

## RIDA® GENE STI Mycoplasma Panel

**REF** PG4945



## 1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è un test di PCR real time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta di *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* da tamponi genitali e da urina umani.

Il test di PCR real time multiplex RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è adatto come ausilio nella diagnosi delle infezioni del tratto urinario o dell'area genitale causate da *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* e *Ureaplasma urealyticum/parvum*.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

Le specie di *Mycoplasma* possono persistere come parte della normale flora batterica umana del sistema respiratorio o della zona genitale.<sup>1</sup> Tra le specie di micoplasma presenti principalmente nella zona genitale, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* sono descritti, insieme ad altri, come patogeni.<sup>1,2</sup>

*Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) colonizza principalmente il tratto genitale di uomini e donne sessualmente attivi, tuttavia la maggior parte delle infezioni da *M. hominis* descritte è stata diagnosticata nella donna.<sup>2</sup> *M. hominis* è associato a malattia infiammatoria pelvica (PID) e può causare infezioni durante o dopo la gravidanza, come l'endometrite o la polmonite neonatale.<sup>1</sup> I sintomi comuni delle infezioni da *M. hominis* includono, ad esempio, minzione frequente, scolo giallastro o disuria.<sup>1,3</sup>

A livello globale, la prevalenza di *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) è di 1-4% per gli uomini e 1-6,4% per le donne. Negli uomini, *M. genitalium* può provocare uretrite aspecifica ed è la seconda causa più comune dopo *Chlamydia trachomatis*. Circa il 30% delle uretriti persistenti sono legate a *M. genitalium*. Nelle donne, le infezioni da *M. genitalium* possono causare cervicite, endometrite, uretrite o malattia infiammatoria pelvica (PID)<sup>1,4</sup>.

*Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) e *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) sono batteri parassiti Gram-negativi che possono far parte della flora urogenitale di uomini e donne. Nel 2002 la precedente nomenclatura di 14 sierotipi di *U. urealyticum* è stata aggiornata, così che oggi i sierotipi 1, 3, 6 e 14, che sono raggruppati con la biovar Parvo (Biovar 1), sono elencati come specie separate (*U. parvum*). I sierotipi 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e 13 appartengono alla biovar T960 (Biovar 2) e quindi sono elencati come *U. urealyticum*.<sup>5</sup> Nelle donne, *U. urealyticum* causa prevalentemente malattia infiammatoria pelvica (PID), mentre *Ureaplasma* colonizza la flora vaginale fino al 50% delle donne in gravidanza. Durante la gravidanza, *Ureaplasma* può essere trasmesso al feto e causare polmonite o malattie del sistema nervoso centrale<sup>1</sup>.

### 3. Principio del test

RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è un test di PCR real time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta di *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* e *Ureaplasma urealyticum/parvum* da tamponi genitali e da urina umani.

Dopo l'isolamento del DNA, viene eseguita l'amplificazione dei frammenti genetici (se presenti) specifici per *Mycoplasma hominis* (16S-rRNA), *Mycoplasma genitalium* (IGS) e *Ureaplasma urealyticum/parvum* (16S-rRNA). Il target amplificato viene rivelato con sonde a idrolisi marcate su un'estremità con un quencher e sull'altra con un colorante fluorescente (fluoroforo). In presenza di un target, la [Taq-Polymerase] rompe la prossimità fra rivelatore (reporter) e attenuatore (quencher). Il reporter emette un segnale fluorescente che viene rivelato dall'unità ottica dello strumento di PCR real-time. Il segnale di fluorescenza aumenta con la quantità di ampliconi formati. Il test RIDA®GENE STI Mycoplasma contiene un [Internal Control DNA] (ICD) quale controllo interno della procedura di preparazione del campione e/o per la determinazione della possibile inibizione della PCR.

### 4. Contenuto della confezione

**Tabella 1:** Contenuto della confezione (i reagenti inclusi nel kit sono sufficienti per 100 determinazioni)

Codice del kit	Reagente	Quantità		Colore del coperchio
1	[Reaction Mix]	2x	1050 µl	giallo
2	[Taq-Polymerase]	1x	80 µl	rosso
D	[Internal Control DNA]	2x	1700 µl	arancione
N	[No Template Control]	1x	450 µl	bianco
P	[Positive Control]	1x	200 µl	blu

## 5. Istruzioni di conservazione

- Proteggere tutti i reagenti dalla luce e conservarli a una temperatura di -20 °C. **Se non aperti**, tutti i reagenti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Dopo la scadenza, la garanzia di qualità non è più valida.
- Scongelare i reagenti con cura e completamente prima dell'uso (ad esempio in frigorifero a 2 - 8 °C).
- I reagenti possono sopportare fino a 20 cicli di congelamento/scongelamento senza compromettere i test (ad esempio, dopo il primo scongelamento separare il reagente in aliquote e ricongelare immediatamente).
- Durante la preparazione della PCR tutti i reagenti devono essere conservati al freddo in modo appropriato (2 - 8 °C).

