

Aptima Mycoplasma genitalium Assay

Per uso diagnostico *in vitro*.

Informazioni generali	2
Usò previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	3
Avvertenze e precauzioni	4
Pertinenti al laboratorio	4
Pertinenti ai campioni	5
Pertinenti al test	6
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni	8
Trasporto dei campioni	9
Panther System	10
Reagenti e materiali	10
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	11
Materiali opzionali	12
Procedura di analisi del Panther System	13
Note procedurali	16
Controllo della qualità	17
Calibrazione del test	17
Controllo interno	17
Interpretazione dei risultati	18
Risultati di controllo della qualità e accettabilità	18
Limiti	20
Prestazioni del test Panther System	21
Prestazioni dei campioni clinici e dei campioni positivi artificiali	21
Riproducibilità del test	21
Sensibilità analitica	22
Reattività crociata in presenza di microrganismi	22
Interferenza	23
Bibliografia	24

Informazioni generali

Uso previsto

Aptima Mycoplasma genitalium Assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) *in vitro* per il rilevamento qualitativo dell'RNA ribosomiale (rRNA) del *Mycoplasma genitalium* sul Panther System completamente automatico. È realizzato per essere utilizzato come ausilio nella diagnosi delle infezioni da *M. genitalium* dell'apparato urogenitale maschile e femminile.

Il test può essere utilizzato per analizzare: campioni di tampone vaginale raccolti da uno specialista o dalla paziente, campioni di tampone endocervicale raccolti da uno specialista, campioni cervicali raccolti da uno specialista in soluzione PreservCyt™, campioni di urina maschile e femminile di primo getto raccolti dal paziente, campioni di tampone uretrale maschile raccolti da uno specialista e campioni di tampone di meato penieno raccolti dal paziente.

Riepilogo e spiegazione del test

Il *M. genitalium* è un batterio gram-negativo a trasmissione sessuale, appartenente alla classe *Mollicutes*. Il *M. genitalium* è caratterizzato da una membrana cellulare priva di pareti cellulari e vive su e nelle cellule epiteliali dell'apparato urinario e genitale di uomini e donne.

Nelle popolazioni a rischio minore è stata segnalata una prevalenza di *M. genitalium* compresa tra l'1% e il 3% sia nell'uomo sia nella donna (1, 2, 3, 4). Nelle popolazioni a rischio maggiore è stata invece riportata una prevalenza compresa tra il 10% e il 41% negli uomini e il 7,3% e il 14% nelle donne (3, 5, 6, 7). La prevalenza di *M. genitalium* nelle popolazioni a rischio maggiore spesso supera quella di *Neisseria gonorrhoeae* ed è simile alla prevalenza di *Chlamydia trachomatis* (8, 9, 10, 11, 12).

Analizzando gli studi pubblicati è stato dimostrato che l'infezione da *M. genitalium* è fortemente associata all'uretrite non gonococcica (UNG) negli uomini (13). Nei soggetti valutati, il *M. genitalium* è stato rilevato in una percentuale di uomini compresa tra il 15% e il 25% con UNG sintomatica e in una percentuale > 30% di uomini affetti da UNG non clamidiale. Nelle donne, diversi studi hanno rilevato un'associazione di *M. genitalium* a cervicite ($P \leq 0,03$; 8, 12, 14). Una recente meta-analisi ha mostrato anche che l'infezione da *M. genitalium* è stata associata a un incremento più o meno doppio del rischio di cervicite, malattia infiammatoria pelvica, parto pretermine, aborto spontaneo e infertilità (15).

Le infezioni da *M. genitalium* spesso non vengono riconosciute e i soggetti infetti sono asintomatici o presentano sintomi simili a quelli associati ad altre infezioni batteriche del tratto urogenitale. In una valutazione di uomini presso una clinica IST in Svezia, il 61% (17/28) dei soggetti con infezioni da *M. genitalium* è risultato sintomatico, mentre il 93% (26/28) presentava segni di uretrite (14). Nelle donne, l'infezione da *M. genitalium* è spesso asintomatica. In una valutazione di donne presso una clinica IST in Svezia, il 77% (17/22) dei soggetti con infezioni da *M. genitalium* è risultato asintomatico, sebbene molte donne mostrassero segni clinici di infezione, mentre il 50% (11/22) presentava segni di uretrite e/o cervicite: 2 presentavano solo segni di uretrite, 6 presentavano solo segni di cervicite e 3 presentavano sia segni di uretrite sia di cervicite (16).

In pazienti con entrambi i segni o sintomi relativi, il trattamento attualmente consigliato è incentrato sulle infezioni clamidiali, da *Trichomonas* o gonorrea. Tuttavia, una terapia antimicrobica ottimale per uretriti e cerviciti associate a batteri è specifica per organismo e i

regimi terapeutici efficaci contro tali organismi hanno una scarsa efficacia relativamente alla cura di infezioni da *M. genitalium*.

Poiché il *M. genitalium* è complicato e difficile da sottoporre a coltura, i centri per la prevenzione e il controllo delle malattie degli Stati Uniti consigliano l'uso di NAAT per rilevare la presenza di *M. genitalium* (17). Aptima Mycoplasma genitalium Assay è un NAAT che utilizza tecnologie di cattura del target, amplificazione mediata da trascrizione (TMA) e analisi con protezione dell'ibridizzazione (HPA) per rilevare l'rRNA 16S del *M. genitalium*.

