

alethia®

Malaria

DNA Amplification Assay

DNA-amplifieringsanalyser för detektion av *Plasmodium sp.*

REF 480925

IVD

Rx Only

AVSEDD ANVÄNDNING

Alethia Malaria DNA-amplifieringsanalyser, som utförs på Alethia-inkubator/läsare, är kvalitativa in vitro-diagnostiska tester för direkt detektion av *Plasmodium sp.*-DNA i humana, venösa EDTA-helblodsprover från personer med tecken och symptom på malariainfektion. Resultat från Alethia Malaria-analyser är avsedda att användas som ett hjälpmedel vid diagnos av human malariainfektion.

Alethia Malaria-analyser använder loop-medierad, isotermisk DNA-amplifieringsteknik (LAMP) för att upptäcka *Plasmodium sp.*-DNA, genom att inrikta sig på segment av *Plasmodium*-genomen. Alethia Malaria-analyser skiljer inte mellan *Plasmodium*-arter.

Alethia Malaria är avsedda för användning på sjukhus, som referens eller i statliga laboratorier. Enheterna är inte avsedda för patientnära användning utanför laboratoriet.

SAMMANFATTNING OCH BESKRIVNING AV TESTET

Alethia Malaria molekylära analyser är baserade på loop-medierad amplifieringsteknik (LAMP)^{1, 2}. Analyser inriktas på en region av *Plasmodium*-genomen som är konserverad över *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* och *Plasmodium knowlesi*. Alethia Malaria-analyser inriktas på en basparssekvens (bp) på 214 av en icke-kodande region för mitokondriellt *Plasmodium sp.*-DNA.

Loop-medierad amplifiering använder specialutformade primers för att främja specifik och kontinuerlig isotermisk DNA-amplifiering. En biprodukt av amplifiering är magnesiumpyrofosfat, som bildar en vit fällning som leder till en grumlig reaktionslösning. Reaktionslösningens absorbansegenskaper övervakas av Meridian Alethia-inkubator/läsaren. Förändringar i reaktionslösningens absorbansegenskaper, som skapats av fällningen av magnesiumpyrofosfat, indikerar förekomst av mål-DNA. Avsaknaden av mål-DNA leder till en obetydlig förändring av provets absorbans.

Alethia Malaria-satsen innehåller Alethia Malaria-testenheter, provförberedelseapparat IV (SMP PREP IV), Alethia buffert I, samt rör. Helblodsprover behandlas först med buffert I, cellerna rubbas och nukleinsyror frigörs. Lysatet tillsätts till SMP PREP IV och filtreras i ett rent rör I genom att man klämmer försiktigt. Provspillvatten, som samlats in efter filtrering, innehåller nukleinsyror för användning med Alethia Malaria-testenheten.

Alethia Malaria-testenheten innehåller en lyofiliserad amplifieringsreagenspärta i var och en av två kammare: en TEST-kammare med *Plasmodium sp.*-specifika primers och en KONTROLL-kammare med primers specifika för humant, mitokondriellt DNA. Humant, mitokondriellt DNA i helblodsprover och primers specifika för humant, mitokondriellt DNA i testenhetens KONTROLL-kammare, fungerar som intern kontroll för analysen. Under provberedning extraheras humant, mitokondriellt DNA med mitokondriellt *Plasmodium sp.*-DNA för att möjliggöra parallell bearbetning av mål-DNA och kontroll-DNA genom amplifiering och detektion. Den interna kontrollen övervakar DNA-extraktion, amplifieringsinhibition, analysreagensprestanda och provbearbetningens effektivitet. Kontrollmålet måste amplifieras och detekteras i den slutliga reaktionen, annars anses testet vara ogiltigt och resultaten rapporteras inte.

Alethia-inkubator/läsare övervakar förändringar i absorbansegenskaper genom att mäta transmissionen av ljus genom test- och kontrollreaktionslösningarna. Ljustransmission kontrolleras vid analyskörningens start (Signal_{första}, S_i) och vid analyskörningens slut (Signal_{slutlig}, S_f). Alethia-inkubator/läsaren beräknar förändringen i ljustransmission mellan körningsslut och körningsstart (S_f/S_i) och jämför förhållandet med ett fast brytpunktsvärde.

