


RIDA[®] GENE STI Mycoplasma Panel
real-time PCR

Art. Nr.: PG4945
100 Reaktionen

Für die *in-vitro* Diagnostik.

 -20 °C



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Verwendungszweck

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel ist eine real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* und *Ureaplasma urealyticum/parvum* aus humanen Genitalabstrichen und Urin.

Die RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR soll die Diagnose einer durch *Mycoplasmen/Ureaplasmen* verursachte Harnwegsinfektion oder Entzündung im Genitalbereich unterstützen.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Mycoplasmaspezies können als Teil der Normalflora entweder im Respirationstrakt oder Genitalbereich des Menschen persistieren¹. Von den sieben bekannten Mycoplasmaspezies im Genitalbereich sind bislang nur vier als humanpathogen beschrieben: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum*.

Mycoplasma hominis (*M. hominis*) kolonisiert häufig den Genitaltrakt von sexuell-aktiven Männern und Frauen, jedoch werden die häufigsten, durch *M. hominis* beschriebenen, Infektionen in Frauen diagnostiziert². *M. hominis* wird mit entzündlicher Beckenerkrankung (PID) assoziiert und kann Infektionen während und nach der Schwangerschaft hervorrufen, wie z. B. Endometritis oder auch eine Pneumonie in Neugeborenen¹. Häufige Symptome bei einer *M. hominis*-Infektion sind u.a. gesteigerter Harndrang, gelblicher Ausfluss oder Brennen beim Wasserlassen^{1,3}.

In der globalen Population hat *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) eine Prävalenz von 1 – 4 % in Männern und zwischen 1 – 6.4 % in Frauen. *M. genitalium* kann in Männern zu einer unspezifischen Harnröhrenentzündung führen und ist nach *Chlamydia trachomatis* die zweithäufigste Ursache für diese Erkrankung. Ca. 30 % der persistierenden Urethritis werden mit *M. genitalium* in Verbindung gebracht. In Frauen kann eine *M. genitalium*-Infektion zu einer Cervicitis, Endometritis, Urethritis oder auch zu einer entzündlichen Beckenerkrankung (PID) führen^{1,4}.

Ureaplasma urealyticum (*U. urealyticum*) und *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) sind parasitär-lebende, gram-negative Bakterien und können Teil der Urogenitalflora beim Mann und bei der Frau sein. Die früher bestehende Nomenklatur der 14 Serovare von *U. urealyticum* wurde 2002 überarbeitet, wobei nun die Serovare 1,3,6 und 14,

welche zum Parvo Biovar (Biovar 1) gehören, als separate Spezies (*U. parvum*) gesehen werden. Die Serovare 2, 4, 5, 7, 8T, 9, 10, 11, 12 und 13 gehören dem T960 Biovar (Biovar 2) an und sind somit der Spezies *U. urealyticum* zugeordnet⁵. Bei Frauen verursacht *U. urealyticum* häufig eine entzündliche Beckenerkrankung (PID) und *Ureaplasmen* können bei bis zu 50 % der Schwangeren die Vaginalfloora kolonisieren. Während der Schwangerschaft können *Ureaplasmen* auch auf das Kind übertragen werden, wodurch Pneumonien oder Erkrankungen des zentralen Nervensystems entstehen können¹.

3. Testprinzip

RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel ist eine real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis von *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* und *Ureaplasma urealyticum/parvum*. Nach der DNA-Isolierung werden (falls vorhanden) die spezifischen Genfragmente für *Mycoplasma hominis* (16S rRNA), *Mycoplasma genitalium* (IGS) und *Ureaplasma urealyticum/parvum* (16S rRNA) amplifiziert.

Die amplifizierten Zielsequenzen des *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* und *Ureaplasma urealyticum/parvum*-Gens werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die Taq-Polymerase den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel Test enthält eine Internal Control DNA (ICD), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR Inhibition kontrollieren zu können.

