

Aptima Mycoplasma genitalium Assay

In-vitro-Diagnostikum.

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Testprinzip	3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	4
Laborbezogen	4
Probenbezogen	5
Testbezogen	6
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	7
Probenentnahme und -lagerung	8
Transport von Patientenproben	9
Panther System	10
Reagenzien und Materialien	10
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	11
Optionale Materialien	12
Testverfahren mit dem Panther System	13
Verfahrenshinweise	16
Qualitätskontrolle	17
Assay-Kalibrierung	17
Interne Kontrolle	17
Interpretation der Ergebnisse	18
Ergebnisse und Akzeptanz von Qualitätskontrollen	18
Einschränkungen	20
Testleistung auf dem Panther System	22
Testleistung klinischer und künstlich positiver Proben	22
Reproduzierbarkeit des Assays	22
Analytische Sensitivität	23
Kreuzreaktivität bei Vorliegen von Mikroorganismen	23
Interferenz	24
Literatur	25

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima Mycoplasma genitalium Assay ist ein *In-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstestest (NAAT) zum qualitativen Nachweis der ribosomalen RNA (rRNA) von *Mycoplasma genitalium* auf dem vollautomatisierten Panther System. Er ist bei Männern und Frauen zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Infektion mit *M. genitalium* im Urogenitaltrakt bestimmt.

Der Assay kann zur Untersuchung folgender Proben verwendet werden: Vom Arzt bzw. selbst abgenommene Vaginalabstriche, vom Arzt abgenommene Endozervikalabstriche, vom Arzt abgenommene Zervixabstriche in PreservCyt™-Lösung, selbst abgenommene Erststrahlurin-Proben von Männern und Frauen, vom Arzt abgenommene Urethralabstriche bei Männern und selbst abgenommene penile Harnröhrenabstriche (Meatus).

Zusammenfassung und Testerklärung

M. genitalium ist ein durch Geschlechtsverkehr übertragenes gramnegatives Bakterium, das zur Klasse der *Mollicutes* zählt. *M. genitalium* besitzt eine Zellmembran, jedoch keine Zellwand und findet sich bei Männern und Frauen auf sowie in den Epithelzellen des Urogenitaltraktes.

Die Prävalenz einer Infektion mit *M. genitalium* bei Männern und Frauen mit geringerem Erkrankungsrisiko wird in der Literatur mit etwa 1–3 % angegeben (1, 2, 3, 4). In Patientenkollektiven mit höherem Erkrankungsrisiko liegt die Prävalenz unter Männern bei 10–41 % bzw. unter Frauen bei 7,3–14 % (3, 5, 6, 7). In den Gruppen mit erhöhtem Risiko übersteigt die Prävalenz von *M. genitalium* häufig den Wert für *Neisseria gonorrhoeae* und liegt etwa auf demselben Niveau wie bei *Chlamydia trachomatis* (8, 9, 10, 11, 12).

In einem Übersichtsartikel zu den hierzu veröffentlichten Studien zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen einer Infektion mit *M. genitalium* und der Nicht-Gonokokken-Urethritis (NGU) bei Männern (13). Unter den untersuchten Patienten fand sich *M. genitalium* bei 15–25 % der Männer mit symptomatischer NGU und bei > 30 % der Männer mit nicht durch Chlamydien bedingter NGU. Mehrere Studien an Patientinnen konnten nachweisen, dass *M. genitalium* mit Zervizitis einhergeht ($P \leq 0,03$; 8, 12, 14). Laut einer neueren Metaanalyse steigt bei einer Infektion mit *M. genitalium* das Risiko einer Zervizitis, entzündlichen Beckenerkrankung, vorzeitigen Geburt, eines Spontanaborts und der Unfruchtbarkeit etwa um das Doppelte an (15).

Infektionen mit M. genitalium werden meist nicht erkannt, da die infizierten Betroffenen entweder asymptomatisch sind oder Symptome aufweisen, die denen anderer bakterieller Infektionen des Urogenitaltraktes ähneln. Bei der Auswertung männlicher Patienten einer schwedischen Klinik für sexuell übertragbare Infektionen (STI) waren 61 % (17/28) der mit *M. genitalium* infizierten Männer symptomatisch, während 93 % (26/28) die Anzeichen einer Urethritis aufwiesen (14). Bei Frauen verläuft die Infektion mit *M. genitalium* häufig asymptomatisch. Bei der Auswertung von Patientinnen einer schwedischen Klinik für sexuell übertragbare Infektionen (STI) waren 77 % (17/22) der mit *M. genitalium* infizierten Frauen asymptomatisch, obwohl viele von ihnen die klinischen Anzeichen einer Infektion aufwiesen; 50 % (11/22) hatten Anzeichen einer Urethritis und/oder Zervizitis: 2 Frauen zeigten nur Anzeichen einer Urethritis, 6 nur die Anzeichen einer Zervizitis und 3 Patientinnen wiesen Anzeichen sowohl einer Urethritis als auch Zervizitis auf (16).

Die derzeitigen Therapieempfehlungen für Patienten mit signifikanten Anzeichen oder Symptomen betreffen primär Infektionen mit Chlamydien, Gonokokken und Trichomonaden. Allerdings ist die optimale Antibiose einer bakteriellen Urethritis und Zervizitis erregerspezifisch, so dass die therapeutische Gabe von Antibiotika gegen diese Keime für die Heilung einer Infektion mit *M. genitalium* nicht wirkungsvoll ist.

Da die Anzüchtung von *M. genitalium* ausgesprochen anspruchsvoll und schwierig ist, empfehlen die US Zentren für Gesundheitskontrolle und Prävention (United States Centers for Disease Control and Prevention—CDC) zum Nachweis von *M. genitalium* den Einsatz von Nukleinsäure-Amplifikationstests (NAAT) (17). Der Aptima Mycoplasma genitalium Assay ist ein NAAT, der zum Nachweis von 16s rRNA des *M. genitalium* drei Technologien nutzt: Target Capture, transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA) und Hybridisierungsschutz-Assay (HPA).

Testprinzip

Der Aptima Mycoplasma genitalium Assay umfasst drei Hauptschritte, die alle in einem einzigen Röhrchen auf dem Panther System stattfinden: Target Capture, transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA) und Hybridisierungsschutz-Assay (HPA). Der Assay verfügt über eine interne Kontrolle (IC) zur Überwachung von Capture, Amplifikation und Detektion der Nukleinsäuren sowie von Anwender- und Gerätefehlern.

Die gewonnenen Proben werden in entsprechenden Probenentransportröhrchen überführt. Die Transportlösung in diesen Gefäßen setzt das rRNA-Target frei und schützt es vor Abbau während der Lagerung. Bei Durchführung des Aptima Mycoplasma genitalium Assays im Labor wird die Ziel-rRNA, sofern vorhanden, durch Einsatz magnetischer Mikropartikel und eines spezifischen Fänger-Oligomers im so genannten Target Capture-Verfahren isoliert. Das Fänger-Oligomer enthält eine Sequenz, die zu einem spezifischen Bereich des Targetmoleküls komplementär ist, sowie eine Kette von Desoxyadenosinresten. Während des Hybridisierungsschritts bindet sich die sequenzspezifische Region des Fänger-Oligomers an eine spezifische Region des Targetmoleküls. Die Isolierung des Fänger-Oligomer/Target-Komplexes aus der Lösung erfolgt dann durch Absenkung der Reaktionstemperatur auf Raumtemperatur. Diese Temperatursenkung ermöglicht die Hybridisierung der Desoxyadenosinregion auf dem Fänger-Oligomer mit den Polydesoxythymidin-Molekülen, die kovalent an die Magnetpartikel gebunden sind. Die Mikropartikel, einschließlich der an sie gebundenen Targetmoleküle, werden mit Hilfe von Magneten an die Seite des Reaktionsgefäßes gezogen und der Überstand wird aspiriert. Die Partikel werden gewaschen, um Reste der Probenmatrix, die Amplifikationshemmer enthalten kann, zu entfernen. Nach Abschluss der Target-Capture-Schritte ist die rRNA zur Amplifikation bereit.