Fasta brytpunktsvärden för TEST-kammaren används för att rapportera provresultat. TEST-kammarens S_f/S_i-förhållanden som är mindre än 70 % rapporteras som "POSITIVA"; TEST-kammare S_f/S_i-förhållanden som är större än eller lika med 70 % rapporteras som "NEGATIVA". *Numeriska värden rapporteras inte.*

Fasta brytpunktsvärden för KONTROLL-kammaren används för att fastställa validitet. KONTROLL-kammare S_f/S_i-förhållanden som är mindre än 85 % anses som giltiga och möjliggör rapportering av TEST-kammarresultat (POSITIVA, NEGATIVA). KONTROLL-kammare S_f/S_i-förhållanden som större än eller lika med 85 % anses som ogiltiga och hindrar rapportering av TEST-kammarresultat. Ogiltiga KONTROLL-kammarreaktioner rapporteras som "OGILTIGA". *Numeriska värden rapporteras inte.*

Strängare brytpunktskriterier tillämpas på KONTROLL-kammarreaktionen för att säkerställa att amplifieringen inte hämmas, reagenserna fungerar såsom avsett och att provbearbetningen utfördes på lämpligt sätt.

BIOLOGISKA PRINCIPER

Malaria är en utmaning för folkhälsan över hela världen, med uppskattningsvis 3,2 miljarder människor i riskzonen för infektion i 97 länder.³ Världshälsoorganisationen (WHO) uppskattar att 198 miljoner fall inträffade under 2013, som ledde till ca 584 000 dödsfall.³ Malaria orsakas av den intracellulära parasiten *Plasmodium* och överförs till människor genom Anopheles-honmyggor.³ När människor väl smittats, uppvisar *Plasmodium* flera livsmedelsmorfologier för initial tillväxt i leverceller, följt av invasion av röda blodkroppar.⁴ *Plasmodium* replikeras inuti röda blodkroppar, vilket orsakar cellruptur och kliniska symptom på sjukdomen.⁴

Det finns fem *Plasmodium*-arter som är kända för att orsaka malaria hos människor (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* och *Plasmodium knowlesi*), där majoriteten av infektioner orsakas av *P. falciparum* och *P. vivax*. Malariabehandling är beroende av *Plasmodium*-arterna, patientens kliniska tillstånd samt antimikrobiell mottaglighet.⁵ Infektioner som orsakas av *P. falciparum* och *P. knowlesi* är vanligtvis allvarigare och kräver snabb behandling.⁵

WHO rekommenderar diagnostiska tester för alla personer med misstänkt malaria.³ Mikroskopi med tunna och tjocka utstryk är för närvarande guldstandarden för diagnostisk metod. Mikroskopins noggrannhet och precision är dock i hög grad beroende av teknikerns skicklighet (detektionsgräns som sträcker sig från 4–100 parasiter/μL eller högre), med falskt negativa och falskt positiva värden mellan 10–25 % och ca 2–3 gånger variationen i kvantifiering.^{6, 7, 8} Dessutom är fel i *Plasmodium*-artbestämning vanliga vid rutinmässig mikroskopiundersökning.⁸ Immunbaserade, diagnostiska snabbtest (RDTs) är också en tillgänglig diagnostisk metod. Kvalitetsutvärdering av testningen, som utfördes av WHO, visade att vid låga parasitdensiteter (200 parasiter/μL), kunde endast 76 % och 42 % av tillgängliga RDTs detektera *P. falciparum* respektive *P. vivax*.³

Alethia Malaria-analyser ger snabba resultat med högre känslighet än mikroskopi och RDTs.

REAGENSER/MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS

Det maximala antalet tester som erhålls från denna testsats anges på den yttre förpackningen.

