

Real Time PCR Detection Kit

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

Bruksanvisning

CE IVD  
2797

Denna bruksanvisning gäller för följande referenser:

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

Tabell A1. Referens för produkt som ska användas med BD MAX™ System.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Se **[certest.es/viasure/labeling](https://certest.es/viasure/labeling)** om ditt språk inte finns med i listan. Kontakta [viasure@certest.es](mailto:viasure@certest.es) om ditt språk inte finns med på webbplatsen.

*Obs: Användaren ska meddela tillverkaren och den behöriga myndigheten i användarens eller patientens medlemsstat i händelse av ett allvarligt tillbud kopplat till produkten.*

## Innehåll

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 1.      | Avsett ändamål.....   | 6  |
| 2.      | Sammanfattning och förklaring.....  | 6  |
| 3.      | Procedurprincip .....   | 8  |
| 4.      | Medföljande reagenser.....  | 9  |
| 5.      | Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren.....   | 9  |
| 6.      | Transport, förvaring och användningsförhållanden .....  | 10 |
| 7.      | Försiktighetsåtgärder för användare.....  | 10 |
| 8.      | Testprocedur .....  | 12 |
| 8.1.    | Insamling, transport och förvaring av prover .....  | 12 |
| 8.2.    | Provberedning och DNA-extraktion.....   | 13 |
| 8.3.    | PCR-protokoll.....  | 13 |
| 8.3.1.  | Skapa ett PCR-testprogram för VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System ..... | 13 |
| 8.3.2.  | Installation av BD MAX™-ställ.....  | 18 |
| 8.3.3.  | Inställning av BD MAX™-instrument .....   | 19 |
| 8.3.4.  | BD MAX™-resultatrapport .....   | 20 |
| 9.      | Resultattolkning .....  | 20 |
| 10.     | Testets begränsningar.....  | 24 |
| 11.     | Kvalitetskontroll.....  | 26 |
| 12.     | Egenskaper för analytisk prestanda .....  | 26 |
| 12.1.   | Analytisk linjäritet.....   | 26 |
| 12.2.   | Analytisk sensitivitet. Detektionsgräns (LoD) .....   | 28 |
| 12.3.   | Mätintervall.....   | 29 |
| 12.4.   | Noggrannhet .....   | 30 |
| 12.4.1. | Riktighet .....   | 30 |
| 12.4.2. | Precision.....  | 31 |
| 12.5.   | Analytisk specificitet och reaktivitet.....   | 38 |
| 12.5.1. | Analytisk specificitet.....   | 38 |

---

|   |    |
|---|----|
| 12.5.2. Analytisk reaktivitet .....               | 44 |
| 12.6. Metrologisk spårbarhet .....                | 45 |
| 13. Kliniska prestandaegenskaper .....            | 46 |
| 14. Sammanfattning av säkerhet och prestanda..... | 47 |
| Bibliografi .....                                 | 48 |
| Symboler för IVD-komponenter och reagenser .....  | 48 |
| Varumärken.....                                   | 48 |

## SVENSKA

---

### 1. Avsett ändamål

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System är ett automatiserat qPCR-test utformat för kvalitativ detektion av DNA från *Mycoplasma genitalium* och specifika punktmutationer (förändrade av basutbyten i *23S rRNA*) som är involverade i makrolidresistens i vaginala svabbprover och urinprover från män och kvinnor från patienter som av hälso- och sjukvårdspersonal misstänks ha *M. genitalium*-infektion. Detta test är avsett att användas som en hjälp för diagnostik av infektion med *M. genitalium* och detektion av potentiell resistens mot makrolider i kombination med patientens kliniska tecken och symtom och/eller epidemiologiska riskfaktorer. Positiva resultat indikerar att målnukleinsyra (NA) förekommer, men utesluter inte förekomst av NA från andra patogener som inte detekteras av testet. Negativa resultat utesluter inte förekomst av målnukleinsyra och ska inte användas som enda grund för beslut om behandling eller annan klinisk handläggning. Analysen använder BD MAX™ System för automatiserad extraktion av DNA och efterföljande qPCR med de medföljande reagenserna i kombination med universella reagenser och förbrukningsartiklar för BD MAX™ System. DNA extraheras från prover, amplifieras med hjälp av qPCR och detekteras med hjälp av specifika primrar och sonder med fluorescerande reporterfärg för *M. genitalium* och mutationer i *23S rRNA*-genen associerade med makrolidresistens.

Produkten är avsedd att användas av kvalificerad och utbildad klinisk laboratoriepersonal som specifikt har instruerats och utbildats i tekniker med realtids-PCR och diagnostiska *in vitro*-förfaranden (inklusive utbildning om realtids-PCR-instrument (termocykler) och system för nukleinsyraextraktion).

### 2. Sammanfattning och förklaring

Sexuellt överförbara infektioner (STI) är ett stort folkhälsoproblem världen över, som påverkar livskvaliteten och orsakar allvarlig morbiditet och mortalitet.

*Mycoplasma genitalium* (MG) är en vanlig orsak till icke-gonokock-uretrit (NGU) och icke-klamydiell uretrit hos män och cervicit hos kvinnor. Den rapporteras vara associerad med bäckeninflammation, infertilitet och för tidig förlösning (Baumann et al., 2018; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020). MG är en kolvformad organism med en något böjd terminal organell. Den kan orsaka inflammation i urogenitaltrakten genom att fästa vid värdens epitelceller, vilket utlöser akuta inflammatoriska signaler via högt uttryckta sensorer i det medfödda immunsystemet (Gnanadurai & Fifer, 2020). Denna mikroorganism är en långsamt växande organism och är den minsta kända prokaryoten som kan föröka sig självständigt. Under de senaste årtiondena har den uppmärksammats som ett sexuellt överfört smittämne på grund av sin förmåga att kolonisera reproduktionstrakten hos både män och kvinnor (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022).

Infektion med MG under graviditet har associerats med för tidig förlossning och kan även bidra till tidig graviditetsförlust samt neonatal infektion (Heavey, 2017). Den kan samexistera med *Chlamydia trachomatis* och andra sexuellt överförbara infektioner, vilket försvårar möjligheten att fastställa dess oberoende effekter (Heavey, 2017).

Makrolider är en läkemedelsklass som används vid behandling av olika bakteriella infektioner, såsom lunginflammation, bihåleinflammation, faryngit, tonsillit, okomplicerade hudinfektioner och mellanöreinflammation eller *Helicobacter pylori*-infektion. De används även ofta för att behandla sexuellt överförbara infektioner, såsom gonokock- och klamydiainfektioner (Patel & Hashmi, 2023). Verkningsmekanismen består i att substansen binder till bakteriens 50S-ribosomala subenhet, nära peptidyltransferascentrumet (region V), eller till resterna A2058 och A2059 (numrering enligt *Escherichia coli*) i 23S rRNA. Detta leder till att den bakteriella proteinsyntesen upphör (van der Schalk et al., 2020).

Det ökande problemet med makrolidresistens är mycket oroande, med rapporterade globala resistensfrekvenser som varierar mellan 30 % och 100 % (Gnanadurai & Fifer, 2020). Bakterier utvecklar främst resistens mot makrolider genom två mekanismer: singelnukleotidpolymorfismer (SNP) och metylering av rRNA. Eftersom MG saknar de nödvändiga enzymerna för metylering kan den dock endast utveckla resistens via målförändring genom SNP (van der Schalk et al., 2020). Resistens beror ofta på en enda basmutation vid position A2058 eller A2059 (numrering enligt *Escherichia coli*) i 23S rRNA, med minimal inverkan på bakteriell anpassning, vilket möjliggör fortsatt överföring (Gnanadurai & Fifer, 2020). Azitromycin är den vanligaste makroliden som används för att behandla infektioner med MG, även om josamycin och pristinamycin nu också rekommenderas (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020).

MG är svår att odla eftersom tillväxten kan ta flera veckor till månader, vilket gör standardiserad känslighetstestning opraktisk. Även om testning av antibiotikakänslighet med hjälp av MG-stammar odlade i Verocellkulturer har gett resultat som liknar traditionella buljongspädningsmetoder är detta tillvägagångssätt inte genomförbart för primär diagnostik eller vid de flesta referenslaboratorier (Gnanadurai & Fifer, 2020).

På grund av att MG saknar cellvägg kan den inte visualiseras i gramfärgade genitala sekret. Dessutom är serologiska tester baserade på antikroppar opålitliga på grund av korsreaktivitet med andra mykoplasmor, inklusive *Mycoplasma pneumoniae* (Gnanadurai & Fifer, 2020). Nukleinsyraförstärkningstester (NAAT), såsom polymeraskedjereaktion och transkriptionsmedierad amplifiering, ger dock korrekt detektion av MG (Baumann et al., 2018; Heavey, 2017; Jensen et al., 2022). NAAT kan utföras på olika typer av genitala prover, men vaginala svabbar hos kvinnor och förstaportionsurin hos män ger de bästa resultaten vid diagnostik av MG (Heavey, 2017). På grund av den höga förekomsten av antimikrobiell resistens rekommenderas samtidig testning för genotypisk resistens för att kunna vägleda val av lämplig behandling (Gnanadurai & Fifer, 2020).

### 3. Procedurprincip

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System är utformat för samtidig kvalitativ detektion och differentiering av DNA från *Mycoplasma genitalium* och specifika genetiska markörer associerade med makrolidresistens och -känslighet i vaginala svabbprover och urinprover från män och kvinnor. Efter DNA-isolering identifieras *M. genitalium* och genetiska markörer för makrolidresistens och -känslighet genom amplifiering av en specifik region av *MgPa adhesin*-genen hos *M. genitalium* och *23S rRNA*-genen, vars specifika punktmutationer är involverade i makrolidresistens och -känslighet, med hjälp av specifika primrar och fluorescerande märkta sonder. Testets målpopulation omfattar individer med tecken på eller misstanke om STI, sexuella partners till individer som diagnostiserats med *M. genitalium*-infektion samt högriskpopulationer, såsom män som har sex med män (MSM), individer med HIV och patienter som besöker mottagningar för sexuell hälsa.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System baseras på DNA-polymerasets 5'-exonukleasaktivitet. Under DNA-amplifieringen klyver detta enzym proben som är bunden till den komplementära DNA-sekvensen, vilket separerar quencher-färgen från rapportören. Denna reaktion genererar en ökning av fluorescenssignalen som är proportionell mot mängden av målmall. Denna fluorescens mäts på BD MAX™ System.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System innehåller i varje rör alla nödvändiga komponenter för en realtid-PCR-analys (specifika primrar/prober, dNTP:er, buffert, polymeras) i ett stabiliserat<sup>1</sup> format, samt en endogen intern kontroll (EIC) (humant *RNAase P*-gen) för att följa provets integritet, övervaka extraktionsprocessen och/eller utesluta hämning av polymerasaktiviteten. Humana housekeeping-gener deltar i cellens grundläggande funktioner och finns därför i alla kärnförsedda humanceller, med relativt stabila uttrycksnivåer.

| Mål                           | Kanal           | Gen                 |
|-------------------------------|-----------------|---------------------|
| Makrolidresistens             | 475/520 (FAM)   | <i>23S rRNA</i>     |
| Makrolidkänslighet            | 530/565 (HEX)   | <i>23S rRNA</i>     |
| <i>Mycoplasma genitalium</i>  | 585/630 (ROX)   | <i>MgPa adhesin</i> |
| Endogen intern kontroll (EIC) | 680/715 (Cy5.5) | <i>RNAase P</i>     |

Tabell 1. Mål, kanal och gener.

<sup>1</sup> Observera att termerna "stabiliserad" och "frystorkad" används utan åtskillnad och som synonymer i hela dokumentet.

## 4. Medföljande reagenser

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System omfattar följande material och reagenser som anges i Tabell 2:

| Reagens/material   | Beskrivning                            | Koncentrationsintervall | Kod      | Mängd                            |
|--|--|-------------------------|----------|----------------------------------|
| <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube | Lyoskyddsämnen och stabiliseringsämnen | ± 6 g/100 mL*           | 1F-folie | 2 påsar med 12 genomskinliga rör |
|  | Nukleotidtrifosfat (dNTP)              | ± 1 mM*                 |          |                                  |
|  | Primrar och prober                     | 0,2–1 nmol/μL*          |          |                                  |
|  | Enzymer                                | 10–100 U/reaktion*      |          |                                  |
| Rehydration Buffer tube  | Blandning med koksaltlösning           | ± 13 mM                 | 11-folie | 1 påse med 24 genomskinliga rör  |
|  | Buffert (TRIS, pH)                     | ± 67 mM                 |          |                                  |

Tabell 2. Reagenser och material som medföljer VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med kat. nr. 444224.

\*Koncentrationsintervallet avser efter rehydrering för komponent i stabiliserat format.

## 5. Reagenser och utrustning som ska tillhandahållas av användaren

Följande lista omfattar material som krävs för användning men som inte medföljer i VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

- Realtids-PCR-instrument: BD MAX™ System (ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (ref: 442827 eller 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (ref: 437519).
- Vortexblandare.
- Mikropipetter (noggrannhet mellan 2 och 1 000 μL).
- Nukleasfritt vatten.
- Filterspetsar.
- Puderfria engångshandskar.

Valfritt:

- Externa kontrollmaterial kan köras som en del av kvalitetskontrollproceduren för analysens prestanda. Kommersiellt tillgängligt kontrollmaterial och/eller prover som tidigare har karakteriserats som positiva eller negativa kan användas som extern positiv kontroll (EPC) respektive extern negativ kontroll (ENC). Valet och valideringen av EPC och ENC måste göras enligt gällande regelverk och laboratoriets standardförfaranden för kvalitetskontroll. Dessutom måste användaren följa respektive bruksanvisning när kommersiellt tillgängligt kontrollmaterial används.