Target-Amplifikationstests basieren auf der Fähigkeit, komplementäre Oligonukleotid-Primer spezifisch reassoziieren zu lassen (Annealing) und eine enzymatische Amplifikation der Target-Nukleinsäurestränge zu ermöglichen. Die TMA-Reaktion von Hologic amplifiziert einen spezifischen Abschnitt der kleinen ribosomalen Untereinheit von *M. genitalium* über DNA- und RNA-Zwischenprodukte und erzeugt RNA-Amplikonmoleküle. Die Detektion der rRNA-Amplifikationsproduktsequenzen wird durch Nukleinsäurehybridisierung erreicht. Eine einsträngige chemilumineszierende DNA-Sonde, die komplementär zu einer Region des Target-Amplikons ist, wird mit einem Acridiniumestermolekül markiert. Die markierte DNA-Sonde bindet an das Amplikon und bildet stabile RNA:DNA-Hybride. Das Selektionsreagenz unterscheidet hybridisierte von ungebundener Sonde und unterbindet somit die Erzeugung eines Messsignal von einer nicht hybridisierten Sonde. Während des Detektionsschritts wird Licht, das von den markierten RNA-DNA-Hybriden emittiert wird, als Photonensignale in einem Luminometer gemessen und als relative Lichteinheiten (Relative Light Units, RLU) angegeben.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen die Packungsbeilage und das *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) vollständig durchgelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.
- C. Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima Mycoplasma genitalium Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- D. **Warnung: Reiz- und Ätzstoffe:** Kontakt von Auto Detect 1 und Auto Detect 2 mit der Haut, den Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt dieser Flüssigkeiten mit der Haut oder den Augen den betroffenen Bereich mit Wasser spülen. Bei Verschütten dieser Flüssigkeiten die Verschüttung mit Wasser verdünnen und dann aufwischen. Weitere Einzelheiten hierzu siehe das entsprechende Sicherheitsdatenblatt.
- E. Weitere spezielle Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen siehe das *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System).

Laborbezogen

- F. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- G. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.
***Hinweis:** Wie bei jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe benötigt.*
- H. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5–3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden. Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.
- I. Sämtliche Materialien, die mit den Proben und Reagenzien in Kontakt gekommen sind, sind gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften zu entsorgen.
- J. Zu der guten Standardpraxis für Molekularbiologie-Laboratorien gehört auch die Überwachung der Laborumgebung. Zur Überwachung der Laborumgebung wird folgende Vorgehensweise empfohlen:
 - a. Für jede zu untersuchende Fläche wird ein Aptima Unisex Abstrichkit für endozervikale Abstriche und Abstriche der männlichen Urethra benötigt.
 - b. Jedes Röhrchen entsprechend beschriften.
 - c. Die Probenentnahmetupfer (blauer Abstrichschaft mit grüner Beschriftung) aus der Verpackung nehmen.

- d. Zur Erfassung der Oberflächenproben die Probenentnahmetupfer leicht mit nukleasefreiem Wasser befeuchten.
- e. Die Abstrichbürste auf der betreffenden Oberfläche in einer vertikalen Bewegung von oben nach unten führen. Während der Probengewinnung die Abstrichbürste etwa eine halbe Drehung drehen.
- f. Die Abstrichprobe sofort in das Transportröhrchen einbringen.
- g. Den Schaft der Abstrichbürste an der Einkerbung vorsichtig abbrechen. Dabei darauf achten, dass der Inhalt nicht verspritzt wird.
- h. Das Transportgefäß für die Abstrichbürste wieder fest verschließen.
- i. Die Schritte mit den verbleibenden Abstrichbürsten-Proben wiederholen.
- j. Die Abstrichtupfer mit dem molekularen Assay testen.

Probenbezogen

- K. Das Verfallsdatum der Kits für den Probentransport bezieht sich auf die Gewinnung/den Transfer der Proben und nicht auf die Probestestung. Die zu irgendeinem Zeitpunkt vor diesen Verfallsdaten gesammelten/transferierten Proben sind selbst nach dem Verfallsdatum auf dem Transferröhrchen gültig für Tests, vorausgesetzt sie wurden gemäß der entsprechenden Packungsbeilage transportiert oder gelagert.
- L. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen zu befolgen. Die Vorgehensweise zur korrekten Handhabung und Entsorgung muss gemäß den geltenden regionalen, nationalen und internationalen Vorschriften festgelegt werden.
- M. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- N. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Wechseln Sie die Handschuhe, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.
- O. Nach der Punktion kann unter bestimmten Bedingungen aus den Verschlüssen der Aptima-Transportgefäße Flüssigkeit auslaufen. Nähere Informationen finden Sie unter *Testverfahren mit dem Panther System*.
- P. Nach der Zugabe von Urin muss der Füllstand im Urintransportröhrchen zwischen den beiden schwarzen Markierungslinien auf dem Reaktionsgefäßetikett liegen. Ansonsten muss die Probe verworfen werden.
- Q. Wenn das Labor ein Abstrichproben-Transportgefäß ohne Abstrichbürste, mit zwei Abstrichbürsten, mit einem Reinigungstupfer oder mit einem nicht von Hologic gelieferten Entnahmeanstrument erhält, muss die Probe verworfen werden.

Testbezogen

- R. Nach Ablauf des Verfallsdatums die Reagenzien- und Kalibrator-Kits nicht mehr verwenden.
- S. Verschließen und lagern Sie Reagenzien bei den angegebenen Temperaturen. Die Testleistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt sein. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien* und *Testverfahren mit dem Panther System* für weitere Informationen.
- T. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nicht ohne ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- U. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben und Ribonuklease vermeiden.
- V. Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht untereinander austauschen, vermischen oder kombinieren. Da Kalibratoren nicht chargenspezifisch sind, können Assay-Flüssigkeiten aus unterschiedlichen Chargen stammen.

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

Hinweis: Informationen zu eventuell mit den Reagenzien verbundenen Gefahren- und Vorsichtshinweisen finden sich in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologic.com/sds.