## 6. Reagenti e dispositivi aggiuntivi necessari

Il test di PCR real time multiplex RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è adatto per l'uso con le seguenti piattaforme di estrazione e strumenti per la PCR real time:

**Tabella 2:** Attrezzatura necessaria

Piattaforme di estrazione	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Strumenti per la PCR real-time	
Roche	LightCycler® 480II, <b>LightCycler® 480 z</b>
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

**Avvertenze:** sullo strumento Rotor-Gene Q (QIAGEN) utilizzare solo provette da 0,1 ml.

Se per la PCR real-time si preferisce utilizzare altre piattaforme di estrazione o strumenti, contattare R-Biopharm all'indirizzo [mdx@r-biopharm.de](mailto:mdx@r-biopharm.de).

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per l'uso con LightCycler® 480II e **LightCycler® 480 z**.
- Materiali di consumo per PCR real-time (piastre, provette, fogli)
- Centrifuga con rotore per cuvette di reazione
- Agitatore a vortice
- Pipette (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Puntali con filtro
- Guanti monouso senza talco
- **Acqua per PCR (priva di nucleasi)**

## 7. Precauzioni per gli utilizzatori

Per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi al manuale di istruzioni per l'esecuzione del test. Non pipettare campioni o reagenti con la bocca. Evitare il contatto con lesioni cutanee o mucose. Quando si maneggiano reagenti o campioni, indossare abbigliamento di sicurezza adeguato (guanti, camice, occhiali di sicurezza idonei) e lavarsi le mani dopo l'esecuzione del test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si manipolano i campioni o i reagenti.

- L'estrazione, la preparazione della PCR e l'esecuzione della PCR devono avvenire in locali separati per evitare contaminazione crociata.

- I campioni devono essere trattati come potenzialmente infettivi, così come tutti i reagenti e i materiali esposti ai campioni, e devono essere maneggiati nel rispetto delle disposizioni di sicurezza nazionali.

- Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza.

Tutti i reagenti e i materiali utilizzati devono essere smaltiti correttamente dopo l'uso. Attenersi alle disposizioni nazionali in vigore in materia di smaltimento.

Per maggiori informazioni consultare le schede di dati di sicurezza (SDS) all'indirizzo [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 8. Raccolta e conservazione di campioni

### 8.1 Preparazione del DNA da tamponi genitali asciutti

Per l'isolamento del DNA da tamponi genitali asciutti utilizzare un kit (ad es. RIDA® Xtract (R. Biopharm)) o un sistema di estrazione disponibile in commercio (ad es. Maxwell® RSC (Promega)). Estrarre il DNA in base alle istruzioni del produttore. Per l'isolamento del DNA dai tamponi asciutti si raccomanda la seguente procedura: Dispensare 400 µl di acqua per PCR in una provetta di preparazione. Inserire il tampone nell'acqua, strizzarlo e tagliare o spezzare il fusto. Chiudere bene la provetta di preparazione, vorticare brevemente e seguire le istruzioni del produttore del kit di estrazione del DNA o del sistema di estrazione del DNA (vedere anche **Maxwell® RSC Applicazione ER101**).

Il test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel contiene un **Internal Control DNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia sufficiente. L'**Internal Control DNA** può essere utilizzato come controllo dell'inibizione della PCR o come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR.

Se l'**Internal Control DNA** viene usato solo come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla Master Mix (vedere Tabella 4).

Se l'**Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, aggiungere

20 µl di **Internal Control DNA** durante la procedura di estrazione.

L'**Internal Control DNA** deve sempre essere aggiunto alla miscela tampone di lisi del campione e **non** direttamente ai campioni. Si raccomanda inoltre di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix di controllo positivo e negativo.

## 8.2 Preparazione del DNA da campioni di urina

Per l'isolamento del DNA da campioni di urina utilizzare un kit (ad es. RIDA® Xtract (R. Biopharm)) o un sistema di estrazione disponibile in commercio (ad es. Maxwell® RSC (Promega)). Estrarre il DNA in base alle istruzioni del produttore (vedere anche **Maxwell® RSC Applicazione ER100**).

Il test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel contiene un **Internal Control DNA** che rivela l'inibizione della PCR, controlla l'integrità del reagente e verifica che l'estrazione dell'acido nucleico sia sufficiente. L'**Internal Control DNA** può essere utilizzato come controllo dell'inibizione della PCR o come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR.

Se l'**Internal Control DNA** viene usato solo come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla Master Mix (vedere Tabella 4).

Se l'**Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, aggiungere 20 µl di **Internal Control DNA** durante la procedura di estrazione.

L'**Internal Control DNA** deve sempre essere aggiunto alla miscela tampone di lisi del campione e **non** direttamente ai campioni. Si raccomanda inoltre di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix di controllo positivo e negativo.

