX™.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System conține în fiecare tub toate componentele necesare pentru testul PCR în timp real (primeri/sonde specifice, dNTPs, tampon, polimerază) într-un¹ format stabilizat, precum și un control intern endogen (EIC) (gena *RNAse P umană*) pentru a urmări integritatea probei, pentru monitorizarea procesului de extracție și/sau pentru a elimina inhibarea activității polimerazei. Genele menajere umane sunt implicate în întreținerea de bază a celulei și, prin urmare, este de așteptat să fie prezente în toate celulele nucleate umane și să mențină un nivel de expresie relativ constant.

Țintă	Canal	Genă
Rezistență la macrolide	475/520 (FAM)	<i>23S rRNA</i>
Sensibilitate la macrolide	530/565 (HEX)	<i>23S rRNA</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	585/630 (ROX)	<i>Adezină MgPa</i>
Control intern endogen (EIC)	680/715 (Cy5.5)	<i>RNAse P</i>

Tabelul 1. Țintă, canal și gene.

¹ Vă rugăm să rețineți că atât termenii „stabilizat”, cât și „liofilizat” sunt utilizați indistinct și ca sinonime pe parcursul întregului document.

4. Reactivi furnizați

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System include următoarele materiale și următorii reactivi detaliate în Tabelul 2:

Reactiv/Material	Descriere	Intervalul de concentrație	Cod	Cantitate
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube	Lioprotectori și stabilizatori	± 6 g/100 mL*	Folie 1F	2 pungi cu câte 12 tuburi transparente
	Trifosfat de nucleotid (dNTPs)	± 1 mM*		
	Primeri și sonde	0,2-1 nmol/μL*		
	Enzime	10-100 U/reacție*		
Rehydration Buffer tube	Amestec de soluție salină	± 13 mM	Folie 11	1 pungă cu 24 tuburi transparente
	Tampon (TRIS, pH)	± 67 mM		

Tabelul 2. Reactivi și materiale furnizate în VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu nr. de cat. 444224.

* Pentru componenta în format stabilizat, intervalul de concentrație se înțelege după rehidratare.

5. Reactivi și echipamente care trebuie asigurate de către utilizator

Lista de mai jos include materiale care sunt necesare pentru utilizare, însă nu sunt incluse în VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

- Instrument PCR în timp real: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 sau 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vortex.
- Micropipete (cu funcționare precisă între 2 și 1000 μL).
- Apă fără nucleaze.
- Vârfuri filtrante.
- Mănuși consumabile, fără pulbere.

Opțional:

- Materialele de control extern pot fi utilizate ca parte a procedurii de control al calității performanței testului. Materialul de control disponibil în comerț și/sau probele caracterizate anterior ca pozitive sau negative pot fi utilizate în calitate de control pozitiv extern (EPC) sau, respectiv, control negativ extern (ENC). Selectarea și validarea EPC și ENC trebuie să se facă în conformitate cu reglementările locale, de stat și/sau federale aplicabile și în conformitate cu procedurile standard de control al calității ale laboratorului. În plus, în cazul utilizării materialului de control disponibil în comerț, utilizatorul trebuie să respecte instrucțiunile de utilizare respective.

6. Condiții de transport, depozitare și utilizare

- Kiturile pot fi transportate și depozitate la 2-30°C până la data de expirare, care este înscrisă pe eticheta kitului.
- Evitați vibrațiile în timpul transportului pentru a preveni scurgerile de lichid.
- După deschiderea pungilor de aluminiu care conțin tuburile de reacție, produsul poate fi utilizat timp de până la 28 de zile la 2-30°C. Păstrați flaconul ferit de lumină.

Tabelul de mai jos rezumă condițiile de transport, depozitare și utilizare a kitului general și a fiecărei componente:

Componentă	Condiții de transport	Condiții de depozitare	Condiții de utilizare
Întregul VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe eticheta kitului.	Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe eticheta kitului.	* Consultați condițiile de utilizare a fiecărei componente.
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube (folie 1F)		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe eticheta kitului. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.
Rehydration Buffer tube		Înainte de utilizare: 2-30 °C în timpul duratei de depozitare menționate pe eticheta kitului. După deschiderea pungii cu silicagel: 2-30°C timp de până la 28 de zile.	Temperatura camerei.

Tabelul 3. Rezumat al condițiilor de transport, depozitare și utilizare a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System și a fiecărei componente.

7. Precauții pentru utilizatori

- Produsul este destinat utilizării de către personalul de laborator clinic calificat, instruit în mod special și cu experiență în tehnicile de PCR în timp real și în procedurile de diagnostic *in vitro*.
- Pentru utilizare în diagnostic *in vitro*.
- Instrucțiunile de utilizare a produsului VIASURE și manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ trebuie citite cu atenție înainte de a utiliza VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Nu efectuați testul înainte de a înțelege informațiile privind procedurile, măsurile de siguranță și limitările descrise în acestea au fost înțelese.
- Nu utilizați reactivi și/sau materiale expirate.
- Nu utilizați kitul dacă eticheta care sigilează cutia exterioară este ruptă.
- Nu utilizați reactivii dacă cutia de protecție este deschisă sau ruptă la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă pungile de protecție sunt deschise sau rupte la primire.
- Nu utilizați reactivii dacă desicantul nu este prezent sau este rupt în interiorul pungilor cu reactivi.
- Nu îndepărtați desicantul din pungile cu reactivi.

- Nu utilizați reactivii dacă folia a fost ruptă sau deteriorată.
- Nu amestecați reactivii din pungii și/sau kituri și/sau loturi diferite.
- Închideți prompt pungile de protecție care conțin reactivi, cu fermoarul, după fiecare utilizare pentru a proteja amestecul principal de lumina soarelui. Îndepărtați din pungii aerul în exces înainte de sigilare.
- Protejați reactivii împotriva umidității. Expunerea prelungită la umiditate poate afecta performanța produsului.
- Pentru a evita deteriorarea etichetei, nu utilizați produsul în apropierea solventilor.
- Un aspect al amestecului de reacție în format stabilizat, aflat în mod normal la fundul tubului, care este diferit de cel obișnuit (fără formă conică, neomogen, de dimensiune mai mare/mai mică și cu culoare alta decât alburie) nu afectează funcționalitatea testului.
- Asigurați-vă că tubul de reacție și tubul cu tampon de rehidratare sunt fixate în siguranță în timpul așezării suportului BD MAX™.
- În cazul în care sunt efectuate alte teste PCR în aceeași arie generală a laboratorului, trebuie să aveți grijă ca VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, sau orice reactivi suplimentari necesari pentru testare și sistemul BD MAX™ să nu fie contaminați. Evitați întotdeauna contaminarea microbiană și cu ribonuclează (RNase)/dezoxiribonuclează (DNase) a reactivilor. Se recomandă utilizarea vârfurilor de pipetare consumabile, lipsite de RNază/DNază, rezistente la aerosoli sau cu dislocuire pozitivă. Utilizați câte un vârf nou pentru fiecare specimen. Trebuie să schimbați mănușile înainte de manipularea reactivilor și cartușelor (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Pentru a evita contaminarea mediului cu ampliconi, nu rupeți cartușul BD MAX™ PCR Cartridge după utilizare. Elementele de sigilare ale BD MAX™ PCR Cartridge sunt concepute să prevină contaminarea.
- Puneți la punct un flux de lucru unidirecțional. Acesta trebuie să înceapă în zona de extracție și să continue în zona de amplificare și zona de detectare. Nu duceți probele, echipamentele și reactivii înapoi în zona în care a fost efectuată etapa precedentă.
- Respectați bunele practici de laborator. Purtați echipament de protecție, utilizați mănuși de unică folosință, ochelari de protecție și mască. Nu mâncați, nu beți, nu fumați și nu aplicați produse cosmetice în zona de lucru. Spălați-vă pe mâini după ce terminați testul. Evitați contaminarea și contactul cu pielea, ochii și hainele.
- Probele trebuie tratate ca potențial infecțioase și/sau periculoase biologic, precum și toți reactivii și toate materialele care au fost expuse la probe și trebuie manipulate conform reglementărilor naționale privind siguranța. Luați măsurile de precauție necesare în cursul recoltării, transportului, depozitării, manipulării și eliminării probelor.
- Probele și reactivii trebuie manipulate într-un dulap de siguranță biologică. Utilizați echipament individual de protecție (EIP) în conformitate cu îndrumările actuale pentru manipularea probelor potențial infecțioase. Eliminați deșeurile în conformitate cu reglementările locale și de stat.

- Se recomandă decontaminarea cu regularitate a echipamentului utilizat, în special a micropipetelor și a suprafețelor de lucru.
- În conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1907/2006 (REACH), testele VIASURE Assays for BD MAX™ System nu au nevoie de fișe tehnice de securitate (Safety Data Sheets) din cauza clasificării lor ca nepericuloase pentru sănătate și mediu, deoarece nu conțin substanțe și/sau amestecuri care îndeplinesc criteriile de clasificare a pericolelor disponibile în Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 (CLP) sau care sunt în concentrații mai mari decât valoarea stabilită în regulamentul menționat pentru declararea lor. O declarație care precizează că nu este necesară fișa tehnică de securitate (MSDS) poate fi solicitată de la Certest Biotec S.L.
- Asigurați-vă că definirea programului de testare PCR pe sistemul BD MAX™ este efectuată urmând instrucțiunile din secțiunea „Protocol PCR” (parametri de extracție a probei, coduri de bare personalizate, setări PCR etc.).
- Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ pentru avertizări, precauții și proceduri suplimentare.
- Certificatul de analiză nu este inclus cu dispozitivul; totuși, acesta poate fi descărcat de pe site-ul web al Certest Biotec S.L. www.certest.es în caz de nevoie.

8. Procedura de testare

8.1. Recoltarea, transportul și depozitarea probei

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System a fost testat pe specimene de tampoane vaginale colectate de clinicieni folosind Copan eSwab® (Liquid Amies Elution Swab de la Copan) și pe specimene de urină de la prima micțiune auto-colectate de bărbați și femei, în pahar colector steril, fără conservanți. Alte tipuri de probe trebuie validate de către utilizator.

Recoltarea, depozitarea și transportul specimenelor trebuie să se încadreze în condițiile validate de către utilizator. În general, probele clinice trebuie să fie recoltate și etichetate corespunzător în recipiente curate, cu sau fără mediu de transport (în funcție de tipul probei). După recoltare, speciemenle trebuie să fie plasate într-o pungă pentru materiale cu risc biologic și trebuie să fie transportate și procesate cât mai curând posibil, pentru a garanta calitatea testului. Speciemenle trimise pentru testare moleculară trebuie depozitate în condiții controlate, astfel încât acizii nucleici să nu se degradeze pe parcursul depozitării. Trebuie evitate ciclurile repetate de congelare-decongelare, pentru a se preveni degradarea probei și a acizilor nucleici.

Specimenele clinice trebuie colectate, transportate și depozitate în conformitate cu îndrumările de laborator corespunzătoare și/sau manualele de politici pentru laborator.