- A. Die folgende Tabelle zeigt die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien und Kalibratoren.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Offenes Kit (rekonstituiert)	
		Lagerung	Stabilität
Amplifikationsreagenz	2 °C bis 8 °C		
Enzymreagenz	2 °C bis 8 °C		
Sondenreagenz	2 °C bis 8 °C		
Internes Kontrollreagenz	2 °C bis 8 °C		
Amplifikationsrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage
Enzymrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage
Sondenrekonstitutionslösung	15 °C bis 30 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage
Target-Capture-Reagenz	15 °C bis 30 °C	15 °C bis 30 °C	30 Tage
Selektionsreagenz	2 °C bis 30 °C	2 °C bis 30 °C	30 Tage
Negativkalibrator	2 °C bis 8 °C		Fläschchen für den Einmalgebrauch
Positivkalibrator	2 °C bis 8 °C		Fläschchen für den Einmalgebrauch

- B. Bei gekühlter Lagerung des Selektionsreagenz sollte dieses sich erst auf Raumtemperatur erwärmen, bevor es in das Panther System eingebracht wird.
- C. Alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien und das Target Capture-Arbeitsreagenz (working Target Capture Reagent, wTCR) nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend) entsorgen.
- D. Ungeöffnete Kontrollen sind bis zu dem Datum stabil, das auf dem jeweiligen Fläschchen angegeben ist.
- E. Im Panther System gelagerte rekonstituierte Reagenzien sind im Gerät 156 Stunden stabil. Das Laden von Reagenzien wird jedes Mal im Panther System-Protokoll vermerkt.
- F. Bei Handhabung und Lagerung der Reagenzien Kreuzkontamination vermeiden. Sämtliche rekonstituierten Reagenzien jedes Mal vor Lagerung mit neuen Reagenzienverschlüssen verschließen.
- G. Das Sondenreagenz und das rekonstituierte Sondenreagenz sind lichtempfindlich. Während der Lagerung diese Reagenzien vor Licht schützen.
- H. Reagenzien nicht einfrieren.

Probenentnahme und -lagerung

Hinweis: Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.

Hinweis: Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.

Der Aptima Mycoplasma genitalium Assay kann zur Untersuchung folgender Proben verwendet werden: Vom Arzt bzw. selbst abgenommene Vaginalabstriche, vom Arzt abgenommene Endozervikalabstriche, vom Arzt abgenommene Zervixabstriche in PreservCyt™-Lösung, selbst abgenommene Erststrahlurin-Proben von Männern und Frauen, vom Arzt abgenommene Urethralabstriche bei Männern und selbst abgenommene penile Harnröhrenabstriche. Die Assay-Leistung wurde ausschließlich mit Proben ermittelt, die mit folgenden Kits gewonnen wurden:

- Aptima Unisex Abstrichkit für Endozervikalabstriche und Abstriche der männlichen Urethra
- Aptima Urinprobenkit für Männer und Frauen
- Aptima Entnahmekit für Vaginalabstriche
- Aptima Multitest-Kit für Vaginalabstriche und Abstriche des männlichen Meatus
- Aptima Probentransport-Kit (zur Verwendung bei gynäkologischen Proben, die in PreservCyt-Lösung abgenommen wurde)

A. Probenentnahme

Die Anleitung zur Probengewinnung ist in der Packungsbeilage des entsprechenden Probenentnahmekits enthalten.

B. Probentransport und -lagerung vor dem Test:

1. Abstrichproben

- a. Nach ihrer Abnahme können Abstrichproben in Transportröhrchen bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von maximal 60 Tagen gelagert werden.
- b. Sollte eine längere Lagerung erforderlich sein, können Abstriche in Transportröhrchen bei -20 °C oder -70 °C für weitere 90 Tage gelagert werden.

2. Urinproben:

- a. Vor Untersuchung der Urinproben muss der Urin gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage des Urinprobenkits in ein Aptima Urintransportröhrchen transferiert werden.
- b. Nach Probengewinnung können Urinproben im Primärentnahmebehälter bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von maximal 24 Stunden gelagert werden, bevor der Urin in das Transportröhrchen transferiert wird.
- c. Nach ihrer Abnahme können aufbereitete Urinproben in Transportröhrchen bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von maximal 30 Tagen (ab Transfer) gelagert werden.
- d. Sollte eine längere Lagerung erforderlich sein, kann die aufbereitete Urinprobe im Transportröhrchen bei -20 °C oder -70 °C für weitere 90 Tage gelagert werden (ab Transfer).

3. In PreservCyt-Lösung gewonnene Proben
 - a. Vor der Untersuchung gynäkologischer Proben in PreservCyt-Lösung muss ein Flüssigkeitsvolumen gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage des Aptima Probentransferkits in ein Aptima Probentransportröhrchen transferiert werden.
 - b. Nach ihrer Gewinnung können gynäkologische Proben im Fläschchen mit PreservCyt-Lösung bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von maximal 30 Tagen gelagert werden, bevor der Inhalt in das Aptima Probentransportröhrchen transferiert wird.
 - c. Aufbereitete gynäkologische Proben in den Transportröhrchen können bei 2 °C bis 30 °C für einen Zeitraum von maximal 60 Tagen (ab Transfer) gelagert werden.
 - d. Sollte eine längere Lagerung erforderlich sein, können aufbereitete gynäkologische Proben im Transferröhrchen bei -20 °C oder -70 °C für weitere 90 Tage gelagert werden (ab Transfer).
- C. Probenlagerung nach dem Test:
 1. Die bereits getesteten Proben müssen aufrecht stehend in einem Ständer gelagert werden.
 2. Die Probentransportgefäße sind mit einem neuen Barrierschutz aus sauberer Kunststoffolieolie zu umschließen.
 3. Wenn getestete Proben versendet werden müssen, sind die durchstechbaren Verschluss auf den Probentransportröhrchen zu entfernen und durch neue durchstechfeste Verschluss zu ersetzen. Wenn Proben zum Test an eine andere Einrichtung versendet werden müssen, müssen die empfohlenen Temperaturen eingehalten werden. Vor der Entfernung des Verschlusses müssen die Probentransportgefäße 5 Minuten bei 420 RCF (Relative Zentrifugalkraft) zentrifugiert werden, damit sich die gesamte Flüssigkeit am Boden des Gefäßes sammelt. **Spritzer und Kreuzkontamination vermeiden.**

Transport von Patientenproben

Die unter *Probenentnahme und -lagerung* beschriebenen Lagerbedingungen für Proben einhalten.

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima Mycoplasma genitalium Assay für das Panther System gelistet. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Reagenzien und Materialien

Hinweis: Informationen zu eventuell mit den Reagenzien verbundenen Gefahren- und Vorsichtshinweisen finden sich in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologic.com/sds.

Aptima Mycoplasma genitalium Assay Kit

100 Tests (2 Kartons) (Kat.- Nr. PRD-03374)*

100 Tests (2 Kartons und 1 Kalibratoren-Kit) (Kat.- Nr. PRD-03919)

Aptima Mycoplasma genitalium Kühlkarton (nach Wareneingang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
A	Aptima Mycoplasma genitalium Amplifikationsreagenz <i>Nicht infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet in gepufferter Lösung mit < 5 % Füllstoff.</i>	1 Fläschchen
E	Aptima Mycoplasma genitalium Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet in HEPES-gepufferter Lösung mit < 10 % Füllreagenz.</i>	1 Fläschchen
P	Aptima Mycoplasma genitalium Sondenreagenz <i>Chemilumineszierende DNA-Sonden, getrocknet in succinatgepufferter Lösung mit < 5 % Detergens.</i>	1 Fläschchen
IC	Aptima Mycoplasma genitalium Interne Kontrolle <i>Nichtinfektiöses RNA-Transkript in gepufferter Lösung mit < 5 % Detergens.</i>	1 Fläschchen

Aptima Mycoplasma genitalium Raumtemperatur-Karton (nach Wareneingang bei 15 °C bis 30 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
AR	Aptima Mycoplasma genitalium Amplifikationsrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Konservierungsmitteln.</i>	1 Flasche
ER	Aptima Mycoplasma genitalium Enzymrekonstitutionslösung <i>HEPES-Pufferlösung mit einem Surfactant und Glycerol.</i>	1 Flasche
PR	Aptima Mycoplasma genitalium Sondenrekonstitutionslösung <i>Succinatpufferlösung mit < 5 % Detergens.</i>	1 Flasche

* Kalibrator-Kits sind separat erhältlich. Siehe nachfolgend die jeweilige Karton-Katalognummer.

