

Test Aptima Mycoplasma genitalium

Do diagnostyki *in vitro*.

| | |
|---|-----------|
| Informacje ogólne | 2 |
| Przeznaczenie | 2 |
| Podsumowanie i objaśnienie testu | 2 |
| Zasady procedury | 3 |
| Ostrzeżenia i środki ostrożności | 4 |
| Kwestie związane z laboratorium | 4 |
| Kwestie dotyczące próbek | 5 |
| Kwestie dotyczące testu | 5 |
| Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi ... | 7 |
| Pobieranie i przechowywanie próbek | 8 |
| Transport próbek | 9 |
| Panther System | 10 |
| Odczynniki i materiały | 10 |
| Materiały wymagane, ale dostępne osobno | 11 |
| Materiały opcjonalne | 12 |
| Procedura testu w Panther System | 13 |
| Uwagi dotyczące procedury | 16 |
| Kontrola jakości | 17 |
| Kalibracja testu | 17 |
| Kontrola wewnętrzna | 17 |
| Interpretacja wyników | 18 |
| Wyniki kontroli jakości i akceptowalność | 18 |
| Ograniczenia | 20 |
| Skuteczność testu w Panther System | 21 |
| Skuteczność dla próbek klinicznych i spreparowanych próbek dodatnich | 21 |
| Odtwarzalność testu | 21 |
| Czułość analityczna | 22 |
| Reaktywność krzyżowa w obecności mikroorganizmów | 22 |
| Zakłócenia | 23 |
| Bibliografia | 24 |

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima Mycoplasma genitalium jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych (NAAT) *in vitro* do jakościowego wykrywania rybosomalnego RNA (rRNA) z *Mycoplasma genitalium* przy użyciu w pełni zautomatyzowanego Panther System. Przeznaczony jest do stosowania jako pomoc w diagnostyce zakażeń układu moczowo-płciowego *M. genitalium* u pacjentów płci męskiej i żeńskiej.

Test może być stosowany do badania: próbek wymazu z pochwy pobranych przez lekarza i pobranych samodzielnie, próbek wymazu z kanału szyjki macicy pobranych przez lekarza, próbek wymazu z szyjki macicy pobranych przez lekarza w roztworze PreservCyt™, próbek moczu pobranych samodzielnie przez mężczyznę i kobietę, próbek wymazu z cewki moczowej pobranych przez lekarza oraz próbek wymazu z prącia pobranych samodzielnie.

Podsumowanie i objaśnienie testu

M. genitalium jest przenoszoną drogą płciową gram-ujemną bakterią należącą do klasy *Mollicutes*. *M. genitalium* posiada błonę komórkową, ale nie posiada ściany komórkowej oraz żyje na i w komórkach nabłonka dróg moczowych i płciowych mężczyzn i kobiet.

W populacjach niższego ryzyka, częstość występowania *M. genitalium* wynosi około 1% do 3%, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet (1, 2, 3, 4). W populacjach podwyższonego ryzyka odnotowano częstość występowania od 10% do 41% u mężczyzn i od 7,3% do 14% u kobiet (3, 5, 6, 7). Częstość występowania *M. genitalium* w populacjach podwyższonego ryzyka często przekracza częstość występowania *Neisseria gonorrhoeae* i jest podobna do częstości występowania *Chlamydia trachomatis* (8, 9, 10, 11, 12).

W przeglądzie opublikowanych badań wykazano, że zakażenie *M. genitalium* jest silnie związane z niegonokokalnym zapaleniem cewki moczowej (NGU) u mężczyzn (13). U badanych osób *M. genitalium* wykrywano u 15% do 25% mężczyzn z objawowym NGU i u > 30% mężczyzn z NGU bez chlamydii. U kobiet, w kilku badaniach stwierdzono, że *M. genitalium* jest powiązane z zapaleniem szyjki macicy ($P \leq 0,03$; 8, 12, 14). Niedawna meta-analiza wykazała również, że zakażenie *M. genitalium* było związane z około dwukrotnym wzrostem ryzyka zapalenia szyjki macicy, zapalenia narządów miednicy mniejszej, przedwczesnego porodu, poronienia i niepłodności (15).

Zakażenia *M. genitalium* w większości przypadków pozostają nierozpoznane, a u zakażonych osób przebiegają bezobjawowo lub występują objawy podobne do tych, które towarzyszą innym zakażeniom bakteryjnym dróg moczowo-płciowych. W ocenie mężczyzn korzystających z poradni STI w Szwecji, objawy występowały u 61% (17/28) mężczyzn z zakażeniem *M. genitalium*; 93% (26/28) miało objawy zapalenia cewki moczowej (14). U kobiet zakażenie *M. genitalium* często przebiega bezobjawowo. W ocenie kobiet korzystających z poradni STI w Szwecji, u 77% (17/22) kobiet z zakażeniem *M. genitalium* nie występowały żadne objawy, chociaż u wielu z nich występowały kliniczne oznaki zakażenia; 50% (11/22) miało objawy zapalenia cewki moczowej i/lub szyjki macicy: 2 miały objawy tylko zapalenia cewki moczowej, 6 miało objawy tylko zapalenia szyjki macicy, a 3 miały objawy zapalenia cewki moczowej i szyjki macicy (16).

U pacjentów z odpowiednimi oznakami lub objawami, aktualne zalecenia dotyczące leczenia koncentrują się na zakażeniach chlamydialnych, rzeżączkowych lub włośniczkowych. Jednakże optymalna terapia przeciwbakteryjna w bakteryjnym zapaleniu cewki moczowej i szyjki macicy jest specyficzna dla danego mikroorganizmu, a schematy leczenia skuteczne wobec tych organizmów nie są skuteczne w leczeniu infekcji wywołanych przez *M. genitalium*.

Ponieważ *M. genitalium* jest bardzo zaraźliwa i trudna do wyhodowania, Amerykańskie Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (United States Centers for Disease Control and Prevention) zaleca stosowanie testów NAAT do wykrywania *M. genitalium* (17). Test Aptima Mycoplasma genitalium jest testem NAAT, który wykorzystuje technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) i testu ochrony hybrydyzacji (HPA) do wykrywania 16s rRNA bakterii *M. genitalium*.