Principi della procedura

Aptima Mycoplasma genitalium Assay prevede tre passaggi principali che si svolgono tutti in un'unica provetta caricata sul Panther System: cattura del target, amplificazione mediata da trascrizione (TMA) e analisi con protezione dell'ibridizzazione (HPA). Il test incorpora un controllo interno (CI) per il monitoraggio della cattura, dell'amplificazione e del rilevamento dell'acido nucleico, nonché dell'individuazione di eventuali errori dell'operatore o dello strumento.

Un campione viene raccolto e trasferito nella provetta di trasporto del campione appropriata. La soluzione di trasporto contenuta nell'apposita provetta rilascia le molecole di rRNA target e le protegge dalla degradazione durante l'immagazzinaggio. Quando il test Aptima Mycoplasma genitalium Assay viene eseguito nel laboratorio, le molecole di rRNA target, se presenti, vengono isolate mediante uno specifico oligomero di cattura e microparticelle magnetiche con un metodo denominato cattura del target. L'oligomero di cattura contiene una sequenza complementare di una specifica regione della molecola target oltre a un filamento di residui di deossadenosina. Durante il procedimento di ibridizzazione, la regione specifica della sequenza dell'oligomero di cattura si lega a una regione specifica della molecola target. Il complesso oligomero di cattura: target viene quindi catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette l'ibridizzazione fra la regione della deossadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate ad esse legate, vengono spinte sul lato del contenitore di reazione usando dei magneti, e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono lavate per rimuovere la matrice residua di campione che potrebbe contenere inibitori dell'amplificazione. Una volta completati i procedimenti di cattura del target, l'rRNA è pronto per l'amplificazione.

I test di amplificazione del target si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di eseguire l'ibridazione specifica e di permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. La reazione della TMA Hologic amplifica una regione specifica della subunità ribosomiale minore del *M. genitalium* tramite gli intermedi di DNA e RNA e genera molecole di ampliconi di RNA. Il rilevamento delle sequenze di prodotto di amplificazione dell'rRNA viene ottenuto usando l'ibridizzazione dell'acido nucleico. Ogni sonda di DNA chemiluminescente con filamento unico, complementare a una regione dell'amplicone target, viene marcata con una molecola di estere di acridinio. Le sonde di DNA marcate si combinano con l'amplicone per formare ibridi RNA:DNA stabili. Il reagente di selezione differenzia la sonda ibridizzata da quella non ibridizzata, eliminando la generazione di segnale dalla seconda. Durante la fase di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati RNA:DNA viene misurata in un luminometro come segnali fotonici che vengono riportati come unità relative di luce (RLU).

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System) prima di eseguire questo test.
- C. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di Aptima Mycoplasma genitalium Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- D. **Avvertenza: Sostanze irritanti e corrosive:** evitare il contatto dell'Auto Detect 1 e dell'Auto Detect 2 con pelle, occhi e mucose. Se questi liquidi vengono a contatto con pelle o occhi, risciacquare con acqua. In caso di spargimento di questi liquidi, diluire il versamento con acqua prima di asciugarlo. Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza.
- E. Per ulteriori informazioni relative a precauzioni e avvertenze specifiche, consultare il *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System).

Pertinenti al laboratorio

- F. Usare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
Nota: *Come in qualsiasi sistema di reagenti, il talco eccessivo in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di talco.*
- H. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.
- I. Smaltire tutti i materiali che sono entrati in contatto con campioni e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.
- J. Le buone pratiche standard per i laboratori molecolari includono il monitoraggio ambientale. Per monitorare l'ambiente di un laboratorio, si consiglia la seguente procedura:
 - a. Per ciascuna area da analizzare, ottenere un kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali.
 - b. Etichettare in maniera appropriata ogni provetta.
 - c. Rimuovere il tampone di raccolta del campione (tampone con bastoncino blu e scritta verde) dalla confezione.
 - d. Per raccogliere i campioni dalle superfici, inumidire leggermente il tampone di raccolta del campione con acqua priva di nucleasi.

- e. Passare il bastoncino di ovatta sulla superficie di interesse con un movimento verticale dall'alto verso il basso. Ruotare il bastoncino di ovatta di circa mezzo giro mentre lo si passa sulla superficie.
- f. Collocare immediatamente nella provetta di trasporto il bastoncino con il campione.
- g. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
- h. Rimettere saldamente il tappo sulla provetta di trasporto del tampone.
- i. Ripetere queste fasi per eventuali rimanenti bastoncini con i campioni.
- j. Analizzare i bastoncini con il test molecolare.

Pertinenti ai campioni

- K. Le date di scadenza per i kit di trasferimento dei campioni si riferiscono alla raccolta/al trasferimento di campioni e non all'analisi dei campioni. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel foglietto illustrativo, anche se la data di scadenza indicata sulla provetta di trasferimento è superata.
- L. I campioni potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. È necessario stabilire metodi di manipolazione e smaltimento adeguati in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali.
- M. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- N. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con un campione.
- O. In certe condizioni, i tappi delle provette di trasferimento Aptima possono liberare liquido quando vengono forati. Per maggiori informazioni, consultare *Procedura di analisi del Panther System*.
- P. Dopo l'aggiunta dell'urina nell'apposita provetta di trasporto, il livello del liquido deve rientrare fra le due righe nere indicatrici marcate sull'etichetta della provetta. In caso contrario, il campione va rifiutato.
- Q. Se il laboratorio riceve una provetta di trasporto dei campioni di tampone che non contiene alcun tampone o contiene due tamponi, un tampone di pulizia o un tampone non fornito da Hologic, il campione va rifiutato.