- Alethia Malaria-testenhet (punkt# 2875):** Två-kammarenhet innehållande frystorkade amplifieringsreagenser (DNA-polymeras, deoxinukleotidtrifosfater) och antingen *Plasmodium sp.*-specifika primers (TEST-kammare) eller primers specifika för humant mitokondriellt DNA (KONTROLL-kammare).
- Alethia buffert I (punkt# 2932-02):** Lysislösning som innehåller 0,2 N natriumhydroxid.
- Alethia provförberedningsapparat IV (SMP PREP IV) (punkt# 2824-02):** Tris-buffertlösning innehållande 0,09 % azid som konserveringsmedel.
- Alethia-rör I (punkt# 2337):** 1,5 mL rör

MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS SEPARAT

1. Alethia Malaria extern kontrollsats, Meridian Bioscience, Inc. katalognummer: 479970

MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

1. Engångshandskar i latex, puderfria
2. DNase/RNase-fria, aerosoltåliga pipettspetsar
3. Blodinsamlingsrör med EDTA-antikoaguleringsmedel

UTRUSTNING SOM INTE MEDFÖLJER

1. Intervalltimer
2. Vortexblandare (valfritt)
3. Mikropipett som kan dispensera 50 µL
4. Alethia-inkubator/läsare, Meridian Bioscience, Inc. katalognummer: 610189

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Denna produkt är endast avsedd för in vitro-diagnostik.
2. Byt inte ut satsreagenser och testenheter mellan partier. Enskilda partier av rör I och ST-rör är utbytbara inom varje satstyp förutsatt att de är inom det angivna utgångsdatumet när de används.
3. Alethia-inkubatorn/läsaren kan ge felaktiga resultat om Malaria-analysprogrammet inte används för testning.
4. Följ biosäkerhetsnivå 2 och god laboratoriepraxis under testning.⁹ Behandla alla prover och använda testenheter som smittbärande. Äta, drick eller rök inte i områden där prover eller satsreagenser hanteras.
5. Använd engångshandskar vid hantering av prover och tvätta händerna noggrant efteråt.
6. Kvalitetskontrollprogram för molekyllärtestningslaboratorier, inklusive korrekt användning och skötsel av utrustning, bör användas.¹⁰
7. Alethia Malaria-testenheter innehåller lyofiliserade reagenser. Skyddspåsarna bör inte öppnas förrän du är redo att utföra analysen.
8. Alethia Malaria-testenheter inkluderar en spärrfunktion som är utformad för att förhindra kontaminering av testområdet med amplifieringsprodukt. Använd INTE testenheter med trasiga spärrar.
9. Kassera använda Alethia Malaria-testenheter och rör omedelbart efter bearbetning. Lämna testenhetsens spärr säkert på plats. Öppna INTE testenheter efter bearbetning. Om enheten öppnas efter amplifiering kan detta leda till kontaminering av testområdet med amplifieringsprodukt.
10. Eventuell allvarlig händelse som har inträffat i samband med enheten ska rapporteras till Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA eller till tekniskt supportcenter 1 800 343 3858 och behörig myndighet i den EU-medlemsstat där läkaren och/eller patienten finns.
11. VIKTIGT: Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information om säkerhet och risker.

FARO- OCH SKYDDSANGIVELSER

 Buffer I	Signalord Varning Faroangivelser H315 - Irriterar huden H319 - Orsakar allvarlig ögonirritation Skyddsangivelser - EU (§28, 1272/2008) P280 - Använd skyddshandskar/ skyddskläder/ ögonskydd/ ansiktsskydd.
---	--

HÅLLBARHETSTID OCH FÖRVARING

Utgångsdatumet anges på satsens etikett. Förvara satsen vid 2–30 C.

REAGENSBEREDNING

Säkerställ att satsreagenserna är rumstempererade (19–30 C) före användning. Säkerställ att buffert I har värmts upp helt till rumstemperatur före användning och att ingen fällning är synlig. Felaktiga resultat kan erhållas om reagenser inte får anta rumstemperatur före användning.

PROVINSAMLING OCH FÖRBEREDELSE

Provtyp: Prover med humant, venöst helblod, med EDTA som konserveringsmedel.

Provinsamling: Prover med venöst helblod bör samlas in i ett provrör innehållande EDTA enligt institutionens riktlinjer för insamling av kliniska prover för malarieinfektion. Säkerställ att blodinsamlingsrören vänds upp och ned omedelbart efter insamlingen, minst 8 gånger, eller i enlighet med tillverkarens instruktioner.