Zasady procedury

Test Aptima Mycoplasma genitalium składa się z trzech głównych etapów, które odbywają się w jednej probówce w aparacie Panther System: wychwytywanie cząsteczek szukanych, amplifikacja z mediacją transkrypcji (TMA) i test ochrony hybrydyzacji (HPA). W teście wykorzystywana jest kontrola wewnętrzna (Internal Control, IC) w celu monitorowania wychwytywania, amplifikacji i wykrywania kwasów nukleinowych, a także błędów operatora lub aparatu.

Próbkę pobiera się i przenosi do odpowiedniej probówki do transportu próbek. Roztwór transportowy w probówce transportowej uwalnia szukane RNA i chroni je przed degradacją podczas przechowywania. Gdy test Aptima Mycoplasma genitalium jest wykonywany w laboratorium, szukane rRNA, jeśli jest obecne, jest izolowane przy użyciu specyficznego oligomeru wychwytyjącego i mikrocząsteczek magnetycznych w metodzie zwanej wychwytem cząsteczek szukanych. Oligomer wychwytyjący zawiera sekwencję komplementarną do określonego regionu cząsteczek szukanych, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. Podczas etapu hybrydyzacji region specyficzny dla sekwencji oligomeru wychwytyjącego wiąże się z określonymi regionami cząsteczek szukanych. Następnie kompleks oligomer odpowiedzialny za wychwytywanie cząsteczek szukanych jest wychwytywany z roztworu dzięki obniżeniu temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia hybrydyzację między obszarem deoksyadenozyny oligomeru odpowiedzialnego za wychwytywanie i cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząsteczkami magnetycznymi. Mikrocząsteczki, w tym wychwycona cząsteczka szukana z nimi związana, są odciągane do brzegu naczynia reakcyjnego za pomocą magnesów, a następnie odsysany jest supernatant. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości matrycy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory amplifikacji. Po zakończeniu etapów wychwytywania cząsteczek szukanych, rRNA jest gotowe do amplifikacji.

Testy amplifikacji cząsteczek szukanych są oparte na zdolności komplementarnych starterów oligonukleotydowych do swoistej hybrydyzacji i umożliwiają enzymatyczną amplifikację szukanych nici kwasu nukleinowego. Reakcja TMA Hologic amplifikuje specyficzny region małej podjednostki rybosomalnej z *M. genitalium* poprzez związki pośrednie DNA i RNA oraz generuje cząsteczki amplikonu RNA. Wykrywanie sekwencji produktu amplifikacji rRNA uzyskuje się za pomocą hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Jednoniciowa chemiluminescencyjna sonda DNA, która jest komplementarna do regionu szukanego amplikonu, jest znakowana cząsteczką estru akrydyny. Znakowana sonda DNA łączy się z amplikonem tworząc stabilne hybrydy RNA:DNA. Odczynnik selekcyjny odróżnia sondę zhybrydyzowaną od niezhybrydyzowanej, eliminując generowanie sygnału z tej drugiej. Podczas etapu wykrywania światło emitowane przez znakowane hybrydy RNA:DNA jest mierzone jako sygnały fotonów w luminometrze i podawane jako względne jednostki światła (RLU).

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi Panther System*.
- D. Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima Mycoplasma genitalium oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.
- E. **Ostrzeżenie: Środki drażniące i żrące:** Unikać kontaktu produktów Auto Detect 1 i Auto Detect 2 ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeśli płyny zetkną się ze skórą lub oczami, należy przemyć wodą. W przypadku rozlania tych płynów należy rozcieńczyć je wodą przed wytarciem powierzchni do sucha. Dodatkowe informacje można znaleźć w odpowiedniej karcie charakterystyki.
- F. Dodatkowe szczególne ostrzeżenia i środki ostrożności opisano w *Instrukcji obsługi Panther System*.

Kwestie związane z laboratorium

- G. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- H. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
Uwaga: Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować kontaminację otwartych probówek. Wymagane jest stosowanie rękawic bezpudrowych.
- I. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Dokładnie oczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.
- J. Wszelkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.
- K. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę:
 - a. Dla każdego badanego obszaru należy przygotować zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex.
 - b. Odpowiednio oznakować każdą probówkę.
 - c. Wyjąć wymazówkę do pobierania próbek (niebieska wymazówka z zielonym nadrukiem) z opakowania.
 - d. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę do pobierania próbek wolną od nukleaz wodą.

- e. Wymazać powierzchnię zainteresowania, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.
- f. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w probówce transportowej.
- g. Ostrożnie złamać trzonek wymazówki na linii nacięcia, uważając, aby nie rozpryskiwać zawartości.
- h. Zamknąć szczelnie probówkę do transportu wymazówki.
- i. Powtórzyć czynności dla wszelkich pozostałych próbek wymazu.
- j. Zbadać wymaz(y) przy pomocy testu molekularnego.

Kwestie dotyczące próbek

- L. Daty ważności zestawów do przenoszenia próbek dotyczą czasu pobrania/przeniesienia próbek, a nie czasu badania. Próbki zebrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęła data ważności próbki do przenoszenia.
- M. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Należy ustalić właściwe metody postępowania i usuwania zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.
- N. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- O. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimkolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.
- P. W pewnych warunkach po przekłuciu spod zakrętek probówek do przenoszenia Aptima może uwolnić się płyn. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Procedura testu w Panther System*.
- Q. Po dodaniu moczu do probówki do transportowania moczu poziom płynu musi wypadać między dwoma czarnymi wskaźnikami na etykiecie probówki. W przeciwnym razie należy odrzucić próbkę.
- R. Jeżeli w probówce transportowej z wymazem nie będzie wymazu, będą dwa wymazy, wacik do czyszczenia albo wymazówka firmy innej niż Hologic, próbkę należy odrzucić.

Kwestie dotyczące testu

- S. Nie używać odczynnika lub zestawu kalibratorów po upływie terminu ważności.
- T. Odczynniki należy zamknąć i przechowywać w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników przechowywanych w niewłaściwych warunkach, skuteczność testu może ulec zmianie. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.