## 9. Esecuzione del test

### 9.1 Preparazione della Master Mix

Calcolare il numero totale di reazioni di PCR (reazioni campione e di controllo) necessarie. Ogni volta che viene eseguito il test è necessario includere un controllo positivo e un controllo negativo.

Si raccomanda di calcolare un volume aggiuntivo del 10 % a compensazione di un pipettaggio non preciso (vedere Tabella 3, Tabella 4). Prima dell'uso scongelare, miscelare delicatamente e centrifugare brevemente la **Reaction Mix**, la **Taq-Polymerase**, il **Positive Control**, il **No Template Control** e l'**Internal Control DNA**. Durante la fase di lavorazione tenere i reagenti adeguatamente refrigerati (2-8 °C).

**Tabella 3:** Esempio di calcolo e pipettaggio per 10 reazioni della Master Mix (ICD come controllo di estrazione e inibizione della PCR)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Volume per reazione	10 reazioni (10 % extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	<b>Totale</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

Miscelare con cura i componenti della Master Mix ed eseguire un breve spin down.

**Tabella 4:** Esempio di calcolo e pipettaggio per 10 reazioni della Master Mix (ICD solo come controllo di inibizione della PCR)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Volume per reazione	10 reazioni (10% extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	<b>Totale</b>	<b>21,0 µl</b>	<b>231,0 µl</b>

Miscelare con cura i componenti della Master Mix ed eseguire un breve spin down.

## 9.2 Preparazione della PCR Mix

Pipettare 20 µl della Master Mix in ogni cuvetta di reazione (provetta o piastra).

**Controllo negativo:** dispensare 5 µl di **No Template Control** nella Master Mix pre-pipettata.

**Avvertenze:** se l'**Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix del controllo negativo.

**Campione:** dispensare 5 µl di eluato nella Master Mix pre-pipettata.

**Controllo positivo:** dispensare 5 µl di **Positive Control** nella Master Mix pre-pipettata.

**Avvertenze:** se l'**Internal Control DNA** viene usato come controllo di estrazione per la procedura di preparazione del campione e come controllo di inibizione della PCR, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control DNA** alla PCR Mix del controllo positivo.

Coprire le provette o la piastra. Eseguire lo spin down e collocarle nello strumento per PCR real-time. La reazione di PCR deve essere avviata in base all'impostazione dello strumento per PCR (vedere Tabella 5, Tabella 6, Tabella 7, Tabella 8).

### 9.3 Impostazione dello strumento per PCR

#### 9.3.1 Profilo PCR real-time per DNA

**Tabella 5:** Profilo della PCR real-time per la serie LightCycler® e Rotor-Gene Q

Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

**Avvertenze: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.**

**Tabella 6:** Profilo PCR real-time per Mx3005P, ABI 7500 e CFX96™

Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

**Avvertenze: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.**



### 9.3.2 Profilo PCR real-time universale

**Avvertenze:** Il profilo della PCR real-time universale deve essere utilizzato per i test del DNA solo quando i test di PCR real-time RIDA®GENE DNA e RIDA®GENE RNA vengono effettuati in un unico ciclo.

**Tabella 7:** Profilo PCR real-time universale per la serie LightCycler®

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura/velocità di rampa	Massima

**Avvertenze:** l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

**Tabella 8:** Profilo PCR real-time universale per Mx3005P, ABI7500, Rotor-Gene Q e CFX96™

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura/velocità di rampa	Massima

**Avvertenze:** l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

## 9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tabella 9: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Strumento per la PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Avvertenze
Roche LightCycler® 480II	<i>M. hominis</i>	465/510	È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	533/580	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	533/610	
	<i>M. genitalium</i>	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	<i>M. hominis</i>	465/510	È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICD	540/580	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	540/610	
	<i>M. genitalium</i>	610/670	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>M. hominis</i>	FAM	Controllare che non vi sia opzione di riferimento
	ICD	HEX	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
ABI 7500	<i>M. hominis</i>	FAM	Controllare che l'opzione di riferimento passivo ROX sia impostata su nessuno
	ICD	VIC	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Bio-Rad CFX96™	<i>M. hominis</i>	FAM	-
	ICD	HEX	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	ROX	
	<i>M. genitalium</i>	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>M. hominis</i>	Verde	Le impostazioni di amplificazione devono essere regolate su 5, in base alle impostazioni predefinite
	ICD	Giallo	
	<i>U. urealyticum/parvum</i>	Arancione	
	<i>M. genitalium</i>	Rosso	

## 10. Controllo qualità

L'analisi dei campioni viene eseguita dal software dello strumento per PCR real-time utilizzato, in base alle istruzioni del produttore. Perché l'esecuzione sia valida, il controllo negativo e il controllo positivo devono mostrare i risultati corretti (vedere Tabella 10, Figura 1).