Pertinenti al test

- R. Non utilizzare i kit di reagente o calibratore dopo la data di scadenza.
- S. Tappare e conservare i reagenti alle temperature specificate. L'uso di reagenti conservati in modo improprio può influire sulle prestazioni del test. Per maggiori informazioni, consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti* e *Procedura di analisi del Panther System*.
- T. Non combinare reagenti o liquidi del test senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- U. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- V. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti per test provenienti da kit con numeri di lotto diversi. I calibratori non sono specifici del lotto e i liquidi dei test possono avere numeri di lotto diversi.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

Nota: Per informazioni sulle dichiarazioni relative a pericoli e precauzioni che possono essere associate ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza reperibile sul sito www.hologic.com/sds.

- A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti e calibratori.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione	2 °C – 8 °C		
Reagente enzimatico	2 °C – 8 °C		
Reagente sonda	2 °C – 8 °C		
Reagente di controllo interno	2 °C – 8 °C		
Soluzione di ricostituzione amplificazione	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni
Soluzione di ricostituzione enzimatica	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni
Soluzione di ricostituzione sonda	15 °C – 30 °C	2 °C – 8 °C	30 giorni
Reagente di cattura del target	15 °C – 30 °C	15 °C – 30 °C	30 giorni
Reagente di selezione	2 °C – 30 °C	2 °C – 30 °C	30 giorni
Calibratore negativo	2 °C – 8 °C		Fiala monouso
Calibratore positivo	2 °C – 8 °C		Fiala monouso

- B. Se il reagente di selezione viene conservato refrigerato, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente prima di collocarlo sul Panther System.
- C. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- D. I calibratori non aperti sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- E. I reagenti ricostituiti conservati sul Panther System sono stabili per 156 ore quando sono conservati sullo strumento. Il Panther System registra ogni volta che i reagenti vengono caricati.
- F. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente. Prima della conservazione,appare sempre tutti i reagenti ricostituiti con nuovi tappi del reagente.
- G. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione.
- H. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni

Nota: Maneggiare tutti i campioni come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: Prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Con Aptima Mycoplasma genitalium Assay è possibile analizzare campioni di tampone vaginale raccolti da uno specialista o dalla paziente, campioni di tampone endocervicale raccolti da uno specialista, campioni cervicali raccolti da uno specialista in soluzione PreservCyt™, campioni di urina maschile e femminile di primo getto raccolti dal paziente, campioni di tampone uretrale maschile raccolti da uno specialista e campioni di tampone di meato penieno raccolti dal paziente. Le prestazioni del test non sono state valutate con campioni diversi da quelli raccolti con i seguenti kit di raccolta dei campioni:

- Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali
- Kit di raccolta di urina Aptima per campioni di urina maschili e femminili
- Kit di raccolta dei campioni di tampone vaginale Aptima
- Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima per campioni di tampone vaginali e campioni di tampone del meato penieno
- Kit di trasferimento dei campioni Aptima (per l'uso con i campioni ginecologici raccolti in soluzione PreservCyt)

A. Raccolta dei campioni

Per istruzioni specifiche sulla raccolta, consultare il foglietto illustrativo dell'appropriato kit di raccolta dei campioni.

B. Trasporto e conservazione dei campioni prima dell'analisi:

1. Campioni di tampone

- a. Dopo la raccolta, i campioni di tampone contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 30 °C fino a un massimo di 60 giorni.
- b. Se occorre conservarli più a lungo, i campioni di tampone contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di -20 °C o -70 °C fino a un massimo di 90 giorni.

2. Campioni di urina

- a. Prima di analizzare i campioni di urina, l'urina deve essere trasferita in un'apposita provetta di trasporto Aptima in conformità alle istruzioni contenute nel foglietto illustrativo del kit di raccolta delle urine.
- b. Dopo la raccolta, i campioni di urina contenuti nel contenitore di raccolta primaria possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 30 °C fino a 24 ore prima che l'urina venga trasferita nella provetta di trasporto.
- c. L'urina elaborata nella provetta di trasporto può essere conservata a una temperatura di 2 °C – 30 °C per un massimo di 30 giorni (dopo il trasferimento).
- d. Se occorre conservarla più a lungo, l'urina elaborata contenuta nella provetta di trasporto può essere conservata a una temperatura di -20 °C o -70 °C fino a un massimo di 90 giorni (dopo il trasferimento).

3. Campioni raccolti nella soluzione PreservCyt
 - a. Prima di analizzare campioni ginecologici nella soluzione PreservCyt, il volume deve essere trasferito in una provetta di trasporto del campione Aptima in conformità alle istruzioni contenute nel foglietto illustrativo del kit di trasferimento dei campioni Aptima.
 - b. Dopo la raccolta, i campioni ginecologici contenuti nella fiala della soluzione PreservCyt possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 30 °C per un massimo di 30 giorni prima che il volume venga trasferito nella provetta di trasporto del campione Aptima.
 - c. I campioni ginecologici trattati contenuti nelle provette di trasporto possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 30 °C per un massimo di 60 giorni (dopo il trasferimento).
 - d. Se occorre conservarli più a lungo, i campioni ginecologici elaborati contenuti nella provetta di trasporto possono essere conservati a una temperatura di -20 °C o -70 °C fino a un massimo di 90 giorni (dopo il trasferimento).
- C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi
 1. I campioni analizzati devono essere conservati su una rastrelliera, in posizione verticale.
 2. Le provette di trasporto dei campioni vanno coperte con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio.
 3. Se i campioni analizzati devono essere spediti, rimuovere i tappi penetrabili e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili sulle provette di trasporto del campione. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto del campione per 5 minuti ad una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta.
Evitare schizzi e contaminazione crociata.