4. Packungsinhalt

Tab. 1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

Kit Code	Reagenz	Menge	Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2x 1100 µl	gelb
2	Taq-Polymerase	1x 11 µl	rot
D	Internal Control DNA	2x 1800 µl	orange
N	PCR Water	1x 500 µl	weiß
P	Positive Control	1x 200 µl	blau

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 20 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

- Sterile, medienfreie Rayon oder Nylon beflockte Abstrichtupfer (z.B. Copan Diagnostic Inc. Katalognummer 155C oder 552C)
 - Der RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR Test ist geeignet für die Verwendung mit folgenden Extraktionsplattformen und real-time PCR Geräten:
 - Extraktionsplattformen:
 - RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)
 - Maxwell[®] 16 (Promega)
 - NucliSENS[®] easyMAG[™] (BioMérieux)
 - Real-time PCR-Gerät:
 - Roche: LightCycler[®] 480II
 - Agilent Technologies: Mx3005P
 - Applied Biosystems: ABI7500
 - Abbott: m2000rt
 - Bio-Rad: CFX96[™]
 - QIAGEN: Rotor-Gene Q
- Bemerkung: Bei Verwendung des Rotor-Gene Q (QIAGEN) nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden**

Sollten Sie weitere Extraktionsverfahren oder real-time PCR Geräte verwenden wollen, kontaktieren Sie bitte R-Biopharm zur Überprüfung der Kompatibilität unter mdx@r-biopharm.de.

- RIDA[®]GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) bei Verwendung des LightCycler[®] 480II
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße oder Platten
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Test die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details siehe Material Safety Data Sheets (MSDS) unter www.r-biopharm.com

8. Sammlung und Lagerung der Proben

8.1 Probenvorbereitung

8.1.1 DNA-Isolierung aus trockenen Abstrichen

Für die DNA-Präparation aus trockenen Genitalabstrichen wird folgende Isolationsmethode empfohlen: 400 µl Wasser (RNase-frei) in ein Präparationsröhrchen vorlegen. Den Abstrichtupfer in das Wasser tauchen und den Stab abbrechen oder abschneiden.

Das Präparationsröhrchen dicht verschließen, kurz vortexen und die DNA Präparation laut Herstellerangabe des DNA-Isolierungskits oder DNA-Extraktionssystems durchführen.

Der RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel Test enthält eine **Internal Control DNA** (ICD), die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt.

Wird die **Internal Control DNA** (ICD) nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der **Internal Control DNA** dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 3).

Wird die **Internal Control DNA** (ICD) als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der **Internal Control DNA** während der Extraktion eingesetzt werden. Die **Internal Control DNA** soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden.

8.1.2 DNA-Isolierung aus Urin

Für die DNA-Präparation aus Urin wird ein kommerziell erhältliches DNA-Extraktionssystem empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Der RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel Test enthält eine **Internal Control DNA** (ICD), die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt.

Wird die **Internal Control DNA** (ICD) nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der **Internal Control DNA** dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 3).

Wird die **Internal Control DNA** (ICD) als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der **Internal Control DNA** während der Extraktion eingesetzt werden. Die

Internal Control DNA soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden.

9. Testdurchführung

9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab. 2, Tab. 3). Vor der Benutzung den **Reaction Mix**, die **Taq-Polymerase**, die **Positive Control**, die **PCR Water** und die **Internal Control DNA** auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 – 8 °C).

Tab. 2: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,9 µl	218,9 µl
2	Taq-Polymerase	0,1 µl	1,1 µl
	Gesamt	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz abzentrifugieren.

Tab. 3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD nur als Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,9 µl	218,9 µl
2	Taq-Polymerase	0,1 µl	1,1 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Gesamt	21,0 µl	231,0 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz abzentrifugieren.

9.2 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

Negativkontrolle: Je 5 µl **PCR Water** zum vorgelegten Master-Mix Negativkontrolle pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und die Inhibitionskontrolle je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.

Proben: Je 5 µl DNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix der Probenreaktionen pipettieren.

Positivkontrolle: Je 5 µl **Positive Control** zum vorgelegten Master-Mix in die dafür vorgesehenen Reaktionsgefäße pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und die Inhibitionskontrolle je 1 µl der **Internal Control DNA** zum PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz abzentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 4, Tab. 5).

9.3 Geräteeinstellungen

9.3.1 DNA real-time PCR Profil

Tab. 4: Real-time PCR Profil für LightCycler® 480II und Rotor-Gene Q

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing / Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Bemerkung: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 5: Real-time PCR Profil für Mx3005P, ABI7500, m2000rt und CFX96™

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing / Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Bemerkung: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 6: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
Roche LightCycler® 480II	<i>M. hominis</i>	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) wird benötigt
	ICD	533/580	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	533/610	
	<i>M. genitalium</i>	618/660	
ABI 7500	<i>M. hominis</i>	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	ICD	VIC	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Abbott m2000rt	<i>M. hominis</i>	FAM	-
	ICD	VIC	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>M. hominis</i>	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	ICD	HEX	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>M. hominis</i>	Green	Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 eingestellt sein
	ICD	Yellow	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	Orange	
	<i>M. genitalium</i>	Red	
Bio-Rad CFX96™	<i>M. hominis</i>	FAM	-
	ICD	VIC	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	

10. Qualitätskontrolle

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativ- und Positivkontrollen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 7, Abb. 1, Abb. 2, Abb. 3).