Il **Positive Control** ha una concentrazione di  $10^3$  copie/ $\mu$ l. In ogni ciclo di PCR viene usato in una quantità totale di  $5 \times 10^3$  copie.

**Tabella 10:** Perché l'esecuzione sia valida occorre che siano soddisfatte le seguenti condizioni:

Campione	Risultato del test	Ct ICD	Ct Target
Controllo positivo	Positivo	NA *1	Vedere certificato di garanzia di qualità
Controllo negativo	Negativo	Ct > 20	0

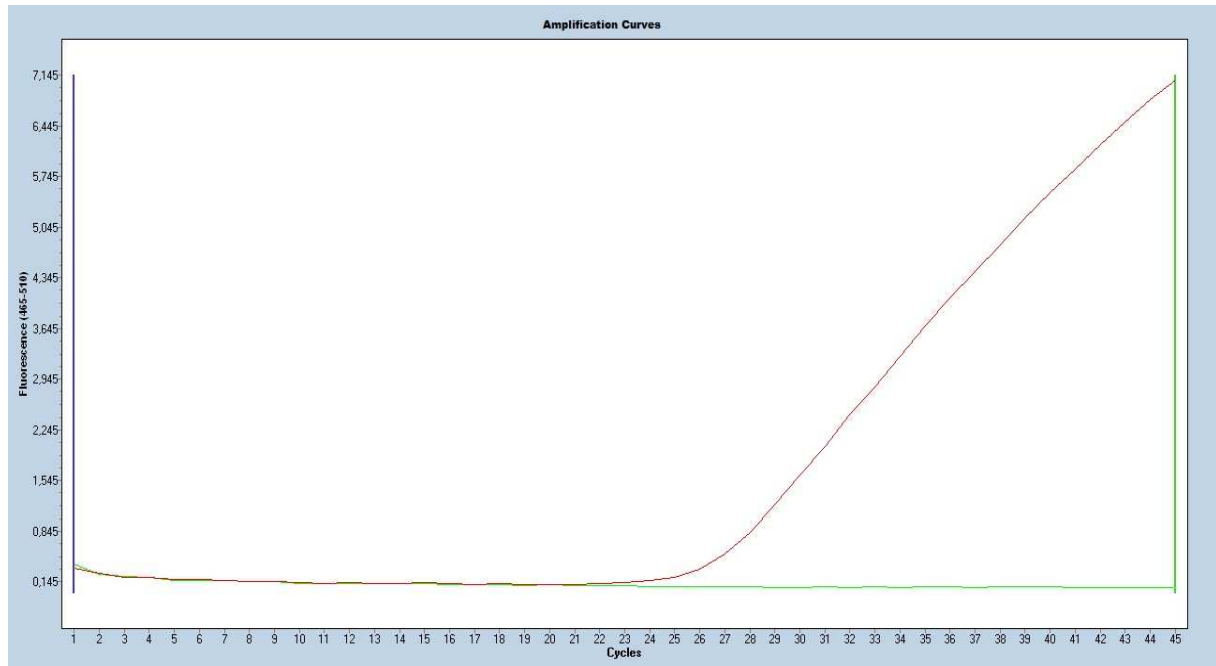
\*1 Per ottenere un risultato positivo del controllo positivo non occorre un valore Ct per l'ICD.

Se il controllo positivo non è positivo nel range Ct specificato, ma il controllo negativo è valido, preparare tutte le reazioni nuove includendo i controlli.

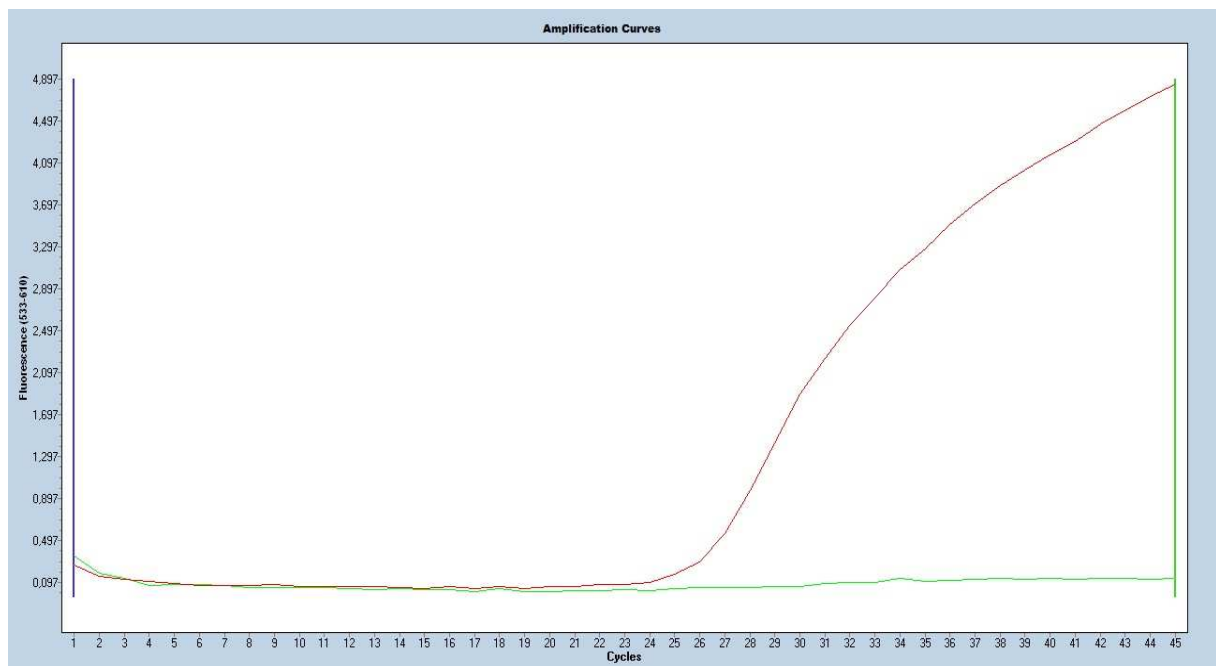
Se il controllo negativo non è negativo, ma il controllo positivo è valido, preparare tutte le reazioni nuove includendo i controlli.