## 6. Transport, förvaring och användningsförhållanden

- Satserna kan transporteras och förvaras vid 2–30°C fram till utgångsdatumet som anges på satsens etikett.
- Undvik vibrationer under transport för att förhindra vätskeläckage.
- Efter att de aluminiumförpackningar som innehåller reaktionsrören har öppnats kan produkten användas i upp till 28 dagar vid 2–30°C. Förvara injektionsflaskan skyddad mot ljus.

Följande tabell sammanfattar förhållanden för transport, förvaring och användning för kitet som helhet och varje komponent:

| Komponent  | Transportförhållanden                                       | Förvaringsförhållanden   | Användningsförhållanden                           |
|--|---|--|---|
| Hela VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System | 2–30°C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett. | <b>Före användning:</b> 2–30°C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett.  | * Se användningsförhållanden för varje komponent. |
| <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube (1F-folie)              |   | <b>Före användning:</b> 2–30°C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett.<br><b>Efter öppnande av påse med kiselgel:</b> 2–30°C i upp till 28 dagar. | Rumstemperatur.                                   |
| Rehydration Buffer tube  |   | <b>Före användning:</b> 2–30°C under hållbarhetstiden som anges på satsens etikett.<br><b>Efter öppnande av påse med kiselgel:</b> 2–30°C i upp till 28 dagar. | Rumstemperatur.                                   |

Tabell 3. Sammanfattning av förhållanden för transport, förvaring och användning av VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System och varje komponent.

## 7. Försiktighetsåtgärder för användare

- Produkten är avsedd att användas av kvalificerad och utbildad klinisk laboratoriepersonal som specifikt har instruerats och utbildats i tekniker med realtids-PCR och diagnostiska *in vitro*-förfaranden.
- För *in vitro*-diagnostik.
- Bruksanvisningen för VIASURE-produkten och användarhandboken för BD MAX™ System måste läsas noga före användning av VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Utför inte analysen innan du har tagit del av och förstått informationen om förfaranden, säkerhetsåtgärder och begränsningar i bruksanvisningen.
- Använd inte utgångna reagenser och/eller utgången material.
- Använd inte kitet om etiketten som förseglar ytterkartongen är bruten.
- Använd inte reagenser om den skyddande lådan är öppen eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om de skyddande påsarna är öppna eller om förseglingen är bruten vid ankomst.
- Använd inte reagenser om torkmedel saknas eller är trasigt i reagenspåsarna.
- Ta inte ut torkmedel från reagenspåsarna.

- Använd inte reagenserna om folien är bruten eller skadad.
- Blanda inte reagenser från olika påsar och/eller satser och/eller partier.
- Stäng reagensernas skyddande påsar med blixtlåsförseglingen direkt efter varje användning för att skydda masterblandningen från solljus. Avlägsna eventuell luft i påsarna före försegling.
- Skydda reagenserna mot fukt. Längre tids exponering för fukt kan påverka produktprestanda.
- Undvik att använda produkten i närheten av lösningsmedel för att undvika att etiketten skadas.
- Testets funktion påverkas inte om reaktionsblandningen i stabiliserad form, vanligtvis i botten av röret, inte ser ut som vanligt (utan konisk form, icke-homogen, mindre/större i storlek och/eller annan färg än vit).
- Se till att reaktionsröret och rehydreringsbuffertröret placeras säkert på plats under inställning av BD MAX™-stället.
- Om du utför andra PCR-tester i samma laboratorieområde ska du vara noggrann med att undvika kontaminering av VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, övriga reagenser som används vid testningen samt BD MAX™ System. Undvik alltid kontamination av reagenser från mikroorganismer och ribonukleas (RNAs)/deoxyribonukleas (DNAs). Användning av sterila, RNAs/DNAs-fria och aerosolresistenta pipettspetsar eller pipettspetsar av typen positiv förskjutning ("positive displacement") rekommenderas. Använd en ny spets för varje prov. Skyddshandskar måste bytas före hantering av reagenser och kassetter (BD MAX™ PCR Cartridge).
- I syfte att undvika kontamination av miljön med amplikoner ska BD MAX™ PCR Cartridge inte brytas itu efter användning. Tätningarna på BD MAX™ PCR Cartridge är utformade för att förhindra kontamination.
- Utforma ett enkelriktat arbetsflöde. Det bör börja i extraktionsområdet och sedan flytta till amplifierings- och detektionsområdet. Flytta inte prover, utrustning och reagenser tillbaka till området där det föregående steget utfördes.
- Följ god laboratoriesed. Använd skyddskläder, använd engångshandskar, skyddsglasögon och munskydd. Ät inte, drick inte, rök inte och använd inte smink i arbetsområdet. Tvätta händerna efter att testet har slutförts. Undvik kontaminering och kontakt med hud, ögon och kläder.
- Prover måste behandlas som potentiellt smittförande och/eller biofarliga, precis som alla reagenser och allt material som har exponerats för proverna. De måste hanteras enligt nationella säkerhetsbestämmelser. Vidta nödvändiga försiktighetsåtgärder vid insamling, transport, förvaring, hantering och kassering av prover.
- Prover och reagenser måste hanteras i ett biologiskt säkerhetsskåp. Använd personlig skyddsutrustning som uppfyller gällande riktlinjer för hantering av potentiellt smittsamma prover. Kassera avfall enligt lokala och nationella bestämmelser.
- Regelbunden dekontaminering av den utrustning som används ofta rekommenderas, särskilt mikropipetter och arbetsytor.

- I enlighet med förordning (EG) nr 1907/2006 (REACH) krävs inget säkerhetsdatablad för VIASURE Assays for BD MAX™ System på grund av deras klassificering som ofarliga för hälsa och miljö, eftersom de inte innehåller ämnen och/eller blandningar som uppfyller kriterierna för faroklassificering i förordning (EG) nr 1272/2008 (CLP), eller som är i koncentrationer högre än det värde som fastställts i nämnda förordning för deras deklaration. Ett utlåtande som anger att det inte finns något krav på säkerhetsdatablad kan begäras från Certest Biotec S.L.
- Se till att definiera PCR-testprogrammet på BD MAX™ System enligt anvisningarna i avsnittet "PCR-protokoll" (provextraktionsparametrar, anpassade streckkoder, PCR-inställningar osv.).
- Se användarhandboken för BD MAX™ System för ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer.
- Analyscertifikatet medföljer inte enheten men det kan laddas ned från Certest Biotec S.L. ([www.certest.es](http://www.certest.es)) vid behov.

## 8. Testprocedur

### 8.1. Insamling, transport och förvaring av prover

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System har testats på vaginala svabbprover insamlade av läkare med hjälp av Copan eSwab® (Liquid Amies Elution Swab från Copan) och självinsamlade förstaportionsurinprover från män och kvinnor i en steril provtagningskopp utan konserveringsmedel. Andra typer av prover måste valideras av användaren.

Insamling, transport och förvaring av prover ska utföras enligt de villkor som validerats av användaren. I allmänhet ska kliniska prover samlas in och märkas på lämpligt sätt i rena behållare med eller utan transportmedium (beroende på provtyp). Efter insamling ska proverna placeras i en påse för biologiska faror och ska transporteras och bearbetas så snart som möjligt för att garantera testets kvalitet. Prover som skickas in för molekylär testning måste förvaras under kontrollerade förhållanden, så att inte nukleinsyror bryts ned under förvaringen. Upprepade nedfrysningar och upptiningar bör undvikas för att förhindra nedbrytning av provet och nukleinsyror.

De kliniska proverna måste samlas in, transporteras och förvaras enligt lämpliga laboratorieriktlinjer och/eller laboratoriepolicymanualer.

En intern studie av prover stabilitet utfördes med VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med användning av negativ vaginal matris insamlad med Copan eSwab® samt urinmatris från kvinnor och män med tillsats av den makrolidkänsliga referensstammen (Amplirun® Total Macrolide Resistant MGE Control) vid 3xLoD-koncentration. Stabiliteten analyserades med hjälp av två olika analyser: primär stabilitet (25°C: 4 timmar och 2 dagar; 4°C: 1 och 2 dagar, -20°C: 12

månader) och inbäddad stabilitet. För analysen av inbäddad stabilitet analyserades prover som hade inkuberats vid 25°C i 4 timmar och prover som hade inkuberats vid 4°C i 1 dag, tre dagar efter tillsats till provbuffertröret (SBT). Prover som hade inkuberats vid 25°C i 2 dagar och prover som hade inkuberats vid 4°C i 2 dagar analyserades sju dagar efter tillsatsen till provbuffertröret. Dessutom analyserades proverna efter fem frysnings- (vid -80°C) och upptiningscykler (vid 25°C). Resultaten visade på god prestanda för prover förvarade under alla testade förhållanden och uppfyllde de ursprungliga acceptanskriterierna.

## 8.2. Provberedning och DNA-extraktion

Utför provberedning enligt rekommendationerna i bruksanvisningen för extraktionssatsen som används, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipettera 400 µL av det vaginala svabbprovet eller 750 µL av urinprovet till ett BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube och stäng röret med ett membranlock. Säkerställ fullständig blandning genom att vortexa provet vid hög hastighet i 1 minut. Fortsätt till drift av BD MAX™ System Operation.

Obs: Säkerställ att vortexblandning utförs några minuter före start av körningen. Om samma BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube används för omtestning rekommenderas att skaka röret manuellt i några minuter före teststart för att säkerställa att provet är korrekt homogeniserat.

Observera att användaren ansvarar för att ta fram och validera provberedningsprocedurer som är anpassade till den aktuella tillämpningen. Vissa provtyper kan dessutom kräva särskild förbehandling.

## 8.3. PCR-protokoll

Obs: Se användarhandboken för BD MAX™ System för detaljerade anvisningar.

### 8.3.1. Skapa ett PCR-testprogram för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System

Obs: Om du redan har skapat testet för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System kan du hoppa över steg 8.3.1 och gå direkt till 8.3.2.

- 1) Välj fliken "Test Editor" (Testredigerare) på skärmen "Run" (Kör) på BD MAX™ System.
- 2) Klicka på knappen "Create" (Skapa).

På fliken "Basic Information" (Grundläggande information):

- 3) I fältet "Test Name" (Testnamn), namnge ditt test: dvs. VIASURE MGM.

Obs: Testnamnet måste vara unikt och får inte ha fler än tjugo tecken.

- 4) Välj "ExK TNA-3" i listrutan "Extraction Type" (Extraktionstyp).

- 5) I listrutan "Master Mix Format" (Masterblandningsform), välj "Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer" (Typ 5: Koncentrerad frystorkad MM med rehydreringsbuffert).
- 6) I fältet "Sample Extraction Parameters" (Provextraktionsparametrar) väljer du "User Defined" (Användardefinierad) och justerar följande parametervärden (Tabell 4).

| <i>Sample Extraction Parameters</i> (Provextraktionsparametrar) | <i>Value (units)</i> (Värde (enheter))  |
|---|---|
| <i>Lysis Heat Time</i> (Lysvärmetid)                            | 15 (min)  |
| <i>Lysis Temperature</i> (Lystemperatur)                        | 55 (°C)   |
| <i>Sample Tip Height</i> (Provtagningspetsens höjd)             | 1600 (steps)  |
| <i>Sample Volume</i> (Provvolyml)                               | 500 (µL) (protokoll för urinprover)<br>425 (µL) (protokoll för vaginala prover) |
| <i>Wash Volume</i> (Tvättvolym)                                 | 500 (µL)  |
| <i>Neutralization Volume</i> (Neutraliseringsvolym)             | N/A   |
| <i>DNase Heat Time</i> (DNas värmetid)                          | N/A   |

Tabell 4. Parametrar för provextraktion utförd med BD MAX™ ExK™ TNA-3. N/A = inte tillämpligt.

- 7) Välj "Call Ct at Threshold Crossing" (Hämta Ct vid tröskelvärdesgräns) i fältet "Ct Calculation" (Ct-beräkning) (standardval).
- 8) Välj följande konfiguration i fältet "Custom Barcodes" (Anpassa streckkoder) om du kör programvaruversion 5.00 eller senare och använder streckkodade och folieförsedda rör som ska knäppas fast:
- "Snap-In 2 Barcode" (Streckkod för rör 2): 1F (gällande *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tube).
  - "Snap-In 3 Barcode" (Streckkod för rör 3): 11 (gällande Rehydration Buffer tube).

I fliken "PCR Settings" (PCR-inställningar):

- 9) Ange även följande parametrar i fältet "PCR Settings" (PCR-inställningar) i Tabell 5: "Alias" (upp till sju alfanumeriska tecken), "PCR Gain" (PCR-förstärkning), "Threshold" (Tröskelvärde), "Ct Min" och "Ct Max".

| <i>Channel</i><br>(Kanal) | <i>Alias</i><br>(Alias) | <i>PCR Gain</i><br>(PCR-förstärkning) | <i>Threshold</i><br>(Tröskelvärde) | <i>Ct Min</i><br>(Ct Min) | <i>Ct Max</i><br>(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*                    |

Tabell 5. PCR settings (PCR-inställningar).

Obs: Vi rekommenderar att ställa in de minimitröskelvärden som anges ovan för varje kanal som en startpunkt. De slutliga inställningarna måste dock fastställas av slutanvändaren under resultattolkningen. Detta för att säkerställa att tröskelvärdena faller inom fluorescenskurvornas exponentiella fas och över eventuell bakgrundssignal. Tröskelvärdet för olika instrument kan variera på grund av olika signalintensiteter.