Venösa EDTA-helblodsprover kan förvaras vid 2–30 C efter insamling, samt under transporten till laboratoriet. Prover bör testas så snart som möjligt, men kan förvaras i upp till 7 dagar vid rumstemperatur (19–30 C) eller upp till 14 dagar i kylskåp (2–8 C) före testning. Prover som inte ska testas inom denna tidsperiod bör frysas omedelbart vid -20 C i upp till 30 dagar tills de ska testas. Prover kan frysas ned och tinas 2 gånger efter lagring vid -20 C före testning med Alethia Malaria-analyser.

PROVBEREDNING

OBS! Se till att Alethia-inkubatorn/läsaren är påslagen och att erforderade prestandakontroller har genomförts innan PROVBEREDNING påbörjas. Se användarhandboken till Alethia-inkubatorn/läsaren för ytterligare information om instrumentinstallation och drift.

OBS! Säkerställ att proverna är rumstempererade (19–30 C) före provberedning.

1. Alethia Malaria-provberedning

- a. Vänd EDTA-helblodsprovet upp och ned 2–3 gånger för att blanda.
- b. Tillsätt 50 µL av det insamlade venösa helblodsprovet (med EDTA) i ett rör med buffert I. Blanda genom att vända upp och ned 5 gånger eller genom att snurra röret ca 10 sekunder. Hålla provet under 2 minuter.
- c. Blanda genom att vända upp och ned 5 gånger eller genom att snurra röret ca 10 sekunder och överför omedelbart 50 µL lysat i SMP PREP IV. Blanda genom att vända upp och ned 5 gånger eller genom att snurra röret 10 sekunder.
- d. Krama försiktigt SMP PREP IV och samla långsamt in 5–10 droppar i ett rent rör I. Verifiera visuellt att eluatet har en röd till rödbrun nyans. Märk röret med prov-ID-numret och fortsätt till testproceduren.

TESTPROCEDUR

OBS! Högst 10 prover kan bearbetas i en enda körning med Alethia-inkubatorn/läsaren.

1. Ta ut 1 Alethia Malaria-testenhet från dess skyddspåse per prov. Öppna enheten försiktigt genom att lyfta upp spärren och håll kamrarna så att den lyofiliserade reagensen inte faller ut när den öppnas. Placera enheten på en plan yta eller i en ställning som rymmer enheten.
2. Överför med hjälp av en mikropipett 50 µL av provet till både TEST-kammaren (vänster/vit pärla) och KONTROLL-kammaren (höger/gul pärla) i Alethia Malaria-testet. Var noga med att inte introducera luft i reaktionsblandningen. Blanda inte reaktioner med pipett.
3. Stäng Alethia-testenhetsen och fäst spärrarna ordentligt.
4. Knacka enheten/enheterna mot bänken eller blanda den för att avlägsna luftbubblor. Undersök testenheten/testenheter noggrant med avseende på rehydrering av kontroll-/testpärlan, för luftbubblor som är kvar i kammaren och vätska överst på enheten. Om ej upplösta pärlor, luftbubblor eller vätska överst på enheten observeras, ska du knacka på enheten på bänken och upprepa den visuella inspektionen. Amplifiering och detektion bör initieras inom 15 minuter.
5. Upprepa testprocedurstegen för alla prover som ska testas.
6. För in Alethia-testenheter i Alethia-inkubatorn/läsaren och starta körning med Malaria-programmet. Resultaten visas i slutet av körningen.

TOLKNING AV RESULTAT

Prov-ID	Rapporterat resultat	Tolkning
Patientprov	POSITIVT	Provet innehåller <i>Plasmodium sp.</i> -mål-DNA.
	NEGATIVT	Inget <i>Plasmodium sp.</i> -DNA detekterat.
	OGILTIGT	Inget rapporterbart resultat. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet. Hämmande patientprov, felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
Positiv kontroll	POSITIVT	Giltigt, positivt kontrollresultat. Reagenser är aktiva vid tidpunkten för användning, Alethia-inkubator/läsare fungerar korrekt.
	NEGATIVT	Felaktigt kontrollresultat. Upprepa kontrolltesterna som det första steget för att fastställa orsaken till felet. Om kontrollfelen upprepas ska du kontakta Meridians tekniska serviceavdelning på 1 800 343 3858 (USA) eller din lokala återförsäljare.
	OGILTIGT	Inget rapporterbart resultat. Upprepa hela testkörningen med hjälp av ursprungliga prover. Felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
Negativ kontroll	POSITIVT	Felaktigt kontrollresultat. Upprepa kontrolltesterna som det första steget för att fastställa orsaken till felet. Om kontrollfelen upprepas ska du kontakta Meridians tekniska serviceavdelning på 1 800 343 3858 (USA) eller din lokala återförsäljare.
	NEGATIVT	Giltigt, negativt kontrollresultat. Reagenser är aktiva vid tidpunkten för användning, Alethia-inkubator/läsare fungerar korrekt.
	OGILTIGT	Inget rapporterbart resultat. Upprepa hela testkörningen med hjälp av ursprungliga prover. Felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
TOM BRUNN	INGEN	Ingen Alethia-testenhet finns i Alethia-inkubator/läsarbrunnen. ELLER Alethia-testenheten är inte närvarande på grund av misslyckad provförberedelse, smutsig enhet eller felaktigt placerad enhet. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet.