A fost efectuat un studiu intern de stabilitate a specimenului cu VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, folosind matrice vaginală negativă colectată în Copan eSwab®, matrice de urină de femeie și de bărbat îmbogățită cu tulpina de referință sensibilă la macrolide (Amplirun® Total Macrolide Resistant MGE Control) la o concentrație de 3 x LoD. Stabilitatea a fost analizată prin intermediul a două teste diferite: stabilitatea primară (25°C: 4 ore și 2 zile; 4°C: 1 și 2 zile; -20°C: 12 luni) și stabilitatea imbricată. Pentru testul de stabilitate imbricată, probele incubate la 25°C timp de 4 ore și probele incubate la 4°C timp de 1 zi au fost analizate la 3 zile după adăugarea în tubul cu tampon pentru probă (SBT); probele incubate la 25°C timp de 2 zile și probele incubate la 4°C timp de 2 zile au fost analizate la 7 zile după adăugarea în SBT. În plus, probele au fost analizate după ce au trecut prin cinci cicluri de congelare (la -80°C) și decongelare (la 25°C). Rezultatele au arătat o bună performanță a probelor depozitate în toate condițiile testate, îndeplinind criteriile de acceptare stabilite inițial.

8.2. Pregătirea probei și extragerea DNA

Efectuați pregătirea probei conform recomandărilor date în instrucțiunile de utilizare ale kitului de extracție folosit, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetați 400 µL din tamponul vaginal sau 750 µL din specimenul de urină într-un BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube și închideți tubul cu un capac prevăzut cu sept. Asigurați amestecarea completă prin vortexarea probei la viteză mare, timp de 1 minut. Continuați cu BD MAX™ System Operation.

Notă: Asigurați-vă că vortexarea se efectuează cu câteva minute înainte de începerea rulării. Dacă se utilizează același tub BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube pentru reluarea testării, se recomandă să se agite manual tubul cu câteva minute înainte de începerea testului, pentru a asigura omogenizarea corespunzătoare a probei.

Rețineți că procedurile de pregătire a extracției specifice aplicației trebuie să fie dezvoltate și validate de către utilizator și că unele probe pot necesita preprocesare.

8.3. Protocol PCR

Notă: Pentru instrucțiuni detaliate, vă rugăm să consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™.

8.3.1. Crearea programului de testare PCR pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System

Notă: Dacă ați creat deja testul pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, puteți sări punctul 8.3.1 și să mergeți direct la 8.3.2.

- 1) Deschideți ecranul „Run” (Rulare) al sistemului BD MAX™, selectați fila „Test Editor” (Editor test).
- 2) Faceți click pe butonul „Create” (Creare).

În fila „Basic Information” (Informații de bază):

- 3) În câmpul „Test Name” (Nume test), denumiți testul: de exemplu, VIASURE MGM.

Notă: Numele testului trebuie să fie unic și să aibă maximum douăzeci de caractere.

- 4) În meniul defilant „Extraction Type” (Tip extracție), selectați „ExK TNA-3”.
- 5) În meniul defilant „Master Mix Format” (Format amestec principal), alegeți „Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer” (Tip 5: MM liofilizat concentrat cu tampon de rehidratare).
- 6) În câmpul „Sample Extraction Parameters” (Parametri de extracție a probei), selectați „User Defined” (Definit de utilizator) și ajustați valorile următorilor parametri (Tabelul 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Parametri de extracție a probei)	<i>Value (units)</i> (Valoare (unități))
<i>Lysis Heat Time</i> (Timp de încălzire pentru liză)	15 (min)
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatură pentru liză)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Înălțimea vârfului pentru probă)	1600 (steps)
<i>Sample Volume</i> (Volum probă)	500 (μL) (protocol pentru specimene de urină) 425 (μL) (protocol pentru specimene vaginale)
<i>Wash Volume</i> (Volum spălare)	500 (μL)
<i>Neutralization Volume</i> (Volum neutralizare)	N/A
<i>DNase Heat Time</i> (Timp de încălzire pentru DNază)	N/A

Tabelul 4. Parametrii de extracție a probei efectuate cu BD MAX™ ExK™ TNA-3. N/A = nu se aplică.

- 7) În „Ct Calculation” (Calcul Ct), selectați „Call Ct at Threshold Crossing” (Apelare Ct la depășirea pragului), selectat implicit.
- 8) Dacă rulați versiunea de software 5.00 sau mai recentă și aveți tuburi cu fixare cu folie cu cod de bare, în câmpul „Custom Barcodes” (Coduri de bare personalizate) selectați următoarea configurație:
- „Snap-In 2 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 2): 1F (referitor la *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tube).
 - „Snap-In 3 Barcode” (Cod de bare poziția de fixare 3): 11 (referitor la Rehydration Buffer tube).

În fila „PCR Settings” (Setări PCR):

- 9) În câmpul „PCR settings” (Setări PCR) introduceți următorii parametri descriși în Tabelul 5: „Alias” (până la șapte caractere alfanumerice), „PCR Gain” (Câștig PCR), „Threshold” (Prag), „Ct Min” și „Ct Max”.

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (Câștig PCR)	<i>Threshold</i> (Prag)	<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*

Tabelul 5. Setări PCR.

Notă: Se recomandă să setați valorile de prag minime listate mai sus pentru fiecare canal la un moment inițial, dar setările finale trebuie determinate de către utilizatorul final în cursul interpretării rezultatelor, pentru a exista siguranța că pragurile se situează în interiorul fazei exponențiale a curbei de fluorescență și deasupra oricărui semnal de fundal. Valoarea prag pentru diferite instrumente poate varia datorită intensităților diferite ale semnalului.

*Datorită variabilității numărului de celule umane conținute în speciunile de urină, valoarea limită pentru ținta controlului intern endogen (EIC) este stabilită la 35 pentru speciunile de tampon vaginal și 40 pentru speciunile de urină de femeie și de bărbat, pentru a asigura o recoltare adecvată a probei.

10) În câmpul „Color compensation” (Compensare culoare) introduceți următorii parametri (Tabelul 6).

		<i>False Receiving Channel</i> (Canal fals receptor)					
		<i>Channel</i> (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
<i>Excitation Channel</i> (Canal excitare)	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	3,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabelul 6. Parametrii „Color compensation” (Compensare culoare).

În fila „Melt Settings” (Setări topire) nu este necesară nicio acțiune, nu este aplicabilă pentru acest produs.

În fila „Test Steps” (Etapă test):

11) Introduceți numele etapei (până la douăzeci de caractere) și setați următorii parametri pentru a defini fiecare etapă a protocolului PCR: „Profile Type” (Tip profil), „Cycles” (Cicluri), „Time” (Timp) și „Temperature” (Temperatură) și selectați câmpul „Detect” (Detectare) pentru a defini etapa de detectare (Tabelul 7). Faceți clic pe butonul „Add” (Adăugare) pentru a adăuga o nouă etapă și repetați până când sunt definite toate etapele necesare.

Notă: Câmpul „Type” (Tip) trebuie să fie gol.

<i>Step</i> (Etapă)	<i>Step name</i> (Nume etapă)	<i>Profile Type</i> (Tip profil)	<i>Cycles</i> (Cicluri)	<i>Time (s)</i> (Timp (s))	<i>Temperature</i> (Temperatură)	<i>Detect</i> (Detectare)
Initial denaturation (Denaturare inițială)	IN-denaturation	Hold	1	120	95 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturare și alinier/extensie (Colectare date))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95 °C	-
				58	60 °C	✓

Tabelul 7. Protocol PCR.

În fila „Result Logic” (Logică rezultate):

- 12) În câmpul „Target” (Țintă) denumiți ținta: de exemplu, Res (până la șapte caractere alfanumerice).
Repețați etapele 12-15 pentru fiecare țintă (de exemplu, Sen sau Mg) urmând tabelele specifice pentru ținta care este definită.
- 13) Faceți clic pe caseta de selectare „Analyze” (Analiză) pentru a include lungimile de undă dorite (canale PCR) în analiza rezultatului țintă (Tabelele 8-10).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
475/520	Res	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 8. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta Res (rezistență la macrolide) .

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
530/565	Sen	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 9. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta Sen (sensibilitate la macrolide).

<i>Wavelength</i> (Lungime de undă)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tip)	<i>Analyze</i> (Analiză)
585/630	Mg	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabelul 10. Selectarea canalelor PCR în „Result logic” (Logică rezultate) pentru ținta Mg (*Mycoplasma genitalium*) .

- 14) Faceți click pe butonul „Edit Logic” (Editare logică).
- 15) În fereastra „Edit Logic” (Editare logică) sunt enumerate toate combinațiile de tipuri de rezultate.
Pentru fiecare rând, în meniul defilant „Result” (Rezultat), selectați rezultatul care este apelat atunci când sunt îndeplinite condițiile din acel rând, urmând Tabelele 11-13 pentru speciemenle vaginale și Tabelele 14-16 pentru probele de urină.

Specimenele de tamponare vaginale

<i>Result</i> (Rezultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 11. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta Res (rezistență la macrolide) în protocolul pentru specimene vaginale. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 12. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta Sen (sensibilitate la macrolide) în protocolul pentru specimene vaginale. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
UNR	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 13. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru Mg (*Mycoplasma genitalium*) în protocolul pentru specimene vaginale. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Specimene de urină

<i>Result</i> (Rezultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
POS	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 14. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta Res (rezistență la macrolide) în protocolul pentru specimene de urină. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
POS	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 15. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru ținta Sen (sensibilitate la macrolide) în protocolul pentru specimene de urină. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

<i>Result</i> (Rezultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valid)	Valid (Valid)
POS	Valid (Valid)	Invalid (Nevalid)
NEG	Invalid (Nevalid)	Valid (Valid)
UNR	Invalid (Nevalid)	Invalid (Nevalid)

Tabelul 16. Lista combinației de tipuri de rezultate și logica rezultatelor pentru Mg (*Mycoplasma genitalium*) în protocolul pentru specimene de urină. Rezultatele disponibile sunt POS (Pozitiv), NEG (Negativ) și UNR (Nerezolvat).

Notă: Conform Ct Max definit anterior (Tabelul 5):

- i. Tipul de rezultat pentru canalele Res (475/520), Sen (530/565) sau Mg (585/630) este considerat „Valid” atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 40 ; și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 40 .
- ii. Tipul de rezultat pentru canalul EIC (680/715) este considerat „Valid” atunci când valoarea Ct obținută este ≤ 35 pentru speciamentele de tamponare vaginale și ≤ 40 pentru speciamentele de urină; și „Invalid” (Nevalid) atunci când valoarea Ct obținută este > 35 și, respectiv, > 40 .

* Deși valoarea limită pentru ținta EIC în probele de urină este 40, este posibil să nu se observe curba de amplificare în EIC în cazul unui semnal pozitiv atât pentru ținta Res sau Sen, cât și pentru ținta Mg. În acest caz, logica rezultatelor este POS (Pozitiv). Consultați secțiunea 9. Interpretarea rezultatelor.