Se i criteri richiesti non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

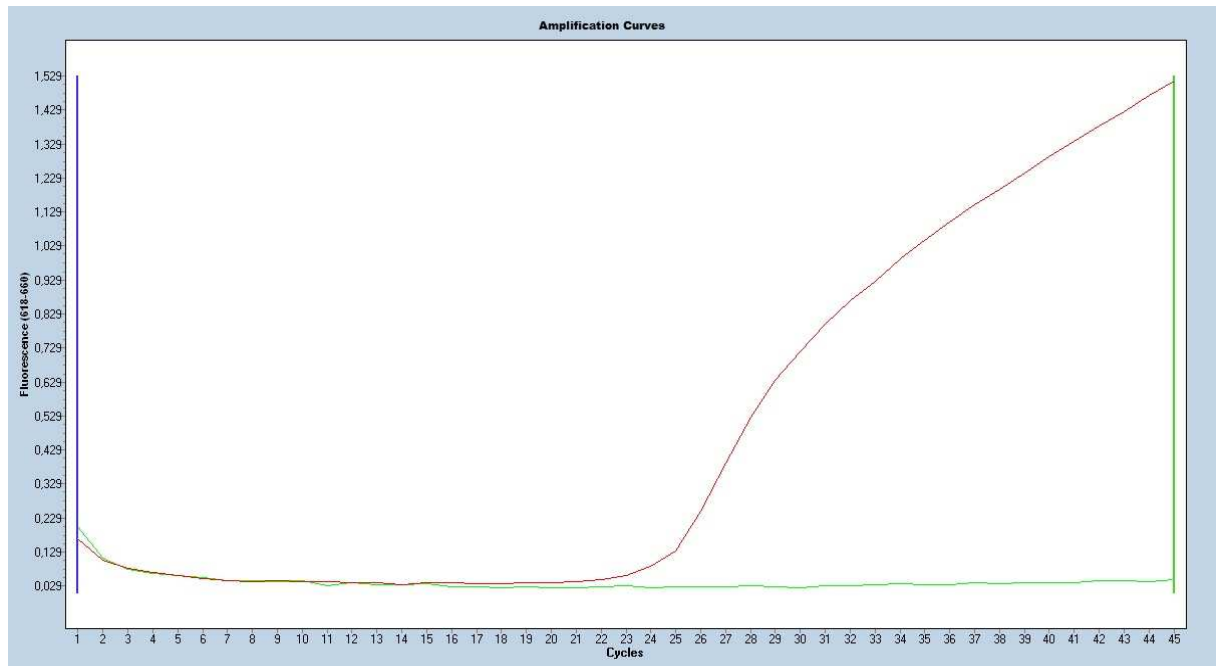
- Scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità della strumentazione utilizzata
- Corretta esecuzione del test



**Figura 1:** Esecuzione corretta del controllo positivo (rosso) e del controllo negativo (verde) (*Mycoplasma hominis*) sul LightCycler® 480II



**Figura 2:** Esecuzione corretta del controllo positivo (rosso) e del controllo negativo (verde) (*Ureaplasma urealyticum/parvum*) sul LightCycler® 480II



**Figura 3:** Esecuzione corretta del controllo positivo (rosso) e del controllo negativo (verde) (*Mycoplasma genitalium*) sul LightCycler® 480II

## 11. Interpretazione del risultato

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 11.