Die Positivkontrolle liegt in einer Konzentration von 10^3 Kopien/ μ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR Lauf eingesetzt.

Tab. 7: Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen:

Probe	Ergebnis	ICD Ct	Zielgen Ct
PTC	Positiv	NA ^{*1}	Siehe Quality Assurance Certificate
NTC	Negativ	Ct > 20	0

^{*1} Ein Ct-Wert für die ICD ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.

Für die Internal Control DNA (ICD) gilt ein Gültigkeitsbereich von Ct 20 – 35.

Wenn die Positivkontrolle (PTC) in dem angegebenen Ct-Bereich nicht positiv ist, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Positivkontrolle neu angesetzt werden.

Wenn die Negativkontrolle (NTC) nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Negativkontrolle neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung

Abb. 1: Korrekter Verlauf der Positiv- und Negativkontrolle (*M. hominis*) auf dem LightCycler® 480II

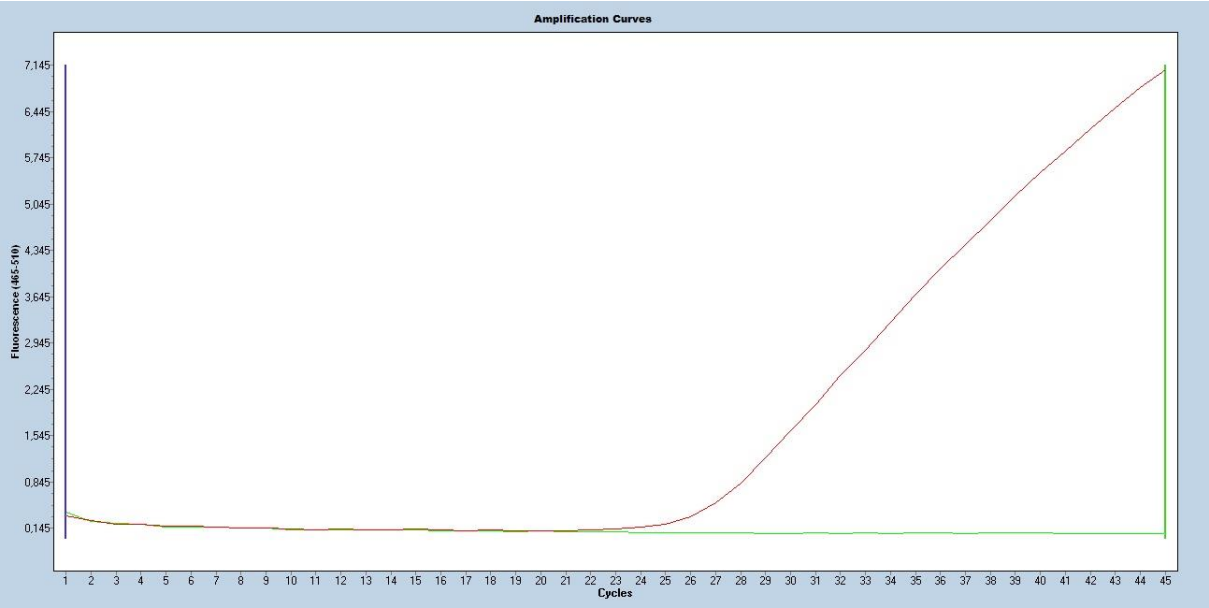


Abb. 2: Korrekter Verlauf der Positiv- und Negativkontrolle (*U. urealyticum/parvum*) auf dem LightCycler® 480II