\*På grund av variationen i antalet humanceller i urinprover är gränsvärdet för endogen intern kontroll (EIC) satt till 35 för vaginala svabbprover och 40 för urinprover från kvinnor och män för att säkerställa korrekt provtagning.

10) Ange även följande parametrar i fältet "Color compensation" (Färgkompensation) (Tabell 6).

|  |         | <i>False Receiving Channel</i> (Falsk mottagarkanal) |         |         |         |         |         |
|--|---------|--|---------|---------|---------|---------|---------|
|  |         | <i>Channel</i> (Kanal)                               | 475/520 | 530/565 | 585/630 | 630/665 | 680/715 |
| <i>Excitation Channel</i> (Excitationskanal) | 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     |
|  | 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     |

Tabell 6. "Color compensation" (Färgkompensation) -parametrar.

I fliken "Melt Settings" (Smältinställningar) behövs ingen åtgärd, den är inte tillämplig för denna produkt.

I fliken "Test Steps" (Teststeg):

11) Ange stegets namn (upp till tjugo tecken) och ställ in följande parametrar för att definiera varje steg i PCR-protokollet: "Profile Type" (Profiltyp), "Cycles" (Cykler), "Time" (Tid) och "Temperature" (Temperatur) och välj fältet "Detect" (Detektion) för att definiera detektionssteget (Tabell 7). Klicka på knappen "Add" (Lägg till) för att lägga till ett nytt steg och upprepa tills alla nödvändiga steg är definierade.

Obs: Fältet "Type" (Typ) måste vara tomt.

| <i>Step</i> (Steg)  | <i>Step name</i> (Stegnamn) | <i>Profile Type</i> (Profiltyp) | <i>Cycles</i> (Cykler) | <i>Time (s)</i> (Tid (s)) | <i>Temperature</i> (Temperatur) | <i>Detect</i> (Detektion) |
|---|-----------------------------|---------------------------------|------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| Initial denaturation (Inledande denaturering)   | IN-denaturation             | Hold                            | 1                      | 120                       | 95°C                            | –                         |
| Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denaturering och hybridisering/förlängning (datainsamling)) | Annealing/Extension         | 2-Temperature                   | 45                     | 10                        | 95°C                            | –                         |
|   |                             |                                 |                        | 58                        | 60°C                            | ✓                         |

Tabell 7. PCR-protokoll.

I fliken "Result Logic" (Resultatlogik):

12) I fältet "Target" (Målsekvens): dvs. Res (upp till sju alfanumeriska tecken). Upprepa steg 12–15 för varje målsekvens (dvs. Sen eller Mg) enligt tabellerna som är specifika för den målsekvens som definieras.

13) Klicka i rutan "Analyze" (Analysera) för att inkludera de önskade våglängderna (PCR-kanaler) i målsekvensens resultatanalys (Tabell 8–10).

| <i>Wavelength</i><br>(Våglängd) | <i>Alias</i><br>(Alias) | <i>Type</i><br>(Typ) | <i>Analyze</i><br>(Analys) |
|---------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------------|
| 475/520                         | Res                     | PCR                  | ✓                          |
| 680/715                         | EIC                     | PCR                  | ✓                          |

Tabell 8. Val av PCR-kanaler i fliken "Result logic" (Resultatlogik) för Res (Makrolidresistens) -målsekvens.

| <i>Wavelength</i><br>(Våglängd) | <i>Alias</i><br>(Alias) | <i>Type</i><br>(Typ) | <i>Analyze</i><br>(Analys) |
|---------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------------|
| 530/565                         | Sen                     | PCR                  | ✓                          |
| 680/715                         | EIC                     | PCR                  | ✓                          |

Tabell 9. Val av PCR-kanaler i fliken "Result logic" (Resultatlogik) för Sen (Makrolidkänslighet) -målsekvens.

| <i>Wavelength</i><br>(Våglängd) | <i>Alias</i><br>(Alias) | <i>Type</i><br>(Typ) | <i>Analyze</i><br>(Analys) |
|---------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------------|
| 585/630                         | Mg                      | PCR                  | ✓                          |
| 680/715                         | EIC                     | PCR                  | ✓                          |

Tabell 10. Val av PCR-kanaler i fliken "Result logic" (Resultatlogik) för Mg (*Mycoplasma genitalium*) -målsekvens.

14) Klicka på knappen "Edit Logic" (Redigera logik).

15) I fönstret "Edit Logic" (Redigera logik) listas alla kombinationer av resultattyper. För varje rad väljer du i rullgardinsmenyn "Result" (Resultat) det resultat som ska anges när villkoren i den raden är uppfyllda, enligt Tabellerna 11–13 för vaginala prover och Tabellerna 14–16 för urinprover.

**Prover från vaginala svabbar**

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Res<br>(475/520)   | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 11. Lista över kombinationen av resultattyper och resultatlogik för Res (makrolidresistens) -målsekvens i vaginalprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Sen<br>(530/565)   | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 12. Lista över kombinationen av resultat typer och resultatlogik för Sen (makrolidkänslighet) -målsekvens i vaginalprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Mg<br>(585/630)    | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 13. Lista över kombinationen av resultat typer och resultatlogik för Mg (*Mycoplasma genitalium*) -målsekvens i vaginalprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

### Urinprover

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Res<br>(475/520)   | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 14. Lista över kombinationen av resultat typer och resultatlogik för Res (makrolidresistens) -målsekvens i urinprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Sen<br>(530/565)   | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 15. Lista över kombinationen av resultat typer och resultatlogik för Sen (makrolidkänslighet) -målsekvens i urinprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

| <i>Result</i><br>(Resultat) | Mg<br>(585/630)    | EIC<br>(680/715)   |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Valid (Giltigt)    |
| POS                         | Valid (Giltigt)    | Invalid (Ogiltigt) |
| NEG                         | Invalid (Ogiltigt) | Valid (Giltigt)    |
| UNR                         | Invalid (Ogiltigt) | Invalid (Ogiltigt) |

Tabell 16. Lista över kombinationen av resultat typer och resultatlogik för Mg (*Mycoplasma genitalium*) -målsekvens i urinprovprotokoll. Tillgängliga resultat är POS (positivt), NEG (negativt) och UNR (olöst).

Obs: Enligt tidigare definierad Ct Max (Tabell 5):

- i. Resultattypen för Res- (475/520), Sen- (530/565) respektive Mg- (585/630)-kanalen anses "Valid" (Giltigt) när det erhållna Ct-värdet är  $\leq 40$  och "Invalid" (Ogiltigt) när det erhållna Ct-värdet är  $> 40$ .
- ii. Resultattypen för EIC (680/715)-kanalen anses "Valid" (Giltigt) när det erhållna Ct-värdet är  $\leq 35$  för vaginala prover och  $\leq 40$  för urinprover; och "Invalid" (Ogiltigt) när Ct-värdet är  $> 35$  respektive  $> 40$ .

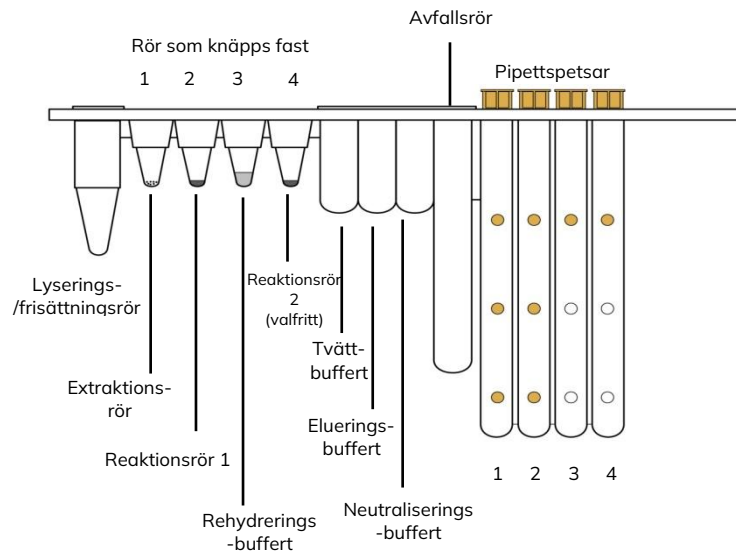
\*Även om gränsvärdet för EIC i urinprover är 40 är det möjligt att ingen amplifieringskurva kan observeras för EIC om det finns en positiv signal för både Res- eller Sen-målet och Mg-målet. I detta fall är resultatlogiken POS (positiv). Se avsnitt 9, Resultattolkning.

16) Klicka på knappen "Save" (Spara) för att spara testet.

### 8.3.2. Installation av BD MAX™-ställ

- 1) För varje prov som ska testas ska du ta ut en Unitized Reagent Strips från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Knacka försiktigt varje remsa mot en hård yta för att säkerställa att alla vätskor finns på rörens botten och ladda den på provrörsstället för BD MAX™ System.
- 2) Ta ut nödvändigt antal BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (extraktionsrör) (B4) (vit folie) ur den skyddande påsen. Knäpp fast extraktionsrören (vit folie) på motsvarande positioner på TNA-remsan (rörposition 1, vit färgkodning på stället. Se figur 1). Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
- 3) Bestäm och separera lämpligt antal *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tubes (reaktionsrör) (1F-folie) och knäpp fast dem på motsvarande positioner på remsan (rörposition 2, grön färgkodning på stället. Se figur 1).
  - a. Avlägsna överskott av luft och stäng aluminiumpåsarerna med blixtlåsförseglingen.
  - b. Utför en korrekt rehydrering genom att se till att den frystorkade produkten finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
- 4) Ta ut lämpligt antal Rehydration Buffer tubes (11-folie) och knäpp fast rören på motsvarande positioner på remsan (rörposition 3, färglös kodning på stället. Se figur 1).
  - a. Avlägsna överskott av luft och stäng påsen med blixtlåsförseglingen.
  - b. Utför en korrekt överföring genom att se till att vätskan finns på rörets botten och att den inte klibbar fast på rörets övre del eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all buffert hamnar på botten av röret.

Figur 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) från BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



### 8.3.3. Inställning av BD MAX™-instrument

- 1) Välj fliken "Worklist" (Arbetslista) på skärmen "Run" (Kör) i programvara v4.50A eller senare för BD MAX™ System.
- 2) I listrutan "Test" väljer du önskat test: dvs. VIASURE MGM (se avsnitt 8.3.1 om det inte redan har skapats).
- 3) I listrutan "Kit Lot Number" (Satspartinummer) väljer du lämpligt lotnummer för satsen (finns på den använda extraktionssatsens ytterkartong) (valfritt).  
Obs: Partinummer måste definieras i displayen "Inventory" (Lager) innan de kan väljas här.
- 4) Ange Sample Buffer Tube-identifikationsnumret i fältet "Sample tube" (Provrör), antingen genom att läsa av streckkoden med en streckkodsläsare eller genom manuell inmatning.
- 5) Fyll i fältet "Patient ID" (Patient-ID) och/eller "Accession" (Tillträde) och klicka på Tab- eller Enter-tangenten. Fortsätt tills alla Sample Buffer Tubes (provbuffetrör) -streckkoder har angivits. Säkerställ att "Specimen/Patient ID" (Prov-/patient-ID) och Sample Buffer Tubes (provbuffetrör) noga överensstämmer.
- 6) Placera det förberedda Sample Buffer Tube (provbuffetröret) i BD MAX™ ställ.
- 7) Ladda stället/ställen i BD MAX™ System (ställ A är positionerat på den vänstra sidan av BD MAX™ System och ställ B på dess högra sida).
- 8) Placera lämpligt antal BD MAX™ PCR Cartridge i BD MAX™ System.
- 9) Stäng luckan på BD MAX™ System.
- 10) Klicka på "Start" (Starta) för att påbörja proceduren.

### 8.3.4. BD MAX™-resultatrapport

- 1) Klicka på knappen "Results" (Resultat) i menyraden.
- 2) Dubbelklicka antingen på din körning i listan eller tryck på knappen "View" (Visning).
- 3) Knappen "Print" (Skriv ut) och "Export" längst ned på skärmen aktiveras.

Så här skriver du ut resultaten:

1. Klicka på knappen "Print" (Skriv ut).
2. Välj i fönstret "Print" (Skriv ut) förhandsgranskning av körningsrapporten: "Run Details" (Körningsinformation), "Test Details" (Testinformation) och "Plots" (Kurva).
3. Klicka på "Print" (Skriv ut) för att skriva ut rapporten eller klicka på "Export" för att exportera en PDF av rapporten till ett USB-minne.

Så här exporterar du resultaten:

1. Klicka på knappen "Export" för att överföra rapporten (PDF- och CSV-fil) till ett USB-minne.
2. När exporten är klar visas ikonen för lyckad/misslyckad i fönstret "Results Export" (Resultatexport).

## 9. Resultattolkning

Se användarhandboken för BD MAX™ System för en detaljerad beskrivning av dataanalys.

Dataanalys utförs av BD MAX™-programvaran enligt tillverkarens anvisningar. BD MAX™-programvaran rapporterar Ct-värden och amplifieringskurvor för varje detektorkanal för varje testat prov på följande sätt:

- Ct-värde på 0 anger att det inte fanns något Ct-värde beräknat av programvaran med det specificerade tröskelvärdet (se Tabell 5). Amplifieringskurvan för provet med ett Ct-värde på 0 måste kontrolleras manuellt.
- Ct-värdet -1 anger att ingen amplifieringsprocess har inträffat, att inget Ct-värde beräknats av programvaran eller att det beräknade Ct-värdet ligger under den angivna tröskeln eller över fastställt Ct-max (gränsvärde).
- Alla andra Ct-värden ska tolkas i korrelation med amplifieringskurvan och i enlighet med den definierade resultatlogike samt provtolkningsriktlinjerna i Tabell 17–18.