- U. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- V. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.
- W. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników z zestawów testów o różnych numerach partii. Kalibratory nie są specyficzne dla partii, a płyny do testów mogą pochodzić z różnych numerów partii.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

Uwaga: Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikami, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie www.hologic.com/sds.

- A. W tabeli poniżej przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników i kalibratorów.

| Odczynnik | Przechowywanie nieotwartych odczynników | Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników) | |
|---|---|---|-----------------------------|
| | | Przechowywanie | Stabilność |
| Odczynnik amplifikacji | 2°C do 8°C | | |
| Odczynnik enzymatyczny | 2°C do 8°C | | |
| Odczynnik-sonda | 2°C do 8°C | | |
| Odczynnik kontroli wewnętrznej | 2°C do 8°C | | |
| Roztwór do przygotowania odczynników amplifikacji | 15°C do 30°C | 2°C do 8°C | 30 dni |
| Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych | 15°C do 30°C | 2°C do 8°C | 30 dni |
| Roztwór do przygotowania odczynników-sond | 15°C do 30°C | 2°C do 8°C | 30 dni |
| Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych | 15°C do 30°C | 15°C do 30°C | 30 dni |
| Odczynnik selekcyjny | 2°C do 30°C | 2°C do 30°C | 30 dni |
| Kalibrator ujemny | 2°C do 8°C | | Fiolka jednorazowego użytku |
| Kalibrator dodatni | 2°C do 8°C | | Fiolka jednorazowego użytku |

- B. Jeśli odczynnik selekcyjny był przechowywany schłodzony, przed umieszczeniem go w Panther System należy doprowadzić go do temperatury pokojowej.
- C. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz roboczy odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych (wTCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- D. Nieotwarte kalibratory są stabilne do momentu upływu daty wskazanej na fiolkach.
- E. Przygotowane odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 156 godzin. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.
- F. W trakcie obchodzenia się z odczynnikami i ich przechowywania unikać skażenia krzyżowego. Przed przechowywaniem za każdym razem nałożyć nowe zakrętki na wszystkie odczynniki po przygotowaniu.
- G. Odczynnik-sonda oraz przygotowany odczynnik-sonda są wrażliwe na światło. Podczas przechowywania należy chronić te odczynniki przed działaniem światła.
- H. Nie zamrażać odczynników.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Uwaga: Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

Uwaga: Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi probówkami.

Test Aptima Mycoplasma genitalium może być stosowany do badania próbek wymazu z pochwy pobranych przez lekarza i pobranych samodzielnie, próbek wymazu z kanału szyjki macicy pobranych przez lekarza, próbek wymazu z szyjki macicy pobranych przez lekarza w roztworze PreservCyt™, próbek moczu pobranych samodzielnie przez mężczyznę i kobietę, próbek wymazu z cewki moczowej pobranych przez lekarza oraz próbek wymazu z prącia pobranych samodzielnie. Skuteczność testu nie została oceniona dla próbek innych niż pobrane przy użyciu następujących zestawów do pobierania próbek:

- Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex
- Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima do próbek moczu kobiet i mężczyzn
- Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest do pobierania próbek wymazów z pochwy oraz prącia
- Zestaw do transportu próbek Aptima (do stosowania z próbkami ginekologicznymi pobranymi w roztworze PreservCyt)

A. Pobieranie próbek

Szczegółowe instrukcje pobierania przedstawiono w odpowiedniej ulotce załączonej do opakowania zestawu do pobierania próbek.

B. Transport i przechowywanie próbek przed wykonaniem testów:

1. Próbki wymazów

- a. Po pobraniu próbki wymazów w probówkach transportowych można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 60 dni.
- b. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, próbki wymazów w probówkach transportowych można przechowywać w temperaturze -20°C lub -70°C przez dodatkowe 90 dni.

2. Próbki moczu

- a. Przed badaniem próbki moczu należy przenieść do probówki do transportu moczu Aptima zgodnie z instrukcjami zawartymi w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do zbiórki moczu.
- b. Po zebraniu, próbki moczu w głównym pojemniku do zbiórki można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin, zanim mocz zostanie przeniesiony do probówki transportowej.
- c. Przetworzony mocz w probówce transportowej można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 30 dni (po przeniesieniu).
- d. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, przetworzony mocz w probówce transportowej można przechowywać w temperaturze -20°C lub -70°C przez dodatkowe 90 dni (po przeniesieniu).

3. Próbkę pobrane w roztworze PreservCyt
 - a. Przed badaniem, próbki ginekologiczne w roztworze PreservCyt należy przenieść do probówki do przenoszenia próbek Aptima zgodnie z instrukcjami zawartymi w ulotce dołączonej do opakowania zestawu do przenoszenia próbek Aptima.
 - b. Po zebraniu, próbki ginekologiczne w fiolce z roztworem PreservCyt można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 30 dni, zanim próbka zostanie przeniesiona do probówki do przenoszenia próbek Aptima.
 - c. Przetworzone próbki ginekologiczne w probówkach do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 60 dni (po przeniesieniu).
 - d. Jeśli konieczne jest dłuższe przechowywanie, przetworzone próbki ginekologiczne w probówkach do przenoszenia próbek można przechowywać w temperaturze -20°C lub -70°C przez dodatkowy okres do 90 dni (po przeniesieniu).
- C. Przechowywanie próbek po teście:
 1. Próbki, które były już badane, należy przechowywać pionowo w statywie.
 2. Probówki transportowe na próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
 3. Jeżeli badane próbki mają zostać wysłane, zdjąć przepuszczalną zakrętkę i nałożyć nową nieprzepuszczalną zakrętkę na wszystkie probówki transportowe na próbki. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed otworzeniem probówki do transportu próbek należy odwirować przez 5 minut przy względnej sile odśrodkowej (RCF) równej 420, aby cała ciecz spłynęła na dno probówki. **Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.**

Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

Uwaga: *Próbki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

Panther System

Odczynniki do testu Aptima Mycoplasma genitalium dla Panther System zostały wymienione poniżej. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Odczynniki i materiały

Uwaga: Informacje dotyczące zwrotów wskazujących zagrożenia i środki ostrożności, które mogą się wiązać z odczynnikami, przedstawiono w bibliotece kart charakterystyki produktów na stronie www.hologic.com/sds.