KVALITETSKONTROLL

Detta test bör utföras enligt gällande lokala eller statliga bestämmelser eller tillsynsmyndigheternas krav.

- Varje enhet innehåller en intern styrenhet som styr amplifieringsinhibition, analysreagenser, DNA-beredning samt provbearbetningens effektivitet. Humant, mitokondriskt DNA, som fungerar som internt kontroll-DNA, är isolerat från helblodsprovet och bearbetas genom alla steg i proceduren. Primers för amplifiering av internt kontroll-DNA finns i kontrollkammaren i Alethia-testenheten.
- God laboratoriepraxis rekommenderar användning av kontrollmaterial. Användare bör följa tillämpliga statliga och lokala riktlinjer angående utförande av externa kvalitetskontroller.
- Alethia Malaria extern positiv kontrollreagens tillhandahålls separat (katalog 479970). Alternativt kan tidigare karakteriserade, kliniska eller artificiella positiva blodprover med *Plasmodium sp.* användas som en extern positiv kontroll. Ett kvalificerat, negativt helblodsprov med EDTA kan användas som en extern negativ kontroll. Det rekommenderas att reaktiviteten hos varje nytt parti och varje ny leverans av Alethia Malaria kontrolleras vid mottagandet och före användning. Externa kontrolltester bör utföras därefter i enlighet med tillämpliga statliga och lokala riktlinjer. Alethia Malaria-testsatsen bör inte användas vid patienttester om de externa kontrollerna inte ger korrekta resultat.
- En separat testenhet måste användas för varje extern kontrollreagens.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Förekomsten av *Plasmodium sp.* som upptäcktes av Alethia Malaria-analysen under den kliniska studien 2015 var 68,1 % (147/216) med hjälp av Alethia Malaria-provberedningsmetoden. Den totala förekomsten av varje *Plasmodium*-arten ges nedan.

Förekomst efter <i>Plasmodium</i> -art		
Alethia Malaria (n=216)		
Arter	Totalt positiva	Förekomst
<i>P. falciparum</i>	137	63.4%
<i>P. vivax</i>	0	0%
<i>P. ovale</i>	1	0.5%
<i>P. malariae</i>	1	0.5%
<i>P. knowlesi</i>	0	0%
Okänd*	8	3.7%

*Prover fastställdes som negativa genom mikroskopi och därför kunde arter inte bestämmas.

PROCEDURBEGRÄNSNINGAR

- Denna produkt kan endast användas med Alethia-inkubator/läsarinstrumentet.
- Alethia Malaria skiljer inte mellan *Plasmodium*-arter.
- Hematokrit (> 57,5 %) och hemoglobin (> 30 g/dL) över normala fysiologiska nivåer kan ge felaktiga resultat med Alethia Malaria-analyser.
- Prestanda för Alethia Malaria-analyser har inte fastställts för packade röda blodkroppsprover.
- Prestanda för *Plasmodium knowlesi* med Alethia Malaria-analysen fastställdes endast med hjälp av renat, genomiskt DNA. Hela organismen testades inte.
- Alethia Malaria är kvalitativa analyser och ger inte kvantitativa värden eller information om organismbelastning.
- Detektionen av nukleinsyror är beroende av korrekt provtagning, hantering, transport, förvaring och beredning. Underlåtenhet att utföra korrekt procedur i något av dessa steg kan leda till felaktiga resultat.
- Organismnukleinsyra kan kvarstå in vivo, oberoende av organismens livsduglighet. Alethia Malaria skiljer inte mellan livsdugliga och icke-livsdugliga organismer.
- Liksom med alla molekylärt baserade diagnostiska tester kan (A) falskt negativa resultat förekomma från närvaron av inhibitorer, tekniskt fel, förväxling av prover eller lågt antal organismer i det kliniska provet; (B) falskt positiva resultat kan förekomma från förekomst av korskontamination av målorganismer, nukleinsyror eller amplifierad produkt och från icke-specifika signaler.