16) Faceți clic pe butonul „Save” (Salvare) pentru a salva testul.

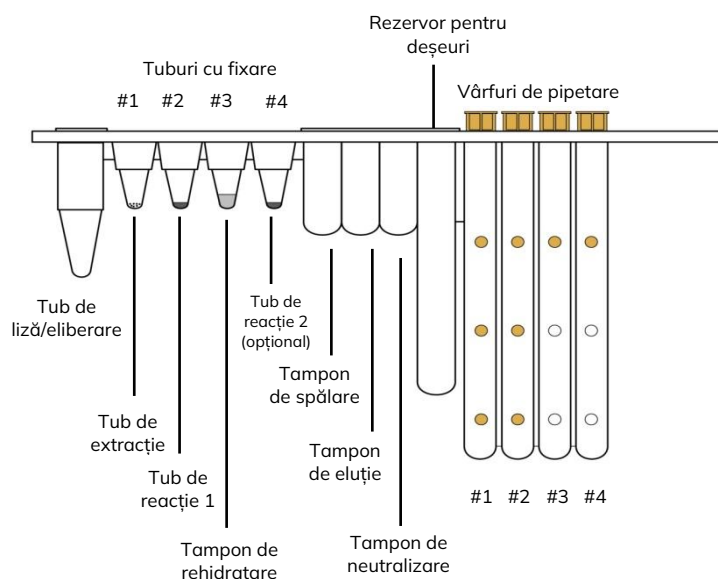
8.3.2. Configurarea stativului BD MAX™

- 1) Pentru fiecare probă de testat, scoateți o bandeletă de reactiv unitarizată din kitul BD MAX™ ExK™ TNA-3. Loviți cu blândețe fiecare bandeletă de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate lichidele se află la fundul tuburilor și încărcați pe stativ pentru probe ale sistemului BD MAX™ System.
- 2) Scoateți numărul necesar de BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (folie albă) din punga de protecție respectivă. Fixați tuburile de extracție (folie albă) în pozițiile corespunzătoare de pe bandeleta TNA (poziția de fixare 1, cod de culoare alb pe stativ. Consultați Figura 1). Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
- 3) Determinați și separați numărul adecvat de tuburi *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tube (folie 1F) și fixați-le în pozițiile lor corespunzătoare de pe bandeletă (poziția de fixare 2, cod de culoare verde pe stativ. Consultați Figura 1).
 - a. Îndepărtați excesul de aer și închideți pungile de aluminiu cu sigiliul cu fermoar.
 - b. Pentru a face o rehidratare corectă, vă rugăm să vă asigurați că produsul liofilizat se află la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu

blândește fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.

- 4) Îndepărtați numărul necesar de tuburi Rehydration Buffer tube (folie 11) și fixați-le în pozițiile corespunzătoare pe bandeletă (poziția de fixare 3, fără cod de culoare pe stativ. Consultați Figura 1).
 - a. Îndepărtați excesul de aer și închideți punga cu sigiliul cu fermoar.
 - b. Pentru a asigura un transfer corect, vă rugăm să vă asigurați că lichidul este la fundul tubului și că nu este aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că întregul tampon se află la fundul tuburilor.

Figura 1. Bandeletă BD MAX™ TNA Reagent (TNA) de la kitul BD MAX™ ExK™ TNA-3.



8.3.3. Configurarea instrumentului BD MAX™

- 1) Selectați fila „Worklist” (Listă de lucru) din ecranul „Run” al software-ului sistemului BD MAX™, versiunea v4.50A sau mai recentă.
- 2) În meniul defilant „Test”, selectați testul dorit: de exemplu VIASURE MGM (dacă nu este deja creat, consultați Secțiunea 8.3.1).
- 3) În meniul defilant „Kit Lot Number” (Număr lot kit), selectați numărul de lot corespunzător pentru kit (se găsește pe cutia exterioară a kitului de extracție utilizat) (opțional).

Notă: Numerele de lot trebuie să fie definite în ecranul „Inventory” (Inventar) înainte de a putea fi selectate aici.

- 4) Introduceți numărul de identificare al Sample Buffer Tube în câmpul „Sample tube” (Tub probă), fie prin scanarea codului de bare, fie prin introducere manuală.
- 5) Completați câmpul „Patient ID” (ID pacient) și/sau „Accession” (Acces) și faceți clic pe tasta Tab sau Enter. Continuați până când toate codurile de bare pentru tuburile Sample Buffer Tube sunt introduse. Asigurați-vă că există o potrivire precisă între ID specimen/pacient și tuburile Sample Buffer Tube.

- 6) Puneți Sample Buffer Tube pregătit în stativul/stativele BD MAX™.
- 7) Încărcați stativul/stativele în sistemul BD MAX™ (stativul A este poziționat pe partea stângă a sistemului BD MAX™ iar stativul B pe partea dreaptă).
- 8) Puneți numărul necesar de BD MAX™ PCR Cartridge(s) în sistemul BD MAX™.
- 9) Închideți ușa sistemului BD MAX™.
- 10) Faceți click pe „Start” (Pornește) pentru a începe procedura.

8.3.4. Raport de rezultate BD MAX™

- 1) Din bara de meniu, dați click pe „Results” (Rezultate).
- 2) Fie faceți dublu click pe rularea dorită în listă, fie apăsați butonul „view” (vizualizare).
- 3) Butoanele „Print” (Imprimare) și „Export” din partea de jos a ecranului vor fi activate.

Pentru a imprima rezultatele:

1. Faceți click pe butonul „Print” (Imprimare).
2. În fereastra de previzualizare „Print” (Imprimare) a raportului de rulare, selectați: „Run Details” (Detalii rulare), „Test Details” (Detalii test) și „Plots” (Diagrame).
3. Faceți clic pe „Print” (Imprimare) pentru a imprima raportul sau faceți clic pe „Export” pentru a exporta un fișier PDF al raportului pe un USB.

Pentru a exporta rezultatele:

1. Faceți clic pe butonul „Export” pentru a transfera raportul (fișier PDF și CSV) pe un USB.
2. Când exportul este finalizat, pictograma de succes/eșec apare în fereastra „Results Export” (Export rezultate).

9. Interpretarea rezultatelor

Pentru o descriere detaliată a modului de analiză a datelor, consultați manualul de utilizare a sistemului BD MAX™.

Analiza datelor este efectuată de către software-ul BD MAX™, conform instrucțiunilor producătorului. Software-ul BD MAX™ raportează valorile Ct și curbele de amplificare pentru fiecare canal detector al fiecărei probe testate, în felul următor:

- Valoarea Ct de 0 indică faptul că nu a existat o valoare Ct calculată de către software cu pragul specificat (consultați Tabelul 5). Curba de amplificare a probei care arată o valoare Ct „0” trebuie să fie verificată manual.
- O valoare Ct de -1 indică faptul că nu a avut loc niciun proces de amplificare, că nu a fost calculată nicio valoare Ct de către software sau că valoarea Ct calculată este sub pragul specificat sau peste Ct Max stabilit (valoarea limită).

- Orice altă valoare Ct trebuie interpretată în corelație cu curba de amplificare și în conformitate cu logica rezultatelor definită, urmând îndrumările de interpretare prezentate în Tabelele 17-18.

Verificați semnalul de control intern endogen (EIC) pentru a verifica corecta funcționare a amestecului de amplificare. În plus, verificați dacă există o raportare de defecțiune a sistemului BD MAX™ System. Vă rugăm să rețineți că, în conformitate cu logica rezultatelor definită, este posibil să nu se observe curba de amplificare în EIC în probele de urină în cazul unui semnal pozitiv atât în ținta Mg, cât și în ținta Res sau ținta Sen. Citiți cu atenție interpretarea probelor individuale de urină ale pacientului (Tabelul 18).

Rezultatele trebuie să fie citite și analizate folosind următoarele tabele:

Interpretarea rezultatelor pentru speciemenle de tampoane vaginale

Rezistență la macrolide (nume țintă: Res)	Sensibilitate la macrolide (nume țintă: Sen)	<i>M. genitalium</i> (nume țintă: Mg)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
NEG	POS	POS	DNA de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de rezistență la macrolide nedetectat
POS	NEG	POS	DNA de rezistență la macrolide și <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de sensibilitate la macrolide nedetectat
POS	POS	POS	DNA de rezistență la macrolide, de sensibilitate la macrolide și DNA de <i>M. genitalium</i> detectat REZULTAT INCONCLUDENT ¹
POS	POS	NEG	DNA de rezistență la macrolide și de sensibilitate la macrolide detectat, DNA de <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
POS	NEG	NEG	DNA de rezistență la macrolide detectat, DNA de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
NEG	POS	NEG	DNA de sensibilitate la macrolide detectat, DNA de rezistență la macrolide și <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
NEG	NEG	POS	DNA de <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de rezistență la macrolide și DNA de sensibilitate la macrolide nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ^{1,2}
NEG	NEG	NEG	DNA de rezistență la macrolide, de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> nedetectat
UNR	UNR	UNR	Rezultat Nerezolvat (UNR) obținut în prezența inhibitorilor din reacția PCR, probe sub limita de detecție sau când intervine o problemă generală (neraportată printr-un cod de eroare) în legătură cu etapele de procesare a probei și/sau amplificare. ³

IND	IND	IND	Rezultat test Nedeterminat (IND). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de defectare a instrumentului, asociată unui cod de eroare. ⁴
INC	INC	INC	Rezultat test Incomplet (INC). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de eșec la finalizarea rulării. ⁴

Tablul 17. Interpretarea probei pentru probele de tampon vaginal.

1 Este necesară reluarea testării. Se recomandă repetarea testului din același Sample Buffer Tube (SBT) sau din proba primară, pregătind un nou SBT. În cazul unui rezultat inconcludent continuu, obțineți un nou specimen (mai concentrat, dacă este posibil) și reluați testul.

NOTĂ: Specimenele de tampon vaginal pot fi păstrate fără a fi transferate în SBT timp de până la 2 zile la 25 °C sau 4 °C. În cazul reluării testării din același SBT, se recomandă să se agite manual SBT pentru a asigura omogenizarea corespunzătoare a probei. Vă rugăm să rețineți că speciimenele de tampon vaginal pot fi păstrate în SBT timp de cel mult 7 zile la 25 °C sau 4 °C (dacă au fost depozitate anterior la 25 °C sau 4 °C timp de cel mult 2 zile).

2 Kitul detectează următoarele mutații asociate cu rezistența la macrolide: Gena *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). În cazul prezenței altei mutații, kitul nu este validat pentru detectarea acesteia, prin urmare, amplificarea va fi observată în canalul ROX (detectarea de *M. genitalium*) și nu în canalele FAM și HEX (detectarea rezistenței la macrolide și, respectiv, a sensibilității la macrolide).