Zestaw testów Aptima Mycoplasma genitalium

100 testów (2 pudełka) (kat. nr PRD-03374)*

100 testów (2 pudełka i 1 zestaw kalibratorów) (kat. nr PRD-03919)

Pudełko chłodnicze do testów Aptima Mycoplasma genitalium
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

| Symbol | Element | Liczba sztuk |
|--------|---|--------------|
| A | Odczynnik amplifikacji do testów Aptima Mycoplasma genitalium <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i> | 1 fiolka |
| E | Odczynnik enzymatyczny do testów Aptima Mycoplasma genitalium <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i> | 1 fiolka |
| P | Odczynnik-sonda do testów Aptima Mycoplasma genitalium <i>Liofilizowane chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i> | 1 fiolka |
| IC | Kontrola wewnętrzna do testów Aptima Mycoplasma genitalium <i>Niezakaźny transkrypt RNA w roztworze buforowanym zawierającym < 5% detergentu.</i> | 1 fiolka |

Pudełko do przechowywania w temperaturze pokojowej do testów Aptima Mycoplasma genitalium
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

| Symbol | Element | Liczba sztuk |
|--------|--|--------------|
| AR | Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i> | 1 butelka |
| ER | Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i> | 1 butelka |

* Zestawy kalibratorów są sprzedawane oddzielnie. Patrz indywidualny numer katalogowy pudełka poniżej.

Pudełko do przechowywania w temperaturze pokojowej do testów Aptima Mycoplasma genitalium (po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C) (ciąg dalszy)

| Symbol | Element | Liczba sztuk |
|--------|--|--------------|
| PR | Roztwór do przygotowania odczynnika-sondy Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i> | 1 butelka |
| S | Odczynnik selekcyjny do testu Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i> | 1 butelka |
| TCR | Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych do testu Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór buforowany zawierający oligomery wychwytyjące i cząsteczki magnetyczne.</i> | 1 butelka |
| | Kołnierze do przygotowania odczynników | 3 |
| | Karta z kodami kreskowymi partii głównych | 1 karta |

Zestaw kalibratorów Aptima Mycoplasma genitalium (PRD-03393)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

| Symbol | Element | Liczba sztuk |
|--------|---|--------------|
| NCAL | Kalibrator ujemny do testu Aptima Mycoplasma genitalium <i>Roztwór buforowany zawierający < 5% detergentu.</i> | 5 fiolek |
| PCAL | Kalibrator dodatni do testu Aptima Mycoplasma genitalium <i>Niezakaźny transkrypt RNA Mycoplasma genitalium in vitro w roztworze buforowanym zawierającym < 5% detergentu.</i> | 5 fiolek |

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

| | Kat. Nr |
|--|----------------------|
| Panther System | 303095 |
| Zestaw płynów do testu Aptima <i>zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima</i> | 303014 (1000 testów) |
| Zestaw Aptima Auto Detect | 303013 (1000 testów) |
| Zestawy wieloprobówkowe (MTU) | 104772-02 |
| Zestaw torby na odpady Panther | 902731 |
| Ośłona pojemnika na odpady Panther | 504405 |
| Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System <i>zawiera zestawy MTU, torby na odpady, pokrywy pojemników na odpady, płyny testowe i odczynniki Auto Detect</i> | 303096 (5000 testów) |
| Końcówki przewodzące 1000 µL, wykrywające ciecz | 10612513 (Tecan) |
| Zestaw kalibratorów do testu Aptima Mycoplasma genitalium | PRD-03393 |

| | |
|--|---|
| Zestaw do transportu próbek Aptima <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt™</i> | 301154C |
| Zestaw do transportu próbek Aptima – drukowalny <i>do stosowania z próbkami w roztworze PreservCyt™</i> | PRD-05110 |
| Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest | PRD-03546 |
| Zestaw do pobierania wymazów z kanału szyjki macicy i męskiej cewki moczowej Aptima Unisex | 301041 |
| Zestaw do pobierania próbek moczu Aptima | 301040 |
| lub próbówki do transportu próbek moczu Aptima | 105575 |
| Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M) | — |
| Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe | — |
| Zakrętki przepuszczalne Aptima | 105668 |
| Zapasowe zakrętki odczynników do zestawów zawierających 100 testów <i>Roztwory do przygotowania odczynnika amplifikacji, enzymatycznego i o dczynnika-sondy</i> | — CL0041 (100 zakrętek) 501604 (100 zakrętek) |
| Odczynnik TCR i selekcyjny | |
| Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego | — |
| Wirówka | — |

Materiały opcjonalne

| | Kat. Nr |
|--|---------|
| Wzmacniacz wybielacza do czyszczenia Hologic <i>do rutynowego czyszczenia powierzchni i sprzętu</i> | 302101 |
| Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne | 103036A |

Procedura testu w Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w instrukcji obsługi Panther System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).

B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

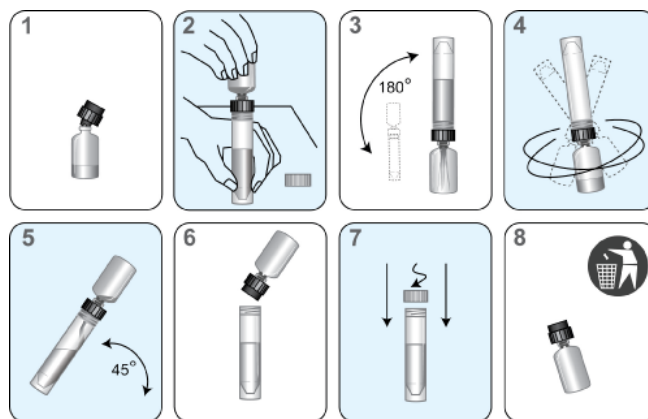
Uwaga: Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem pracy w aparacie Panther System.