SPECIFIKA PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandaegenskaper för Alethia Malaria DNA-amplifieringsanalyser fastställdes i kliniska studier som utfördes i november 2015 i Senegal, Afrika. Prestandaegenskaper för analysen jämfördes med referensmetoden, mikroskopi med tunn och tjock film. Identifikation av *Plasmodium*-arter för alla positiva prover fastställdes genom mikroskopi.

Prover inkluderade prospektiva och retrospektiva prover med venöst helblod med EDTA från patienter med tecken och symptom på *Plasmodium*-infektion. Totalt 216 kvalificerade, avidentifierade helblodsprover utvärderades. 66 prover testades prospektivt och 150 prover insamlades prospektivt och lagrades frysta före testning med Alethia Malaria-analysen (retrospektiv). Varje prov bereddes med Alethia Malaria-provberedningsmetoder. Alla prover testades prospektivt med mikroskopi.

Analys av analysprestanda med prospektiva och retrospektiva prover indikerade att det inte finns någon skillnad i prestanda för färsk och frysta prover med Alethia Malaria-analyser. Tabellerna nedan sammanfattar prestanda av Alethia Malaria DNA-amplifieringsanalyser för både prospektiva och retrospektiva prover i kombination.

Prestanda för Alethia Malaria jämfört med mikroskopi

		Mikroskopi			Alethia	Prestanda			
		Pos	Neg	Totalt	INV ^a				95 % KI
Alethia Malaria	Pos	139	8	147	0(1)	Sensitivitet	100.0%	139/139	97.3-100.0%
	Neg	0	67	67	2(2)	Specifitet	89.3%	67/75	80.3-94.5%
	Totalt	139	75	214	2				

^aInitiala, ogiltiga resultat rapporteras inom parentes. Det slutliga antalet ogiltiga prover som återstod efter upprepade testning visas före parentesen.

Prover samlades in från patienter i åldrarna 4 till 77. 15 var 1–12 år, 75 var 13–21 år, 125 var ≥ 22 år, en patients ålder definierades inte. Det fanns ingen noterad skillnad i prestanda baserat på ålder. Studiepopulationen inkluderade 84 (38,9 %) kvinnliga och 131 (60,6 %) manliga patienter; en patients kön definierades inte. Det förväntas inte att analysens prestanda påverkas av kön.

ANALYTISK SENSITIVITET

Detektionsgränsen (LoD) fastställdes med hjälp av *Plasmodium falciparum* och *Plasmodium vivax*. LoD bekräftades med användning av 20 replikat och en angiven sannolikhet (t.ex. 95 %, där 19/20 replikat är positiva) för att få positiva svar.

	Alethia Malaria
<i>Plasmodium</i> -arter	Parasiter/μL
<i>P. falciparum</i> (3D7)	2
<i>P. vivax</i> (India VII)	0.125

ANALYSREAKTIVITET

Kvantifierade stammar av DNA från *P. malariae*, *P. ovale* och *P. knowlesi* späddes ut i negativt helblod till ca tre gånger detektionsgränsen för Alethia Malaria-provberedningsmetod (ca 72 kopior/μL eller 6 parasiter/μL). Alla arter reagerade vid de koncentrationer som testats.

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarhetsstudier genomfördes av tre interna laboratorier. Blindkodade paneler med 10 prover levererades till deltagande laboratorier. Panelerna inkluderade artificiella *Plasmodium falciparum*-prover (stam 3D7), som tillverkats som måttligt positiva prover, svagt positiva prover eller starkt negativa prover. Panelen inkluderade även ett negativt helblodsprov. Tester utfördes av minst 2 olika operatörer på varje laboratorium på samma dag (variabilitet inom analysen) i fem dagar (variabilitet mellan analyserna). Tre partier av Alethia Malaria och 8 Alethia-inkubator/läsarinstrument användes i denna studie. Externa positiva och negativa kontroller testades med varje panel; ett kvalificerat, negativt blodprov användes som den negativa kontrollen.