**Tabella 11:** Interpretazione del campione

Geni target			ICD	Risultato
<i>M. hominis</i>	<i>U. urealyticum/parvum</i>	<i>M. genitalium</i>		
<b>Positivo</b>	Negativo	Negativo	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>M. hominis</i> rivelato</b>
Negativo	<b>Positivo</b>	Negativo	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>U. urealyticum/parvum</i> rivelato</b>
Negativo	Negativo	<b>Positivo</b>	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>M. genitalium</i> rivelato</b>
<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>	Negativo	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>M. hominis</i> e <i>U. urealyticum/parvum</i> rivelati</b>
<b>Positivo</b>	Negativo	<b>Positivo</b>	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>M. hominis</i> e <i>M. genitalium</i> rivelati</b>
Negativo	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>U. urealyticum/parvum</i> e <i>M. genitalium</i> rivelati</b>
<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Positivo/ Negativo</b>	<b><i>M. hominis</i>, <i>U. urealyticum/parvum</i> e <i>M. genitalium</i> rivelati</b>
Negativo	Negativo	Negativo	<b>Positivo</b>	<b>Geni target non rivelati</b>
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	<b>Non valido</b>

Un campione è valutato come positivo se sia il DNA del campione sia l' **Internal Control DNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

Un campione è valutato come positivo anche se il DNA del campione mostra un segnale di amplificazione, ma nessun segnale per l' **Internal Control DNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione del controllo di amplificazione interno non è necessaria, in quanto elevate concentrazioni dell'amplicone possono far sì che il segnale dell' **Internal Control DNA** sia debole o assente.

Un campione è valutato come negativo se il DNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è presente un segnale di amplificazione per l' **Internal Control DNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione dell' **Internal Control DNA** esclude l'inibizione della reazione di PCR.

Un campione non è valido se né il DNA del campione né l'**Internal Control DNA** mostrano segnali di amplificazione nel sistema di rivelazione. In questo caso il campione contiene un inibitore della PCR o si è verificato un errore nella procedura di estrazione. Il campione estratto deve essere ulteriormente diluito con acqua per PCR (1:10) e ri-amplificato, oppure occorre migliorare l'isolamento e la purificazione del campione.

## 12. Limiti del metodo

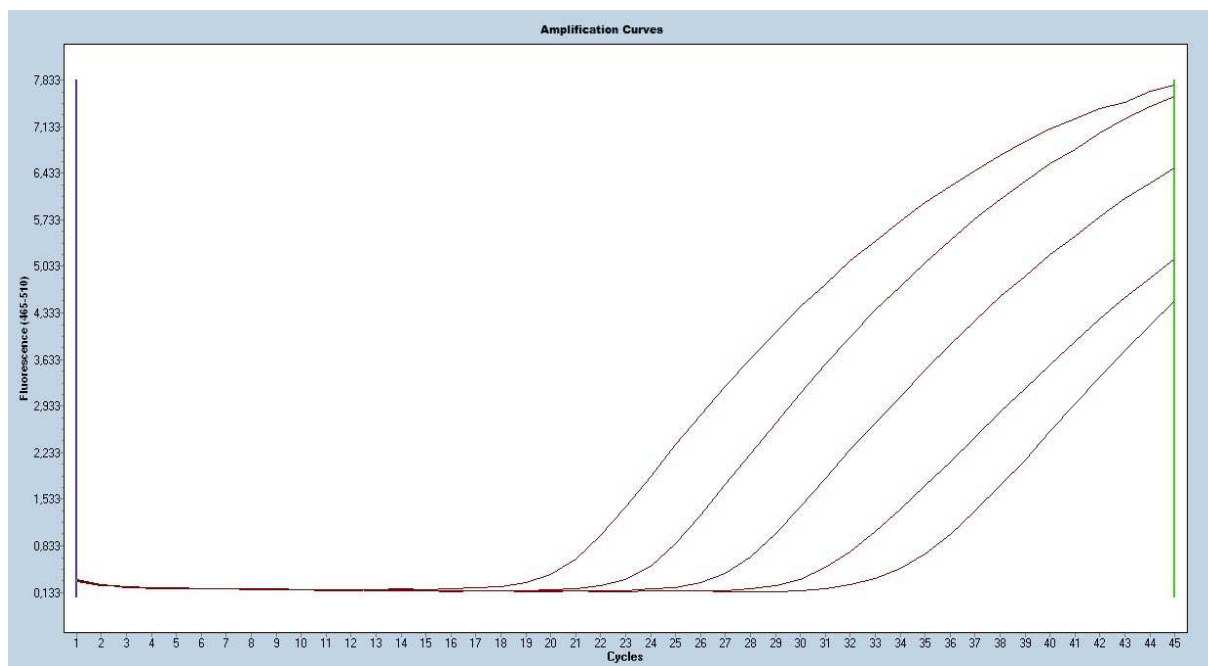
1. Il risultato dell'analisi molecolare non deve condurre alla diagnosi, ma deve essere sempre considerato nel contesto dell'anamnesi medica e dei sintomi del paziente.
2. Questo test è convalidato solo per i tamponi genitali umani e i campioni di urina.
3. Procedure errate di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni o un carico di agenti patogeni nei campioni al di sotto della sensibilità analitica possono produrre falsi negativi.
4. La presenza di inibitori della PCR può causare risultati non validi.
5. Le mutazioni o i polimorfismi nelle regioni di legame del primer o della sonda potrebbero influenzare la rivelazione di nuove varianti e causare un risultato falso negativo con il test RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel.
6. Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, livelli estremamente bassi di target sotto il limite di rilevazione (LoD) possono essere rilevati, ma i risultati potrebbero non essere riproducibili.
7. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Tuttavia, un risultato positivo è indicativo della presenza dei geni target (16S-rRNA, IGS).
8. **In caso di utilizzo di tamponi genitali, la mucina può mostrare proprietà di interferenza già in piccole quantità (validato nel canale U. urealyticum/parvum).**