1. Aby przygotować odczynniki amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki-sondy, należy połączyć liofilizowany odczynnik z odpowiednim roztworem do przygotowania odczynników. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania odczynników osiągną temperaturę pokojową.
 - a. Wyjąć z miejsca przechowywania liofilizowane odczynniki (2°C do 8°C) i odpowiednie roztwory do przygotowywania (15°C do 30°C).
 - b. Przed nałożeniem kołnierza do przygotowania sprawdzić, czy roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają dopasowane kolory na etykietce.
 - c. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
 - d. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) w fiolkę (Rysunek 1, etap 1).
 - e. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - f. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 1, etap 2).
 - g. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiołki (Rysunek 1, etap 3).
 - h. Podnieść połączone butelki i delikatnie zamieszać ruchem wirowym. Nie dopuszczać do utworzenia się piany podczas mieszania zawartości butelki ruchem wirowym (Rysunek 1, etap 4).
 - i. Poczekać dopóki liofilizowany odczynnik nie przejdzie do roztworu. Gdy liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu, następnie delikatnie wymieszać ruchem wirowym, ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie piany (Rysunek 1, etap 5). Ponownie

powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników.

- j. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 6).
- k. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 1, etap 7).
- l. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 1, etap 8).

Ostrzeżenie: *Unikać tworzenia piany podczas przygotowywania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w Panther System.*



Rysunek 1. Proces przygotowania odczynników

2. Aby przygotować wTCR, należy wykonać następujące czynności:
 - a. Wyjąć z magazynu odpowiednie butelki z TCR (15°C do 30°C) i odczynnikiem kontroli wewnętrznej (2°C do 8°C).
 - b. Sprawdzić numer partii na butelce z TCR i odczynnikiem kontroli wewnętrznej, aby upewnić się, że ich numery zgadzają się z numerami partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
 - c. Otworzyć buteleczkę TCR i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę odczynnika kontroli wewnętrznej i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce z kontrolą wewnętrzną pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. Na tym etapie unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę z odczynnikiem kontroli wewnętrznej i zakrętkę.
3. Przygotować odczynnik selekcyjny
 - a. Wyjąć odczynnik selekcyjny z miejsca przechowywania (2°C do 30°C). Sprawdzić numer partii na butelce z odczynnikiem selekcyjnym, aby upewnić się, że jest on zgodny z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
 - b. Jeśli odczynnik selekcyjny był przechowywany schłodzony, przed umieszczeniem go w Panther System należy doprowadzić go do temperatury pokojowej.
 - c. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.

Uwaga: *Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.*

C. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej

1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Wcześniej przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczne i odczynniki-sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C) przed rozpoczęciem testu.
2. Jeśli przygotowany odczynnik-sonda zawiera osad, który nie powraca do stanu roztworu w temperaturze pokojowej (15°C do 30°C), należy podgrzać zamkniętą butelkę w temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1 do 2 minut. Po tym etapie ogrzewania odczynnik-sonda może być użyty, nawet jeśli pozostanie osad resztkowy. Wymieszać odczynnik-sondę poprzez odwrócenie. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.
3. Odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i sondę, aby dokładnie je wymieszać przed załadowaniem do systemu. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia nadmiernej piany.
4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

D. Przygotowanie kalibratora

Wyjąć kalibratory z miejsca przechowywania (od 2°C do 8°C) i pozwolić, aby przed przetworzeniem osiągnęły temperaturę od 15°C do 30°C.

E. Obchodzenie się z próbkami

1. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C.
2. **Nie wytrząsać próbek.**
3. Wizualnie sprawdzić, czy każda próbówka z próbką spełnia następujące kryteria:
 - a. Obecność pojedynczej niebieskiej wymazówki Aptima w próbówce transportowej na próbki unisex.
 - b. Obecność pojedynczej różowej wymazówki Aptima w próbówce transportowej na próbki wymazów Multitest lub z pochwy.
 - c. Końcowa objętość moczu pomiędzy czarnymi liniami napełnienia próbówki transportowej do próbek moczu.
 - d. Brak wymazu lub przyrządu do pobierania próbek w próbówce do transportu próbek Aptima w przypadku próbek w roztworze PreservCyt™.
 - e. Jeśli próbka nie spełnia kryteriów, musi zostać odrzucona.
4. Przed włożeniem do statywu na próbki sprawdzić próbówki z próbkami:
 - a. Jeżeli próbówka z próbką zawiera pęcherzyki między płynem a zakrętką, wirować próbówkę przez 5 minut w 420 RCF w celu wyeliminowania pęcherzyków.
 - b. Jeżeli objętość materiału w próbówce z próbką jest mniejsza niż zwykle obserwowana w sytuacji, gdy przestrzegano instrukcji pobierania, wirować próbówkę przez 5 minut przy 420 RCF, aby mieć pewność, że pod zakrętką nie będzie płynu.
 - c. Jeśli próbka moczu zawiera osad, podgrzać próbkę w temperaturze 37°C przez 5 minut.

Uwaga: Pominięcie etapów 4a–4c może spowodować wyciek cieczy spod zakrętki próbówki.

Uwaga: Z każdej próbówki z próbką można poddać badaniu maksymalnie 4 odrębne porcje. Próby pobrania pipetą więcej niż 4 porcji z próbówki z próbką mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.

F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther System* oraz *Uwagi dotyczące procedury*.
2. Załadować próbki do statywu na próbki.
3. Gdy wszystkie próbki są załadowane, zamocować mocownik na próbki na statywie na próbki i załadować próbki do wnęki na próbki.
4. Potworzyć etapy 2 do 3 dla kolejnego statywu na próbki.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kalibratory

1. Probówki z kalibratorem Aptima dodatnim w kierunku *Mycoplasma genitalium* i kalibratorem Aptima ujemnym w kierunku *Mycoplasma genitalium* mogą być załadowane w dowolnej pozycji statywu lub w dowolnym torze wnęki na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Obecnie system przetwarza parę kalibratorów.
 - b. W systemie zarejestrowane są ważne wyniki badania kalibratorów.
2. Po odpipetowaniu probówek z kalibratorem oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima *Mycoplasma genitalium*, próbki można badać powiązanym, przygotowanym zestawem w okresie do 48 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
 - a. Wyniki kalibratorów są nieważne.
 - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Każdego kalibratora można użyć tylko raz. Próby użycia probówki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.

Kontrola jakości

Operator może unieważnić wyniki serii lub próbki w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu.