Aptima Mycoplasma genitalium Raumtemperatur-Karton
(nach Wareneingang bei 15 °C bis 30 °C lagern) (Fortsetzung)

Symbol	Komponente	Menge
S	Aptima Mycoplasma genitalium Selektionsreagenz <i>600 mM Boratpufferlösung mit Surfactant.</i>	1 Flasche
TCR	Aptima Mycoplasma genitalium Target Capture-Reagenz <i>Pufferlösung mit Fänger-Oligomeren und Magnetpartikeln.</i>	1 Flasche
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima Mycoplasma genitalium Kalibratoren-Kit (PRD-03393)
(nach Wareneingang bei 2 °C bis 8 °C lagern)

Symbol	Komponente	Menge
NCAL	Aptima Mycoplasma genitalium Negativ-Kalibrator <i>Pufferlösung mit < 5 % Detergens.</i>	5 Fläschchen
PCAL	Aptima Mycoplasma genitalium Positiv-Kalibrator <i>Nichtinfektiöses In-vitro-RNA-Transkript von Mycoplasma genitalium in gepufferter Lösung mit < 5 % Detergens.</i>	5 Fläschchen

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Materialien, die von Hologic erhältlich sind, sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

	Kat.- Nr.
Panther System	303095
Aptima Assayflüssigkeitskit <i>enthält Aptima Waschlösung, Aptima Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima Ölreagenz</i>	303014 (1000 Tests)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 Tests)
Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs)	104772-02
Panther Entsorgungsbeutel-Kit	902731
Panther Abfallabdeckung	504405
Oder Panther System-Durchlaufkit <i>enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abdeckungen für Abfallbehälter, Assayflüssigkeiten und Auto Detects</i>	303096 (5000 Tests)
Spitzen, 1000 µl, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Aptima Mycoplasma genitalium Kalibratoren-Kit	PRD-03393
Aptima Probentransferkit <i>Zur Verwendung mit Proben in PreservCyt™ -Lösung</i>	301154C
Aptima Entnahmekit für Vaginalabstriche	301162

Aptima Multitest-Entnahmekit für Vaginalabstriche	PRD-03546
Aptima Unisex Abstrichkit für Endozervikalabstriche und Abstriche der männlichen Urethra	301041
Aptima Entnahmekit für Urinproben	301040
Oder Aptima Transportröhrchen für Urinproben	105575
Chlorbleiche, 5 % bis 7 % (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Aptima Durchstechverschlüsse	105668
Reagenzien-Ersatzverschlüsse für 100 Testkits	—
<i>Rekonstitutionslösungen für Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz TCR und Selektionsreagenz</i>	<i>CL0041 (100 Verschlüsse) 501604 (100 Verschlüsse)</i>
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Zentrifuge	—

Optionale Materialien

	Kat.- Nr.
Hologic Chlorbleiche-Verstärker für die Reinigung <i>für die routinemäßige Reinigung von Oberflächen und Geräten</i>	302101
Ersatz Verschluss, durchstechfest	103036A

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen zum Panther System finden sich im Panther System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther System).

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen, auf der die Reagenzien vorbereitet werden, reinigen. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5 %igen bis 3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken lassen und die Flächen anschließend mit entionisiertem Wasser abspülen. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen. Wie vorstehend (Schritt A.1) beschrieben vorgehen.

B. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.

1. Zur Rekonstitution von Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenz jeweils die Flasche mit gefriergetrocknetem Reagenz mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung kombinieren. Rekonstitutionslösungen, die möglicherweise gekühlt sind, vor Gebrauch auf Raumtemperatur erwärmen lassen.
 - a. Die gefriergetrockneten Reagenzien (2 °C bis 8 °C) und die entsprechenden Rekonstitutionslösungen (15 °C bis 30 °C) aus der Lagerung entnehmen.
 - b. Vor Anschluss des Rekonstitutionsverbindungsstücks kontrollieren, dass Rekonstitutionslösung und gefriergetrocknetes Reagenz farblich übereinstimmende Etiketten aufweisen.
 - c. Die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt kontrollieren, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart wurden.
 - d. Zum Öffnen des Fläschchens mit dem gefriergetrockneten Reagenz die Metallversiegelung und den Gummistopfen entfernen. Das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks (schwarz) fest in das Fläschchen einführen (Abbildung 1, Schritt 1).
 - e. Die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung öffnen und den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche legen.
 - f. Die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf eine stabile Fläche stellen (z. B. den Labortisch). Dann das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz über der Flasche mit der Rekonstitutionslösung umdrehen und das Verbindungsstück an der Flasche mit der Rekonstitutionslösung befestigen (Abbildung 1, Schritt 2).
 - g. Die zusammengefügt Flaschen (an Flasche mit Lösung aufgesetztes Fläschchen) langsam umdrehen, damit die Lösung in das Glasfläschchen laufen kann (Abbildung 1, Schritt 3).
 - h. Die beiden miteinander verbundenen Fläschchen hochnehmen und behutsam schwenken. Beim Schwenken der Flasche Schaumbildung vermeiden (Abbildung 1, Schritt 4).

- i. Warten, bis das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung geht. Nachdem das gefriergetrocknete Reagenz sich aufgelöst hat, den Inhalt durch behutsames Schwenken durchmischen und dann die beiden miteinander verbundenen Fläschchen invertieren, wobei der Winkel 45° nicht überschreiten sollte, um die Schaumbildung so gering wie möglich zu halten (Abbildung 1, Schritt 5). Die zusammengefügteten Flaschen dann wieder langsam umdrehen, damit die Lösung komplett in die Flasche mit der Rekonstitutionslösung zurückfließen kann.
- j. Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen vorsichtig entfernen (Abbildung 1, Schritt 6).
- k. Die Flasche wieder verschließen. Die Initialen des Anwenders und das Rekonstitutionsdatum auf dem Etikett eintragen (Abbildung 1, Schritt 7).
- l. Rekonstitutionsverbindungsstück und Fläschchen entsorgen (Abbildung 1, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