Sammanfattning av reproducerbarhetsstudien: Beredningsmetod för Alethia Malaria-prov								
Provtyp	Klinik 1		Klinik 2		Klinik 3		Totalt	
	Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse	
Måttligt positiva (8 parasiter/μL)	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
Svagt positiva (2 parasiter/μL)	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
Starkt negativa (0,458 parasiter/μL)	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
Negativt	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Negativ kontroll	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Positiv kontroll	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%

KORSREAKTIVITETSSTUDIER

Korsreaktivitetsstudier använde positiva (*P. falciparum* 3D7) och negativa helblodprover, som inokulerats med bakterie- eller svamporganismer till en minsta koncentration på 1,0 x 10⁶ CFU/mL, virus på minst 1,0 x 10⁵ TCID₅₀/mL eller protozoer till en minsta koncentration på 1,0 x 10⁵ organismer/mL. Där hela organismer inte fanns tillgängliga testades 1,0 x 10⁶ kopior/mL för genomiskt DNA. Ingen av de följande organismerna eller deras genetiska material reagerade med Alethia Malaria-analyserna: *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi*, *Haemophilus influenza*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, *Leptospira interrogans*, *Mycobacterium smegmatis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Treponema pallidum*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli*, *Vibrio parahaemolyticus*, Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr-virus (EBV), Hepatit B-virus, Hepatit C-virus, Herpes simplex-virus 1 (HSV 1), HIV-1, Humant papillom-virus (HPV) och Rubella-virus.

Följande organismer eller deras DNA kunde inte erhållas för testning och utvärderades genom analys in silico. Ingen av de följande organismerna förväntas reagera med Alethia Malaria-analyser baserat på denna analys: *Anaplasma phagocytophilum*, *Clostridium botulinum*, *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, Chikanera-virus, Dengue-virus (typ 1–4), West Nile-virus, samt Gula febern-virus.

Humant genomiskt DNA var reaktionslöst vid 1,0 x 10⁶ kopior/mL.

TESTER FÖR INTERFERERANDE SUBSTANSER

Interferenstestning utfördes i närvaro av värsta fall-koncentrationer av kemiska och biologiska ämnen, som introducerades direkt i artificiella, svagt positiva (*P. falciparum* 3D7) och negativa helblodprover. Ingen interferens observerades med följande substanser för någon av Alethia Malaria-provberedningsmetoderna: Acetaminofen (1 mg/mL), Amoxicillin (0,1 mg/mL), Artesunat (1 mg/mL), Aspirin (1 mg/mL), Atovakon (0,1 mg/mL), Cefalexin (0,1 mg/mL), Klorokin (1 mg/mL), Ciprofloxacin (0,1 mg/mL), Clindamycin (1 mg/mL), Doxycyklinhydroklorid (1 mg/mL), Erythromycin (0,1 mg/mL), Hydroxylklorokinsulfat (1 mg/mL), Ibuprofen (1 mg/mL), Lumefantrin (1 mg/mL), Meflokin (1 mg/mL), Primakinfosfat (1 mg/mL), Proguanilhydroklorid (1 mg/mL), Pyrimetamin (1 mg/mL), Kininsulfat (1 mg/mL), Natriumcitrat (0,11 M), förhöjt Bilirubin (> 0,15 mg/mL), förhöjda leukocyter (buffy coat) > 10 % v/v, serumalbumin (> 0,03 g/mL), samt triglycerider (> 9,9 mg/mL).

Hematokrit (> 57,5 %) och hemoglobin (> 30 g/dL) över normala fysiologiska nivåer kan ge felaktiga resultat med Alethia Malaria-analyser.