Wszystkie wyniki unieważnione przez aparat lub operatora muszą zostać ponownie zbadane.

Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni i ujemny badane są w dwóch seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Instrukcja Panther System podaje 24-godziną stabilność kalibratora, jednakże kalibracja testu Aptima Mycoplasma genitalium jest ważna do 48 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagany jest nowy zestaw kalibratorów.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kalibratora są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Jeśli dwa replikaty są nieważne dla kalibratora dodatniego lub ujemnego, oprogramowanie automatycznie unieważnia badanie. Próbki w unieważnionej serii muszą zostać ponownie przebadane przy użyciu przygotowanego zestawu kalibratorów.

Uwaga: Aby uzyskać pomoc dotyczącą kalibratorów ze znacznikami błędów poza zakresem, należy skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Hologic.

Kontrola wewnętrzna

Każda próbka zawiera kontrolę wewnętrzną (IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przetestowana.

Oprogramowanie Panther System zostało zaprojektowane w celu dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania oraz *Instrukcją obsługi Panther System*.

Interpretacja wyników

Wyniki testów są automatycznie interpretowane przez oprogramowanie Panther System do testów Aptima Mycoplasma Genitalium. Wynik testu może być ujemny, dodatni lub nieważny, jak określono na podstawie Jednostki Względnej Światła (RLU) Kontroli Wewnętrznej (IC) i stosunku sygnału do wartości granicznej (S/CO) dla analitu w etapie wykrywania (patrz poniżej). Wynik testu może być nieważny ze względu na wartości RLU wykraczające poza normalne oczekiwane zakresy. Testy, które początkowo miały wynik nieważny, należy powtórzyć. Należy przedstawić pierwszy prawidłowy wynik testu.

Tabela 1: Interpretacja wyniku

| Wynik testu | Kryteria |
|-------------|--|
| Ujemny | S/CO analitu < 1,0 IC ≥ Wartość graniczna IC IC ≤ 1 200 000 RLU |
| Dodatni | S/CO analitu ≥ 1,0 IC ≤ 1 200 000 RLU Analit ≤ 3 000 000 RLU |
| Nieważny | S/CO analitu < 1,0 i IC < wartość graniczna IC lub IC > 1 200 000 RLU lub Analit > 3 000 000 RLU |

Wyniki kontroli jakości i akceptowalność

Kryteria ważności serii

Oprogramowanie automatycznie określa ważność serii. Oprogramowanie unieważni serię, jeśli wystąpi dowolna z następujących sytuacji:

- Oba replikaty ujemnego kalibratora są nieważne.
- Oba replikaty dodatniego kalibratora są nieważne.

Operator może unieważnić serię w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu.

Serię nieważną należy powtórzyć. Serie przerwane należy powtórzyć.

Kryteria akceptacji kalibratorów

Kalibratory Aptima Mycoplasma genitalium muszą dawać następujące wyniki badań:

Tabela 2: Kryteria akceptacji

| Kalibrator | RLU | Wynik <i>M. genitalium</i> |
|-------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Analit kalibratora ujemnego | ≥ 0 i ≤ 40 000 | Ważny |
| IC kalibratora ujemnego | ≥ 120 000 i ≤ 425 000 | Ważny |
| Analit kalibratora dodatniego | ≥ 650 000 i ≤ 2 700 000 | Ważny |
| IC kalibratora dodatniego | ≥ 0 i ≤ 800 000 | Ważny |

Obliczenie wartości granicznej IC

Wartość graniczna IC wyznaczana jest na podstawie sygnału IC ważnych replikatów kalibratora ujemnego.

$$\text{Wartość graniczna IC} = 0,5 \times [\text{średnia liczba RLU IC ważnych replikatów kalibratora ujemnego}]$$

Obliczenie wartości granicznej analitu

Wartość graniczna analitu jest wyznaczana na podstawie sygnału RLU z ważnych replikatów kalibratora ujemnego oraz ważnych replikatów kalibratora dodatniego.

$$\text{Wartość graniczna analitu} = [1 \times \text{średnia wartość RLU analitu ważnych replikatów kalibratora ujemnego}] + [0,035 \times \text{średnia wartość RLU analitu ważnych replikatów kalibratora dodatniego}]$$

Obliczenie stosunku sygnału do wartości granicznej (S/CO) analitu

Stosunek S/CO analitu jest wyznaczany na podstawie wartości RLU analitu w próbce badanej oraz wartości granicznej analitu w serii.

$$\text{S/CO analitu} = \text{wartość RLU analitu próbki do badań} \div \text{wartość graniczna analitu}$$

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Nie oceniono wpływu stosowania tamponów, irygacji pochwy oraz zmiennych związanych z pobieraniem próbek na wykrywanie *M. genitalium*.
- C. Pobieranie próbek moczu, wymazu z pochwy i próbek do roztworu PreservCyt™ nie zastępuje badania szyjki macicy ani pobierania próbek z kanału szyjki macicy w diagnostyce infekcji układu moczowo-płciowego u kobiet. U pacjentek może wystąpić zapalenie szyjki macicy, zapalenie cewki moczowej, zakażenia dróg moczowych lub zakażenia pochwy spowodowane innymi czynnikami lub współistniejące zakażenia innymi czynnikami.
- D. Ten test został zbadany wyłącznie przy użyciu wskazanych rodzajów próbek. Skuteczność z innymi typami próbek nie została oceniona.
- E. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i przetwarzania. Ponieważ system transportowy używany na potrzeby tego testu nie umożliwia mikroskopowej oceny próbek pod kątem ich przydatności, niezbędne jest przeszkolenie lekarzy we właściwych technikach pobierania próbek. Instrukcje znajdują się w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi.
- F. Za pomocą testu Aptima Mycoplasma genitalium nie można określić niepowodzenia lub sukcesu terapeutycznego, ponieważ kwas nukleinowy może utrzymywać się w organizmie po zastosowaniu odpowiedniej terapii przeciwbakteryjnej.
- G. Wyniki testów Aptima Mycoplasma genitalium powinny być interpretowane w połączeniu z innymi danymi klinicznymi dostępnymi dla lekarza klinicysty.
- H. Wynik ujemny nie wyklucza możliwości wystąpienia infekcji, ponieważ wynik testu jest uzależniony od prawidłowego pobrania próbki. Na wyniki testu może mieć wpływ niewłaściwe pobranie próbki, błąd techniczny, pomylenie próbek lub poziom cząsteczek szukanых poniżej granicy wykrywalności testu.
- I. Wyniki testu Aptima Mycoplasma genitalium mają charakter jakościowy. Dlatego nie można zakładać istnienia korelacji między intensywnością dodatniego sygnału w teście a liczbą mikroorganizmów w badanej próbce.
- J. Skuteczność działania przy użyciu jakiegokolwiek rodzaju próbek od kobiet nie została określona u kobiet w ciąży.
- K. Skuteczność testu nie została oceniona u kobiet w wieku poniżej 19 lat.
- L. Jeśli próbka zawiera małą liczbę mikroorganizmów *M. genitalium*, może wystąpić nierównomierne rozmieszczenie tych organizmów, co może mieć wpływ na możliwość wykrycia rRNA bakterii *M. genitalium* w pobranym materiale. Jeśli ujemne wyniki badania próbki nie są zgodne z oceną kliniczną, może być konieczne pobranie nowej próbki.
- M. Klienci muszą niezależnie zweryfikować proces przesyłania danych do systemu LIS.
- N. Nie ustalono skuteczności testu Aptima Mycoplasma genitalium dla próbek ginekologicznych pobranych do fiolki z roztworem PreservCyt i przetworzonych przy użyciu systemów ThinPrep™.