Trasporto dei campioni

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni*.

Nota: *I campioni devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti di Aptima Mycoplasma genitalium Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

Reagenti e materiali

Nota: Per informazioni sulle dichiarazioni relative a pericoli e precauzioni che possono essere associate ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza reperibile sul sito www.hologic.com/sds.

Kit Aptima Mycoplasma genitalium Assay

100 test (2 confezioni) (n. di cat. PRD-03374)*

100 test (2 confezioni e 1 kit calibratori) (n. di cat. PRD-03919)

Confezione refrigerata Aptima Mycoplasma genitalium (alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione Aptima Mycoplasma genitalium <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico Aptima Mycoplasma genitalium <i>Trascrittasi inversa e polimerasi dell'RNA liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 fiala
P	Reagente sonda Aptima Mycoplasma genitalium <i>Sonda di DNA chemiluminescente liofilizzata in soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala
CI	Controllo interno Aptima Mycoplasma genitalium <i>RNA trascritto non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala

Confezione a temperatura ambiente Aptima Mycoplasma genitalium (conservare a una temperatura di 15 °C – 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
AR	Soluzione di ricostituzione amplificazione Aptima Mycoplasma genitalium <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 flacone
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima Mycoplasma genitalium <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 flacone

* I kit calibratore sono venduti separatamente. Vedere sotto il numero di parte delle singole confezioni.

Confezione a temperatura ambiente Aptima Mycoplasma genitalium
(conservare a una temperatura di 15 °C – 30 °C) (continua)

Simbolo	Componente	Quantità
PR	Soluzione di ricostituzione sonda Aptima Mycoplasma genitalium <i>Soluzione tampone succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 flacone
S	Reagente di selezione Aptima Mycoplasma genitalium <i>600 mM di soluzione tampone borato contenente tensioattivo.</i>	1 flacone
TCR	Reagente di cattura del target Aptima Mycoplasma genitalium <i>Soluzione tamponata contenente oligomeri di cattura e particelle magnetiche.</i>	1 flacone
	Collari per ricostituzione	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda

Kit calibratori Aptima Mycoplasma genitalium (PRD-03393)
(alla ricezione, conservare a una temperatura di 2 °C – 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NCAL	Calibratore negativo Aptima Mycoplasma genitalium <i>Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 fiale
PCAL	Calibratore positivo Aptima Mycoplasma genitalium <i>RNA trascritto non infettivo di Mycoplasma genitalium in vitro in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente.</i>	5 fiale

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: Salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	N. di cat.
Panther System	303095
Kit di liquidi per test Aptima <i>contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i>	303014 (1000 test)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405
Oppure kit procedurale Panther System <i>contiene unità multiprovette (MTU), sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di test e Auto Detect</i>	303096 (5000 test)
Puntali, 1000 µl conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)

Kit calibratori Aptima Mycoplasma genitalium	PRD-03393
Kit di trasferimento dei campioni Aptima <i>per l'uso con campioni in soluzione PreservCyt™</i>	301154C
Kit di raccolta dei campioni di tampone vaginale Aptima	301162
Kit di raccolta dei campioni di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone uretrali maschili ed endocervicali	301041
Kit di raccolta dei campioni di urina Aptima	301040
Oppure provette di trasporto dei campioni di urina Aptima	105575
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 7% (0,7 M – 1,0 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi penetrabili Aptima	105668
Tappi di sostituzione del reagente per kit da 100 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda, enzimatici e di amplificazione TCR e reagente di selezione</i>	<i>CL0041 (100 tappi) 501604 (100 tappi)</i>
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Centrifuga	—

Materiali opzionali

	N. di cat.
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic <i>per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A

Procedura di analisi del Panther System

Nota: Per ulteriori informazioni sulla procedura del Panther System, vedere il Panther System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther System).

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A.1).

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: Eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione appropriata. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Rimuovere dal luogo di conservazione i reagenti liofilizzati (2 °C – 8 °C) e le corrispondenti soluzioni di ricostituzione (15 °C – 30 °C).
 - b. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente liofilizzato presentino etichette di colore uguale.
 - c. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - d. Aprire la fiala di reagente liofilizzato rimuovendo il sigillo metallico e il tappo di gomma. Inserire con decisione sulla fiala l'estremità indentata del collare di ricostituzione (nero) (Figura 1, passaggio 1).
 - e. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - f. Appoggiare il flacone con la soluzione di ricostituzione su una superficie stabile (sul banco). Quindi, capovolgere la fiala del reagente liofilizzato sul flacone con la soluzione di ricostituzione e fissare saldamente il collare al flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 1, passaggio 2).
 - g. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati (fiala fissata al flacone con la soluzione) per consentire alla soluzione di drenare nella fiala di vetro (Figura 1, passaggio 3).
 - h. Raccogliere i flaconi assemblati e rotearli delicatamente. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, passaggio 4).
 - i. Attendere che il reagente liofilizzato vada in soluzione. Dopo che il reagente liofilizzato è andato in soluzione, roteare delicatamente i flaconi assemblati per miscelarli, quindi capovolgerli nuovamente, inclinandoli a un angolo di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, passaggio 5). Inclinare di

nuovo lentamente i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di drenare nuovamente nel flacone della soluzione di ricostituzione.

- j. Rimuovere con cautela il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, passaggio 6).
- k. Rimettere il tappo sul flacone. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, passaggio 7).
- l. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, passaggio 8).