Kontrollera signalen för den endogena interna kontrollen (EIC) för att bekräfta att amplifieringsblandningen fungerar korrekt. Kontrollera också att det inte finns någon rapport om fel på BD MAX™ System. Observera att enligt den definierade resultatlogiken är det möjligt att ingen amplifieringskurva kan observeras för EIC i urinprover om en positiv signal föreligger både för Mg-målet och för Res-målet eller Sen-målet. Läs noga igenom tolkningen för patientens enskilda urinprover (Tabell 18).

Resultat bör avläsas och analyseras med hjälp av följande tabeller:

### Tolkning av resultat för vaginala svabbprover

| Makrolidresistens<br>(målnamn: Res) | Makrolidkänslighet<br>(målnamn: Sen) | <i>M. genitalium</i><br>(målnamn: Mg) | Tolkning av patientens individuella prover   |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| NEG                                 | POS                                  | POS                                   | Makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidresistens-DNA ej detekterat   |
| POS                                 | NEG                                  | POS                                   | Makrolidresistens- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidkänslighets-DNA ej detekterat   |
| POS                                 | POS                                  | POS                                   | Makrolidresistens-, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat<br>EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>  |
| POS                                 | POS                                  | NEG                                   | Makrolidresistens- och makrolidkänslighets-DNA detekterat, <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| POS                                 | NEG                                  | NEG                                   | Makrolidresistens-DNA detekterat, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| NEG                                 | POS                                  | NEG                                   | Makrolidkänslighets-DNA detekterat, makrolidresistens- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| NEG                                 | NEG                                  | POS                                   | <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidresistens- och makrolidkänslighets-DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1,2</sup>   |
| NEG                                 | NEG                                  | NEG                                   | Makrolidresistens-, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat   |
| UNR                                 | UNR                                  | UNR                                   | Olösta resultat (UNR) erhålls i närvaro av inhibitorer i PCR-reaktionen, vid prover under detektionsgränsen eller när ett generellt problem (som inte rapporteras via en felkod) uppstår under provberedningen och/eller amplifieringsstegen. <sup>3</sup> |
| IND                                 | IND                                  | IND                                   | Obestämt analysresultat (IND). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas vid instrumentfel som är kopplade till en felkod. <sup>4</sup>   |
| INC                                 | INC                                  | INC                                   | Ofullständigt analysresultat (INC). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas om körningen inte kan slutföras. <sup>4</sup>   |

Tabell 17. Provtolkning för vaginala svabbprover.

**1** Omtestning krävs. Vi rekommenderar att upprepa analysen antingen från samma provbuffertrör, eller från det primära provet genom att bereda ett nytt provbuffertrör. Om resultatet fortsatt inte är entydigt ska ett nytt prov tas (mer koncentrerat om möjligt) och analysen upprepas.

OBS: Vaginala svabbprover kan förvaras utan att överföras till provbuffertröret i upp till 2 dagar om de förvaras vid 25°C eller 4°C. Om du gör en omtestning från samma provbuffertrör, skaka provbuffertröret manuellt så att provet blandas ordentligt. Observera att vaginala svabbprover kan förvaras i provbuffertröret i högst 7 dagar vid 25°C eller 4°C (om de tidigare förvarats vid 25°C eller 4°C i högst 2 dagar).

**2** Kitet detekterar följande mutationer associerade med makrolidresistens: *23S rRNA*-genen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Om en annan mutation föreligger är kitet inte validerat för att detektera denna. I sådant fall kommer amplifiering att observeras i ROX-kanalen (detektion av *M. genitalium*) men inte i FAM- och HEX-kanalerna (detektion av makrolidresistens respektive makrolidkänslighet).

**3** Den endogena interna kontrollen (EIC) måste visa en amplifieringssignal med Ct-värde  $\leq 35$  för att beaktas. Om det inte förekommer någon signal för EIC eller om Ct-värdet är  $> 35$  anses resultatet vara "Unresolved (UNR)" (Olöst) och omtestning krävs. Kontrollera resultatrapporten och Ct-värdena för de valda målen och vidta lämpliga åtgärder med hänsyn till följande:

- I. När resultatet för målgenerna är ogiltigt (Ct $>$ 40) krävs det att analysen upprepas från samma provbuffertrör eller från primärprovet med ett nytt provbuffertrör. Om ett icke entydigt resultat erhålls igen måste två scenarion övervägas. Å ena sidan kan provets koncentration ligga under detektionsgränsen (LoD). Det rekommenderas därför att ta ett mer koncentrerat prov. Å andra sidan ska den potentiella förekomsten av inhibitorer i PCR-reaktionen beaktas. Vi rekommenderar att späda dessa prover 1/10. Följ laboratoriets riktlinjer och/eller policyhandböcker för mikrobiologilaboratoriet.
- II. När resultaten för makrolidresistens-, makrolidkänslighets- och/eller *M. genitalium*-målgener är giltiga (Ct  $\leq$  40) kan det vid mycket höga provkoncentrationer hända att ingen amplifiering ses från EIC, eller att amplifiering från EIC ses först vid ett Ct-värde  $>$ 35. Detta beror på att de målspecifika nukleinsyrorna amplifieras företrädesvis vid höga koncentrationer. Om det bedöms nödvändigt, späd dessa prover 1/10, förbered provbuffertröret igen och upprepa testningen. Följ laboratoriets riktlinjer och/eller policyhandböcker för mikrobiologilaboratoriet.

**4** Obestämda (IND) eller ofullständiga (INC) resultat kan erhållas på grund av ett systemfel och omtestning krävs. Se användarhandboken för BD MAX™ System för tolkning av varnings- och felkoder.

### Tolkning av resultat för urinprover

| Makrolidresistens<br>(målnamn: Res) | Makrolidkänslighet<br>(målnamn: Sen) | <i>M. genitalium</i><br>(målnamn: Mg) | Tolkning av patientens individuella prover   |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| NEG                                 | POS                                  | POS                                   | Makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidresistens-DNA ej detekterat                                       |
| POS                                 | NEG                                  | POS                                   | Makrolidresistens- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidkänslighets-DNA ej detekterat                                       |
| POS                                 | POS                                  | POS                                   | Makrolidresistens-, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat<br>EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>                  |
| POS                                 | POS                                  | NEG                                   | Makrolidresistens- och makrolidkänslighets-DNA detekterat, <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| POS                                 | NEG                                  | NEG                                   | Makrolidresistens-DNA detekterat, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| NEG                                 | POS                                  | NEG                                   | Makrolidkänslighets-DNA detekterat, makrolidresistens- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1</sup>   |
| NEG                                 | NEG                                  | POS                                   | <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidresistens- och makrolidkänslighets-DNA ej detekterat. EJ ENTYDLIGT RESULTAT <sup>1,2</sup> |

| Makrolidresistens<br>(målnamn: Res) | Makrolidkänslighet<br>(målnamn: Sen) | <i>M. genitalium</i><br>(målnamn: Mg) | Tolkning av patientens individuella prover  |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|
| NEG                                 | NEG                                  | NEG                                   | Makrolidresistens-, makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA ej detekterat  |
| UNR                                 | POS                                  | POS                                   | Makrolidkänslighets- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidresistens-DNA ej detekterat <sup>3</sup>   |
| POS                                 | UNR                                  | POS                                   | Makrolidresistens- och <i>M. genitalium</i> -DNA detekterat, makrolidkänslighets-DNA ej detekterat <sup>3</sup>   |
| UNR                                 | UNR                                  | UNR                                   | Olösta resultat (UNR) erhålls när det förekommer inhibitorer i PCR-reaktionen eller när ett allmänt problem (som inte rapporterats av en felkod) inträffar under bearbetningen av provet och/eller amplifieringen. <sup>4</sup> |
| POS                                 | POS                                  | UNR                                   | Olöst (UNR) – Upprepa test <sup>1</sup>   |
| POS                                 | UNR                                  | UNR                                   | Olöst (UNR) – Upprepa test <sup>1</sup>   |
| UNR                                 | POS                                  | UNR                                   | Olöst (UNR) – Upprepa test <sup>1</sup>   |
| UNR                                 | UNR                                  | POS                                   | Olöst (UNR) – Upprepa test <sup>1</sup>   |
| IND                                 | IND                                  | IND                                   | Obestämt analysresultat (IND). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas vid instrumentfel som är kopplade till en felkod. <sup>5</sup>  |
| INC                                 | INC                                  | INC                                   | Ofullständigt analysresultat (INC). Beror på fel på BD MAX™ System. Analysresultat som visas om körningen inte kan slutföras. <sup>5</sup>  |

Tabell 18. Provtolkning för urinprover.

**1** Omtestning krävs. Vi rekommenderar att upprepa analysen antingen från samma provbuffertrör, eller från det primära provet genom att bereda ett nytt provbuffertrör. Om resultatet fortsatt inte är entydigt ska ett nytt prov tas (mer koncentrerat om möjligt) och analysen upprepas.

OBS: Urinprover kan förvaras utan att överföras till provbuffertröret i upp till 4 timmar om de förvaras vid 25°C eller 1 dag om de förvaras vid 4°C. Vid omtestning från samma provbuffertrör bör provbuffertröret skakas manuellt så att provet blandas ordentligt. Observera att urinprover kan förvaras i provbuffertröret i upp till 3 dagar vid 25°C (om de tidigare förvarats vid 25°C i högst 4 timmar) eller i upp till 3 dagar vid 4°C (om de tidigare förvarats vid 4°C i högst 1 dag).

**2** Kitet detekterar följande mutationer associerade med makrolidresistens: *23S rRNA*-genen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). Om en annan mutation föreligger är kitet inte validerat för att detektera denna. I sådant fall kommer amplifiering att observeras i ROX-kanalen (detektion av *M. genitalium*) men inte i FAM- och HEX-kanalerna (detektion av makrolidresistens respektive makrolidkänslighet).

**3** Även om gränsvärdet för endogen intern kontroll (EIC) i urinprover är satt till Ct 40 är det, på grund av det låga antalet humanceller i urin, tillåtet att ingen amplifieringskurva observeras för EIC. Detta förutsatt att en positiv signal erhålls för både makrolidresistens- (FAM-kanalen) eller makrolidkänslighetsmålet (HEX-kanalen) och för *Mycoplasma genitalium*-målet (ROX-kanalen). I detta fall finns ingen risk för rapportering av ett falskt positivt resultat eftersom amplifiering ska observeras samtidigt i två olika kanaler.

4 EIC måste visa en amplifieringssignal med Ct-värde  $\leq 40$  för att beaktas. Om det inte förekommer någon signal för EIC eller om Ct-värdet är  $> 40$  anses resultatet vara "Unresolved (UNR)" (Olöst) och omtestning krävs. Vi rekommenderar att upprepa analysen antingen från samma provbufferröret eller från det primära provet genom att bereda ett nytt provbuffertrör, eller att erhålla ett mer koncentrerat prov. Det kan också inträffa att det olösta (UNR) resultatet beror på förekomst av inhibitorer i PCR-reaktionen. I dessa fall bör dessa prover spädas 1/10. Följ laboratoriets riktlinjer och/eller policyhandböcker för mikrobiologilaboratoriet.

5 Obestämda (IND) eller ofullständiga (INC) resultat kan erhållas på grund av ett systemfel och omtestning krävs. Se användarhandboken för BD MAX™ System för tolkning av varnings- och felkoder.

Obs: När du använder externa kontroller ska de ge följande förväntade resultat: negativt för ENC och positivt för EPC (kända positiva prover förväntas vara positiva endast för de mikroorganismer som finns i provet). Omtestning krävs om ett fel inträffar med en extern kontroll.

Om ett tvetydigt resultat visas kontinuerligt rekommenderas att konsultera bruksanvisningen, granska den använda extraktionsprocessen, verifiera korrekt prestanda för varje PCR-steg och granska parametrarna samt att kontrollera den sigmoida formen på kurvan och fluorescensintensiteten.

Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.

## 10. Testets begränsningar

- Resultat av testet bör utvärderas av sjukvårdspersonal med beaktande av medicinsk anamnes, kliniska symtom och andra diagnostiska tester.
- VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System har endast validerats med vaginala svabbprover och urinprover från män och kvinnor.
- Den frystorkade produkten ska ligga i botten av röret för att testet ska fungera korrekt och inte fastna på rörets överdel eller på folieförseglingen. Knacka försiktigt varje rör mot en hård yta för att se till att all produkt hamnar på botten av röret.
- Möjlig överhörning kan observeras i tomma kanaler i BD MAX™ System om det inte finns något mål att detektera, så endast kanalerna där dessa amplifieras ska väljas vid tolkning av resultat. Kontakta [viasuresupport@certest.es](mailto:viasuresupport@certest.es) om du har frågor.
- Kvaliteten på testet beror på provets kvalitet. Extraktion av nukleinsyra måste ske på lämpligt sätt från kliniska prover.
- Detta test är kvalitativt och ger inga kvantitativa värden och anger inte antalet förekommande organismer. Det är inte möjligt att korrelera Ct-värdena som erhålls från PCR med koncentrationen av provet, eftersom de beror på den använda termocyklern och själva körningen.
- Extremt låga nivåer av mål under detektionsgränsen kan detekteras men resultaten är kanske inte reproducerbara.