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1 Sensibilità analitica

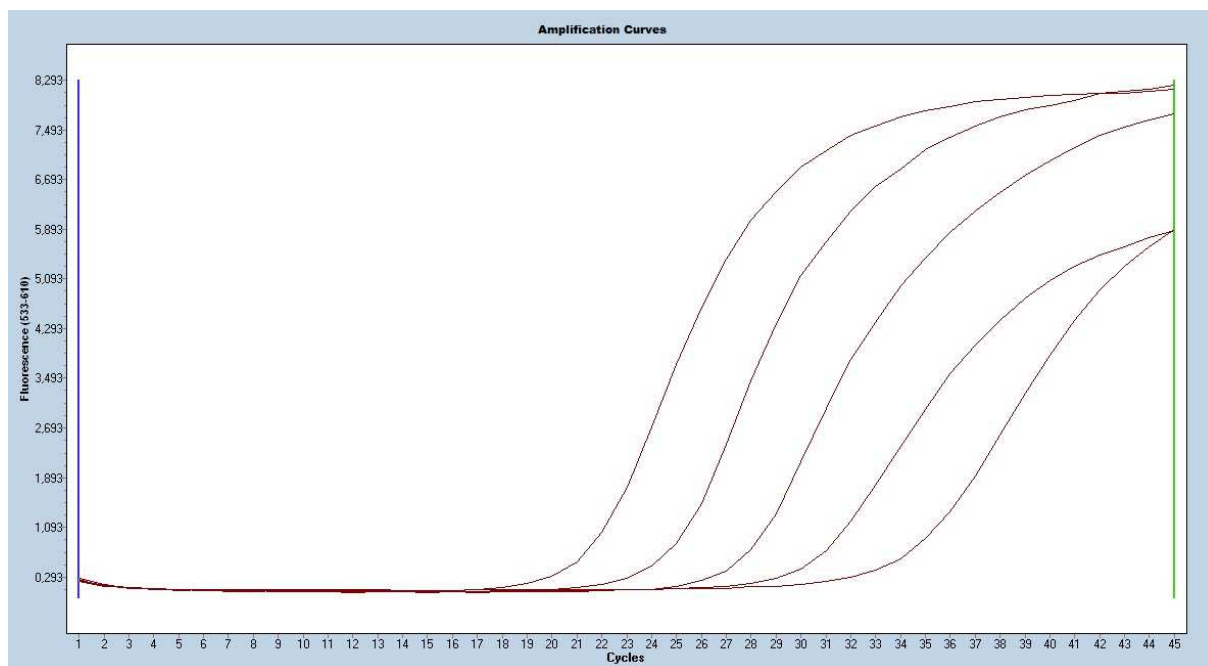
Il test di PCR real time multiplex RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel ha un limite di rivelazione maggiore o uguale a 10 copie di DNA per reazione.

Le seguenti Figure 4, 5 e 6 mostrano serie di diluizioni di *M. hominis*, *U. urealyticum/parvum* e *M. genitalium* (ciascuno  $10^5 - 10^1$  copie di DNA per  $\mu\text{l}$ ) sul LightCycler® 480II.