Skuteczność testu w Panther System

Skuteczność dla próbek klinicznych i spreparowanych próbek dodatnich

Skuteczność testu Aptima Mycoplasma genitalium została porównana z alternatywnym testem TMA w kierunku *M. genitalium*. Łącznie pobrano 1422 próbki od osób badanych w Europie, Kanadzie i Stanach Zjednoczonych przy użyciu zestawów do pobierania próbek firmy Aptima. Za pomocą obu testów wewnątrznie zbadano pobrane przez lekarza i samodzielnie wymazy z pochwy (n=173), wymazy z kanału szyjki macicy (n=177), płynne próbki cytologiczne w roztworze PreservCyt™ (n=352), mocz kobiet (n=302), mocz mężczyzn (n=133), wymazy z cewki moczowej od mężczyzn (n=136) oraz samodzielnie pobrane wymazy z prącia (n=149). Ponadto do badania włączono spreparowane próbki kliniczne każdego rodzaju, z wyjątkiem moczu mężczyzn, z domieszką lizatu całokomórkowego *M. genitalium*. Stężenie *M. genitalium* w próbkach z domieszką wynosiło 0,1 CFU/mL (0,025 CFU/reakcję), co stanowi pół log poniżej najniższego możliwego stężenia *M. genitalium* w próbce klinicznej. Zgodność wyników dodatnich i ujemnych obliczono dla każdego typu próbki, łącząc próbki kliniczne i próbki spreparowane, i przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3: Zgodność wyników dodatnich i ujemnych testu Aptima Mycoplasma genitalium (AMG) w porównaniu z alternatywnym testem TMA w kierunku *M. genitalium* (ALT TMA)

| Typ próbki | N | AMG + | AMG + | AMG - | AMG - | Zgodność wyników dodatnich | Zgodność wyników ujemnych | Zgodność ogólna |
|---|------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | ALT TMA + | ALT TMA - | ALT TMA + | ALT TMA - | (95% CI) | (95% CI) | (95% CI) |
| Wymaz z prącia | 149* | 64 | 2 | 0 | 83 | 100,0% (94,3-100%) | 97,6% (91,4-99,4%) | 98,7% (95,2-99,6%) |
| Mocz mężczyzn | 133 | 45 | 1 | 0 | 87 | 100,0% (92,1-100%) | 98,9% (93,8-99,8%) | 99,2% (95,9-99,9%) |
| Wymaz z męskiej cewki moczowej | 136* | 39 | 0 | 0 | 97 | 100,0% (91,0-100%) | 100% (96,2-100%) | 100% (97,3-100%) |
| Mocz kobiet | 302* | 59 | 0 | 0 | 243 | 100,0% (93,9-100%) | 100,0% (98,4-100%) | 100% (98,7-100%) |
| Płynna próbka cytologiczna w roztworze PreservCyt | 352* | 59 | 1 | 0 | 292 | 100,0% (93,9-100%) | 99,7% (98,1-99,9%) | 99,7% (98,4-100%) |
| Wymaz z pochwy | 173* | 69 | 2 | 0 | 102 | 100,0% (94,7-100%) | 98,1% (93,3-99,5%) | 98,8% (95,9-99,7%) |
| Wymaz z kanału szyjki macicy | 177* | 64 | 0 | 0 | 113 | 100% (94,3-100%) | 100% (96,7-100%) | 100% (97,9-100%) |

* Liczba próbek z domieszką: Wymazy z prącia = 49; wymazy z cewki moczowej = 25; próbki moczu kobiet = 49; próbki w roztworze PreservCyt = 52; wymazy z pochwy = 46; wymazy z kanału szyjki macicy = 50.

Odtwarzalność testu

Odtwarzalność testów Aptima Mycoplasma genitalium została oceniona przy użyciu Panther System. Badania przeprowadzono w ciągu trzech dni z użyciem dwóch partii odczynników analitycznych i trzech operatorów korzystających z trzech aparatów Panther System. Panele odtwarzalności zostały utworzone przez dodanie do podłoża do transportu próbek (STM) odpowiedniej ilości transkryptu RNA bakterii *M. genitalium*. Końcowe stężenia RNA bakterii *M. genitalium* wynosiły 0 i 100 kopii/mL. Tabela 4 przedstawia, dla każdego elementu panelu, dane S/CO pod względem średniej, odchylenia standardowego (SD) i współczynnika zmienności (CV) między operatorami, między urządzeniami, między dniami, między partiami, między seriami, w obrębie serii i łącznie (ogółem). Tabela 5 pokazuje dodatniość i procentową zgodność paneli. W badaniu nie odnotowano wyników fałszywie ujemnych i odnotowano jeden wynik fałszywie dodatni. Do analizy włączono próbki, których wyniki były ważne.