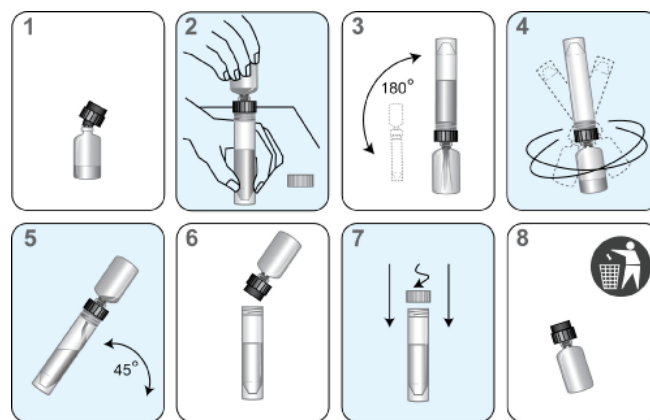


Abbildung 1. Rekonstitution von Reagenzien

2. Zur wTCR-Vorbereitung wie folgt vorgehen:
 - a. Die entsprechenden Flaschen mit TCR- (15°C bis 30°C) und IC-Reagenz (2°C bis 8°C) aus dem Lager holen.
 - b. Die Chargennummer auf der TCR-Flasche und der Flasche mit dem internen Kontrollreagenz überprüfen, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmen.
 - c. Die TCR-Flasche öffnen und den Deckel auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche legen.
 - d. Die IC-Flasche öffnen und den gesamten Inhalt in die TCR-Flasche gießen. Es ist davon auszugehen, dass eine geringe Menge Flüssigkeit in der IC-Flasche verbleibt.
 - e. Die TCR-Flasche verschließen und die Lösung behutsam schwenken, um den Inhalt zu durchmischen. Während dieses Schritts Schaumbildung vermeiden.
 - f. Die Initialen des Anwenders und das aktuelle Datum auf dem Etikett eintragen.
 - g. Die Flasche mit dem internen Kontrollreagenz wieder verschließen und entsorgen.

3. Vorbereitung des Selektionsreagenz
 - a. Das Selektionsreagenz aus der Lagerung entnehmen (2 °C bis 30 °C). Die Chargennummer auf der Flasche mit dem Selektionsreagenz kontrollieren, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
 - b. Bei gekühlter Lagerung des Selektionsreagenz sollte dieses sich erst auf Raumtemperatur erwärmen, bevor es in das Panther System eingebracht wird.
 - c. Die Initialen des Anwenders und das aktuelle Datum auf dem Etikett eintragen.

Hinweis: Alle Reagenzien vor dem Laden in das System durch vorsichtiges Umdrehen gründlich durchmischen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.

C. Reagenzienvorbereitung für bereits angesetzte Reagenzien

1. Die bereits angesetzten Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) entnehmen. Bereits rekonstituierte Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenzien müssen vor Testbeginn auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) gebracht werden.
2. Wenn das rekonstituierte Sondenreagenz einen Niederschlag enthält, der bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) nicht wieder in Lösung geht, die mit Deckel verschlossene Flasche 1 bis 2 Minuten auf eine Temperatur nicht über 62 °C erwärmen. Nach diesem Erwärmungsschritt kann das Sondenreagenz verwendet werden, selbst wenn noch ein Restpräzipitat vorhanden ist. Zum Mischen das Sondenreagenz umdrehen. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
3. Vor dem Laden auf das System müssen Amplifikations-, Enzym- und Sondenreagenzien zum gründlichen Mischen umgedreht werden. Beim Umdrehen der Reagenzien Schaumbildung vermeiden.
4. Die Reagenzflaschen nicht nachfüllen. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

D. Vorbereitung des Kalibrators

Die Kalibratoren aus dem Lagerkühlschrank (2 °C bis 8 °C) nehmen und darauf achten, dass sie sich vor der Verarbeitung auf Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) erwärmt haben.

E. Probenhandhabung

1. Die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C bringen.
2. **Proben nicht mit dem Vortex mischen.**
3. Optisch kontrollieren, dass jedes Probenröhrchen eines der folgenden Kriterien erfüllt:
 - a. In Unisex-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils nur eine einzelne blaue Aptima Entnahmebürste.
 - b. In Multitest- und Vaginalabstrich-Probentransportröhrchen befindet sich jeweils nur ein einzelnes rosafarbenes Aptima Abstrichinstrument.
 - c. In Urin-Probentransportröhrchen liegt das Urinendvolumen zwischen den schwarzen Füllstandsmarkierungen.
 - d. Aptima Probentransportröhrchen für Proben in PreservCyt™-Lösung enthalten keine Abnahmebürste oder ein Probenentnahmeinstrument.
 - e. Falls die Probe die Kriterien nicht erfüllt, muss sie verworfen werden.

4. Vor dem Laden in den Ständer die Probengefäße kontrollieren:
 - a. Wenn sich im Probenröhrchen zwischen der Flüssigkeit und dem Verschluss Luftblasen befinden, das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF zentrifugieren, um die Luftblasen zu entfernen.
 - b. Weist ein Probenröhrchen ein geringeres Volumen auf als bei korrekt nach Anleitung gewonnener Proben üblich, das Reaktionsgefäß 5 Minuten bei 420 RCF zentrifugieren, um sicherzustellen, dass sich keine Flüssigkeit im Deckel befindet.
 - c. Wenn ein Urinprobenröhrchen Präzipitat enthält, die Probe bis zu 5 Minuten auf 37 °C erwärmen.

Hinweis: Bei Nichtbefolgen der Schritte 4a-4c kann aus dem Verschluss des Probenröhrchens Flüssigkeit auslaufen.

Hinweis: Je Probenröhrchen können bis zu 3 getrennte Aliquote getestet werden. Wenn versucht wird, mehr als 3 Aliquote aus einem Probenröhrchen zu pipettieren, kann dies zu Verarbeitungsfehlern führen.

F. Vorbereitung des Systems

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) und den *Verfahrenshinweise* einrichten.
2. Die Proben in den Probenständer laden.
3. Sobald alle Proben geladen sind, die Probensicherung am Probenständer befestigen und die Proben in das Probenfach laden.
4. Schritte 2 und 3 für den nächsten Probenständer wiederholen.

Verfahrenshinweise

A. Kalibratoren

1. Auf dem Panther System können die Röhrchen des Aptima Positivkalibrators für *Mycoplasma genitalium* und des Aptima Negativkalibrators für *Mycoplasma genitalium* an jede Position des Probenständers und in jede Spur des Probenfaches geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Das System bearbeitet derzeit ein Kalibratorenpaar.
 - b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren werden auf dem System registriert.
2. Sobald die Kalibratorröhrchen pipettiert worden sind und mit dem Reagenzien-Kit für den Aptima Mycoplasma genitalium Assay verarbeitet werden, können bis zu 48 Stunden lang Patientenproben mit dem zugehörigen rekonstituierten Kit getestet werden, **es sei denn:**
 - a. Die Kalibratortests sind ungültig.
 - b. Das zugehörige Assayreagenzien-Kit wird aus dem System genommen.
 - c. Das zugehörige Assayreagenzien-Kit hat die Stabilitätsgrenze überschritten.
3. Jedes Kalibratorröhrchen kann nur einmal verwendet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Verarbeitungsfehlern kommen.

Qualitätskontrolle

Ein Lauf- oder Patientenprobenergebnis kann von einem Anwender für ungültig erklärt werden, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme auftreten und dokumentiert werden.

Alle vom Gerät oder Anwender invalidierten Ergebnisse müssen erneut getestet werden.

Assay-Kalibrierung

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss eine Assay-Kalibrierung durchgeführt worden sein. Wann immer ein Reagenzien-Kit auf das Panther System geladen wird, erfolgt jeweils eine Duplikattestung mit Positiv- und Negativkalibrator. Das Handbuch für das Panther System gibt eine Stabilitätsdauer von 24 Stunden für den Kalibrator an, die Kalibrierung des Aptima Mycoplasma genitalium Assays ist jedoch bis zu 48 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther System darauf aufmerksam gemacht, wenn ein neuer Kalibratorsatz erforderlich ist.

Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für den Kalibrator von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn entweder für den Positiv- oder den Negativkalibrator zwei Replikate ungültig sind, invalidiert die Software den Lauf automatisch. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch angesetztem Satz Kalibratoren erneut zu testen.

Hinweis: Bei Kalibratoren, die aufgrund von Messbereichsfehlern markiert wurden (*out-of-range error flags*), kontaktieren Sie den Technischen Kundendienst von Hologic.

Interne Kontrolle

Jede Probe enthält eine interne Kontrolle (IC). Während der Verarbeitung werden IC-Annahmekriterien von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn ein IC-Ergebnis ungültig ist, wird das Probenergebnis für ungültig erklärt. Jede Probe mit ungültigem IC-Ergebnis muss erneut getestet werden.

Die Software für das Panther System dient zur genauen Verifizierung der Prozesse, wenn Verfahren gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage und im *Panther System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther System)* durchgeführt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Die Software des Panther Systems wertet die Testergebnisse des Aptima Mycoplasma genitalium Assays automatisch aus. Je nach der relativen Lichteinheit (RLU) der internen Kontrolle (IC) und dem Signal/Cut-off-Quotienten (S/CO) für den Analyten im Detektionsschritt kann ein Testergebnis negativ, positiv oder ungültig sein (siehe unten). Ein Testergebnis kann aufgrund von RLU-Werten, die außerhalb der normal erwarteten Bereiche liegen, ungültig sein. Initial ungültige Testergebnisse sollten erneut getestet werden. Es ist das erste gültige Ergebnis anzugeben.

Tabelle 1: Ergebnisinterpretation

Testergebnis	Kriterien
Negativ	Analyt S/CO < 1,0 IC ≥ IC Cut-off IC ≤ 1.200.000 RLU
Positiv	Analyt S/CO ≥ 1,0 IC ≤ 1.200.000 RLU Analyt ≤ 3.000.000 RLU
Ungültig	Analyt S/CO < 1,0 und IC < IC Cut-off oder IC > 1.200.000 RLU oder Analyt > 3.000.000 RLU

Ergebnisse und Akzeptanz von Qualitätskontrollen

Validitätskriterien eines Testlaufs

Die Software stellt automatisch die Gültigkeit des Testlaufs fest. Die Software erklärt einen Testlauf für ungültig, wenn einer der folgenden Zustände eintritt:

- Beide Negativkalibrator-Replikate sind ungültig.
- Beide Positivkalibrator-Replikate sind ungültig.

Der Anwender kann einen Testlauf für ungültig erklären, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme auftreten und dokumentiert werden.

Ein ungültiger Testlauf muss wiederholt werden. Abgebrochene Testläufe müssen wiederholt werden.

Annahmekriterien für Kalibratoren

Die Kalibratoren für den Aptima Mycoplasma genitalium Assay müssen folgende Testresultate liefern:

Tabelle 2: Annahmekriterien

Kalibrator	RLU	Ergebnis <i>M. genitalium</i>
Negativkalibrator Analyt	≥ 0 und ≤ 40.000	Gültig
Negativkalibrator IC	≥ 120.000 und ≤ 425.000	Gültig
Positivkalibrator Analyt	≥ 650.000 und ≤ 2.700.000	Gültig
Positivkalibrator IC	≥ 0 und ≤ 800.000	Gültig

Berechnung des IC Cut-offs

Der IC Cut-off wird aus dem IC-Signal gültiger Negativkalibrator-Replikate ermittelt.

$$IC \text{ Cut-off} = 0,5 \times [IC\text{-RLU-Mittelwert der gültigen Negativkalibrator-Replikate}]$$

Berechnung des Analyt Cut-offs

Der Analyt Cut-off wird aus dem RLU-Signal gültiger Negativ- und Positivkalibrator-Replikate ermittelt.

$$Analyt \text{ Cut-off} = [1 \times Analyt\text{-RLU-Mittelwert der gültigen Negativkalibrator-Replikate}] + [0,035 \times Analyt\text{-RLU-Mittelwert der gültigen Positivkalibrator-Replikate}]$$

Berechnung des Signal/Cut-off (S/CO)-Wertes für Analyte

Der S/CO-Quotient für den Analyten wird aus dem Analyt-RLU-Wert der Testprobe und dem Analyt Cut-off für den Testlauf ermittelt.

$$Analyt\text{-S/CO} = Analyt\text{-RLU der Testprobe} \div Analyt \text{ Cut-off}$$

Einschränkungen

- A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Beilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Die Auswirkungen von Tamponverwendung, Intimduschen und variablen Faktoren bei der Probenentnahme auf den Nachweis von *M. genitalium* wurden nicht untersucht.
- C. Die Entnahme von Urinproben, Vaginalabstrichen und Abstrichen in PreservCyt™-Lösung soll keinesfalls Zervixuntersuchungen und endozervikale Proben zur Diagnostik urogenitaler Infektionen bei Frauen ersetzen. Die Patientinnen können Zervizitis, Urethritis, Harnwegsinfektionen oder Vaginalinfektionen anderer Ursache oder als Begleitinfektion durch andere Erreger aufweisen.
- D. Dieser Assay wurde nur mit den angegebenen Probenarten getestet. Die Leistung mit anderen Probenarten wurde nicht beurteilt.
- E. Zuverlässige Ergebnisse hängen davon ab, dass die Patientenproben entsprechend gewonnen, transportiert, gelagert und verarbeitet wurden. Weil das für diesen Test verwendete Transportsystem keine mikroskopische Beurteilung der Probeneignung zulässt, muss das klinische Personal in den ordnungsgemäßen Probenentnahmetechniken geschult werden. Zur Vorgehensweise siehe *Probenentnahme und -lagerung*. Nähere Informationen siehe die entsprechende Gebrauchsanweisung.
- F. Ein therapeutischer Misserfolg oder Erfolg kann nicht mit dem Aptima Mycoplasma genitalium Assay bestimmt werden, da Nukleinsäure auch nach entsprechender antimikrobieller Therapie fortbestehen kann.
- G. Die Ergebnisse des Aptima Mycoplasma genitalium Assays sollten in Verbindung mit anderen dem Arzt verfügbaren klinischen Daten gewertet werden.
- H. Ein negatives Ergebnis schließt eine mögliche Infektion nicht aus, weil die Ergebnisse von der angemessenen Probenentnahme abhängen. Die Testergebnisse können durch eine unsachgemäße Probenentnahme, technische Fehler, Probenverwechslung oder Target-Konzentrationen unter der Detektionsgrenze des Tests beeinträchtigt sein.
- I. Der Aptima Mycoplasma genitalium Assay liefert qualitative Ergebnisse. Daher kann keine Korrelation zwischen der Größe eines positiven Testmesssignals und der Anzahl der Organismen in einer Probe aufgestellt werden.
- J. Die Assayleistung mit Probenarten von Schwangeren wurde nicht bestimmt.
- K. Die Assayleistung mit Proben von Frauen unter 19 Jahren wurde nicht bestimmt.
- L. Weist eine Probe eine geringe Anzahl von *M. genitalium* -Erreger auf, können diese Erreger ungleich verteilt sein, was die Nachweisfähigkeit für *M. genitalium* rRNA im entnommenen Material beeinträchtigen kann. Wenn negative Ergebnisse aus der Probe nicht dem klinischen Eindruck entsprechen, kann eine neue Probenentnahme notwendig sein.