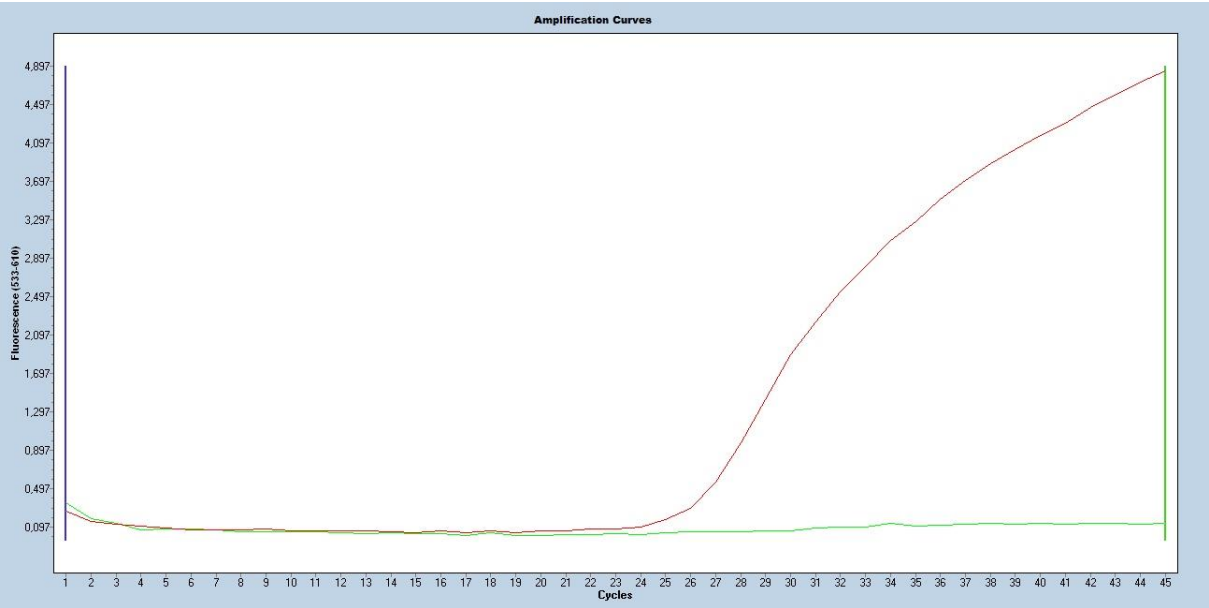
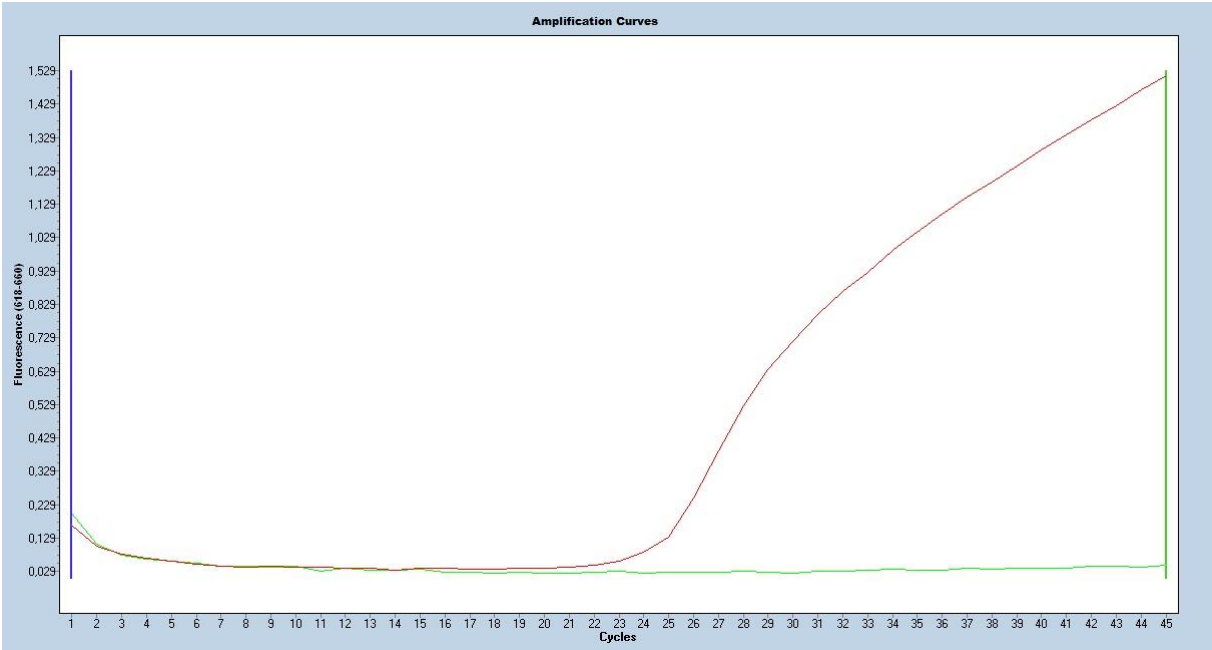


Abb. 3: Korrekter Verlauf der Positiv- und Negativkontrolle (*M. genitalium*) auf dem LightCycler® 480II



11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 8.