3 Pentru a fi luat în considerare, controlul intern endogen (EIC) trebuie să prezinte un semnal de amplificare cu valoarea Ct ≤ 35. Dacă se constată o absență a semnalului pentru EIC sau valoarea Ct > 35, rezultatul este considerat ca Nerezolvat (UNR) și este necesară reluarea testării. Verificați raportul de rezultate și valorile Ct ale țintelor selectate și efectuați acțiunea corespunzătoare ținând cont de următoarele:

- I. Când rezultatele genelor țintă sunt nevalide (Ct > 40), este necesară repetarea testului din același SBT sau din proba primară, pregătind un nou SBT. Dacă se obține din nou un rezultat UNR, trebuie luate în considerare două scenarii. Pe de o parte, concentrația probei poate fi sub LoD, prin urmare, se recomandă obținerea unei probe mai concentrate. Pe de altă parte, trebuie luată în considerare prezența potențială a inhibitorilor în reacția PCR și se recomandă diluarea acestor probe 1/10. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.
- II. Când rezultatele genelor țintă pentru rezistența la macrolide, sensibilitatea la macrolide și/sau *M. genitalium* sunt valide (Ct ≤ 40), este posibil să nu se observe amplificare sau amplificare de la EIC cu o valoare Ct > 35 la testarea probelor foarte concentrate, din cauza amplificării preferențiale a acizilor nucleici specifici țintei. Dacă se consideră necesar, diluați aceste probe în raport de 1/10, pregătiți din nou Sample Buffer Tube (SBT) și repetați testarea. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.

4 Rezultatele nedeterminate (IND) sau incomplete (INC) pot fi obținute din cauza unei defectuni a sistemului și este necesară reluarea testării. Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru interpretarea codurilor de avertizare și de eroare.

Interpretarea rezultatelor pentru probele de urină

Rezistență la macrolide (nume țintă: Res)	Sensibilitate la macrolide (nume țintă: Sen)	<i>M. genitalium</i> (nume țintă: Mg)	Interpretare pentru probele individuale ale pacientului
NEG	POS	POS	DNA de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de rezistență la macrolide nedetectat
POS	NEG	POS	DNA de rezistență la macrolide și DNA de <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de sensibilitate la macrolide nedetectat
POS	POS	POS	DNA de rezistență la macrolide, DNA de sensibilitate la macrolide și DNA de <i>M. genitalium</i> detectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
POS	POS	NEG	DNA de rezistență la macrolide și DNA de sensibilitate la macrolide detectat, DNA de <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
POS	NEG	NEG	DNA de rezistență la macrolide detectat, DNA de sensibilitate la macrolide și DNA de <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
NEG	POS	NEG	DNA sensibil la macrolide detectat, DNA rezistent la macrolide și DNA de <i>M. genitalium</i> nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ¹
NEG	NEG	POS	DNA de <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de rezistență la macrolide și DNA de sensibilitate la macrolide nedetectat. REZULTAT INCONCLUDENT ^{1,2}
NEG	NEG	NEG	DNA de rezistență la macrolide, de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> nedetectat
UNR	POS	POS	DNA de sensibilitate la macrolide și <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de rezistență la macrolide nedetectat ³
POS	UNR	POS	DNA de rezistență la macrolide și <i>M. genitalium</i> detectat, DNA de sensibilitate la macrolide nedetectat ³
UNR	UNR	UNR	Rezultat Nerezolvat (UNR) obținut în prezența inhibitorilor din reacția PCR sau când intervine o problemă generală (neraportată printr-un cod de eroare) în legătură cu etapele de procesare a probei și/sau amplificare. ⁴
POS	POS	UNR	Nerezolvat (UNR) – Repetați testarea ¹
POS	UNR	UNR	Nerezolvat (UNR) – Repetați testarea ¹
UNR	POS	UNR	Nerezolvat (UNR) – Repetați testarea ¹
UNR	UNR	POS	Nerezolvat (UNR) – Repetați testarea ¹

IND	IND	IND	Rezultat test Nedeterminat (IND). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de defectare a instrumentului, asociată unui cod de eroare. ⁵
INC	INC	INC	Rezultat test Incomplet (INC). Datorat defectării sistemului BD MAX™ System. Rezultat al testului afișat în caz de eșec la finalizarea rulării. ⁵

Tabelul 18. Interpretarea probei pentru probele de urină.

1 Este necesară reluarea testării. Se recomandă repetarea testului din același Sample Buffer Tube (SBT) sau din proba primară, pregătind un nou SBT. În cazul unui rezultat inconcludent continuu, obțineți un nou specimen (mai concentrat, dacă este posibil) și reluați testul.

NOTĂ: Specimenele de urină pot fi păstrate fără transfer în SBT timp de cel mult 4 ore dacă sunt depozitate la 25 °C sau 1 zi dacă sunt depozitate la 4 °C. În cazul reluării testării din același SBT, se recomandă agitarea manuală a SBT pentru a asigura omogenizarea corespunzătoare a probei. Vă rugăm să rețineți că probele de urină pot fi păstrate în SBT timp de până la 3 zile la 25 °C (dacă au fost depozitate anterior la 25 °C timp de maximum 4 ore) sau timp de până la 3 zile la 4 °C (dacă au fost depozitate anterior la 4 °C timp de maximum 1 zi).

2 Kitul detectează următoarele mutații asociate cu rezistența la macrolide: Gena *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). În cazul prezenței altei mutații, kitul nu este validat pentru detectarea acesteia, prin urmare, amplificarea va fi observată în canalul ROX (detectarea de *M. genitalium*) și nu în canalele FAM și HEX (detectarea rezistenței la macrolide și, respectiv, a sensibilității la macrolide).

3 Deși valoarea limită pentru ținta controlului intern endogen (EIC) în cazul specimenelor de urină este 40, datorită numărului redus de celule umane din urină, este permis să nu se observe curba de amplificare în EIC în cazul unui semnal pozitiv pentru ambele ținte rezistență la macrolide (canal FAM) sau pentru ținta de sensibilitate la macrolide (canal HEX), cât și la ținta *Mycoplasma genitalium* (canal ROX). În acest caz, nu există riscul de a raporta un rezultat fals pozitiv, deoarece amplificarea trebuie observată simultan în două canale diferite.

4 EIC trebuie să prezinte un semnal de amplificare cu valoarea Ct ≤ 40 pentru a fi luat în considerare. Dacă se constată o absență a semnalului pentru EIC sau valoarea Ct > 40 rezultatul este considerat ca Nerezolvat (UNR) și este necesară reluarea testării. Se recomandă repetarea testului din același SBT, sau din proba primară pregătind un nou SBT sau de a obține o probă mai concentrată. De asemenea, se poate întâmpla ca rezultatul Nerezolvat (UNR) să se datoreze prezenței inhibitorilor în reacția PCR, în aceste cazuri, se recomandă diluarea probelor în proporție de 1/10. Respectați îndrumările de laborator și/sau manualele de politici pentru laboratorul de microbiologie.

5 Rezultatele nedeterminate (IND) sau incomplete (INC) pot fi obținute din cauza unei defecțiuni a sistemului și este necesară repetarea testării. Consultați manualul de utilizare al sistemului BD MAX™ System pentru interpretarea codurilor de avertizare și de eroare.

Notă: În cazul utilizării controalelor externe, acestea trebuie să conducă la următoarele rezultate așteptate: negative pentru ENC și pozitive pentru EPC (se așteaptă ca speciemenle pozitive cunoscute să fie pozitive numai pentru microorganismul(ele) prezent(e) în probă). În cazul în care apare o defecțiune a controlului extern, este necesară reluarea testării.

În cazul unui rezultat ambiguu obținut în mod continuu, se recomandă să se revadă instrucțiunile de utilizare, procesul de extracție folosit de către utilizator; să se verifice corecta performanță a fiecărei etape PCR și să se revizuiască parametrii; și să se verifice forma sigmoidă a curbei și intensitatea fluorescenței.

Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.

10. Limitările testului

- Rezultatele testului trebuie să fie evaluate de un profesionist din domeniul medical, ținând seama de antecedentele medicale, simptomele clinice și alte teste cu rol diagnostic.
- VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost validat doar cu tampoane vaginale și cu specimene de urină de la femei și bărbați.
- Pentru o bună performanță a testului, produsul liofilizat trebuie să se afle la fundul tubului și să nu fie aderent la partea de sus a tubului sau la folia de sigilare. Loviți cu blândețe fiecare tub de o suprafață dură pentru a vă asigura că toate produsele se află la fundul tuburilor.
- Se poate observa o eventuală diafonie în canalele goale ale sistemului BD MAX™ System dacă nu există o țintă de detectat, așadar este necesar să se selecteze doar canalele în care acestea sunt amplificate atunci când se efectuează interpretarea rezultatelor. Vă rugăm să contactați viasuresupport@certest.es pentru orice întrebări.
- Calitatea testului depinde de calitatea probei; acidul nucleic trebuie să fie extras în mod corespunzător din probele clinice.
- Acest test este un test calitativ și nu furnizează valori cantitative, nici nu indică numărul de organisme prezente. Nu este posibil să se coreleze valorile Ct obținute prin PCR cu concentrația probei, deoarece acestea depind de termociclatorul utilizat și de rulare în sine.
- Pot fi detectate nivele extrem de joase ale țintei, aflate sub limita de detectare, însă rezultatele ar putea să nu fie reproductibile.
- Țineți cont de intervalul de măsurare preconizat al testului, deoarece probele cu concentrații mai mari sau mai mici decât acest interval pot da rezultate eronate.
- Există o posibilitate de rezultate fals pozitive datorită contaminării încrucișate cu probele de *M. genitalium* rezistentă la macrolide și/sau *M. genitalium* sensibilă la probele conținând concentrații înalte de DNA țintă sau contaminării datorită produselor PCR de la reacțiile precedente.
- Rezultatele fals negative pot apărea datorită mai multor factori și combinațiilor dintre aceștia, incluzând:
 - Metode necorespunzătoare de recoltare, transport, depozitare și/sau manipulare a specimenelor.
 - Proceduri necorespunzătoare de procesare (inclusiv de extracție a DNA).
 - Degradarea DNA în cursul transportului/depozitării și/sau procesării probei.