- Observera analysens avsedda mätintervall eftersom prover med koncentrationer över eller under detta intervall kan ge felaktiga resultat.
- Det finns en risk för falskt positiva resultat på grund av korskontamination av prover med makrolidresistent *M. genitalium* och/eller makrolidkänslig *M. genitalium* med höga koncentrationer av mål-DNA eller kontamination på grund av PCR-produkter från tidigare reaktioner.
- Falskt negativa resultat kan inträffa på grund av flera faktorer och kombinationer av dessa, inklusive:
  - Olämplig insamling, transport, förvaring och/eller hantering av prover.
  - Olämpliga processförfaranden (inklusive DNA-extraktion).
  - Nedbrytning av DNA under provtransport-/förvaring och/eller bearbetning.
  - Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probbindande regioner som kan påverka detektion av nya eller okända stammar av *M. genitalium* eller genetiska markörer för makrolidresistens och -känslighet.
  - Bakteriell belastning i provet under analysens detektionsgräns.
  - Förekomst av qPCR-hämmare eller andra typer av störande ämnen. Inverkan av vacciner, vissa antivirala läkemedel, antibiotika, cellgifter, immunhämmande läkemedel eller antimykotiska medel som används för att förhindra infektionen eller som används under behandlingen av infektionen har inte utvärderats.
  - Effekten av störande ämnen har endast utvärderats för de ämnen som anges i avsnitt 12.5.1 (Studie av störande ämnen) i denna bruksanvisning. Se detta avsnitt för att kontrollera de vanligaste endogena och exogena ämnen som framkallar en total eller partiell störning av qPCR-reaktionen. Andra ämnen som inte anges i denna del kan leda till felaktiga resultat.
  - Underlåtelse att följa bruksanvisningar och analysförfarandet.
- Kitet detekterar följande mutationer associerade med makrolidresistens: *23S rRNA*-genen (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). En makrolidresistent *M. genitalium*-stam som innehåller A2059T-mutationen, som är mindre vanlig, kan inte detekteras av enheten. Endast i detta fall är det möjligt att observera amplifiering i ROX-kanalen (detektion av *M. genitalium*) men inte i FAM- och HEX-kanalerna (detektion av makrolidresistens respektive makrolidkänslighet).
- Ett positivt testresultat anger inte nödvändigtvis förekomst av livskraftiga mikroorganismer och avgör inte om dessa mikroorganismer är smittsamma eller orsakar kliniska symtom. Ett positivt resultat indikerar dock förekomst av makrolidresistent *M. genitalium* och makrolidkänslig *M. genitalium*-målsekvenser.
- Negativa resultat utesluter inte förekomst av DNA från makrolidresistent och/eller makrolidkänslig *M. genitalium* i ett kliniskt prov och ska inte användas som den enda grunden för beslut om behandling eller annan klinisk handläggning. Det är ännu inte klart vilka provtyper som är bäst eller när bakterien finns i högst mängd vid infektion med *M. genitalium*. Insamling av flera prover (typer och tidpunkter) från samma patient kan bli nödvändig för att kunna detektera patogenen.

- Om diagnostiska tester för andra sexuellt överförbara sjukdomar och/eller antimikrobiell resistens är negativa och kliniska observationer, anamnes och epidemiologisk information antyder att infektion av *M. genitalium* är möjlig, ska förekomsten av ett falskt negativt resultat övervägas och omtestning av patienten diskuteras.
- Fluorescensvärden kan variera på grund av flera faktorer såsom: PCR-utrustning (även om det är samma modell), extraktionssystem, provtyp, tidigare behandling av provet osv.
- Positiva och negativa prediktiva värden är starkt beroende av prevalens i alla diagnostiska *in vitro*-tester. Prestanda för VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System kan variera beroende på prevalensen och den testade populationen.
- Om resultaten blir olösta, obestämda eller ofullständiga med VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System krävs omtestning. Olösta prover kan orsakas av förekomst av hämmare i provet eller inkorrekt återhydrering av röret med frystorkad reaktionsblandning. Om det föreligger ett instrumentfel kommer obestämda eller ofullständiga resultat att erhållas.

## 11. Kvalitetskontroll

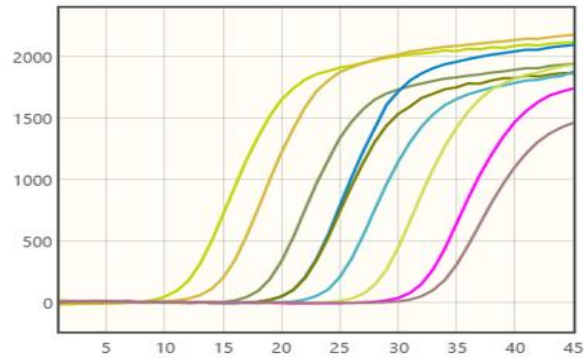
VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System innehåller en endogen intern kontroll (EIC) i varje reaktionsrör som bekräftar korrekt prestanda för tekniken. Användning av externa kontroller (EPC och ENC) gör det dessutom möjligt att bekräfta analysens prestanda. Externa kontroller används inte av BD MAX™ System för tolkning av resultat utan betraktas som ett prov. Extern positiv kontroll (EPC) är avsedd att övervaka en eventuell brist på analysreagenser, medan extern negativ kontroll (ENC) är avsedd att detektera miljö- eller reagenskontaminering av målnukleinsyror.

## 12. Egenskaper för analytisk prestanda

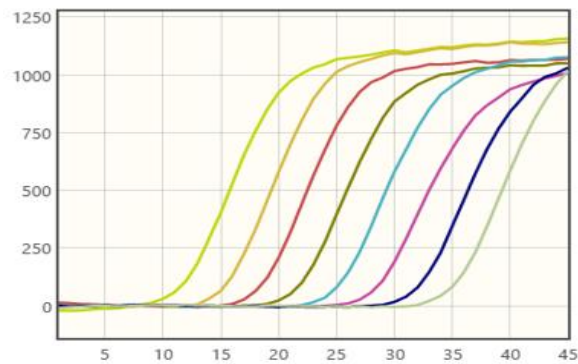
### 12.1. Analytisk linjäritet

Analysens linjäritet bestämdes och bekräftades genom testning av en serie tiofaldiga spädningar av vaginal matris samt urinprover från män respektive kvinnor som innehöll en känd koncentration av specifikt och syntetiskt DNA tillhörande makrolidkänslig eller makrolidresistent *M. genitalium* (i intervallet 2E+07 till 2E+00 kopior/ $\mu$ L). Det aritmetiska medelvärdet, standardavvikelsen och variationskoefficienten för Ct-värdena samt effektiviteten och regressionskoefficienten för PCR-reaktionen beräknades. Exempel på amplifieringskurva som erhöles från en analys av en av de utvärderade matriserna anges nedan.

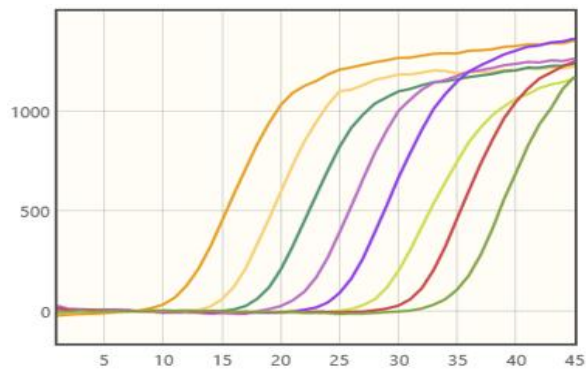
Figur 2. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidkänslig *M. genitalium* (23S rRNA-gen (vildtyp) + *MgPA adhesin*-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/ $\mu$ L). Analysen utfördes på BD MAX™ System (530/565 (HEX)-kanal).



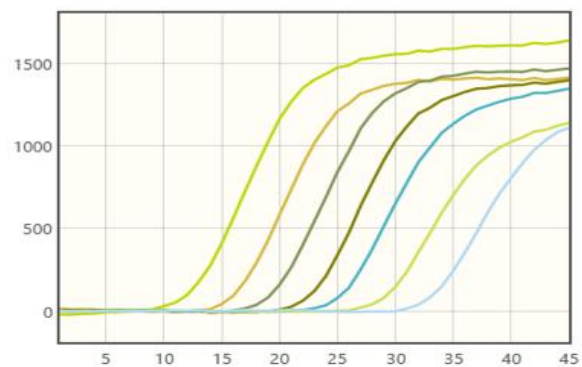
Figur 3. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2058C-mutation) + *MgPA adhesin*-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/ $\mu$ L). Analysen utfördes på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



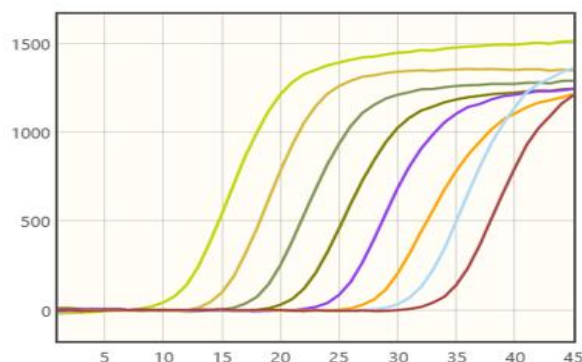
Figur 4. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2058G-mutation) + *MgPA adhesin*-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/ $\mu$ L). Analysen utfördes på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



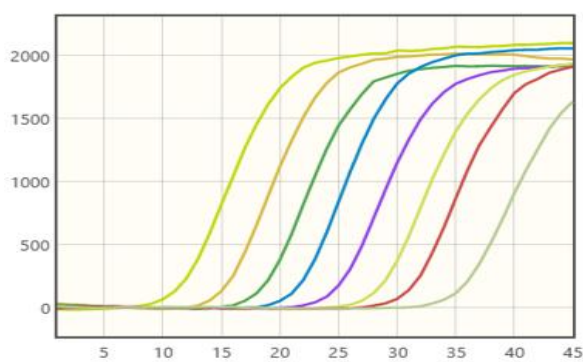
Figur 5. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2058T-mutation) + *MgPA adhesin*-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/ $\mu$ L). Analysen utfördes på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



Figur 6. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2059C-mutation) + *MgPA* adhesin-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/μL). Analysen utfördes på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



Figur 7. Spädningsserie av syntetiskt DNA från makrolidresistent *M. genitalium* (23S rRNA-gen (A2059G-mutation) + *MgPA* adhesin-gen) (2E+07 till 2E+00 kopior/μL). Analysen utfördes på BD MAX™ System (475/520 (FAM)-kanal).



## 12.2. Analytisk sensitivitet. Detektionsgräns (LoD)

Den analytiska sensitiviteten eller detektionsgränsen (LoD) för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System analyserades med tre satser med användning av vaginal matris samt urinprover från kvinnor och män. Referensstammarna, eller syntetiskt DNA (om ingen stam finns tillgänglig), som används redovisas i följande tabell:

|   | Mål  | Stam/syntetiskt DNA                             | Extern referens |
|---|--|---|-----------------|
| Makrolidkänslighet + <i>Mycoplasma genitalium</i> | 23S rRNA-gen (vildtyp) + <i>MgPA</i> adhesin-gen         | <i>Mycoplasma genitalium</i> , stam M30         | 49895™          |
| Makrolidresistens + <i>Mycoplasma genitalium</i>  | 23S rRNA-gen (A2058C-mutation) + <i>MgPA</i> adhesin-gen | Syntetiskt DNA (MGRXPC)                         | N/A             |
|   | 23S rRNA-gen (A2058G-mutation) + <i>MgPA</i> adhesin-gen | AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL | MBTC029         |
|   | 23S rRNA-gen (A2058T-mutation) + <i>MgPA</i> adhesin-gen | Syntetiskt DNA (MGRXPC)                         | N/A             |
|   | 23S rRNA-gen (A2059C-mutation) + <i>MgPA</i> adhesin-gen | Syntetiskt DNA (MGRXPC)                         | N/A             |
|   | 23S rRNA-gen (A2059G-mutation) + <i>MgPA</i> adhesin-gen | AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL | MBTC029         |

Tabell 19. Referensstammar och syntetiskt DNA som används för analys av detektionsgränsen.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System uppvisade den detektionsgräns som anges i följande tabell, med en positiv frekvens på  $\geq 95$  %.

| Detektionsgräns (LoD) (kopior/ $\mu$ L) |                                      |   |   |   |   |   |
|---|--------------------------------------|---|---|---|---|---|
| Matris                                  | Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i> | Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059G) | Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058G) | Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058C) | Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058T) | Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059C) |
| Urin från kvinnor                       | 3.33E-02                             | 3.00E+00  | 9.99E-01  | 6.00E+00  | 6.00E+00  | 2.00E+00  |
| Urin från män                           | 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  |

Tabell 20. Detektionsgräns för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Resultaten som erhöles visar att VIASURE-enhetens sensitivitet är konsekvent och tillförlitlig mellan olika produktionsatser.