Tab. 8: Interpretation der Ergebnisse

Nachweis				
<i>M. hominis</i>	<i>U. urealyticum/parvum</i>	<i>M. genitalium</i>	ICD	Ergebnis
positiv	negativ	negativ	positiv/negativ	<i>M. hominis</i> nachweisbar
negativ	positiv	negativ	positiv/negativ	<i>U. urealyticum/parvum</i> nachweisbar
negativ	negativ	positiv	positiv/negativ	<i>M. genitalium</i> nachweisbar
positiv	positiv	negativ	positiv/negativ	<i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticum/parvum</i> nachweisbar
negativ	positiv	positiv	positiv/negativ	<i>U. urealyticum/parvum</i> , <i>M. genitalium</i> nachweisbar
positiv	negativ	positiv	positiv/negativ	<i>M. hominis</i> , <i>M. genitalium</i> nachweisbar
positiv	positiv	positiv	positiv/negativ	<i>M. homini</i> / <i>U. urealyticum/parvum</i> , <i>M. genitalium</i> nachweisbar
negativ	negativ	negativ	positiv	Zielgene sind nicht nachweisbar
negativ	negativ	negativ	negativ	Ungültig

Mycoplasma hominis, *Mycoplasma genitalium* oder *Ureaplasma urealyticum/parvum* sind nachweisbar, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA (ICD) eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt.

Mycoplasma hominis, *Mycoplasma genitalium* oder *Ureaplasma urealyticum/parvum* sind ebenfalls nachweisbar, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation aufweist, die Internal Control DNA (ICD) im Nachweissystem jedoch keine Amplifikation zeigt. Der Nachweis der Internal Control DNA (ICD) ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der internen Amplifikationskontrolle führen können.

Mycoplasma hominis, *Mycoplasma genitalium* oder *Ureaplasma urealyticum/parvum* ist nicht nachweisbar, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation, aber die Internal Control DNA (ICD) eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der Internal Control DNA (ICD) ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die Internal Control DNA (ICD) im Nachweissystem keine Amplifikation zeigen. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden oder es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

12. Grenzen der Methode

1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für Genitalabstriche und Urin validiert.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA® GENE STI Mycoplasma Panel zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden *in-vitro*-diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Muzin kann bereits in geringen Konzentrationen interferierende Eigenschaften aufweisen.
8. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die Zielgene für *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* oder *Ureaplasma urealyticum/parvum* sind vorhanden sind.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Analytische Sensitivität

Die RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von ≥ 10 DNA-Kopien/Reaktion (s. Abb. 4, Abb. 5, Abb. 6).

Abb. 4: Verdünnungsreihe *M. hominis* ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler[®] 480II