- Mutațiile sau polimorfismele în regiunile de legare ale primerului sau sondei pot afecta detectarea tulpinilor noi sau necunoscute de *M. genitalium* sau a markerilor genetici de rezistență la macrolide și de sensibilitate la macrolide.
- O încărcare bacteriană a specimenului sub limita de detectare a testului.
- Prezența inhibitorilor qPCR sau a altor tipuri de substanțe interferente. Nu a fost evaluat impactul vaccinurilor, a unor agenți de terapie antivirală, antibioticelor, chimioterapeuticelor, medicamentelor imunosupresoare sau antifungice utilizate pentru prevenirea infecției sau utilizate în cursul tratamentului acesteia.
- Efectul substanțelor interferente a fost evaluat numai pentru cele indicate în secțiunea 12.5.1 (studiu al substanțelor interferente) din prezenta instrucțiune de utilizare. Consultați această secțiune pentru a verifica cele mai frecvente substanțe endogene și exogene care induc o interferență totală sau parțială a reacției qPCR. Alte substanțe care nu sunt indicate în această parte ar putea conduce la rezultate eronate.
- Nerespectarea instrucțiunilor de utilizare și a procedurii de testare.
- Kitul detectează următoarele mutații asociate cu rezistența la macrolide: Gena *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Dispozitivul nu poate detecta tulpina de *M. genitalium* rezistentă la macrolide care conține mutația A2059T, care este mai puțin prevalentă. Doar în acest caz, este posibil să se observe amplificarea în canalul ROX (detectarea de *M. genitalium*) și nu în canalele FAM și HEX (detectarea rezistenței la macrolide și, respectiv, a sensibilității la macrolide).
- Un rezultat pozitiv al testului nu indică neapărat prezența unor microorganisme viabile și nu înseamnă că aceste microorganisme sunt infecțioase sau sunt agenții cauzatori pentru simptome clinice. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv indică prezența secvențelor țintă de *M. genitalium* rezistentă la macrolide și *M. genitalium* sensibilă la macrolide.
- Rezultatele negative nu exclud prezența de DNA de *M. genitalium* rezistentă la macrolide și/sau sensibilă la macrolide în specimenul clinic și nu trebuie utilizate ca unică bază pentru deciziile de tratament sau de gestionare a pacientului. Tipurile optime de specimen și reperle de timp pentru nivelurile microbiene maxime în cursul infecției cauzate de *M. genitalium* nu au fost determinate. Poate fi necesară recoltarea de specimene multiple (ca tipuri și repere de timp) de la același pacient, pentru a detecta agentul patogen.
- Dacă testele de diagnostic pentru alte boli cu transmitere sexuală (BTS) și/sau rezistență antimicrobiană sunt negative și observațiile clinice, antecedentele pacientului și informațiile epidemiologice sugerează că este posibilă infecția cu *M. genitalium*, atunci trebuie luat în considerare un rezultat fals negativ și trebuie discutată testarea repetată a pacientului.
- Valorile de fluorescență pot varia din cauza mai multor factori, cum ar fi: Echipamentul PCR (chiar fiind același model), sistemul de extracție, tipul de probă, tratamentul anterior al probei, etc., printre altele.

- Valorile predictiv pozitive și negative sunt extrem de dependente de prevalență în toate testele de diagnostic *in vitro*. Performanța VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System poate varia în funcție de prevalență și de populația testată.
- În cazul în care se obțin rezultate Nerezolvat, Nedeterminat sau Incomplet folosind VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System va fi necesară reluarea testării. Rezultatele Nerezolvat s-ar putea datora prezenței inhibitorilor în probă sau unei incorecte rehidratări a tubului cu amestec de reacție liofilizat. În cazul unei defecțiuni a instrumentului, vor fi obținute rezultatele Nedeterminat sau Incomplet.

11. Controlul de calitate

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System conține în fiecare tub de reacție un control intern endogen (EIC), care confirmă aplicarea corectă a tehnicii. În plus, utilizarea controalelor externe (EPC și ENC) permite confirmarea performanței testului. Controalele externe nu sunt utilizate de sistemul BD MAX™ System în scopul interpretării rezultatelor, ci sunt considerate ca o probă. Controlul pozitiv extern (EPC) este destinat să monitorizeze o eventuală defecțiune a reactivilor de testare, în timp ce controlul negativ extern (ENC) este destinat să detecteze contaminarea mediului sau a reactivilor de către acizii nucleici țintă.

12. Caracteristici de performanță analitică

12.1. Linearitate analitică

Linearitatea testului a fost determinată și confirmată testând o serie de diluții de zece ori de matrice vaginală, specimene de urină de la femei și bărbați conținând o concentrație cunoscută de DNA specific și sintetic aparținând *M. genitalium* sensibilă la macrolide sau rezistentă la macrolide (variind de la 2E+07 la 2E+00 copii/μL). Media aritmetică, abaterea standard și coeficientul de variație ale valorilor Ct, precum și eficiența și coeficientul de regresie al reacției PCR au fost calculate și mai jos sunt incluse exemple de grafic de amplificare rezultat în urma testului efectuat pe una dintre matricele evaluate.

Figura 2. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic (2E+07 până la 2E+00 copii/μL) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (tip sălbatic) + gena *adezină MgPA*) sensibilă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 530/565 [HEX]).

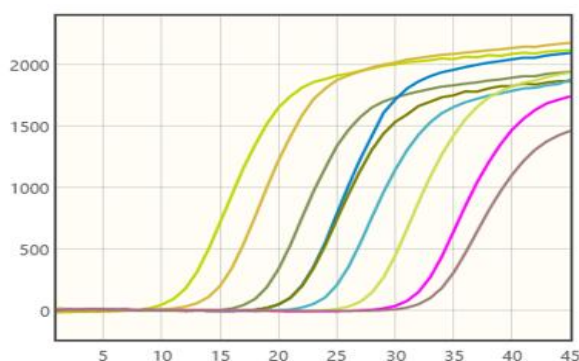


Figura 3. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic ($2E+07$ până la $2E+00$ copii/ μL) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (mutație A2058C) + gena *adezină MgPA*) rezistentă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

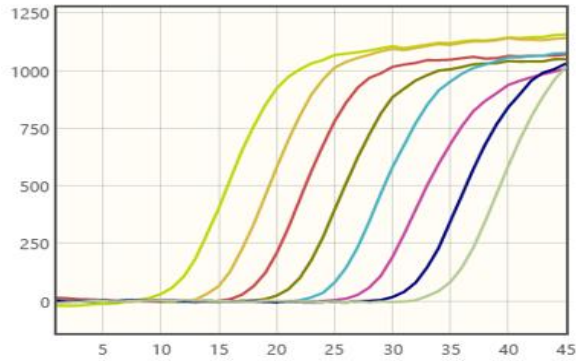


Figura 4. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic ($2E+07$ până la $2E+00$ copii/ μL) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (mutație A2058G) + gena *adezină MgPA*) rezistentă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

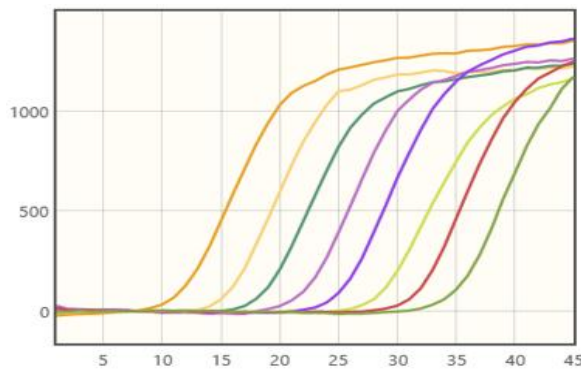


Figura 5. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic ($2E+07$ până la $2E+00$ copii/ μL) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (mutație A2058T) + gena *adezină MgPA*) rezistentă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

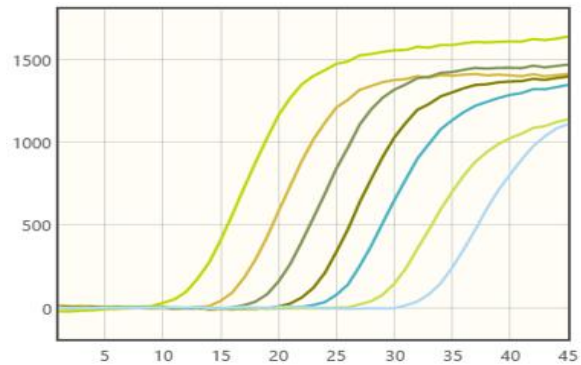


Figura 6. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic ($2E+07$ până la $2E+00$ copii/ μL) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (mutație A2059C) + gena *adezină MgPA*) rezistentă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

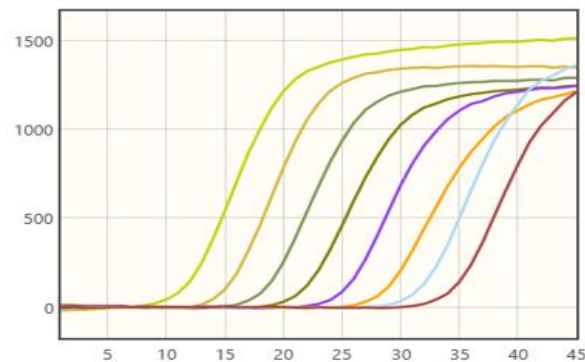
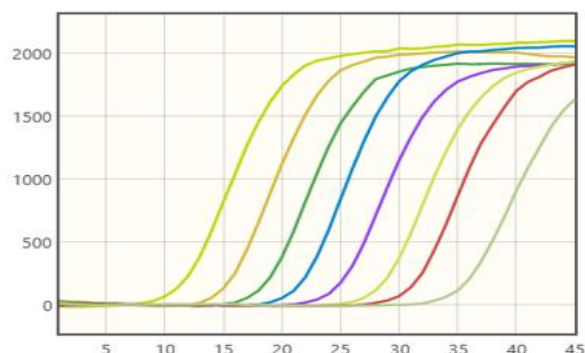


Figura 7. Serii de diluție ale modelului de DNA sintetic ($2E+07$ până la $2E+00$ copii/ μ L) de *M. genitalium* (gena *23S rRNA* (mutație A2059G) + gena *adezină MgPA*) rezistentă la macrolide rulată pe BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).



12.2. Sensibilitate analitică. Limita de detecție (LoD)

Sensibilitatea analitică sau limita de detecție (LoD) a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost analizată cu trei loturi folosind matrice vaginală, specimene de urină de la femei și bărbați. Tulpinile de referință sau DNA sintetic (în cazul în care nu este disponibilă nicio tulpină) utilizate sunt detaliate în tabelul de mai jos:

	Țintă	Tulpină/DNA sintetic	Referință externă
Sensibilitate la macrolide + <i>Mycoplasma genitalium</i>	Gena <i>23S rRNA</i> (tip sălbatic) + gena <i>adezină MgPA</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> tulpina M30	49895™
Rezistență la macrolide + <i>Mycoplasma genitalium</i>	Gena <i>23S rRNA</i> (mutația A2058C) + gena <i>adezină MgPA</i>	DNA sintetic (MGRXPC)	N/A
	Gena <i>23S rRNA</i> (mutația A2058G) + gena <i>adezină MgPA</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029
	Gena <i>23S rRNA</i> (mutația A2058T) + gena <i>adezină MgPA</i>	DNA sintetic (MGRXPC)	N/A
	Gena <i>23S rRNA</i> (mutația A2059C) + gena <i>adezină MgPA</i>	DNA sintetic (MGRXPC)	N/A
	Gena <i>23S rRNA</i> (mutația A2059G) + gena <i>adezină MgPA</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029

Tabelul 19. Tulpini de referință și DNA sintetic utilizate pentru testul limitei de detecție.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a prezentat limitele de detecție indicate în tabelul de mai jos, cu o rată de pozitivare $\geq 95\%$.