Tabela 4: Badanie powtarzalności: Odtwarzalność testu Aptima Mycoplasma genitalium według panelu

| Panel | N | Średnia wartość S/CO | Między operatorami | | Między urządzeniami | | Między dniami | | Między seriami | | Między próbami | | W obrębie prób | | Ogółem | |
|---------------|-------|----------------------|--------------------|--------|---------------------|--------|---------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|--------|--------|
| | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| | | | Panel ujemny | 1 438 | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,00 | 31,13 | 0 | 0 | 0,36 |
| Panel dodatni | 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 = liczba; SD = odchylenie standardowe; CV = współczynnik zmienności; S/CO = stosunek sygnału do wartości granicznej.

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska.

W tym przypadku SD=0 i CV=0%.

Tabela 5: Procentowa zgodności wyników testu Aptima Mycoplasma genitalium z opisem panelu

| Opis | N ważnych | % zgodność wyników dodatnich | % zgodność |
|---------------|-----------|------------------------------|----------------------|
| Panel ujemny | 1 438 | 0,07% (0,01-0,39) | 99,93% (99,61-99,99) |
| Panel dodatni | 1 434 | 100% (99,73-100) | 100% (99,73-100) |

Czułość analityczna

Panele czułości zawierające 0,01 CFU/mL w STM zostały przygotowane z użyciem lizatu *M. genitalium*. Testy wykazały 100% dodatniość przy stężeniu 0,01 CFU/mL.

Reaktywność krzyżowa w obecności mikroorganizmów

Swoistość

Swoistość testu Aptima Mycoplasma genitalium została oceniona poprzez badanie różnych mikroorganizmów, w tym powszechnie występującej flory układu moczowo-płciowego, organizmów oportunistycznych i organizmów blisko spokrewnionych. Testy przeprowadzono w STM z 20 replikatami każdego izolatu. Wykaz organizmów i badanych stężeń podano w Tabeli 6. W teście Aptima Mycoplasma genitalium nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z żadnym z badanych mikroorganizmów.

Czułość

Czułość testu Aptima Mycoplasma genitalium została oceniona poprzez badanie tych samych mikroorganizmów (Tabela 6) w STM z dodatkiem lizatu *M. genitalium* do końcowego stężenia 0,25 CFU/mL (20 replikatów dla każdego izolatu). Nie zaobserwowano zakłóceń w obecności badanych mikroorganizmów.

Tabela 6: Mikroorganizmy badane testem Aptima Mycoplasma genitalium w Panther System

| Mikroorganizm | Stężenie | Mikroorganizm | Stężenie |
|-------------------------------------|---------------------------------|--|------------------------------|
| <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | Wirus brodawczaka ludzkiego typu 16 (komórki SiHa) | 1x10 ⁴ komórek/mL |
| <i>Actinomyces israelii</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Atopobium vaginae</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Lactobacillus crispatus</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Leptotrichia buccalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Mobiluncus curtisii</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Candida albicans</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Mycoplasma hominis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 250 CFU/mL |
| <i>Clostridium difficile</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Corynebacterium genitalium</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Peptostreptococcus magnus</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Prevotella bivia</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| Cytomegalowirus | 1x10 ⁵ TCID 50/mL | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1x10 ⁶ komórek/mL |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Proteus vulgaris</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Escherichia coli</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| <i>Haemophilus ducreyi</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| Wirus opryszczki pospolitej typu 1 | 2,5 x10 ⁶ TCID 50/mL | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| Wirus opryszczki pospolitej typu 2 | 2,5 x10 ⁶ TCID 50/mL | <i>Ureaplasma parvum</i> | 1x10 ⁶ CFU/mL |
| HIV-1 | 1x10 ⁶ kopii/mL | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 1x10 ⁶ komórek/mL |

Zakłócenia

Substancje endogenne i egzogenne były indywidualnie dodawane do STM do końcowego stężenia 1% (obj./obj lub wag./obj.) dla lubrykantów osobistych, dezodorantów, środków plemnikobójczych i środków przeciwgrzybiczych, 0,3% dla śluzu żołądkowego świni i 5% dla krwi pełnej.

W celu zbadania wpływu metabolitów moczu, w podłożu do transportu moczu (UTM) zamiast moczu została rozcieńczona kontrola do analizy moczu KOVA-Trol I wysoka nieprawidłowa z urobilinogenami. Ten materiał kontrolny do badania ludzkiego moczu zawiera potencjalne czynniki zakłócające, takie jak białko (albumina), bilirubina, glukoza, ketony, czerwone krwinki, azotyny, urobilinogen i leukocyty. Kwas octowy lodowaty badano poprzez dodanie domieszki do PreservCyt™-STM (stężenie końcowe 1%).

Nie zaobserwowano zakłóceń w przypadku żadnej z substancji po dodaniu do lizatu całych komórek *M. genitalium* w końcowym stężeniu 0,25 CFU/mL i zbadaniu testem Aptima Mycoplasma genitalium.

Bibliografia

1. Andersen, B., I. Sokolowski, L. Østergaard, J. K., Møller, F. Olesen i 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 i 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. i C. Anderson-Smiths. 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 i 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 i 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. i 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 i 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 i 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 i 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 i 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 i 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 i 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. i J. S. Jensen. 2011. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin. Microbiol. wer.* **24**:498-514.
14. Anagnrius, C., B. Loré i 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 i 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 i 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. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2014. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2014/2014-std-guidelines-peer-reviewers-08-20-2014.pdf>. Data wydania: 20 sierpnia 2014 r.



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



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Dział obsługi klienta: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Wsparcie techniczne: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther, PreservCyt i ThinPrep oraz powiązane logo są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach. Wszystkie inne znak towarowe, zastrzeżone znaki towarowe i nazwy produktów, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

KOVA-TROL jest znakiem towarowym firmy Hycor Biomedical, Inc.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA, przedstawionym na stronie www.hologic.com/patents.

©2016-2019 Hologic, Inc. Wszystkie prawa zastrzeżone.

AW-14170-3401 Wer. 008
2019-06