### 12.3. Mätintervall

Analysens mätintervall bestämdes genom testning av en serie av tiofaldiga spädningar innehållande en känd koncentration av specifikt och syntetiskt DNA från makrolidkänslig *M. genitalium* och makrolidresistent *M. genitalium*. Resultaten gjorde det möjligt att bekräfta korrekt måldetektion inom det mätintervall som anges i följande tabell:

| Mål   | Mätintervall (kopior/ $\mu$ L) |       |                     |       |                |       |
|---|--------------------------------|-------|---------------------|-------|----------------|-------|
|   | Urinmatris från kvinnor        |       | Urinmatris från män |       | Vaginal matris |       |
| Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i>            | 2E+07                          | 2E+01 | 2E+07               | 2E+00 | 2E+07          | 2E+00 |
| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059G) | 2E+07                          | 2E+00 | 2E+07               | 2E+00 | 2E+07          | 2E+00 |
| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058G) | 2E+07                          | 2E+01 | 2E+07               | 2E+01 | 2E+07          | 2E+00 |
| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058C) | 2E+07                          | 2E+01 | 2E+07               | 2E+00 | 2E+07          | 2E+00 |
| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2058T) | 2E+07                          | 2E+00 | 2E+07               | 2E+01 | 2E+07          | 2E+01 |
| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> (A2059C) | 2E+07                          | 2E+01 | 2E+07               | 2E+01 | 2E+07          | 2E+00 |

Tabell 21. Mätintervall för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Sammanfattningsvis bestämdes mätintervallet för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System framgångsrikt enligt de acceptansvalideringskriterier som ursprungligen angavs. Detta säkerställer tillförlitliga, exakta och reproducerbara resultat över ett brett spektrum av bakteriebelastningar och bekräftar dess användbarhet i olika kliniska diagnosscenarion.

## 12.4. Noggrannhet

### 12.4.1. Riktighet

Riktighet hos VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System utvärderades genom testning av referensmaterial som anges nedan.

#### 1. Syntetiska cDNA-fragment

- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (vildtyp) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidkänslig *M. genitalium*: MGRXPC, HEX- och ROX-kanaler.
- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (A2058C-mutation) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- och ROX-kanaler.
- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (A2058G mutation) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- och ROX-kanaler.
- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (A2058T mutation) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- och ROX-kanaler.
- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (A2059C mutation) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- och ROX-kanaler.
- Syntetiskt cDNA-fragment för *23S rRNA*-gen (A2059G mutation) och *MgPA adhesin*-gener hos makrolidresistent *M. genitalium*: MGRXPC, FAM- och ROX-kanaler.

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

| Extern referens | Mikroorganism                | Produktnamn                               | Variant         |
|-----------------|------------------------------|---|-----------------|
| 49895           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam M30        |
| 33530           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam G37        |
| 49898           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam TW48-5G    |
| 49123           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam TW10-5G    |
| 49899           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam UMTB-10G   |
| 49896           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam TW10-6G    |
| 49897           | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al. | Stam R32G [R32] |

Tabell 22. Referensmaterial från American Type Culture Collection (ATCC).

#### 3. Kontroller

| Extern referens | Mikroorganism                | Produktnamn   | Variant   |
|-----------------|------------------------------|---|---|
| MBTC029         | <i>Mycoplasma genitalium</i> | AMPLIRUN® TOTAL<br>MACROLIDE RESISTANT MGE<br>CONTROL | – Känslig typstam<br>– A2059G-mutation i <i>23 rRNA</i> -gen<br>– A2058G-mutation i <i>23 rRNA</i> -gen |

Tabell 23. Kontrollmaterial från Vircell S.L.

#### 4. Externa kvalitetsbedömningsprogram (EQA)

| Extern referens | Ursprung | Mikroorganism                | Produktnamn                           | Variant                                     |
|-----------------|----------|------------------------------|---------------------------------------|---|
| MG23S-03        | QCMD     | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> G37 (WT) | Stam G37                                    |
| MG23S-06        | QCMD     | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> M6303    | 23S rDNA-mutation A2059G, makrolidresistent |
| MG23S-07        | QCMD     | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> M6593    | 23S rDNA-mutation A2059G, makrolidresistent |
| MG101S-04       | QCMD     | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> M6303    | Makrolidresistent                           |
| MG101S-06       | QCMD     | <i>Mycoplasma genitalium</i> | <i>Mycoplasma genitalium</i> M6593    | Makrolidresistent                           |

Tabell 24. Referensmaterial från program för extern kvalitetsbedömning (EQA).

#### 12.4.2. Precision

För att bestämma precisionen för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System utfördes intra-analys (repetierbarhet), inter-analys, mellan satser och mellan enheter (reproducerbarhet) med vaginal matris samt urinmatris från kvinnor respektive män berikad med en känd koncentration av referensstammarna: *Mycoplasma genitalium*, stam M30 (ref: 49895™) för makrolidkänslig *M. genitalium* och AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (ref: MBTC029) för makrolidresistent *M. genitalium*.

#### Intra-analys

Intra-analysen testades genom att analysera sex replikat av alla prover i samma körning med VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

| Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                 |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                     | Mål                  | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Urin från män                              | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 32,02            | 0,27     | 0,85 |
|  |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 30,98            | 0,32     | 1,03 |
|  |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,57            | 0,34     | 1,09 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 30,72            | 0,26     | 0,86 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 34,38            | 0,80     | 2,32 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 34,05            | 0,53     | 1,55 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 35,23            | 1,20     | 3,41 |

|                   |                      |                  |                 |       |      |      |
|-------------------|----------------------|------------------|-----------------|-------|------|------|
| Urin från kvinnor | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 34,02 | 0,83 | 2,44 |
|                   |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 33,50 | 0,67 | 2,01 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg   | e.t. | e.t. |
|                   | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 33,65 | 0,28 | 0,84 |
|                   |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 33,05 | 0,54 | 1,64 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg   | e.t. | e.t. |
|                   | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 32,75 | 0,50 | 1,53 |
|                   |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 33,22 | 0,37 | 1,12 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 32,97 | 0,23 | 0,71 |
| Vaginal           | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 32,48 | 0,29 | 0,88 |
|                   |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 30,90 | 0,71 | 2,30 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg   | e.t. | e.t. |
|                   | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,32 | 0,44 | 1,41 |
|                   |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 30,10 | 0,66 | 2,19 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg   | e.t. | e.t. |
|                   | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,12 | 0,47 | 1,50 |
|                   |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,20 | 0,61 | 1,97 |
|                   |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 31,23 | 0,25 | 0,80 |

Tabell 25. Resultat av intra-analys för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidkänslig *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t. = ej tillämpligt.

| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                 |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                       | Mål                  | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Urin från män                                | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 36,17            | 0,62     | 1,70 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 35,05            | 0,63     | 1,81 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 35,00            | 0,99     | 2,84 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 34,08            | 0,50     | 1,48 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 32,58            | 1,24     | 3,80 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 32,12            | 0,39     | 1,22 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 33,28            | 0,66     | 1,99 |
| Urin från kvinnor                            | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 33,72            | 0,51     | 1,52 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 33,30            | 0,37     | 1,12 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,67            | 0,48     | 1,48 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,62            | 0,27     | 0,86 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,45            | 0,29     | 0,92 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 30,73            | 0,56     | 1,83 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 34,45            | 0,44     | 1,27 |
| Vaginal                                      | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 34,33            | 1,34     | 3,90 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 33,75            | 0,27     | 0,79 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,55            | 1,15     | 3,52 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,02            | 0,34     | 1,07 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |

| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stam |     |                  |                 |                  |          |      |
|--|-----|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                       | Mål | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
|  | EIC | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 32,13            | 0,73     | 2,28 |
|  |     | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,20            | 0,72     | 2,29 |
|  |     | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 34,15            | 0,50     | 1,46 |

Tabell 26. Resultat av intra-analys för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidresistent *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t. = ej tillämpligt.

### Inter-analys

Inter-analys testades genom testning av fyra replikat för de olika proverna under tre olika dagar av tre olika operatörer med VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

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

Tabell 27. Resultat av inter-analys för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidkänslig *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t.= ej tillämpligt.

| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                 |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                       | Mål                  | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Urin från män                                | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 35,98            | 1,00     | 2,78 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 35,31            | 0,90     | 2,56 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 34,61            | 1,08     | 3,12 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 33,52            | 0,59     | 1,76 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 33,10            | 0,76     | 2,30 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 32,54            | 0,74     | 2,27 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 34,65            | 1,30     | 3,74 |
| Urin från kvinnor                            | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 33,08            | 1,28     | 3,87 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 31,98            | 0,79     | 2,48 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,92            | 1,01     | 3,15 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 30,91            | 0,70     | 2,27 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,15            | 0,43     | 1,40 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 30,14            | 0,54     | 1,78 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 33,54            | 1,09     | 3,25 |
| Vaginal                                      | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 34,72            | 1,34     | 3,87 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 34,22            | 1,27     | 3,71 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,52            | 1,16     | 3,57 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,36            | 1,33     | 4,11 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 30,61            | 0,44     | 1,42 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 30,59            | 0,64     | 2,08 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 30,98            | 0,55     | 1,78 |

Tabell 28. Resultat av inter-analys för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidresistent *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t.= ej tillämpligt.

### Analys mellan satser

Värdena för analys mellan satser bestämdes med sex replikat av olika prover genom användning av tre satser av VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

| Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |               |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|---------------|------------------|----------|------|
| Matris                                     | Mål                  | Prov             | Kanal         | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Urin från män                              | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX) | 32,77            | 0,89     | 2,71 |
|  |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX) | 31,46            | 0,57     | 1,81 |
|  |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX) | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX) | 31,70            | 0,47     | 1,48 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX) | 30,52            | 0,50     | 1,64 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX) | Neg              | e.t.     | e.t. |

| Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                      |                  |                  |               |       |      |      |
|--|----------------------|----------------------|------------------|------------------|---------------|-------|------|------|
| Matris                                     | Mål                  | Prov                 | Kanal            | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$      | CV %  |      |      |
| Urin från kvinnor                          | EIC                  | 3xLoD                | 680/715 (CY5.5)  | 34,74            | 0,67          | 1,92  |      |      |
|  |                      | 5xLoD                | 680/715 (CY5.5)  | 34,96            | 1,48          | 4,22  |      |      |
|  |                      | Negativ kontroll     | 680/715 (CY5.5)  | 35,44            | 1,01          | 2,85  |      |      |
|  | Urin från kvinnor    | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)    | 34,72         | 0,81  | 2,34 |      |
|  |                      |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)    | 33,39         | 0,77  | 2,39 |      |
|  |                      |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)    | Neg           | e.t.  | e.t. |      |
|  |                      | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)    | 34,24         | 1,19  | 3,46 |      |
|  |                      |                      |                  | 5xLoD            | 585/630 (ROX) | 32,96 | 0,77 | 2,32 |
|  |                      |                      |                  | Negativ kontroll | 585/630 (ROX) | Neg   | e.t. | e.t. |
| EIC  |                      |                      | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 35,46         | 1,79  | 5,08 |      |
|  |                      |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 34,58         | 1,15  | 3,32 |      |
|  |                      |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5)  | 33,53         | 0,58  | 1,74 |      |
| Vaginal                                    | Makrolidkänslighet   | 3xLoD                | 530/565 (HEX)    | 31,62            | 0,98          | 3,11  |      |      |
|  |                      | 5xLoD                | 530/565 (HEX)    | 30,88            | 0,83          | 2,67  |      |      |
|  |                      | Negativ kontroll     | 530/565 (HEX)    | Neg              | e.t.          | e.t.  |      |      |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD                | 585/630 (ROX)    | 31,02            | 0,94          | 3,03  |      |      |
|  |                      |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)    | 30,37         | 0,73  | 2,40 |      |
|  |                      |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)    | Neg           | e.t.  | e.t. |      |
|  |                      | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 31,29         | 0,46  | 1,47 |      |
|  |                      |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 31,26         | 0,38  | 1,23 |      |
|  |                      |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5)  | 31,06         | 0,39  | 1,27 |      |

Tabell 29. Resultat av analys mellan satser för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidkänslig *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t.= ej tillämpligt.

| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                  |                  |          |      |      |
|--|----------------------|------------------|------------------|------------------|----------|------|------|
| Matris                                       | Mål                  | Prov             | Kanal            | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |      |
| Urin från män                                | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)    | 36,46            | 1        | 2,73 |      |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)    | 35,47            | 0,76     | 2,14 |      |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)    | Neg              | e.t.     | e.t. |      |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)    | 34,68            | 0,76     | 2,20 |      |
|  |                      |                  | 5xLoD            | 585/630 (ROX)    | 33,85    | 0,63 | 1,86 |
|  |                      |                  | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)    | Neg      | e.t. | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 33,57            | 1,25     | 3,73 |      |
|  |                      |                  | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 32,55    | 0,61 | 1,88 |
|  |                      |                  | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5)  | 32,49    | 0,73 | 2,24 |
| Urin från kvinnor                            | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)    | 32,81            | 0,96     | 2,93 |      |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)    | 32,38            | 0,84     | 2,59 |      |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)    | Neg              | e.t.     | e.t. |      |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)    | 31,27            | 1,15     | 3,68 |      |
|  |                      |                  | 5xLoD            | 585/630 (ROX)    | 30,57    | 0,92 | 3,02 |
|  |                      |                  | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)    | Neg      | e.t. | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 30,25            | 0,91     | 3,02 |      |
|  |                      |                  | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5)  | 30,13    | 0,58 | 1,92 |
|  |                      |                  | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5)  | 33,51    | 1,02 | 3,06 |

| Makrolidresistent <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                 |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                       | Mål                  | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Vaginal                                      | Makrolidresistens    | 3xLoD            | 475/520 (FAM)   | 34,34            | 1,39     | 4,05 |
|  |                      | 5xLoD            | 475/520 (FAM)   | 33,96            | 0,62     | 1,82 |
|  |                      | Negativ kontroll | 475/520 (FAM)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,66            | 1,26     | 3,85 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 32,23            | 0,51     | 1,60 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,43            | 0,75     | 2,40 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 30,76            | 0,58     | 1,87 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 32,24            | 1,44     | 4,46 |

Tabell 30. Resultat av analys mellan satser för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System med makrolidresistent *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel, ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t. = ej tillämpligt.