Limita de detecție (LoD) (copii/μL)						
Matrice	<i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide	<i>M. genitalium</i> (A2059G) rezistentă la macrolide	<i>M. genitalium</i> (A2058G) rezistentă la macrolide	<i>M. genitalium</i> (A2058C) rezistentă la macrolide	<i>M. genitalium</i> (A2058T) rezistentă la macrolide	<i>M. genitalium</i> (A2059C) rezistentă la macrolide
Urină de la femei	3.33E-02	3.00E+00	9.99E-01	6.00E+00	6.00E+00	2.00E+00
Urină de la bărbați	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

Tabelul 20. Limita de detecție a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Prin urmare, rezultatele obținute arată că sensibilitatea dispozitivului VIASURE este constantă și fiabilă între loturile de producție.

12.3. Intervalul de măsurare

Intervalul de măsurare al testului a fost determinat prin testarea unei serii de diluții de zece ori conținând o concentrație cunoscută de DNA specific și sintetic aparținând *M. genitalium* sensibilă la macrolide și *M. genitalium* rezistentă la macrolide. Rezultatele au permis confirmarea detectării corecte a țintelor la intervalul de măsurare indicat în tabelul de mai jos:

Țintă	Interval de măsurare (copii/μL)					
	Matrice de urină de la femei		Matrice de urină de la bărbați		Matrice vaginală	
<i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> (A2059G) rezistentă la macrolide	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> (A2058G) rezistentă la macrolide	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> (A2058C) rezistentă la macrolide	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> (A2058T) rezistentă la macrolide	2E+07	2E+00	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01
<i>M. genitalium</i> (A2059C) rezistentă la macrolide	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00

Tabelul 21. Intervalul de măsurare al VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

În concluzie, intervalul de măsurare al VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost determinat cu succes conform criteriilor de acceptare a validării enunțate inițial, asigurând rezultate fiabile, precise și reproductibile pe un spectru larg de încărcături bacteriene, confirmându-i utilitatea în diverse scenarii de diagnostic clinic.

12.4. Acuratețe

12.4.1. Fidelitate

Fidelitatea VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost evaluată prin testarea materialului de referință enumerat mai jos.

1. Fragmente de cDNA sintetic

- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (tip sălbatic) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* sensibilă la macrolide: MGRXPC, canale HEX și ROX.
- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (mutația A2058C) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* rezistentă la macrolide: MGRXPC, canale FAM și ROX.
- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (mutația A2058G) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* rezistentă la macrolide: MGRXPC, canale FAM și ROX.
- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (mutația A2058T) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* rezistentă la macrolide: MGRXPC, canale FAM și ROX.
- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (mutația A2059C) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* rezistentă la macrolide: MGRXPC, canale FAM și ROX.
- Fragment de cDNA sintetic pentru genele *23S rRNA* (mutația A2059G) și *adezină MgPA* ale *M. genitalium* rezistentă la macrolide: MGRXPC, canale FAM și ROX.

2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate
49895	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina M30
33530	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina G37
49898	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina TW48-5G
49123	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina TW10-5G
49899	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina UMTB-10G
49896	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina TW10-6G
49897	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Tulpina R32G [R32]

Tabelul 22. Material de referință de la Colecția americană de culturi de tip (ATCC).

3. Controale

Referință externă	Microorganism	Nume produs	Varietate
MBTC029	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	- Tulpină de tip sensibil - Mutatie A2059G în gena <i>23 rRNA</i> - Mutatie A2058G în gena <i>23 rRNA</i>

Tabelul 23. Material de control de la Vircell S.L.

4. Programe de evaluare externă a calității (EQA)

Referință externă	Origine	Microorganism	Nume produs	Varietate
MG23S-03	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> G37 (WT)	Tulpina G37
MG23S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	23S rDNA mutație A2059G, rezistentă la macrolide
MG23S-07	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	23S rDNA mutație A2059G, rezistentă la macrolide
MG101S-04	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	Rezistentă la macrolide
MG101S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	Rezistentă la macrolide

Tabelul 24. Material de referință de la programe de evaluare externă a calității (EQA).

12.4.2. Precizie

Pentru a determina precizia VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System, au fost efectuate teste intra-test (repetabilitate), inter-test, între loturi, și între echipamente (reproductibilitate) folosind matrice vaginală, matrice de urină de la femei și bărbați îmbogățită cu o concentrație cunoscută a tulpinilor de referință: *Mycoplasma genitalium* tulpina M30 (Ref: 49895™) pentru *M. genitalium* sensibilă la macrolide și AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) pentru *M. genitalium* rezistentă la macrolide.

Intra-test

Intra-testul a fost testat prin analizarea a șase replici ale tuturor probelor în aceeași rulare, utilizând VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Tulpină <i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urină de la bărbați	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,02	0,27	0,85
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,98	0,32	1,03
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,57	0,34	1,09
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,72	0,26	0,86
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,38	0,80	2,32
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,05	0,53	1,55
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	35,23	1,20	3,41

Urină de la femei	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,02	0,83	2,44
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,50	0,67	2,01
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	33,65	0,28	0,84
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,05	0,54	1,64
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,75	0,50	1,53
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,22	0,37	1,12
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	32,97	0,23	0,71
Vaginal	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,48	0,29	0,88
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,90	0,71	2,30
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,32	0,44	1,41
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,10	0,66	2,19
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,47	1,50
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,61	1,97
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	31,23	0,25	0,80

Tabelul 25. Rezultate intra-test ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* sensibilă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,17	0,62	1,70
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,05	0,63	1,81
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	35,00	0,99	2,84
		5xLoD	585/630 (ROX)	34,08	0,50	1,48
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,58	1,24	3,80
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,12	0,39	1,22
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,28	0,66	1,99
Urină de la femei	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,72	0,51	1,52
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,30	0,37	1,12
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,67	0,48	1,48
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,62	0,27	0,86
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,45	0,29	0,92
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,73	0,56	1,83
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,45	0,44	1,27
Vaginal	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,33	1,34	3,90
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,75	0,27	0,79
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,55	1,15	3,52
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,02	0,34	1,07
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,13	0,73	2,28
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,72	2,29
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,15	0,50	1,46

Tabelul 26. Rezultate intra-test ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* rezistentă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Inter-test

Intra-testul a fost testat prin analizarea a patru replici de diferite probe în trei zile diferite de către trei operatori diferiți, utilizând VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Tulpină <i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,48	0,85	2,46
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,66	0,75	2,22
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,05	0,60	1,75
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,38	0,56	1,68
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,06	1,65	4,85
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,04	1,85	5,44
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,10	1,74	5,09
Urină de la femei	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,36	1,80	5,24
		5xLoD	530/565 (HEX)	34,01	1,84	5,42
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,56	1,84	5,33
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,78	1,33	3,94
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,81	1,75	5,18
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,29	0,98	2,94
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,04	1,39	4,10
Vaginal	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	33,06	0,90	2,73
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,90	0,68	2,13
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,04	0,89	2,77
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,98	0,69	2,24
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,21	0,51	1,62
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,03	0,55	1,76
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	30,84	0,77	2,49

Tabelul 27. Rezultate inter-test ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* sensibilă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	35,98	1,00	2,78
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,31	0,90	2,56
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,61	1,08	3,12
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,52	0,59	1,76
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,10	0,76	2,30
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,54	0,74	2,27
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,65	1,30	3,74
Urină de la femei	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,08	1,28	3,87
		5xLoD	475/520 (FAM)	31,98	0,79	2,48
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,92	1,01	3,15
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,91	0,70	2,27
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,15	0,43	1,40
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,14	0,54	1,78
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,54	1,09	3,25
Vaginal	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,72	1,34	3,87
		5xLoD	475/520 (FAM)	34,22	1,27	3,71
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,52	1,16	3,57
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,36	1,33	4,11
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,61	0,44	1,42
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,59	0,64	2,08
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	30,98	0,55	1,78

Tabelul 28. Rezultate inter-test ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* rezistentă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Între loturi

Valorile între loturi au fost determinate cu șase replici ale diferitelor probe utilizând trei loturi de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Tulpină <i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,77	0,89	2,71
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,46	0,57	1,81
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,70	0,47	1,48
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,52	0,50	1,64
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A

Urină de la femei	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,74	0,67	1,92	
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,96	1,48	4,22	
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	35,44	1,01	2,85	
	Urină de la femei	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,72	0,81	2,34
			5xLoD	530/565 (HEX)	33,39	0,77	2,39
			Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
		<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,24	1,19	3,46
			5xLoD	585/630 (ROX)	32,96	0,77	2,32
			Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
EIC		3 x LoD	680/715 (CY5.5)	35,46	1,79	5,08	
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,58	1,15	3,32	
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,53	0,58	1,74	
Vaginal	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,62	0,98	3,11	
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,88	0,83	2,67	
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A	
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,02	0,94	3,03	
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,37	0,73	2,40	
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A	
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,29	0,46	1,47	
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,26	0,38	1,23	
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	31,06	0,39	1,27	

Tablelul 29. Rezultate între loturi ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* sensibilă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,46	1	2,73
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,47	0,76	2,14
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,68	0,76	2,20
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,85	0,63	1,86
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,57	1,25	3,73
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,55	0,61	1,88
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	32,49	0,73	2,24
Urină de la femei	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	32,81	0,96	2,93
		5xLoD	475/520 (FAM)	32,38	0,84	2,59
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,27	1,15	3,68
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,57	0,92	3,02
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	30,25	0,91	3,02
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,13	0,58	1,92
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,51	1,02	3,06
Vaginal	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,34	1,39	4,05
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,96	0,62	1,82
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,66	1,26	3,85
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,23	0,51	1,60
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,43	0,75	2,40
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,76	0,58	1,87
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	32,24	1,44	4,46

Tabelul 30. Rezultate între loturi ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* rezistentă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Între echipamente

Valorile între echipamente au fost determinate cu șase replici ale aceluiași probe utilizate pentru intra-test, inter-test și între loturi, utilizând VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Aceste teste au fost rulate la trei centre de laborator cu trei sisteme BD MAX™ System diferite. În tabelul de mai jos este prezentat un rezumat al rezultatelor.