- M. Kunden müssen einen LIS-Transfer unabhängig validieren.
- N. Für den Aptima Mycoplasma genitalium Assay wurde die Messleistung für gynäkologische Proben, die im PreservCyt-Lösungsfläschchen gewonnen und mit den ThinPrep™ Systemen verarbeitet wurden, nicht bestimmt.

Testleistung auf dem Panther System

Testleistung klinischer und künstlich positiver Proben

Die Leistung des Aptima Mycoplasma genitalium Assay wurde mit einem *M. genitalium* TMA-Assay verglichen, der an einem anderen Target ansetzt. In Europa, Kanada und den USA wurden insgesamt 1 422 Patientenproben mit dem Aptima Probenentnahmekits gewonnen. Die von Ärzten und Patienten selbst gewonnenen Vaginalabstriche (n=173), Endozervikalabstriche (n=177), zytologische Abstriche in PreservCyt™-Lösung (n=352), Urinabstriche der Frau (n=302) und des Mannes (n=133), Urethraabstriche des Mannes (n=136) sowie die selbst abgenommenen Abstriche des Penismeatums (n=149) wurden mit beiden Assays firmenintern getestet. Die Studie umfasste auch künstliche klinische Proben jeder Probenart außer männlichem Urin, die mit *M. genitalium* Ganzzelllysat versetzt worden waren. Die Konzentration an *M. genitalium* in den versetzten Proben betrug 0,1 KBE/ml (0,025 KBE/Reaktion), was einen halben Log-Wert kleiner als die kleinstmögliche Konzentration von *M. genitalium* in einer klinischen Probe ist. Für jede Probenart, in der sich klinische und künstliche Proben wiederfanden, wurden die positiven und negativen Übereinstimmungen berechnet; die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Positive und negative Übereinstimmung des Aptima Mycoplasma genitalium Assay (AMG) versus einem *M. genitalium* TMA-Assay mit Alternativziel (ALT TMA)

Probenart	N	AMG +	AMG +	AMG -	AMG -	Positive Übereinstimmung	Negative Übereinstimmung	Gesamtübereinstimmung
		ALT TMA +	ALT TMA -	ALT TMA +	ALT TMA -	(95 % VI)	(95 % VI)	(95 % VI)
Peniler Meatusabstrich	149*	64	2	0	83	100,0 % (94,3-100 %)	97,6 % (91,4-99,4 %)	98,7 % (95,2-99,6%)
Urinprobe Mann	133	45	1	0	87	100,0 % (92,1-100 %)	98,9 % (93,8-99,8 %)	99,2 % (95,9-99,9 %)
Urethraabstrich Mann	136*	39	0	0	97	100,0 % (91,0-100 %)	100 % (96,2-100 %)	100 % (97,3-100 %)
Urinprobe Frau	302*	59	0	0	243	100,0 % (93,9-100 %)	100,0 % (98,4-100 %)	100 % (98,7-100 %)
Zytologieprobe in PreservCyt-Lösung	352*	59	1	0	292	100,0 % (93,9-100 %)	99,7 % (98,1-99,9 %)	99,7 % (98,4-100 %)
Vaginalabstrich	173*	69	2	0	102	100,0 % (94,7-100 %)	98,1 % (93,3-99,5 %)	98,8 % (95,9-99,7 %)
Endozervikalabstrich	177*	64	0	0	113	100 % (94,3-100 %)	100 % (96,7-100 %)	100 % (97,9-100 %)

* Anzahl der versetzten Proben: Penile Meatusabstriche = 49; Urethraabstriche = 25; Urinproben Frauen = 49; PreservCyt Proben = 52; Vaginalabstriche = 46; Endozervikalabstriche = 50.

Reproduzierbarkeit des Assays

Die Reproduzierbarkeit des Aptima Mycoplasma genitalium Assays wurde auf dem Panther System evaluiert. Die Messungen erfolgten an drei Tagen mit zwei Chargen Assayreagenzien und wurden von drei Anwendern auf drei Panther Systemen durchgeführt. Die Panels für die Reproduzierbarkeit wurden erstellt, indem Proben transportmedium (Specimen Transport Medium, STM) mit der entsprechenden Menge an *M. genitalium* RNA-Transkript versetzt wurde. Die Endkonzentrationen der *M. genitalium* RNA lagen bei 0 bzw. 100 Kopien/ml. Die S/CO-Daten jeder einzelnen Panelprobe sind in Tabelle 4 als Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (CV) zwischen Anwendern, Geräten, Tagen, Chargen und Läufen sowie innerhalb eines Laufes und schließlich insgesamt (Gesamt) dargestellt. Tabelle 5

gibt die Positivität und die prozentuale Übereinstimmung der Panels wieder. In der Studie zeigten sich keine falsch-negativen Ergebnisse und nur ein falsch-positives Ergebnis. Proben mit gültigen Ergebnissen flossen in die Auswertungen ein.

Tabelle 4: Reproduzierbarkeitsstudie: Reproduzierbarkeit des Aptima Mycoplasma genitalium Assays nach Panel

Panel	N	Mittl. S/CO	Zwischen Anwendern		Zwischen Geräten		Zwischen Tagen		Zwischen Chargen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
			Negativpanel	1 438	0,01	0	0	0	0	0	0	0,00	31,13	0	0	0,36
Positivpanel	1 434	25,73	0,22	0,85	0,30	1,16	0	0	0,12	0,45	0,80	3,11	1,23	4,79	1,52	5,90

N = Anzahl; SD = Standardabweichung; CV = Variationskoeffizient; S/CO = Signal/Cut-Off-Quotient.

Hinweis: Die Variabilität aufgrund mancher Faktoren kann numerisch negativ sein, und zwar dann, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall gilt SD = 0 und CV = 0 %.

Tabelle 5: Prozentuale Übereinstimmung des Aptima Mycoplasma genitalium Assays nach Panelbeschreibung

Beschreibung	Gültige N	% Positiv	% Übereinstimmung
Negativpanel	1 438	0,07 % (0,01-0,39)	99,93 % (99,61-99,99)
Positivpanel	1 434	100 % (99,73-100)	100 % (99,73-100)

Analytische Sensitivität

Sensitivitätspanels mit 0,01 KBE/ml in Proben transportmedium wurden mit *M. genitalium* Lysat angesetzt. Der Test war für 0,01 KBE/ml zu 100 % positiv.

Kreuzreaktivität bei Vorliegen von Mikroorganismen

Spezifität

Die Spezifität des Aptima Mycoplasma genitalium Assays wurde anhand verschiedener Mikroorganismen bestimmt, u. a. anhand der normalen Flora des Urogenitaltraktes, opportunistischer sowie eng verwandter Organismen. Die Testung erfolgte in Proben transportmedium mit jeweils 20 Replikaten für jedes Isolat. Tabelle 6 enthält die Aufstellung der Organismen und ihrer Testkonzentrationen. Bei keinem der getesteten Organismen fand sich im Aptima Mycoplasma genitalium Assay eine Kreuzreaktivität.