Avvertenza: Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

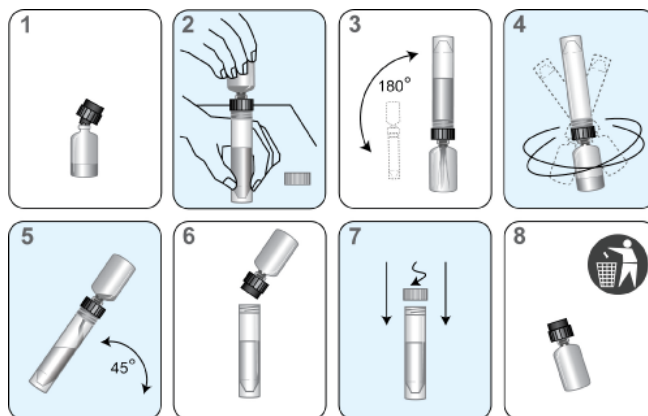


Figura 1. Processo di ricostituzione dei reagenti

2. Per preparare il wTCR, procedere nel modo seguente:
 - a. Rimuovere dal luogo di conservazione i flaconi di TCR appropriati (15 °C – 30 °C) e il reagente di controllo interno (2 °C – 8 °C).
 - b. Controllare il numero di lotto sul flacone di TCR e il flacone del reagente di controllo interno per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Togliere il tappo dal flacone di reagente di controllo interno e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di controllo interno resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.
 - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Smaltire il flacone e il tappo del reagente di controllo interno.
3. Preparazione del reagente di selezione
 - a. Rimuovere il reagente di selezione dal luogo di conservazione (2 °C – 30 °C). Controllare il numero di lotto sul flacone del reagente di selezione per assicurarsi che corrisponda al numero riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.
 - b. Se il reagente di selezione viene conservato refrigerato, lasciare che raggiunga la temperatura ambiente prima di collocarlo sul Panther System.

c. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: *Miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati

1. Rimuovere dal luogo di conservazione (2 °C – 8 °C) i reagenti precedentemente preparati. I reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (15 °C – 30 °C) prima di iniziare il test.
2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato a temperatura ambiente (15 °C – 30 °C) riscaldare il flacone chiuso con il tappo ad una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso fra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Miscelare il reagente sonda mediante inversione. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.
3. Capovolgere i reagenti sonda, di amplificazione ed enzimatico per miscelarli bene prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma eccessiva quando si capovolgono i reagenti.
4. Evitare di rabboccare i flaconi dei reagenti. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

D. Preparazione del calibratore

Rimuovere i calibratori dal luogo di conservazione (2 °C – 8 °C) e attendere che raggiungano una temperatura di 15 °C – 30 °C prima del trattamento.

E. Manipolazione dei campioni

1. Lasciare che i campioni raggiungano una temperatura di 15 °C – 30 °C prima di sottoporli al trattamento.
2. **Non mettere i campioni sul vortex.**
3. Controllare visivamente che ciascuna provetta del campione soddisfi almeno uno dei seguenti criteri:
 - a. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima blu in una provetta di trasporto dei campioni di tampone unisex.
 - b. La presenza di un singolo tampone di raccolta Aptima rosa in una provetta di trasporto dei campioni di tampone vaginali o multitest.
 - c. Un volume finale di urina compreso tra le linee nere di riempimento di una provetta di trasporto dei campioni di urina.
 - d. L'assenza di un tampone o un dispositivo di raccolta nella provetta di trasporto del campione Aptima per i campioni della soluzione PreservCyt™.
 - e. Se i campioni non soddisfano i criteri possono essere rifiutati.
4. Ispezionare le provette dei campioni prima di caricarle sulla rastrelliera dei campioni:
 - a. Se una provetta del campione contiene bollicine nello spazio fra il liquido e il tappo, centrifugarla per 5 minuti a 420 RCF per eliminare le bollicine.
 - b. Se una provetta del campione presenta un volume inferiore a quello tipicamente osservato quando sono state seguite le istruzioni per la raccolta, centrifugare la provetta per 5 minuti a 420 RCF per assicurarsi che non sia presente liquido nel tappo.

- c. Se una provetta del campione di urina contiene precipitato, riscaldare il campione a 37 °C per un massimo di 5 minuti.

Nota: La mancata osservanza dei procedimenti 4a-4c potrebbe determinare un versamento di liquido dal tappo della provetta del campione.

Nota: Da ciascuna provetta del campione possono essere analizzate fino a 3 aliquote separate. I tentativi di pipettare più di 3 aliquote dalla provetta del campione possono causare errori di volume insufficiente.

F. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System) e in *Note procedurali*.
2. Caricare i campioni nella rastrelliera dei campioni.
3. Quanto tutti i campioni sono caricati, fissare il fermo campioni sulla rastrelliera dei campioni e caricare i campioni nello scomparto dei campioni.
4. Ripetere i passaggi da 2 a 3 per la successiva rastrelliera dei campioni.

Note procedurali

A. Calibratori

1. Le provette del calibratore positivo Aptima per *Mycoplasma genitalium* e del calibratore negativo Aptima per *Mycoplasma genitalium* possono essere caricate in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi corsia dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando verrà soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
 - a. Alcuni calibratori sono attualmente in fase di elaborazione da parte del sistema.
 - b. Il sistema ha registrato risultati validi per i calibratori.
2. Quando le provette del calibratore sono state pipettate e sono in fase di trattamento per il kit di reagenti del test Aptima Mycoplasma genitalium Assay, i campioni biologici possono essere analizzati con il kit ricostituito a essi associato per un massimo di 48 ore **a meno che:**
 - a. I risultati del calibratore non siano validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato venga rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta del calibratore può essere utilizzata un'unica volta. Se si tenta di analizzare la provetta più di una volta, è possibile che si verifichino errori di trattamento.