Tulpină <i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	31,96	0,43	1,35
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,00	0,40	1,30
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,78	0,56	1,75
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,88	0,9	0,94
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	34,48	0,87	2,53
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,51	0,87	2,51
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	32,46	0,62	1,92
Urină de la femei	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	34,31	0,97	2,81
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,72	0,52	1,54
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	33,85	0,80	2,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,38	0,63	1,88
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	33,16	0,56	1,69
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,06	0,44	1,32
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,08	0,62	1,87
Vaginal	Sensibilă la macrolide	3 x LoD	530/565 (HEX)	32,55	0,81	2,48
		5xLoD	530/565 (HEX)	32,57	0,52	1,60
		Control negativ	530/565 (HEX)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	31,42	0,88	2,81
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,54	0,44	1,40
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A

Tulpină <i>M. genitalium</i> sensibilă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,33	1,07
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,58	0,56	1,68
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	30,84	0,50	1,61

Tabelul 31. Rezultate între echipamente ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* sensibilă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

Tulpină <i>M. genitalium</i> rezistentă la macrolide						
Matrice	Țintă	Probă	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV%
Urină de la bărbați	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	36,58	1,31	3,58
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,13	0,53	1,51
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	34,81	0,86	2,46
		5xLoD	585/630 (ROX)	34,00	0,44	1,30
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	32,29	0,90	2,79
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,88	0,67	2,11
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	32,89	0,77	2,34
Urină de la femei	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	33,67	0,43	1,28
		5xLoD	475/520 (FAM)	32,85	0,64	1,96
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,46	0,44	1,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,44	0,42	1,34
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,40	0,26	0,82
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,66	0,43	1,41
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	34,59	0,65	1,87
Vaginal	Rezistentă la macrolide	3 x LoD	475/520 (FAM)	34,47	0,89	2,59
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,46	0,61	1,84
		Control negativ	475/520 (FAM)	Neg	N/A	N/A
	<i>M. genitalium</i>	3 x LoD	585/630 (ROX)	32,75	0,77	2,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,77	0,63	1,97
		Control negativ	585/630 (ROX)	Neg	N/A	N/A
	EIC	3 x LoD	680/715 (CY5.5)	31,87	0,57	1,78
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,27	0,59	1,88
		Control negativ	680/715 (CY5.5)	33,72	0,54	1,61

Tabelul 32. Rezultate între echipamente ale VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System cu tulpină *M. genitalium* rezistentă la macrolide. (Ct) = ciclul de prag. (\bar{x}) = media aritmetică a valorii Ct, (σ) = abaterea standard, (CV %) = coeficientul de variație, Neg = negativ, N/A = nu se aplică.

În concluzie, studiul de precizie a confirmat performanța fiabilă și consistența tuturor matricilor testate, respectând criteriile de validare a acceptării stabilite inițial.

12.5. Specificitate analitică și reactivitate

Specificitatea analitică și reactivitatea analitică au fost evaluate pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System *in silico* și experimental, utilizând diferite materiale de pornire, cum ar fi tulpini de referință certificate, acizi RNA/DNA de referință certificați și material din programele EQA.

12.5.1. Specificitate analitică

Specificitatea analitică este capacitatea testului de a detecta ținta dorită. Există două componente care trebuie luate în considerare pentru specificitatea analitică: Reactivitate încrucișată și interferență. Reactivitatea încrucișată poate apărea atunci când sunt prezente secvențe înrudite genetic într-un specimen de la un pacient, în timp ce interferența poate apărea dacă prezența unor substanțe specifice potențial prezente în matricele de probă afectează performanța qPCR.

Reactivitate încrucișată, analiză *in silico*

Reactivitatea încrucișată a fost evaluată utilizând secvențele de referință ale agenților patogeni de la NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) și/sau instrumente de căutare și/sau de aliniere precum BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) și un software intern de analiză bioinformatică. S-au efectuat analize BLAST pentru fiecare primer și sondă în baza de date de nucleotide NCBI Genbank Nucleotide Database și o analiză bioinformatică internă.

Se consideră puțin probabil ca secvențele aliniat cu un procent de aliniere mai mic de 80 % de omologie să fie detectate. Rezultatele obținute au fost următoarele:

Mycoplasma genitalium (gena *adezină MgPA*)

Toate secvențele analizate au fost sub 80 % de omologie cu setul de primeri și sonde pentru *Mycoplasma genitalium* (gena *adezină MgPA*) .

Prin urmare, modelele de ținte VIASURE *Mycoplasma genitalium* nu ar trebui să producă rezultate fals pozitive în detectarea de *Mycoplasma genitalium* atunci când sunt prezente alte organisme.

Mycoplasma genitalium (gena *23S rRNA*)

Analiza BLAST filtrată în funcție de gena *23S rRNA* a *M. genitalium* (excluzând *M. genitalium*) arată o omologie înaltă între primeri și sonde și mai multe secvențe de „*Uncultured Mycoplasma sp.* (ID taxonomie: 167967)” și o secvență de „*Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (ID taxonomie: 488339)”.

„*Uncultured Mycoplasma sp.* (ID taxonomie: 167967)” sunt detectate cu primerii și sondele de *M. genitalium* rezistentă la macrolide și sensibilă la macrolide, prin urmare, nu există riscul de reactivitate încrucișată la produs, deoarece pentru a da o probă ca pozitivă, este necesară detectarea în canal a microorganismului (*M. genitalium*) și în canalul de rezistență la macrolide sau sensibilitate la macrolide.

„*Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (ID taxonomie: 488339)” este detectată cu primerii și sonda sensibilă la macrolide. Este o secvență corespunzătoare microorganismului țintă și trebuie detectată. Această secvență apare în reactivitatea încrucișată, deoarece are un ID de taxonomie diferit de cel utilizat în excludere.

Prin urmare, niciuna dintre secvențele analizate, inclusiv cele care prezintă o omologie mai mare de 80 %, nu poate afecta detectarea corectă a *Mycoplasma genitalium* (gena *23S rRNA*).

Specificitate analitică: testare experimentală

Reactivitate încrucișată, testare experimentală

Reactivitatea încrucișată a VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™* System a fost confirmată prin testarea unui panel de diferite microorganisme asociate cu simptomele infecțiilor cu transmitere sexuală sau microorganisme relevante din punct de vedere ambiental și filogenetic. Atunci când a fost posibil și au fost disponibile date privind concentrația, microorganismele interferente au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC (unități formatoare de colonie)/mL pentru bacterii și 1E+04 – 1E+05 UFP (unități formatoare de placă)/mL pentru viruși). Nu a fost detectată nicio reactivitate încrucișată între oricare dintre următoarele microorganisme testate, cu excepția microorganismelor țintă.

Testarea reactivității încrucișate					
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> tulpina TW48-5G	-/+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> tulpina UMTB-10G	-/+
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes simplex virus 2	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. tulpina TW10-5G	-/+
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Human Herpesvirus 1, tulpina 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> tulpina G37	-/+	<i>Treponema pallidum</i>	-
<i>Enterococcus faecium</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> tulpina R32G [R32]	-/+	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-

Testarea reactivității încrucișate					
<i>Escherichia coli</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> tulpina TW10-6G	-/+	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	-				

Tabelul 33. Microorganisme de referință incluse în testul de reactivitate încrucișată. Rezultatul +/- se referă la rezultatul pozitiv sau negativ obținut în diferitele canale, în funcție de ținta detectată. În cazul în care un microorganism testat este una dintre țintele detectate de dispozitiv, se obține un rezultat pozitiv în canalul corespunzător, dar se obțin rezultate negative în celelalte canale.

În concluzie, rezultatele testelor de reactivitate încrucișată au îndeplinit criteriile de validare a acceptării și indică o specificitate ridicată a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System pentru detectarea de *M. genitalium* rezistentă la macrolide și de *M. genitalium* sensibilă la macrolide, reducând astfel la minimum riscul de rezultate fals pozitive. Deoarece nu au fost observate amplificări nespecifice cu alte microorganisme înrudite, aceasta sugerează că dispozitivul este capabil să distingă cu acuratețe țintele.

Studiu al agenților microbieni interferenți

A fost efectuat un studiu al agenților microbieni interferenți pentru a analiza potențialii agenți microbieni interferenți pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Un panel de microorganisme diferite, relevante din punct de vedere clinic, de mediu și filogenetic, a fost testat în prezența tulpinilor de referință: *Mycoplasma genitalium* tulpina M30 (Ref: 49895™) pentru *M. genitalium* sensibilă la macrolide și AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) pentru *M. genitalium* rezistentă la macrolide. Atunci când a fost posibil și au fost disponibile date privind concentrația, microorganismele interferente au fost evaluate la niveluri relevante din punct de vedere medical (de obicei 1E+05 – 1E+06 UFC (unități formatoare de colonie)/mL pentru bacterii și 1E+04 – 1E+05 UFP (unități formatoare de placă)/mL pentru viruși). Fiecare analiză punctuală a fost efectuată o dată per probă.

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei vaginale, matricei de urină de la femei și bărbați îmbogățite cu tulpini specifice de *M. genitalium* sensibile la macrolide și rezistente la macrolide fără niciun agent microbial interferent, în timp ce NMC corespunde matricei negative fără niciun agent microbial interferent.

Nume microorganism	Concentrația testată	Rezultat
PMC	-	N/A
NMC	-	N/A
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8,10E+05 UFC/mL	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4,40E+01 UFC/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+02 UFC/uL	N.I
Herpes simplex virus 1	1,60E+05 TCID50/mL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,80E+06 UFC/mL	N.I

<i>Mycoplasma hominis</i>	4,70E+06 UFC/mL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,09E+05 UFC/mL	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+05 UFC/mL	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+01 UFC/uL	N.I
<i>Treponema pallidum</i>	3,40E+04 celule/mL	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7,60E+03 copii/uL	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 UFC/uL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+04 UFC/uL	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 UFC/uL	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	2,88E+03 UFC/uL	N.I
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovars E	6,40E+05 IFU/mL	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 UFC/uL	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,00E+04 UFC/mL	N.I
<i>Enterococcus faecium</i>	3,50E+04 UFC/mL	N.I
Herpes simplex virus 2	7,24E+03 TCID50/mL	N.I
Human papillomavirus 16	1,00E+02 UI/uL	N.I
Human papillomavirus 18	1,00E+02 UI/uL	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+03 UFC/uL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	N/A	N.I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 UFC/uL	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 UFC/uL	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+03 UFC/uL	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	N/A	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 UFC/uL	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 UFC/uL	N.I

Tabelul 34. Testul agenților microbieni interferenți. N.I. = fără interferențe, N/A = nu se aplică.

În concluzie, nu s-au observat interferențe în detectarea de RNA de *M. genitalium* sensibilă la macrolide și/sau rezistentă la macrolide în matrice vaginală, urină de la femei și bărbați cu oricare dintre microorganismele testate.

Studiul substanțelor interferente

A fost efectuat un studiu al substanțelor de interferență pentru a testa efectul de interferență potențial al substanțelor endogene și exogene asupra VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. În total, 17, 25 și 28 de substanțe potențial interferente au fost adăugate la matricea negativă de tampon vaginal, de urină de la bărbați și urină de la femei, respectiv, îmbogățite cu tulpinile de referință: *Mycoplasma genitalium* tulpina M30 (Ref: 49895™) pentru *M. genitalium* sensibilă la macrolide și AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Ref: MBTC029) pentru *M. genitalium* rezistentă la macrolide și evaluate cu șase replici.