### Analys mellan enheter

Värdena för analys mellan enheter bestämdes med sex replikat av samma prover som användes för intra-analys, inter-analys och analys mellan satser med användning av VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Dessa analyser kördes på tre laboratorier med tre olika BD MAX™ System. En sammanfattning av resultat visas i tabellen nedan.

| Makrolidkänslig <i>M. genitalium</i> -stam |                      |                  |                 |                  |          |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|------------------|----------|------|
| Matris                                     | Mål                  | Prov             | Kanal           | Ct ( $\bar{x}$ ) | $\sigma$ | CV % |
| Urin från män                              | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 31,96            | 0,43     | 1,35 |
|  |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 31,00            | 0,40     | 1,30 |
|  |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,78            | 0,56     | 1,75 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 30,88            | 0,9      | 0,94 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 34,48            | 0,87     | 2,53 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 34,51            | 0,87     | 2,51 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 32,46            | 0,62     | 1,92 |
| Urin från kvinnor                          | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 34,31            | 0,97     | 2,81 |
|  |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 33,72            | 0,52     | 1,54 |
|  |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 33,85            | 0,80     | 2,35 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 33,38            | 0,63     | 1,88 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 33,16            | 0,56     | 1,69 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 33,06            | 0,44     | 1,32 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 33,08            | 0,62     | 1,87 |
| Vaginal                                    | Makrolidkänslighet   | 3xLoD            | 530/565 (HEX)   | 32,55            | 0,81     | 2,48 |
|  |                      | 5xLoD            | 530/565 (HEX)   | 32,57            | 0,52     | 1,60 |
|  |                      | Negativ kontroll | 530/565 (HEX)   | Neg              | e.t.     | e.t. |

|  |                      |                  |                 |       |      |      |
|--|----------------------|------------------|-----------------|-------|------|------|
|  | <i>M. genitalium</i> | 3xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,42 | 0,88 | 2,81 |
|  |                      | 5xLoD            | 585/630 (ROX)   | 31,54 | 0,44 | 1,40 |
|  |                      | Negativ kontroll | 585/630 (ROX)   | Neg   | e.t. | e.t. |
|  | EIC                  | 3xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 31,12 | 0,33 | 1,07 |
|  |                      | 5xLoD            | 680/715 (CY5.5) | 33,58 | 0,56 | 1,68 |
|  |                      | Negativ kontroll | 680/715 (CY5.5) | 30,84 | 0,50 | 1,61 |

Tabell 31. Resultat mellan enheter för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System med makrolidkänslig *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t. = ej tillämpligt.

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

Tabell 32. Resultat mellan enheter för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System med makrolidresistent *M. genitalium*-stam. (Ct) = tröskelcykel. ( $\bar{x}$ ) = aritmetiskt Ct-medelvärde, ( $\sigma$ ) = standardavvikelse, (CV %) = variationskoefficient, Neg = negativt, e.t. = ej tillämpligt.

Precisionstudien bekräftade en tillförlitlig prestanda och konsekvens över alla testade matriser, i enlighet med de initialt angivna valideringskriterierna för godkännande.

## 12.5. Analytisk specificitet och reaktivitet

Den analytiska specificiteten och reaktiviteten utvärderades för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System *in silico* och experimentellt och med användning av olika startmaterial, som certifierade referensstammar, certifierat referens-RNA/DNA och material från EQA-program.

### 12.5.1. Analytisk specificitet

Analytisk specificitet är analysens förmåga att detektera den avsedda målsekvensen. Det finns två komponenter som ska beaktas för analytisk specificitet: korsreaktivitet och interferens. Korsreaktivitet kan inträffa när genetiskt relaterade sekvenser finns i ett patientprov, medan interferens kan inträffa om förekomsten av specifika ämnen som eventuellt förekommer i provmatriserna påverkar qPCR-prestandan.

#### Korsreaktivitet *in silico*-analys

Korsreaktiviteten utvärderades med hjälp av referenssekvenser av patogenerna från NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), och/eller sök- och/eller aligheringsverktyg, som BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) samt ett internt bioinformatikanalysprogram. BLAST-analys för varje primer och prob över NCBI Genbank Nucleotide Database och en intern bioinformatikanalys utfördes.

Sammanpassade sekvenser med en procentuell sammanpassning på mindre än 80 % homologi ansågs osannolika att detekteras. Resultaten som erhöles var följande:

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

Alla analyserade sekvenser uppvisade lägre än 80 % homologi med primers och probset för *Mycoplasma genitalium* (MgPA adhesin-gen).

Därför bör VIASURE *Mycoplasma genitalium*-målutformningar inte orsaka falskt positiva resultat vid detektion av *Mycoplasma genitalium* när andra organismer förekommer.

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

BLAST-analys filtrerad efter 23S rRNA-genen hos *M. genitalium* (exklusive *M. genitalium*) uppvisar hög homologi mellan primrarna och proverna och flera "Uncultured *Mycoplasma* sp. (taxonomiskt ID: 167967)" -sekvenser och en "Synthetic *Mycoplasma genitalium* JCVI-1.0 (taxonomiskt ID: 488339)"-sekvens.

"Uncultured *Mycoplasma* sp. (taxonomiskt ID: 167967)" -sekvenser detekteras med primrarna och proberna för makrolidresistent och makrolidkänslig *M. genitalium*. Det finns därför ingen risk för korsreaktivitet i produkten, eftersom det krävs detektion i kanalen för mikroorganismen (*M. genitalium*) och i kanalen för makrolidresistens eller makrolidkänslighet för att ett prov ska bedömas som positivt.

"*Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (taxonomiskt ID: 488339)" detekteras med primrarna och proben för makrolidkänslighet. Det är en sekvens som motsvarar målmikroorganismen och måste detekteras. Denna sekvens förekommer i korsreaktiviteten eftersom den har ett annat taxonomiskt ID än den som användes vid exkluderingen.

Därför kan ingen av de analyserade sekvenserna, inklusive de som visar en homologi högre än 80 %, påverka den korrekta detekteringen av *Mycoplasma genitalium* (23S rRNA-gen).

### Analytisk specificitet, experimentell testning

#### Korsreaktivitet, experimentell testning

Korsreaktiviteten för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System konfirmerades genom testning av en panel med olika mikroorganismer associerade med symtom på sexuellt överförda infektioner eller miljömässigt och fylogenetiskt relevanta mikroorganismer. När det var möjligt och koncentrationsdata fanns tillgängliga utvärderades mikroorganismer som interfererade på medicinskt relevanta nivåer (vanligtvis 1E+05 – 1E+06 CFU (kolonibildande enhet)/mL för bakterier och 1E+04 – 1E+05 PFU (plackbildande enhet)/mL för virus). Ingen korsreaktivitet detekterades mellan någon av följande mikroorganismer som testades, förutom målmikroorganismerna.

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

| Test av korsreaktivitet      |   |   |     |                               |   |
|------------------------------|---|---|-----|-------------------------------|---|
| <i>Escherichia coli</i>      | – | <i>Mycoplasma genitalium</i> , stam TW10-6G | –/+ | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | – |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | – |   |     |                               |   |

Tabell 33. Referensmikroorganismer som ingår i analysen av korsreaktivitet. Resultatet +/- avser det positiva eller negativa resultat som erhöles i de olika kanalerna beroende på vilket mål som detekterats. Om en testad mikroorganism är ett av målen som detekteras av enheten erhöles ett positivt resultat i motsvarande kanal, men ett negativt resultat i de andra kanalerna.

Sammanfattningsvis uppfyllde resultaten från korsreaktivitetsanalyser valideringskriterierna för godkännande och indikerar hög specificitet för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System för detektion av målen makrolidresistent *M. genitalium* och makrolidkänslig *M. genitalium*, vilket minimerar risken för falskt positiva resultat. Eftersom ingen icke-specifik amplifiering observerades med andra besläktade mikroorganismer tyder detta på att enheten kan skilja målen åt på ett korrekt sätt.

### Studie av störande mikrobiella agens

En studie om störande mikrobiella agens utfördes för att analysera potentiella störande mikrobiella agens för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System. En panel av olika kliniskt, miljömässigt och fylogenetiskt relevanta mikroorganismer testades i närvaro av referensstammarna: *Mycoplasma genitalium*, stam M30 (ref: 49895™) för makrolidkänslig *M. genitalium* och AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (ref: MBTC029) för makrolidresistent *M. genitalium*. När det var möjligt och koncentrationsdata fanns tillgängliga utvärderades mikroorganismer som interfererade på medicinskt relevanta nivåer (vanligtvis 1E+05 – 1E+06 CFU (kolonibildande enhet)/mL för bakterier och 1E+04 – 1E+05 PFU (plackbildande enhet)/mL för virus). Varje punktanalys utfördes en gång per prov.

Positiv matriskontroll (Positive Matrix Control, PMC) och negativ matriskontroll (Negative Matrix Control, NMC) inkluderades som kontroller för testet. Positiv matriskontroll (PMC) motsvarar den vaginala matrisen samt urinmatris från män och kvinnor med tillsats av specifika makrolidkänsliga och makrolidresistenta *M. genitalium*-målstammar utan något interfererande mikrobiellt agens, medan negativ matriskontroll (NMC) motsvarar den negativa matrisen utan något interfererande mikrobiellt agens.

| Mikroorganismens namn          | Testad koncentration | Resultat |
|--------------------------------|----------------------|----------|
| PMC                            | –                    | e.t.     |
| NMC                            | –                    | e.t.     |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 8,10E+05 CFU/mL      | I.S.     |
| <i>Gardnerella vaginalis</i>   | 4,40E+01 CFU/μL      | I.S.     |
| <i>Haemophilus influenzae</i>  | 5,20E+02 CFU/uL      | I.S.     |
| Herpes simplexvirus 1          | 1,60E+05 TCID50/mL   | I.S.     |
| <i>Listeria monocytogenes</i>  | 5,80E+06 CFU/mL      | I.S.     |
| <i>Mycoplasma hominis</i>      | 4,70E+06 CFU/mL      | I.S.     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | 4,09E+05 CFU/mL      | I.S.     |

|  |                       |      |
|--|-----------------------|------|
| <i>Staphylococcus aureus</i>           | 4,60E+05 CFU/mL       | I.S. |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>        | 1,80E+01 CFU/ $\mu$ L | I.S. |
| <i>Treponema pallidum</i>              | 3,40E+04 celler/mL    | I.S. |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>              | 7,60E+03 kop/ $\mu$ L | I.S. |
| <i>Escherichia coli</i>                | e.t.                  | I.S. |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>           | e.t.                  | I.S. |
| <i>Atopobium vaginae</i>               | 4,52E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Candida albicans</i>                | 4,18E+04 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Candida glabrata</i>                | 2,46E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Candida tropicalis</i>              | 2,88E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> serovar E | 6,40E+05 IFU/mL       | I.S. |
| <i>Enterobacter cloacae</i>            | 1,28E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Enterococcus faecalis</i>           | 5,00E+04 CFU/mL       | I.S. |
| <i>Enterococcus faecium</i>            | 3,50E+04 CFU/mL       | I.S. |
| Herpes simplexvirus 2                  | 7,24E+03 TCID50/mL    | I.S. |
| Humant papillomvirus 16                | 1,00E+02 IU/uL        | I.S. |
| Humant papillomvirus 18                | 1,00E+02 IU/uL        | I.S. |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>           | 3,65E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Listeria monocytogenes</i>          | e.t.                  | I.S. |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>           | 6,20E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Neisseria meningitidis</i>          | 5,70E+04 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Proteus mirabilis</i>               | 2,55E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Serratia marcescens</i>             | e.t.                  | I.S. |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>    | 9,20E+03 CFU/uL       | I.S. |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i>          | 2,00E+04 CFU/uL       | I.S. |

Tabell 34. Analys av störande mikrobiella agens. I.S. = Ingen störning. e.t. = ej tillämpligt.

Sammanfattningsvis observerades ingen interferens vid detektion av RNA från makrolidkänslig och/eller makrolidresistent *M. genitalium* i vaginal matris samt i urin från kvinnor respektive män med någon av de testade mikroorganismerna.

### Studie av störande ämnen

En studie av störande ämnen genomfördes för att undersöka potentiella störningseffekter av endogena och exogena substanser på VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Totalt 17, 25 och 28 potentiellt störande ämnen adderades till den negativa vaginala svabbmatrisen, urinmatris från män respektive kvinnor, tillsatta med referensstammarna: *Mycoplasma genitalium*, stam M30 (ref: 49895™) för makrolidkänslig *M. genitalium* och AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (ref: MBTC029) för makrolidresistent *M. genitalium* och utvärderades med sex replikat.