Sensitivität

Die Ermittlung der Sensitivität des Aptima Mycoplasma genitalium Assays erfolgte anhand derselben Organismen (Tabelle 6) in Proben transportlösung, die mit *M. genitalium* Lysat zu einer Endkonzentration von 0,25 KBE/ml versetzt wurden (20 Replikate für jedes Isolat). Bei Vorliegen der untersuchten Erreger wurde keine Interferenz festgestellt.

Tabelle 6: Mit dem Aptima Mycoplasma genitalium Assay auf dem Panther System getesteten Mikroorganismen

Mikroorganismus	Konzentration	Mikroorganismus	Konzentration
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	Humanes Papillomvirus Typ 16 (SiHa-Zellen)	1x10 ⁴ Zellen/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Bacteriodes fragilis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	250 KBE/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
Cytomegalievirus	1x10 ⁵ TCID 50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ Zellen/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ KBE/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
Herpes-Simplex-Virus Typ 1	2,5x10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
Herpes-Simplex-Virus Typ 2	2,5x10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Ureaplasma parvum</i>	1x10 ⁶ KBE/ml
HIV-1	1x10 ⁶ Kopien/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ Zellen/ml

Interferenz

STM-Lösungen wurden einzelne endogene und exogene Stoffe wie Gleitmittel, Körperdeos, Spermizide und Antimykotika auf eine Endkonzentration von 1 % (Vol/Vol bzw. Gewicht/Vol) sowie Magenschleim des Schweins auf 0,3 % und Vollblut auf 5 % zugesetzt.

Zur Überprüfung der Auswirkungen von Harnmetaboliten wurde anstelle von Urin die Urinanalysekontrolle KOVA-Trol I Hochabnorm mit Urobilinogen in das Urintransportmedium (UTM) verdünnt. Dieses humane Urinanalyse-Kontrollmaterial auf Harnbasis enthält potenzielle Störgrößen wie Protein (Albumin), Bilirubin, Glukose, Ketone, Erythrozyten, Nitrit, Urobilinogen und Leukozyten. Die Testung mit geeister Essigsäure erfolgte durch Zusetzen in PreservCyt™ - STM (Endkonzentration 1 %).

Nachdem *M. genitalium* Ganzzelllysat bis zu einer Endkonzentration von 0,25 KBE/ml mit den genannten Stoffen versetzt und dann mit dem Aptima Mycoplasma genitalium Assay getestet wurde, zeigte sich keinerlei Interferenz.

Literatur

1. Andersen, B., I. Sokolowski, L. Østergaard, J. K., Møller, F. Olesen und J. S. Jensen. 2007. *Mycoplasma genitalium*: prevalence and behavioural risk factors in the general population. *Sex. Transm. Infect.* **83**:237-241. doi:10.1136/sti.2006.022970.
2. Manhart, L. E., K. K. Holmes, J. P. Hughes, L. S. Houston und P. A. Totten. 2007. *Mycoplasma genitalium* among young adults in the United States: an emerging sexually transmitted infection. *Am. J. Public Health.* **97**:1118-1125.
3. McGowin, C. L. und C. Anderson-Smits. 2011. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. *PLoS Pathogens.* **7**:e1001324. doi:10.1371/journal.ppat.1001324.
4. Oakeshott, P., A. Aghaizu, P. Hay, F. Reid, S. Kerry, H. Atherton, I. Simms, D. Taylor-Robinson, B. Dohn und J. S. Jensen. 2010. Is *Mycoplasma genitalium* in women the "new chlamydia?" A community-based prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.* **51**:1160-1166. doi:10.1086/656739.
5. Hilton, J., S. Azariah und M. Reid. 2010. A case-control study of men with non-gonococcal urethritis at Auckland Sexual Health Service: rates of detection of *Mycoplasma genitalium*. *Sex Health.* **7**:77-81. doi:10.1071/SH09092.
6. Wikstrøm, A. und J. S. Jensen. 2006. *Mycoplasma genitalium*: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. *Sex. Transm. Infect.* **82**:276-279. doi:10.1136/sti.2005.018598.
7. Wroblewski, J. K. H., L. E. Manhart, K. A. Dickey, M. K. Hudspeth und P. A. Totten. 2006. Comparison of transcription-mediated amplification and PCR assay results for various genital specimen types for detection of *Mycoplasma genitalium*. *J. Clin. Microbiol.* **44**:3306-3312. doi:10.1128/JCM.00553-06.
8. Gaydos, C., N. E. Maldeis, A. Hardick, J. Hardick und T. C. Quinn. 2009a. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. *Sex. Transm. Dis.* **36**:598-606. doi:10.1097/OLQ.0b013e3181b01948.
9. Gaydos, C., N. E. Maldeis, A. Hardick, J. Hardick und T. C. Quinn. 2009b. *Mycoplasma genitalium* compared to chlamydia, gonorrhoea and trichomonas as an aetiological agent of urethritis in men attending STD clinics. *Sex. Transm. Infect.* **85**:438-440. doi:10.1136/sti.2004.2008.035477.
10. Hancock, E. B., L. E. Manhart, S. J. Nelson, R. Kerani, J. K. H. Wroblewski und P. A. Totten. 2010. Comprehensive assessment of sociodemographic and behavioral risk factors for *Mycoplasma genitalium* infection in women. *Sex. Transm. Dis.* **37**:777-783. doi:10.1097/OLQ.0b013e3181e8087e.
11. Huppert, J. S., J. E. Mortensen, J. L. Reed, J. A. Kahn, K. D. Rich und M. M. Hobbs. 2008. *Mycoplasma genitalium* detected by transcription-mediated amplification is associated with Chlamydia trachomatis in adolescent women. *Sex Transm Dis.* **35**:250-254. doi:10.1097/OLQ.0b013e31815abac6.
12. Mobley, V. L., M. M. Hobbs, K. Lau, B. S. Weinbaum, D. K. Getman und A. C. Seña. 2012. *Mycoplasma genitalium* infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors. *Sex. Transm. Dis.* **39**:706-709. doi:10.1097/OLQ.0b013e318255de03.
13. Taylor-Robinson, D. und J. S. Jensen. 2011. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin. Microbiol. Rev.* **24**:498-514.
14. Anagnrius, C., B. Loré und J. S. Jensen. 2005. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex. Transm. Infect.* **81**:458-462. doi:10.1136/sti.2004.012062.
15. Lis, R., A. Rowhani-Rahbar und L. E. Manhart. 2015. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **61**:418-426. doi:10.1093/cid/civ312.
16. Falk, L., H. Fredlund und J. S. Jensen. 2005. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex. Transm. Infect.* **81**:73-78. doi:10.1136/sti.2004.010439.
17. CDC. 2014. Leitlinien zur Behandlung sexuell übertragbarer Krankheiten, 2014. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2014/2014-std-guidelines-peer-reviewers-08-20-2014.pdf>. Herausgegeben 20. August 2014.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121, USA



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Kundendienst: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technischer
Kundendienst: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Weitere Kontaktinformationen unter www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther, PreservCyt, ThinPrep und assoziierte Logos sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern. Alle anderen Marken, eingetragenen Marken und Produktnamen, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, sind Eigentum des jeweiligen Eigentümers.

KOVA-TROL ist eine Marke von Hycor Biomedical, Inc.

Dieses Produkt ist ggf. von mindestens einem US-Patent geschützt (siehe www.hologic.com/patents).

©2016-2018 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-14170-801 Rev. 006
2018-03