Controlul pozitiv al matricei (Positive Matrix Control, PMC) și controlul negativ al matricei (Negative Matrix Control, NMC) sunt incluse ca controale ale testului. PMC corespunde matricei vaginale colectate în Copan eSwab®, matricei de urină de la femei și bărbați îmbogățite cu tulpini specifice de *M. genitalium* sensibile la macrolide și rezistente la macrolide fără substanță interferentă, în timp ce NMC corespunde matricei negative fără substanță interferentă nici microorganisme/material de referință adăugate/adăugat. S-au obținut următoarele rezultate:

Matrice vaginală		
Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
PMC	-	N/A
NMC	-	N/A
Aciclovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Clotrimazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Nitrat de miconazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Gel contraceptiv Conceptrol (nonoxinol-9)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Tioconazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Leucocite/monocite	2,00E+06 celule/mL	N.I.
Premeno Duo (acid hialuronic și acid lactic)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Deodorant feminin spray	5,00E+01 μl/mL	N.I.
Lubrifiant vaginal lichid – pe bază de apă Durex Frescor	5,00E+01 μl/mL	N.I.
Lubrifiant vaginal – pe bază de ulei SOIVRE Intim Oil	5,00E+01 μl/mL	N.I.
Cremă vaginală DermoVagisil	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Gel antihemoroidal Preparation H HEMOAL	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Estradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Progesteron	6,00E+00 ng/mL	N.I.
Spermă	5 %	N.I.
Sânge integral	1 %	N.I.

Tabelul 35. Substanțe cu potențial de interferență în matrice vaginală. N.I.: Nicio interferență raportabilă/ I: Interferă, N/A = nu se aplică.

Urină de la bărbați		
Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
PMC	-	N/A
NMC	-	N/A
Ibuprofen	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxen	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicilină	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azitromicină	1,10E-02 mg/mL	N.I.

Ceftriaxonă	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Eritromicină	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfametoxazol	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Clorhidrat de tetraciclină	2,40E-02 µg/mL	N.I.
Trimetoprim	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumină	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubină	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucoză (Dextroză)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leucocite/monocite	2,00E+06 celule/mL	N.I.
pH scăzut (HCl)	N/A	N.I.
pH ridicat (NaOH)	N/A	N.I.
Spermă	5 %	N.I.
Uree	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Acid uric	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Sânge integral	1 %	I.*
	0,25 %	N.I.
	0,125 %	N.I.
Antocianii din Vaccinium macrocarpon	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-acetamidofenol	1,56E-01 mg/mL	N.I.
Clorhidrat de fenazopiridină	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Acid salicilic	1,50E-01 mg/mL	N.I.

Tabelul 36. Substanțe cu potențial de interferență în matrice de urină de la bărbați. N.I: Nicio interferență raportabilă/I: Interferă, N/A = nu se aplică.

* Inhibarea observată doar pentru ținta *Mycoplasma genitalium* rezistentă la macrolide.

Matrice de urină de la femei		
Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
PMC	-	N/A
NMC	-	N/A
Ibuprofen	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxen	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicilină	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azitromicină	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Ceftriaxonă	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Eritromicină	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Metronidazol	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfametoxazol	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Clorhidrat de tetraciclină	2,40E-02 µg/mL	N.I.

Matrice de urină de la femei		
Denumire substanță	Concentrația testată	Rezultat
Trimetoprim	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumină	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubină	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucoză (Dextroză)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leucocite/monocite	2,00E+06 celule/mL	N.I.
pH scăzut (HCl) 4	N/A	I.*
pH scăzut (HCl) 5	N/A	I.*
pH scăzut (HCl) 6	N/A	N.I.
pH ridicat (NaOH)	N/A	N.I.
Spermă	5 %	N.I.
Uree	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Acid uric	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Sânge integral	1 %	N.I.
Antocianii din Vaccinium macrocarpon	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-acetamidofenol	1,56E-01 mg/mL	I.*
	3,90E-02 mg/mL	N.I.
	9,75E-03 mg/mL	N.I.
Clorhidrat de fenazopiridină	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Acid salicilic	1,50E-01 mg/mL	N.I.
17- α -etinilestradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Noretindronă	1,60E+01 ng/mL	N.I.
Deodorant feminin spray	5,00E+01 µL/mL	N.I.

Tabelul 37. Substanțe cu potențial de interferență în matrice de urină de la femei. N.I.: Nicio interferență raportabilă/ I: Interferă, N/A = nu se aplică.

* Inhibarea observată doar pentru ținta *Mycoplasma genitalium* sensibilă la macrolide.

În concluzie, diferite substanțe cu potențial de interferență, atât endogene, cât și exogene, au fost testate pe VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Rezultatele obținute conduc la concluzia că, la concentrațiile testate, nu se observă nicio interferență a vreunei substanțe evaluate.

12.5.2. Reactivitate analitică

Reactivitatea analitică poate fi definită ca procentul de tulpini microbiene țintă sau de probe de DNA/RNA care dau rezultatul pozitiv corect. Reactivitatea analitică a fost studiată in silico și prin testări experimentale.

Reactivitate analitică: analiză *in silico*

Reactivitatea analitică a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost evaluată utilizând baze de date de secvențe de nucleotide disponibile public, precum NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) și un software intern de analiză bioinformatică, pentru a demonstra că genele țintă pot fi detectate corect de către dispozitivul studiat. Analiza *in silico* a designului primerilor și al sondei a fost efectuată prin aliniere față de un total de 2 399 de secvențe analizate (secvențe descărcate din baza de date cu duplicate eliminate). Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul de mai jos:

<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Genă	Secvențe aliniate: 486				
	Fără nepotriviri	Cu nepotriviri	Secvențe cu detectare confirmată	Secvențe fără detectare	Secvențe cu detectare necunoscută
<i>Adezină MgPA</i>	74,07 %	25,93 %	74,07 %	0 %	25,93 %*
<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Genă	Secvențe aliniate: 17				
	Fără nepotriviri	Cu nepotriviri	Secvențe cu detectare confirmată	Secvențe fără detectare	Secvențe cu detectare necunoscută
<i>23S RNA</i>	82,35 %	17,65 %	100 %	0 %	0 %

Tabelul 38. Test de reactivitate analitică *in silico*. „Secvențe aliniate” = numărul de secvențe aliniate fără sau cu nepotriviri din totalul secvențelor analizate, „Secvențe cu detectare confirmată” = secvențe fără nepotriviri sau analizate experimental, a căror detecție este garantată, „Secvențe fără detectare” = secvențe analizate anterior *in silico* a căror detectare experimentală nu poate fi garantată din cauza dovezilor experimentale negative anterioare, „Secvențe cu detectare necunoscută” = secvențe analizate anterior *in silico* a căror detectare experimentală nu poate fi garantată din lipsa dovezilor experimentale.

* Trebuie menționat că 20,78 % din totalul secvențelor aliniate (101/486) au prezentat nepotriviri necritice care sunt considerate a fi detectate.

În concluzie, analiza de inclusivitate a arătat o detectare corectă a genelor de *adezină MgPA* și *23S rRNA* ale *M. genitalium* cu VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Reactivitate analitică: testare experimentală

Reactivitatea analitică a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System pentru *Mycoplasma genitalium* a fost evaluată în raport cu DNA de la următoarele tulpini, prezentând rezultate pozitive:

- *Mycoplasma genitalium* tulpina G37 (cod ATCC: 33530)
- *Mycoplasma genitalium* tulpina TW48-5G (cod ATCC: 49898)
- *Mycoplasma genitalium* tulpina TW10-5G (cod ATCC: 49123)
- *Mycoplasma genitalium* tulpina UMTB-10G (cod ATCC: 49899)

- *Mycoplasma genitalium* tulpina TW10-6G (cod ATCC: 49896)
- *Mycoplasma genitalium* tulpina R32G [R32] (cod ATCC: 49897)

12.6. Trasabilitate metrologică

Acest test nu este conceput pentru măsurători.

13. Caracteristici de performanță clinică

Performanța clinică a VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a fost testată folosind probe vaginale și de urină. Rezultatele au fost următoarele:

	Centru	Tipul de probă	Flux de lucru	Țintă
1	Certest Biotec S.L. În colaborare cu Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Spania)	Tampoane vaginale	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>Mycoplasma genitalium</i> sensibilă la macrolide
				<i>Mycoplasma genitalium</i> rezistentă la macrolide
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, Spania) utilizând probe de la Cerba Xpert	Urină	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>Mycoplasma genitalium</i> sensibilă la macrolide
				<i>Mycoplasma genitalium</i> rezistentă la macrolide

Tabelul 39. Centrul, tipul de probă, fluxul de lucru și țintă.

Valorile adevărat pozitive și negative, valorile fals pozitive și negative, sensibilitatea, specificitatea, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System au fost calculate în raport cu fiecare test comparativ așa cum se arată în tabelul de mai jos:

Centru	Test comparativ	Țintă	TP	TN	FP	FN	Sensibilitate	Specificitate	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Allplex™ MG & AziR Assay (Seegene)	MG rezistentă la macrolide	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 sensibilă la macrolide	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 rezistentă la macrolide	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 sensibilă la macrolide	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)

Tabelul 40. Valorile adevărat pozitive (TP) și adevărat negative (TN), valorile fals pozitive (FP) și fals negative (FN), sensibilitatea, specificitatea, valorile predictiv pozitive (PPV), valorile predictiv negative (NPV) și raportul de probabilitate (LR) pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

În concluzie, rezultatele arată un grad înalt de acord pentru detectarea de *Mycoplasma genitalium* sensibilă la macrolide și rezistentă la macrolide utilizând VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System.

14. Rezumatul caracteristicilor de siguranță și performanță

Rezumatul caracteristicilor de siguranță și performanță pentru VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System poate fi descărcat de pe pagina web: certest.es/viasure/labeling. Acest rezumat va fi, de asemenea, disponibil pe site-ul web EUDAMED (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Bibliografie

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>

Simboluri pentru componentele și reactivii IVD

 Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	 A se păstra la loc uscat	 Data de expirare	 Producător	 Cod lot
 Consultați instrucțiunile de utilizare	 Limite de temperatură	 Conținut suficient pentru <n> teste	 Identificator unic al dispozitivului	 Număr de catalog
 Marcaj CE	 Păstrați departe de lumina soarelui			

Mărci comerciale

BD MAX™ este o marcă comercială înregistrată a Becton, Dickinson and Company.

Drepturile de modificare rezervate. Toate drepturile rezervate. © Certest Biotec, S.L.

Toate celelalte mărci comerciale care apar pe acest prospect sunt proprietatea respectivilor deținători.



Certest Biotec, S.L.

Po. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spania)

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

Informații privind sponsorul australian:

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.

Macquarie Park NSW 2113, Australia

Informații privind sponsorul din Noua Zeelandă:

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.

Mt. Wellington Auckland 1060, Noua Zeelandă

Controlul modificărilor		
Versiunea nr.	Modificări	Data
00	Versiunea originală. Această versiune este o traducere a documentului original în limba engleză: IUo-444224en0226.00	18.02.2026

Tabelul A2. Tabel de control al modificărilor.

Revizie: 18 februarie 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.