Controllo della qualità

Il risultato di una sessione analitica o di un campione può essere annullato da un operatore se durante l'esecuzione del test si riscontrano problemi tecnici o difficoltà riconducibili all'operatore o allo strumento e tali difficoltà vengono documentate.

Tutti i risultati considerati non validi dallo strumento o dall'operatore devono essere rianalizzati.

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la calibrazione del test. Un calibratore positivo e uno negativo vengono analizzati in duplicato tutte le volte che un kit di reagenti viene caricato sul Panther System. Il manuale del Panther System elenca una stabilità del calibratore di 24 ore, ma la calibrazione del test Aptima Mycoplasma genitalium Assay è valida fino a 48 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario eseguire una nuova calibrazione.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione del calibratore vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se i due replicati non sono validi né per il calibratore positivo né per quello negativo, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere rianalizzati utilizzando una serie di calibratori preparati al momento.

Nota: Per assistenza con i calibratori con segnalazioni di errore al di fuori del range, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

Controllo interno

Ciascun campione contiene un controllo interno (CI). Durante il trattamento, i criteri di accettabilità CI vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se il risultato CI risulta non valido, il risultato del campione viene annullato. Ogni campione con un risultato CI non valido deve essere rianalizzato.

Il software del Panther System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite rispettando le istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo e nel *Panther System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther System).

Interpretazione dei risultati

I risultati del test vengono interpretati automaticamente dal software del test Aptima Mycoplasma genitalium Assay sul Panther System. Il risultato di un test può essere negativo, positivo o non valido in base a quanto determinato dall'unità di luce relativa (RLU) del controllo interno (CI) e il rapporto segnale/cutoff (S/CO) per l'analita nella fase di rilevamento (vedere di seguito). Un risultato dell'analisi può essere non valido a causa di valori RLU che non rientrano negli intervalli normali attesi. I risultati del test iniziali non validi vanno rianalizzati. Riportare il primo risultato valido.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati

Risultato del test	Criteri
Negativo	S/CO analita < 1,0 CI ≥ cutoff CI CI ≤ 1.200.000 RLU
Positivo	S/CO analita ≥ 1,0 CI ≤ 1.200.000 RLU Analita ≤ 3.000.000 RLU
Non valido	S/CO analita < 1,0 e CI < cutoff CI oppure CI > 1.200.000 RLU oppure Analita > 3.000.000 RLU

Risultati di controllo della qualità e accettabilità

Criteri di validità della sessione analitica

Il software stabilisce automaticamente la validità della sessione analitica. Il software considera non valida una sessione analitica se si verifica una qualsiasi delle seguenti condizioni:

- Entrambi i replicati del calibratore negativo risultano non validi.
- Entrambi i replicati del calibratore positivo risultano non validi.

Una sessione analitica può essere considerata non valida da un operatore se si osservano e si documentano durante il test difficoltà tecniche, dell'operatore o dello strumento.

Una sessione analitica non valida deve essere ripetuta. Le sessioni analitiche annullate devono essere ripetute.

Criteri di accettabilità dei calibratori

I calibratori Aptima Mycoplasma genitalium devono generare i seguenti risultati del test:

Tabella 2: Criteri di accettabilità

Calibratore	RLU	Risultato <i>M. genitalium</i>
Analita calibratore negativo	≥ 0 e ≤ 40.000	Valido
CI calibratore negativo	≥ 120.000 e ≤ 425.000	Valido
Analita calibratore positivo	≥ 650.000 e ≤ 2.700.000	Valido
CI calibratore positivo	≥ 0 e ≤ 800.000	Valido

Calcolo del cutoff del CI

Il cutoff CI viene determinato in base al segnale del CI proveniente dai replicati validi del calibratore negativo.

$$\text{Cutoff CI} = 0,5 \times [\text{ossia RLU CI dei replicati validi del calibratore negativo}]$$

Calcolo del cutoff analita

Il cutoff analita viene determinato in base al segnale RLU proveniente dai replicati validi del calibratore negativo e dai replicati validi del calibratore positivo.

$$\text{Cutoff analita} = [1 * \text{significa RLU dell'analita dei replicati validi del calibratore negativo}] + [0,035 \times \text{significa RLU dell'analita dei replicati validi del calibratore positivo}]$$

Calcolo del segnale/cutoff (S/CO) analita

Il valore S/CO dell'analita è determinato dal valore RLU dell'analita del campione di test e il cutoff analita per la sessione analitica.

$$\text{S/CO analita} = \text{RLU analita campione test} \div \text{cutoff analita}$$