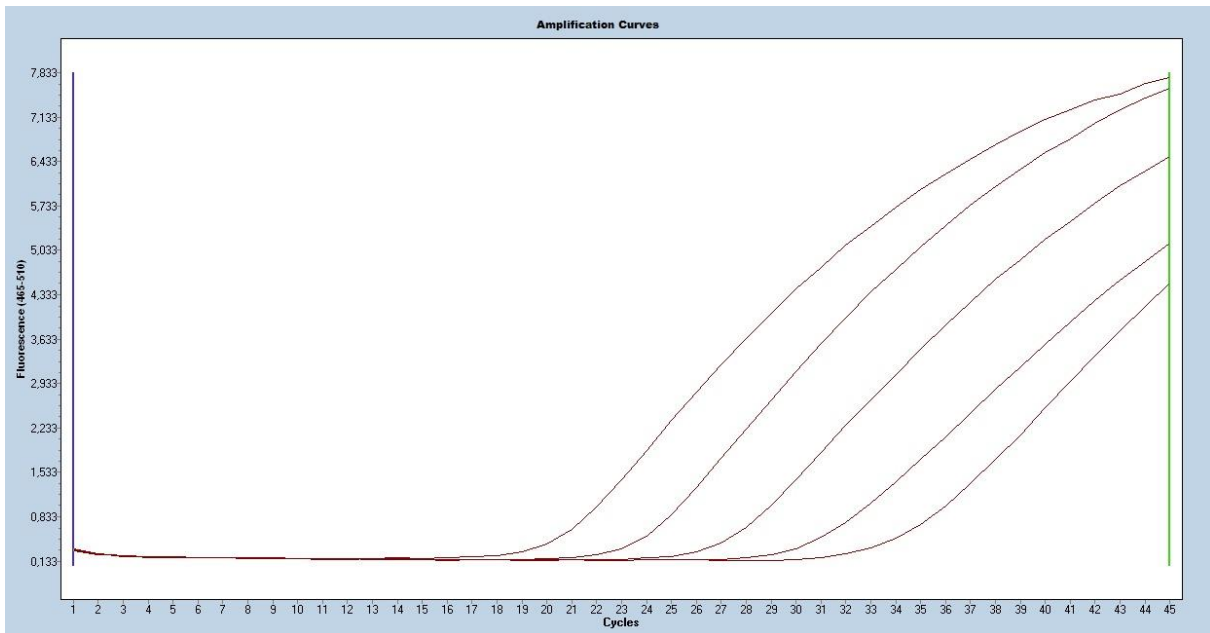


Abb. 5: Verdünnungsreihe *U. urealyticum/parvum* ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler[®] 480II

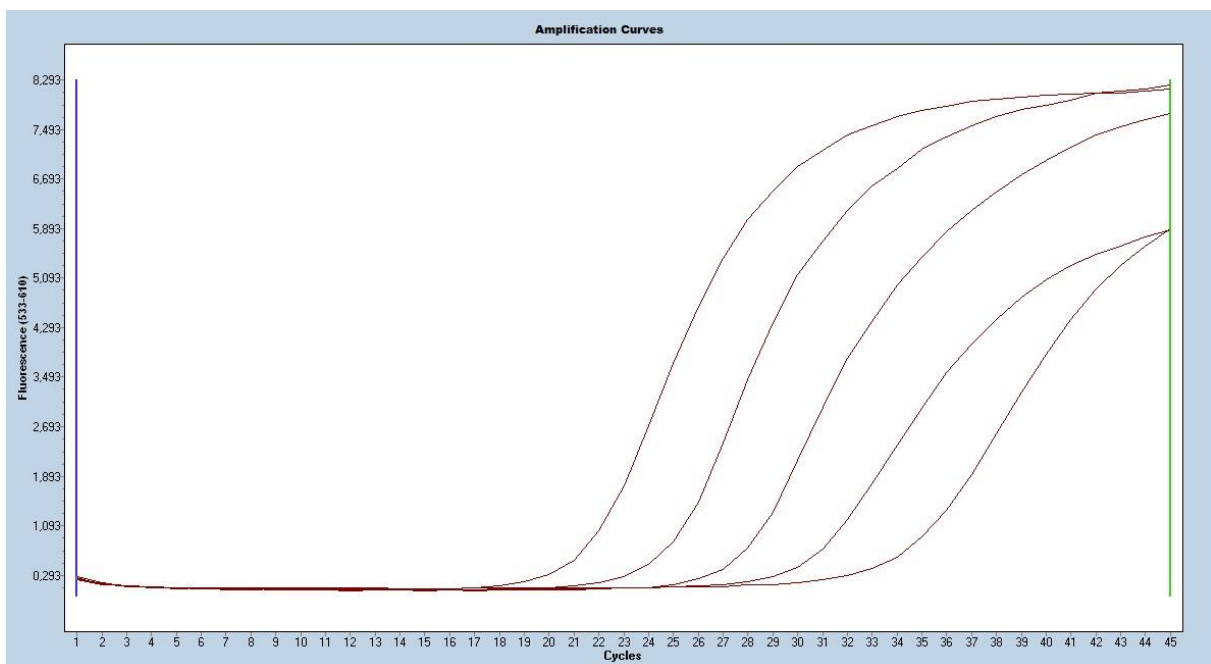
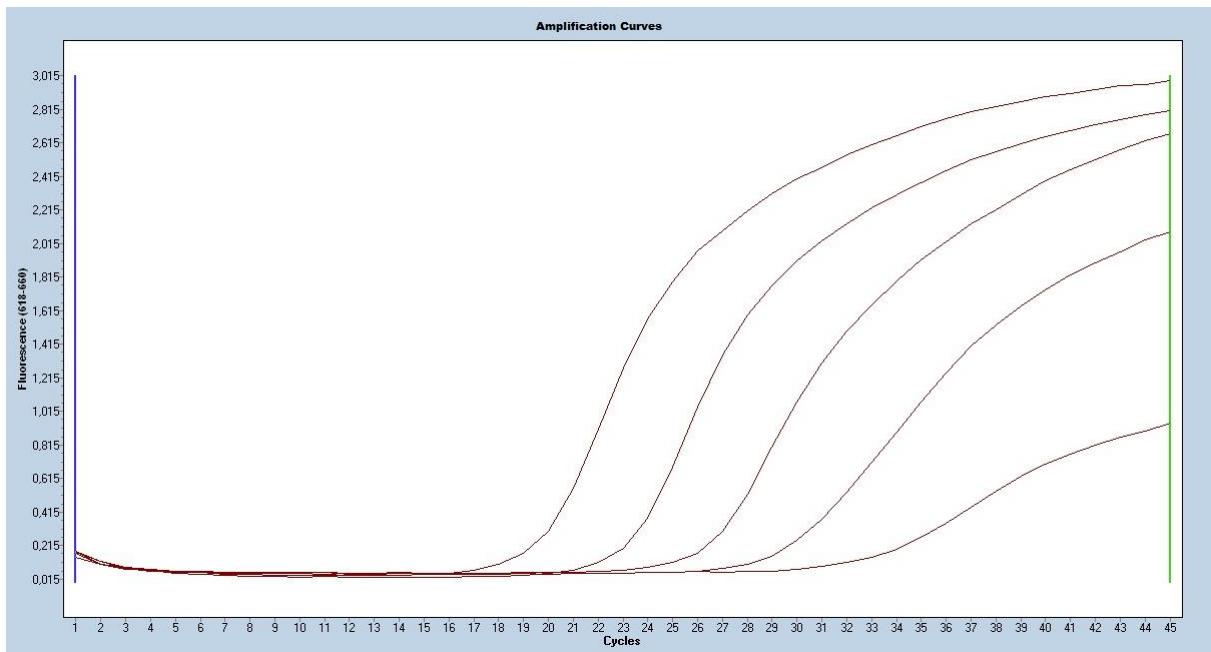