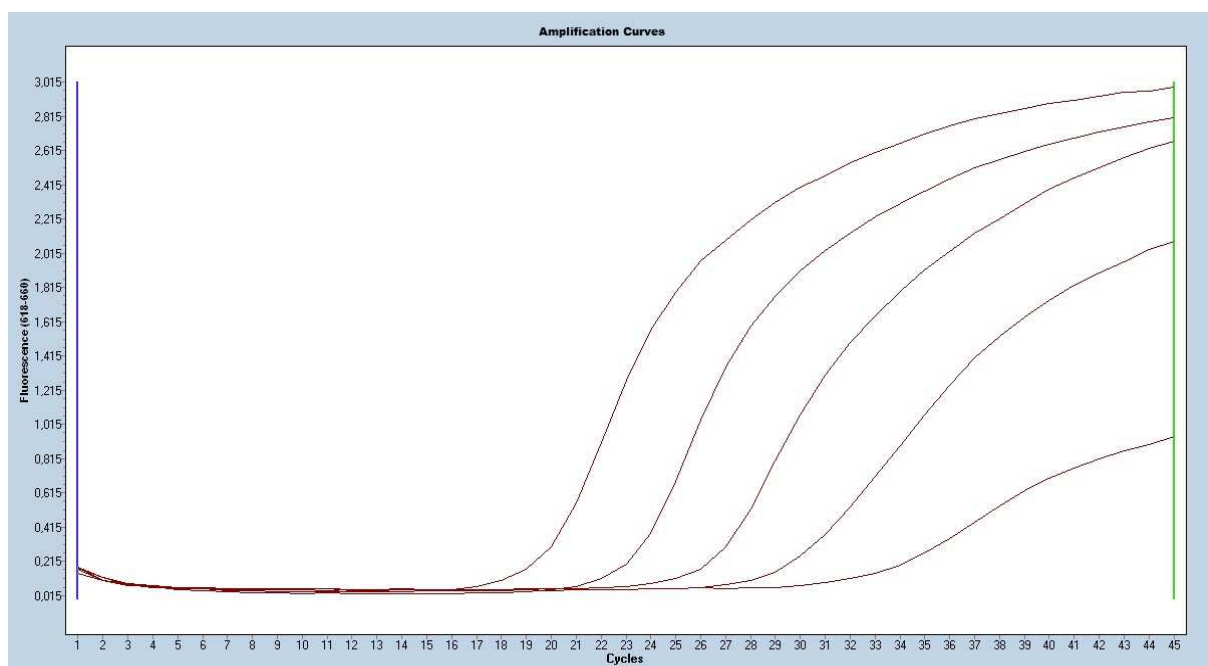


**Figura 4:** Serie di diluizioni di *Mycoplasma hominis* ( $10^5 - 10^1$  copie di DNA per  $\mu\text{l}$ ) sul LightCycler® 480II





**Figura 5:** Serie di diluizioni di *Ureaplasma urealyticum/parvum* ( $10^5$  -  $10^1$  copie di DNA per  $\mu\text{l}$ ) sul LightCycler® 480II



**Figura 5:** Serie di diluizioni di *Mycoplasma genitalium* ( $10^5$  -  $10^1$  copie di DNA per  $\mu\text{l}$ ) sul LightCycler® 480II

Il limite di rivelabilità dell'intera procedura dipende dalla matrice del campione, dall'estrazione del DNA e dalla concentrazione del DNA.

## 13.2 Specificità analitica

La specificità analitica del test di PCR real time multiplex RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è specifica per *M. hominis*, *U. urealyticum/parvum* e *M. genitalium*. Non è stata individuata alcuna reazione crociata per le seguenti specie (vedere Tabella 12):

**Tabella 12:** Test di reattività crociata

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

### 13.3 Reattività analitica

La reattività del test di PCR real time multiplex RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel è stata valutata rispetto a più sottotipi di *Mycoplasma* e *Ureaplasma* (vedere Tabella 13). I sottotipi elencati di seguito sono stati rivelati dal test di PCR real time RIDA®GENE STI Mycoplasma Panel:

**Tabella 13:** Test di reattività analitica










<i>Mycoplasma</i>			
<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>			
Sierotipo 3	+	Sierotipo 5	+
<b><i>Mycoplasma genitalium</i></b>			
<i>Mycoplasma genitalium</i>	+		
<i>Ureaplasma</i>			
<i>Ureaplasma urealyticum</i> (Serovar 8)	+	<i>Ureaplasma parvum</i> (Serovar 1)	+

### 14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2019-07-23	Revisione generale 4. Contenuto della confezione 5. Istruzioni di conservazione 6. Reagenti e dispositivi aggiuntivi necessari 7. Precauzioni per gli utilizzatori 8. Raccolta e conservazione 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità 12. Limiti del metodo 13. Prestazioni e caratteristiche 14. Cronologia delle versioni 15. Descrizione dei simboli

## 15. Descrizione dei simboli

### Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici nel test

Non pertinente

## 16. Bibliografia

1. Waites *et al.* Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005. 18(4): 757–789.
2. Ljubin-Sternak *et al.* Chlamydia trachomatis and Genital Mycoplasmas: Pathogens with an Impact on Human Reproductive Health. Journal of Pathogens, 2014. 2014:183167.
3. Advameg, Inc. Human Diseases and Conditions. 2019. <http://www.humanillnesses.com/Infectious-Diseases-He-My/Mycoplasma-Infections.html> (accessed 31.07.2019)
4. McGowin *et al.* Mycoplasma genitalium: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. PLoS Pathog. 2011. 7(5).
5. Robertson *et al.* Proposal of Ureaplasma parvum sp. nov. and emended description of Ureaplasma urealyticum (Shepard et al. 1974) Robertson et al. 2001. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2002, 52, 587–597.