Limiti

- A. L'uso di questo test va limitato al personale che è stato addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto può determinare risultati erranei.
- B. Gli effetti dell'uso di tamponi, di pulizia dell'area vaginale e di variabili nella raccolta dei campioni non sono stati valutati relativamente al loro impatto sul rilevamento di *M. genitalium*.
- C. La raccolta di campioni di urina, di tamponi vaginali e campioni biologici in soluzione PreservCyt™ non è concepita per sostituire gli esami cervicali e i campioni endocervicali per la diagnosi di infezioni dell'apparato urogenitale femminile. Le pazienti potrebbero essere affette da cervicite, uretrite, infezioni del tratto urinario o infezioni vaginali dovute ad altre cause o a infezioni concomitanti ad altri agenti patogeni.
- D. Questo test è stato analizzato usando solo i tipi di campioni indicati. Non sono state valutate le prestazioni con altri tipi di campione.
- E. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione. Poiché il sistema di trasporto impiegato per questo test non permette la valutazione microscopica dell'adeguatezza dei campioni, è necessario addestrare i medici sulle appropriate tecniche di raccolta dei campioni. Vedere *Raccolta e conservazione dei campioni* per istruzioni. Per informazioni dettagliate, consultare le istruzioni per l'uso appropriate.
- F. Il successo o il fallimento terapeutici non possono essere determinati con Aptima Mycoplasma genitalium Assay, perché l'acido nucleico potrebbe persistere dopo la terapia antimicrobica appropriata.
- G. I risultati ottenuti con Aptima Mycoplasma genitalium Assay vanno interpretati insieme agli altri dati clinici a disposizione del medico.
- H. Un risultato negativo non preclude una possibile infezione perché i risultati dipendono da un'appropriate raccolta dei campioni. I risultati del test possono essere influenzati da un'inadeguata raccolta dei campioni, da errori tecnici, scambi di campioni o livelli target inferiori al limite di rilevamento del test.
- I. Aptima Mycoplasma genitalium Assay offre risultati qualitativi. Non può quindi essere tracciata una correlazione fra l'intensità di un segnale positivo del test e il numero di organismi in un campione.
- J. Le prestazioni mediante qualsiasi tipo di campione femminile non sono state determinate nelle donne incinte.
- K. Le prestazioni del test non sono state valutate nelle donne di età inferiore ai 19 anni.
- L. Se un campione presenta un numero ridotto di organismi *M. genitalium*, potrebbe verificarsi una distribuzione irregolare di questi ultimi, che può influire sulla capacità di rilevare l'rRNA del *M. genitalium* nel materiale raccolto. Se i risultati negativi derivanti dal campione non rispecchiano l'impressione clinica, potrebbe essere necessario un nuovo campione.
- M. Ciascun cliente deve convalidare in modo indipendente un processo di trasferimento al LIS.
- N. Le prestazioni dei campioni ginecologici raccolti nella fiala di soluzione PreservCyt e trattati con i sistemi ThinPrep™ non sono state stabilite per Aptima Mycoplasma genitalium Assay.

Prestazioni del test Panther System

Prestazioni dei campioni clinici e dei campioni positivi artificiali

Le prestazioni di Aptima Mycoplasma genitalium Assay sono state confrontate con un test TMA *M. genitalium* target alternativo. Sono stati raccolti 1422 campioni, in totale, da soggetti in Europa, Canada e Stati Uniti utilizzando kit di raccolta dei campioni Aptima. Campioni di tampone vaginale raccolti da uno specialista o dalla paziente (n = 173), tamponi endocervicali (n = 177), campioni citologici basati su liquido PreservCyt™ (n = 352), urina femminile (n = 302), urina maschile (n = 133), tamponi uretrali maschili (n = 136) e tamponi di meato penieno raccolti dal paziente (n = 149) sono stati analizzati in sede con entrambi i test. Inoltre, i campioni clinici artificiali di ciascun tipo di campione, tranne l'urina maschile, sono corretti con *M. genitalium* il cui lisato cellulare è stato incluso nello studio. La concentrazione di *M. genitalium* dei campioni corretti era di 0,1 CFU/ml (0,025 CFU/reazione), rappresentante un semilogaritmo al di sotto della concentrazione minima possibile di *M. genitalium* in un campione clinico. Le concordanze positive e negative sono state calcolate per ciascun tipo di campione, combinando i campioni clinici e i campioni artificiali. Sono indicate nella Tabella 3.

Tabella 3: Concordanza positiva e negativa di Aptima Mycoplasma genitalium Assay (AMG) confrontata con un test TMA *M. genitalium* target alternativo (ALT TMA)

Tipo di campione	N	AMG +	AMG +	AMG -	AMG -	Concordanza	Concordanza	Concordanza
		ALT TMA +	ALT TMA -	ALT TMA +	ALT TMA -	positiva	negativa	complessiva
						(IC del 95%)	(IC del 95%)	(IC del 95%)
Tampone di meato penieno	149*	64	2	0	83	100,0% (94,3-100%)	97,6% (91,4-99,4%)	98,7% (95,2-99,6%)
Urina maschile	133	45	1	0	87	100,0% (92,1-100%)	98,9% (93,8-99,8%)	99,2% (95,9-99,9%)
Tampone uretrale maschile	136*	39	0	0	97	100,0% (91,0-100%)	100% (96,2-100%)	100% (97,3-100%)
Urina femminile	302*	59	0	0	243	100,0% (93,9-100%)	100,0% (98,4-100%)	100% (98,7-100%)
Campione citologico basato su liquido PreservCyt	352*	59	1	0	292	100,0% (93,9-100%)	99,7% (98,1-99,9%)	99,7% (98,4-100%)
Tampone vaginale	173*	69	2	0	102	100,0% (94,7-100%)	98,1% (93,3-99,5%)	98,8% (95,9-99,7%)
Tampone endocervicale	177*	64	0	0	113	100% (94,3-100%)	100% (96,7-100%)	100% (97,9-100%)

* Numero di campioni corretti: Tamponi del meato penieno = 49; tamponi uretrali = 25; campioni di urina femminile = 49; campioni PreservCyt = 52; tamponi vaginali = 46; tamponi endocervicali = 50.