Positiv matriskontroll (Positive Matrix Control, PMC) och negativ matriskontroll (Negative Matrix Control, NMC) inkluderades som kontroller för testet. PMC motsvarar den vaginala matrisen insamlad med Copan eSwab® samt urinmatris från män respektive kvinnor med tillsats av specifika makrolidkänsliga och makrolidresistenta *M. genitalium*-stammar utan något störande ämne, medan NMC motsvarar de negativa matriserna utan något störande ämne eller tillsatt mikroorganism/referensmaterial. Följande resultat erhöles:

| Vaginal matris                                    |                      |          |
|---|----------------------|----------|
| Ämnets namn                                       | Testad koncentration | Resultat |
| PMC   | –                    | e.t.     |
| NMC   | –                    | e.t.     |
| Aciklovir   | 6,60E-02 mg/mL       | I.S.     |
| Metronidazol                                      | 1,23E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Klotrimazol                                       | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Mikonazolnitrat                                   | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Conceptrol preventivmedelsgel (nonoxynol-9)       | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Tiokonazol  | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Leukocyter/monocyter                              | 2,00E+06 celler/mL   | I.S.     |
| Premeno Duo (hyaluronsyra och mjölksyra)          | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Deodorantspray för kvinnor                        | 5,00E+01 µL/mL       | I.S.     |
| Vaginalt glidmedel – vattenbaserat Durex Frescor  | 5,00E+01 µL/mL       | I.S.     |
| Vaginalt glidmedel – oljebaserad SOIVRE intimojla | 5,00E+01 µL/mL       | I.S.     |
| DermaVagisil vaginalkräm                          | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Preparation H Hemorrhoid Gel HEMOAL               | 2,50E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Estradiol   | 7,50E-03 ng/mL       | I.S.     |
| Progesteron                                       | 6,00E+00 ng/mL       | I.S.     |
| Sperma  | 5 %                  | I.S.     |
| Helblod   | 1 %                  | I.S.     |

Tabell 35. Potentiellt störande ämnen i vaginal matris. I.S. = Ingen rapporterbar störning / S. = Störning, e.t. = ej tillämpligt.

| Urin från män |                      |          |
|---------------|----------------------|----------|
| Ämnets namn   | Testad koncentration | Resultat |
| PMC           | –                    | e.t.     |
| NMC           | –                    | e.t.     |
| Ibuprofen     | 2,19E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Naproxen      | 3,60E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Amoxicillin   | 5,40E-02 mg/mL       | I.S.     |
| Azitromycin   | 1,10E-02 mg/mL       | I.S.     |
| Ceftriaxon    | 8,40E+01 mg/dL       | I.S.     |
| Erytromycin   | 1,38E-01 mg/mL       | I.S.     |

|   |                          |      |
|---|--------------------------|------|
| Metronidazol  | 1,23E-01 mg/mL           | I.S. |
| Sulfametoxazol  | 1,12E+00 mg/mL           | I.S. |
| Tetracyklinhydroklorid  | 2,40E-02 µg/mL           | I.S. |
| Trimetoprim   | 4,20E-02 µg/mL           | I.S. |
| Albumin   | 1,00E+01 mg/mL           | I.S. |
| Bilirubin   | 4,00E-01 mg/mL           | I.S. |
| Glukos (dextros)  | 1,00E+01 mg/mL           | I.S. |
| Leukocyter/monocyter  | 2,00E+06 celler/mL       | I.S. |
| Lågt pH (HCl)   | N/A                      | I.S. |
| Högt pH (NaOH)  | N/A                      | I.S. |
| Sperma  | 5 %                      | I.S. |
| Urea  | 1,20E+00 mg/mL           | I.S. |
| Urinsyra  | 2,35E-01 mg/mL           | I.S. |
| Helblod   | 1 %                      | S.*  |
|   | 0,25 %                   | I.S. |
|   | 0,125 %                  | I.S. |
| Antocianin (amerikanskt tranbär, <i>Vaccinium macrocarpon</i> ) | 1,09E-01 mg/mL           | I.S. |
| Talquistina   | 2,64E+00 mL Talq/mL dvte | I.S. |
| 4-acetamidofenol  | 1,56E-01 mg/mL           | I.S. |
| Fenazopyridinhydroklorid  | 1,60E-01 mg/mL           | I.S. |
| Salicylsyra   | 1,50E-01 mg/mL           | I.S. |

Tabell 36. Potentiellt störande ämnen i urinmatris från män. I.S. = Ingen rapportierbar störning / S. = Störning, e.t. = ej tillämpligt.

\*Hämning observerad endast för makrolidresistent *M. genitalium*-mål.

| Urinmatris från kvinnor |                      |          |
|-------------------------|----------------------|----------|
| Ämnets namn             | Testad koncentration | Resultat |
| PMC                     | -                    | e.t.     |
| NMC                     | -                    | e.t.     |
| Ibuprofen               | 2,19E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Naproxen                | 3,60E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Amoxicillin             | 5,40E-02 mg/mL       | I.S.     |
| Azitromycin             | 1,10E-02 mg/mL       | I.S.     |
| Ceftriaxon              | 8,40E+01 mg/dL       | I.S.     |
| Erytromycin             | 1,38E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Metronidazol            | 1,23E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Sulfametoxazol          | 1,12E+00 mg/mL       | I.S.     |
| Tetracyklinhydroklorid  | 2,40E-02 µg/mL       | I.S.     |
| Trimetoprim             | 4,20E-02 µg/mL       | I.S.     |
| Albumin                 | 1,00E+01 mg/mL       | I.S.     |
| Bilirubin               | 4,00E-01 mg/mL       | I.S.     |
| Glukos (dextros)        | 1,00E+01 mg/mL       | I.S.     |

| Urinmatris från kvinnor   |                          |          |
|---|--------------------------|----------|
| Ämnets namn   | Testad koncentration     | Resultat |
| Leukocyter/monocyter  | 2,00E+06 celler/mL       | I.S.     |
| Lågt pH (HCl) 4   | N/A                      | S.*      |
| Lågt pH (HCl) 5   | N/A                      | S.*      |
| Lågt pH (HCl) 6   | N/A                      | I.S.     |
| Högt pH (NaOH)  | N/A                      | I.S.     |
| Sperma  | 5 %                      | I.S.     |
| Urea  | 1,20E+00 mg/mL           | I.S.     |
| Urinsyra  | 2,35E-01 mg/mL           | I.S.     |
| Helblod   | 1 %                      | I.S.     |
| Antocianin (amerikanskt tranbär, <i>Vaccinium macrocarpon</i> ) | 1,09E-01 mg/mL           | I.S.     |
| Talquistina   | 2,64E+00 mL Talq/mL dvte | I.S.     |
| 4-acetamidofenol  | 1,56E-01 mg/mL           | S.*      |
|   | 3,90E-02 mg/mL           | I.S.     |
|   | 9,75E-03 mg/mL           | I.S.     |
| Fenazopyridinhydroklorid  | 1,60E-01 mg/mL           | I.S.     |
| Salicylsyra   | 1,50E-01 mg/mL           | I.S.     |
| 17- $\alpha$ -etinylestradiol                                   | 7,50E-03 ng/mL           | I.S.     |
| Noretindron   | 1,60E+01 ng/mL           | I.S.     |
| Deodorantspray för kvinnor                                      | 5,00E+01 $\mu$ L/mL      | I.S.     |

Tabell 37. Potentiellt störande ämnen i urinmatris från kvinnor. I.S. = Ingen rapporterbar störning / S. = Störning, e.t. = ej tillämpligt.

\*Hämning observerad endast för makrolidkänslig *M. genitalium*-mål.

Sammanfattningsvis testades olika potentiellt störande ämnen, både endogena och exogena, på VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System. De erhållna resultaten påvisade vid de testade koncentrationerna att ingen störning från de utvärderade ämnena observeras.

### 12.5.2. Analytisk reaktivitet

Analytisk reaktivitet kan definieras som andelen av mikrobiella målstammar eller DNA/RNA-prover som ger korrekt positivt resultat. Analytisk reaktivitet studerades *in silico* och genom experimentella tester.

#### Analytisk reaktivitet *in silico*-analys

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System utvärderades med den offentligt tillgängliga nukleotidsekvensdatabasen NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) och ett internt program för bioinformatisk analys för att visa att målgenen kan detekteras korrekt av den undersökta enheten. En *in silico*-analys av primer- och probdesign genomfördes genom alignering mot totalt 2 399 analyserade sekvenser (nedladdade från databas och rensade från dubletter). Resultaten anges i följande tabell:

| <i>Mycoplasma genitalium</i> |                           |                    |                                   |                          |                               |
|------------------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Gen                          | Alignerade sekvenser: 486 |                    |                                   |                          |                               |
|                              | Utan felmatchningar       | Med felmatchningar | Sekvenser med bekräftad detektion | Sekvenser utan detektion | Sekvenser med okänd detektion |
| <i>MgPA adhesin</i>          | 74,07 %                   | 25,93 %            | 74,07 %                           | 0 %                      | 25,93 %*                      |

| <i>Mycoplasma genitalium</i> |                          |                    |                                   |                          |                               |
|------------------------------|--------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Gen                          | Alignerade sekvenser: 17 |                    |                                   |                          |                               |
|                              | Utan felmatchningar      | Med felmatchningar | Sekvenser med bekräftad detektion | Sekvenser utan detektion | Sekvenser med okänd detektion |
| <i>23S RNA</i>               | 82,35 %                  | 17,65 %            | 100 %                             | 0 %                      | 0 %                           |

Tabell 38. Analytisk reaktivitet *in silico*-analys. "Alignerade sekvenser" = antal sekvenser som har alignerats utan eller med felmatchningar från det totala antalet analyserade sekvenser, "Sekvenser med bekräftad detektion" = sekvenser utan felmatchningar eller sekvenser som analyserats experimentellt vars detektion är garanterad, "Sekvenser utan detektion" = sekvenser som tidigare analyserats *in silico* och vars experimentella detektion inte kan garanteras på grund av tidigare negativt experimentellt underlag, "Sekvenser med okänd detektion" = sekvenser som tidigare analyserats *in silico* och vars experimentella detektion inte kan garanteras på grund av avsaknad av experimentellt underlag.

\*Det bör noteras att 20,78 % av alla alignerade sekvenser (101/486) uppvisade icke-kritiska felmatchningar som anses kunna detekteras.

Sammanfattningsvis visade inklusivetsanalysen en korrekt detektion av *MgPA adhesin* och *23S rRNA*-generna hos *M. genitalium* med VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

### Analytisk reaktivitet, experimentell testning

Den analytiska reaktiviteten för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System for *Mycoplasma genitalium* utvärderades mot DNA från följande stammar, med positivt resultat:

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

## 12.6. Metrologisk spårbarhet

Denna analys är inte utformad för mättingsändamål.

### 13. Kliniska prestandaegenskaper

Den kliniska prestandan för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System testades med vaginala prover och urinprover. Resultaten var följande:

|   | Plats   | Provtyp          | Arbetsflöde                                | Mål  |
|---|---|------------------|--|--|
| 1 | Certest Biotec S.L.<br>i samarbete med Hospital<br>Universitario Miguel Servet<br>(Zaragoza, Spanien) | Vaginala svabbar | BD MAX™ ExK™ TNA-3-kit + BD<br>MAX™ System | Makrolidkänslig <i>Mycoplasma<br/>genitalium</i>   |
|   |   |                  |  | Makrolidresistent <i>Mycoplasma<br/>genitalium</i> |
| 2 | Certest Biotec S.L.<br>(Zaragoza, Spanien) med<br>prover från Cerba Xpert                             | Urin             | BD MAX™ ExK™ TNA-3-kit + BD<br>MAX™ System | Makrolidkänslig <i>Mycoplasma<br/>genitalium</i>   |
|   |   |                  |  | Makrolidresistent <i>Mycoplasma<br/>genitalium</i> |

Tabell 39. Plats, provtyp, arbetsflöde och mål.

Sanna positiva och negativa värden, falskt positiva och negativa värden, sensitivitet, specificitet, förväntat positiva värden (PPV) och förväntat negativa värden (NPV) samt sannolikhetskvot (LR) för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System beräknades i relation till respektive jämförelseanalys enligt följande tabell:

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

Tabell 40. Sant positiva (TP) och negativa värden (TN), falskt positiva (FP) och falskt negativa (FN) värden, sensitivitet, specificitet, positivt prediktivt värden (PPV), negativt prediktivt värden (NPV) och sannolikhetskvoter (LR) för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Sammanfattningsvis visar resultaten en hög överensstämmelse för att detektera makrolidkänslig och makrolidresistent *M. genitalium* med VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

## 14. Sammanfattning av säkerhet och prestanda

Sammanfattningen av säkerhet och prestanda för VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System kan laddas ned från webbplatsen: [certest.es/viasure/labeling](http://certest.es/viasure/labeling). Denna sammanfattning finns även på EUDAMED:s webbplats (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

## Bibliografi

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

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













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

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

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

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

## Symboler för IVD-komponenter och reagenser

|   |   |  |  |   |
|---|---|--|--|---|
|  Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik |  Håll torrt              |  Utgångsdatum                           |  Tillverkare              |  Partinummer   |
|  Se bruksanvisningen                                    |  Temperaturgräns         |  Innehåller tillräckligt för <n> tester |  Unik enhetsidentifiering |  Katalognummer |
|  CE-märkning  |  Håll borta från solljus |  |  |   |

## Varumärken

BD MAX™ är ett registrerat varumärke som tillhör Becton, Dickinson and Company.

Modifieringsrättigheter förbehålls. Alla rättigheter förbehålls. © Certest Biotec, S.L.

Alla andra varumärken som kan anges i denna bipacksedel är respektive ägares egendom.



Certest Biotec, S.L.

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

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

**Information om australiensisk sponsor:** Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.  
Macquarie Park NSW 2113, Australien

**Information om nyzeeländsk sponsor:** Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.  
Mt. Wellington Auckland 1060, Nya Zeeland

| Ändringshistorik |   |            |
|------------------|---|------------|
| Versionsnr       | Ändringar   | Datum      |
| 00               | Originalversion.<br>Denna version är en översättning av originaldokumentet<br>engelska: IUo-444224en0226.00 | 2026-02-18 |

Tabell A2. Kontrolländringstabell.

Revision: 18 februari 2026





# VIASURE

by **certest**