Abb. 6: Verdünnungsreihe *Mycoplasma genitalium* ($10^5 - 10^1$ DNA Kopien/ μl) auf dem LightCycler[®] 480II



Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von der Probenmatrix, DNA-Extraktion und dem DNA-Gehalt.

13.2 Analytische Spezifität

Die RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR ist spezifisch für *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* und *Ureaplasma urealyticum/parvum* aus humanen Genitalabstrichen und Urin. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 9):

Tab. 9: Kreuzreaktivitätstestung

<i>Candida albicans</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	HSV 2	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
<i>Candida glabrata</i>	-	<i>Proteus mirabilis</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	<i>Mycoplasma fermentans</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-		
<i>E. coli</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	HPV 16	-		
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	HPV 18	-		
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Serratia marcescens</i>	-	HSV 1	-	HPV 6b	-		










13.3 Analytische Reaktivität

Die Reaktivität der RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR wurde mit verschiedenen *Mycoplasma* und *Ureaplasma* Subtypen untersucht (s. Tab. 10). Folgende Subtypen wurden mit der RIDA[®]GENE STI Mycoplasma Panel real-time PCR nachgewiesen:

Tab. 10 Analytische Reaktivitätstestung

Mycoplasma			
<i>M. hominis</i> (Serotyp 3)	+	<i>M. genitalium</i>	+
<i>M. hominis</i> (Serotyp 5)	+		
Ureaplasma			
<i>U. urealyticum</i> (Serovar 8)	+	<i>U. parvum</i> (Serovar 1)	+

Symbolerklärungen

	Für die <i>in-vitro</i> Diagnostik
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lotnummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl der Präparationen
	Herstellungsdatum
	Hersteller

Literatur

1. Waites et al., Clin Microbiol Rev. 2005 Oct; 18(4): 757–789.
2. Ljubin-Sternak et al., Journal of Pathogens, 2014
3. <http://www.humanillnesses.com/Infectious-Diseases-He-My/Mycoplasma-Infections.html>
4. McGowin et al., PLoS Pathog. 2011 May; 7(5)
5. Robertson et al., International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2002, 52, 587–597