Riproducibilità del test

La riproducibilità del test Aptima Mycoplasma genitalium Assay è stata valutata utilizzando il Panther System. L'analisi è stata eseguita in un arco temporale di tre giorni utilizzando due lotti di reagenti del test e tre Panther System utilizzati da tre operatori. I pannelli per la valutazione della riproducibilità sono stati creati correggendo i terreni di trasporto dei campioni (STM) con la quantità appropriata di RNA trascritto del *M. genitalium*. Le concentrazioni finali di RNA del *M. genitalium* erano pari a 0 e 100 copie/ml. La Tabella 4 presenta, per ogni elemento del pannello, i dati S/CO in termini di valore mediano, deviazione standard (DS) e coefficiente di variazione (CV) tra operatori, tra strumenti, tra giorni, tra lotti, tra sessioni analitiche, durante le sessioni analitiche e complessivamente (totale). La Tabella 5 mostra la positività e la

percentuale di concordanza dei pannelli. Nello studio è stato rilevato un unico falso positivo e nessun falso negativo. I campioni con risultati validi sono stati inclusi nelle analisi.

Tabella 4: Studio sulla riproducibilità: riproducibilità di Aptima Mycoplasma genitalium Assay mediante pannello

Pannello	N	S/CO medio	Tra operatori diversi		Tra strumenti diversi		Tra diversi giorni		Tra lotti diversi		Tra diverse sessioni analitiche		Durante le sessioni analitiche		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
				DS		CV (%)		DS		CV (%)		DS		CV (%)		DS
Pannello negativo	1.438	0,01	0	0	0	0	0	0	0,00	31,13	0	0	0,36	3.699	0,36	3.699
Pannello positivo	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 = numero; DS = deviazione standard; CV = coefficiente di variazione; S/CO = rapporto segnale/cutoff.

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, DS = 0 e CV = 0%.

Tabella 5: Percentuale di concordanza descrizione del pannello Aptima Mycoplasma genitalium Assay

Descrizione	N. valido	% positivo	% concordanza
Pannello negativo	1.438	0,07% (0,01-0,39)	99,93% (99,61-99,99)
Pannello positivo	1.434	100% (99,73-100)	100% (99,73-100)

Sensibilità analitica

I pannelli di sensibilità contenenti 0,01 CFU/ml in STM sono stati preparati con lisato di *M. genitalium*. L'analisi ha mostrato una positività del 100% a 0,01 CFU/ml.

Reattività crociata in presenza di microrganismi

Specificità

La specificità di Aptima Mycoplasma genitalium Assay è stata valutata analizzando diversi microrganismi, tra cui la comune flora del tratto urogenitale, organismi opportunisti e organismi strettamente correlati. L'analisi è stata condotta in STM con 20 replicati di ciascun isolato. L'elenco di organismi e le concentrazioni analizzate sono indicati nella Tabella 6. Non è stata osservata alcuna reattività crociata in Aptima Mycoplasma genitalium Assay con tutti gli organismi analizzati.

Sensibilità

La sensibilità di Aptima Mycoplasma genitalium Assay è stata valutata analizzando gli stessi organismi (Tabella 6) in STM corretto con lisato di *M. genitalium* a una concentrazione finale di 0,25 CFU/ml (20 replicati di ciascun isolato). Non è stata osservata alcuna interferenza in presenza dei microrganismi analizzati.

Tabella 6: Microrganismi analizzati con Aptima Mycoplasma genitalium Assay sul Panther System

Microrganismo	Concentrazione	Microrganismo	Concentrazione
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	Papillomavirus umano di tipo 16 (cellule SiHa)	1 x 10 ⁴ cellule/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	250 CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
Citomegalovirus	1 x 10 ⁵ TCID 50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 ⁶ cellule/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
Virus dell'herpes simplex tipo 1	2,5 x 10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
Virus dell'herpes simplex tipo 2	2,5 x 10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Ureaplasma parvum</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml
HIV-1	1 x 10 ⁶ copie/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 ⁶ cellule/ml

Interferenza

Le sostanze endogene ed esogene sono state corrette singolarmente in STM in una concentrazione finale dell'1% (vol/vol o peso/vol) per lubrificanti personali, deodoranti personali, spermicidi e antifungini, dello 0,3% per muco gastrico porcino e del 5% per sangue intero.

Per testare gli effetti dei metaboliti nell'urina, KOVA-Trol I High Abnormal con controllo dell'urobilinogeno nell'esame delle urine è stato diluito nel terreno di trasporto per le urine (UTM) al posto dell'urina. Questo materiale di controllo dell'esame delle urine basato sull'urina umana contiene potenziali interferenti quali proteine (albumina), bilirubina, glucosio, chetoni, globuli rossi, nitriti, urobilinogeni e leucociti. L'acido acetico glaciale è stato testato in PreservCyt™ -STM (concentrazione finale pari all'1%).

Non sono state osservate interferenze con le sostanze quando sono state corrette con il *M. genitalium*, contenente lisato cellulare a una concentrazione finale di 0,25 CFU/ml e analizzate in Aptima Mycoplasma genitalium Assay.

Bibliografia

1. Andersen, B., I. Sokolowski, L. Østergaard, J. K., Møller, F. Olesen, and 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, and 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., and 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, and 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, and 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., and 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, and 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, and 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, and 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, and 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, and 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, and 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., and J. S. Jensen. 2011. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin. Microbiol. Rev.* **24**:498-514.
14. Anagrus, C., B. Loré, and 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, and 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, and 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>. Issued 20 August 2014.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Assistenza clienti: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Per ulteriori informazioni di contatto, visitare il sito
www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther PreservCyt e ThinPrep e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi. Tutti gli altri marchi commerciali, marchi commerciali registrati e nomi di prodotti che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

KOVA-TROL è un marchio commerciale di Hycor Biomedical, Inc.

©2016-2017 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-14170-701 Rev. 005
2017-05