REFERENSER

1. Nagamine K, Hase T, Notoni T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplifications using loop primers. *Mol Cell Probes* 2002;16:223-29.
2. Mori Y, Kitao M, Tomita N, Notoni T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantitating template DNA. *J Biochem Biophys* 2004;59:145-47.
3. World Malaria Report 2014. Global Malaria Programme, World Health Organization. http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report/en/.
4. Cowman AF and Crabb BS. Invasion of Red Blood Cells by Malaria Parasites. *Cell* 2006; 124: 755-766.
5. Treatment of Malaria (Guidelines for Physicians). Centers for Disease Control and Prevention, July 2013. www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/clinicalguidance.pdf.
6. O'Meara WP, Barcus M, Wongsrichanalai C, Muth S, Maguire JD, Jordan RG, Prescott WR, and McKenzie FE. Reader Technique as a Source of Variability in Determining Malaria Parasite Density by Microscopy. *Malaria J* 2006;5:118.
7. McKenzie FE, Sirichaisinthop J, Miller RS, Gasser RA, and Wongsrichanalai C. Dependence of Malaria Detection and Species Diagnosis by Microscopy on Parasite Density. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69(4):372-376.
8. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, and Wernsdorfer WH. A Review of Malaria Diagnostic Tools: Microscopy and Rapid Diagnostic Test (RDT). *Am J Trop Med Hyg* 2007;77(6):119-127.
9. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.
10. CLSI: MM3-A2 Molecular diagnostic methods for infectious disease; approved guideline, 2nd ed. Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2006.



SN11035

REV. 01/26

 Manufactured By	Meridian Bioscience, Inc. 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com
EC REP	Meridian Bioscience Europe, SRL Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese (Milano) ITALY www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+39) 0331.433636 E-mail: info@meridianbioscience.eu Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu Customer Service/Orders: • For Italian Customers: ordini@meridianbioscience.com • For Distributors / International Customers: Export.CustomerService@meridianbioscience.eu
AUSTRALIAN SPONSOR	Emergo Australia Level 20, Tower II Darling Park 201 Sussex Street Sydney, NSW 2000 Australia
UK Authorised Representative	Launch Diagnostics Limited Lakeview West Crossways Business Park Galleon Boulevard Dartford Kent DA2 6QE United Kingdom
CH REP	MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28 6302 Zug Switzerland

ANVÄNDNING AV SYMBOLER

Du kan se en eller flera av dessa symboler på märkningen/förpackningen till denna produkt:

Huvudguide till symboler

	Använd före	CONTROL +	Positiv kontroll
LOT	Batchkod	CONTROL -	Negativ kontroll
IVD	Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik	EC REP	Auktoriserad EU-representant
	Denna produkt uppfyller kraven i direktiv 98/79/EG om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik	SMP PREP DIL SPE	Provförberedelseapparat som innehåller provspädningsmedel
REF	Katalognummer		Får ej frysas
	Läs bruksanvisningen	RoHS	Begränsning av farliga ämnen
	Tillverkare		Varning, se bifogade dokument
	Endast för engångsbruk	STERILE R	Sterilisering med gammastrålning
	Kvinna	STERILE EO	Sterilisering med etylenoxid
	Innehåller tillräckligt för <n> texter	BUF RXN	Reaktionsbuffert
	Temperaturbegränsning		ETL registrerat varumärke, certifierat
SN	Serienummer		Återvinn-kassera inte som allmänt avfall
TEST	Testenhet	HT TUBE	Värmebehandlingsrör
	Tillverkningsdatum		Endast för utvärdering av IVD-prestanda
	LASERSTRÅLNING: Undvika exponering för strålfält		HET YTA: Håll händerna borta från varma ytor
	FÖRSIKTIGHET: Laserstrålning	IPX-0	FÖRSIKTIGHET: Skydda från vatten
	FÖRSIKTIGHET: Risk för fara	CONTROL	Analyskontroll
BUF	Buffert	MIN OIL	Mineralolja
MEDIA	Media		Varning
ST TUBE	Rör med skruvlock	COL	Provberedningskolumn
BUF SMP	Provbuffert	PRE REAG	Förbehandlingsreagens
Rx Only	Får endast användas på läkares ordination	SMP PREP	Provberedning
TUBE	Tomt rör	CH REP	Auktoriserad representant i Schweiz

För teknisk hjälp, ring teknisk support på 1 800 343 3858 mellan klockan 8.00 och 18.00 EST. Om du vill göra en beställning, kan du ringa kundtjänst på 1 800 543 1980.

Approved
SE-2026-07-27