



Malaria and Malaria PLUS DNA Amplification Assays

DNA-amplifieringsanalyser för detektion av *Plasmodium sp.*

REF

280925, 281125

IVD

Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik

AVSEDD ANVÄNDNING

illumigene Malaria och *illumigene* Malaria PLUS DNA amplifieringsanalyser, som utförs på *illumipro-10™*, är kvalitativa in vitro-diagnostiska tester för direkt detektion av *Plasmodium sp.*-DNA i humana, venösa EDTA-helblodprover från personer med tecken och symptom på malariefektion. Resultat från *illumigene* Malaria-analyser är avsedda att användas som ett hjälpmedel vid diagnos av human malariefektion.

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

illumigene Malaria och *illumigene* Malaria PLUS 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

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

Loop-medierad amplifiering använder specialformade 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 *illumipro-10*-inkubatorn/lösaren. Förändringar i reaktionslösningens absorbansegenskaper, som skapats av fällningen av magnesiumpyrofosfat, indikerar förekomst av mål-DNA. Avsaknaden av mål-DNA leder till ingen betydande förändring i provets absorbans.

illumigene Malaria-satsen innehåller *illumigene* Malaria-testenheter, provförberedelseapparat IV (SMP PREP IV), *illumigene* buffert I, samt rör. Helblodprover 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. Provsplivatten, som samlats in efter filtrering, innehåller nukleinsyror för användning med *illumigene* Malaria-testenheter.

illumigene Malaria PLUS-satsen innehåller *illumigene* Malaria-testenheter *M-prep*-kolonner, *illumigene* buffert I, *M-prep* buffert II, *M-prep* buffert III och ST-rör. Helblodprover bearbetas med användning av storleksexklusionskromatografi genom egenkonvektion för att separera och rena nukleinsyror. *M-prep*-kolonner ger matrisen för rening av nukleinsyror medan de inkluderade buffertarna främjar celllysis och provelucering. Helblodprover behandlas först med buffert I, cellerna rubbas och nukleinsyror frigörs. Provmaterial appliceras på *M-prep*-kolonnen och får gå genom kolonnen genom gravitation, där de största molekylerna rör sig genom kolonnmatrisen först eller snabbast. *M-prep* buffert II appliceras på *M-prep*-kolonnen, vilket främjar provets rörlighet genom kolonnmatrisen. *M-prep* buffert III innehåller ett icke-reaktivt färgämne, som ger en visuell indikator på progressjon. *M-prep* buffert III appliceras på *M-prep*-kolonnen efter buffert II har kommit in i gelmatrisen. Provsplivatten, som samlats in efter tillsats av *M-prep* buffert III, innehåller nukleinsyror för användning med *illumigene* Malaria-testenheter. Varken *illumigene* Malaria eller *illumigene* Malaria PLUS kräver specialiserad laboratorietrustning.

illumigene Malaria-testenheter innehåller en lyofiliserad amplifieringsreagenspärila 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 helblodprover och primers specifika för humant, mitokondriellt DNA i testenhetsens 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 resultatet rapporteras inte.

illumipro-10 övervakar ändringar i absorbansegenskaper genom att mäta transmissionen av ljus genom test- och kontrollreaktionslösningarna. Ljustransmission kontrolleras vid analyskönnings start (Signal_{START}, S) och vid analyskönnings slut (Signal_{SLUT}, S). *illumipro-10* beräknar förändringen i ljustransmission mellan könningslut och könningsstart (S: S) och jämför förhållandet med ett fast brytpunktsvärde.

Fasta brytpunktsvärden för TEST-kammaren används för att rapportera provresultat. TEST-kammarens S: S-förhållanden som är mindre än 70 % rapporteras som "POSITIVA"; TEST-kammare S: S-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: S-förhållanden som är mindre än 85 % anses som giltiga och möjliggör rapportering av TEST-kammarresultat (POSITIVA, NEGATIVA). KONTROLL-kammare S: S-förhållanden som är 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, att 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 riszonen 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*-honnmyggor.³ När människor väl smittas, uppvisar *Plasmodium* flera livsckedjesmorfologier 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 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

illumigene 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.

För *illumigene* Malaria, katalognummer 280925

- illumigene* Malaria-testenhet: 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).
- illumigene* buffert I: Lyslösning som innehåller 0,2 N natriumhydroxid.
- illumigene* provberedningsapparat IV (SMP PREP IV): Tris-buffertlösning innehållande 0,09 % azid som konserveringsmedel.
- illumigene* rör I: 1,5 mL rör

För *illumigene* Malaria PLUS, katalognummer 281125

- illumigene* Malaria-testenhet: 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).
- illumigene* buffert I: Lyslösning som innehåller 0,2 N natriumhydroxid.
- M-prep* buffert II: Lösning innehållande fenolrött och 0,09 % azid som konserveringsmedel.
- M-prep* buffert III: Tris-buffrad lösning med 0,09 % azid som konserveringsmedel.
- M-beredningskolonn*: 5,0 cm lång kolonn med skruvspets och försedlagd propp innehållande kromatografi-harts i en tris-buffrad lösning innehållande natriumazid (0,09 %) som konserveringsmedel.
- ST-rör: 2,0 mL mikrocentrifugrör med skruvlock.

MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS SEPARAT

- illumigene* Malaria extern kontrollsats, Meridian Bioscience, Inc. katalognummer: 279970

MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

- Engångshandskar i latex, puderfria
- DNase/RNase-fria, aerosolmotståndiga pipettspetsar
- Blodinsamlingsrör med EDTA-antikoaguleringsmedel

UTRUSTNING SOM INTE MEDFÖLJER

- Intervalltimer
- Vortexblandare (valfritt)
- Mikropipett som kan dispensera 50 µL
- Mikropipett som kan dispensera 250 µL (endast katalognummer 281125)
- illumipro-10™*, Meridian Bioscience, Inc. katalognummer: 610172

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- Denna produkt är endast avsedd för in vitro-diagnostik.
- Bryt 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.
- illumipro-10* kan ge felaktiga resultat om Malaria-analysprogrammet inte används för testning.
- Föj biosäkerhetsnivå 2 och god laboratoriepraxis under testning.⁹ Behandla alla prover och använda testenheter som smittbar. Ät, drick eller rök inte i områden där prover eller satsreagenser hanteras.
- Använd engångshandskar vid hantering av prover och tvätta händerna noggrant efteråt.
- Kvalitetskontrollprogram för molekylärtestningslaboratorier, inklusive korrekt användning och skötsel av utrustning, bör användas.¹⁰
- illumigene* Malaria-testenheter innehåller lyofiliserade reagenser. Skyddspåsarna bör inte öppnas förrän du är redo att utföra analysen.
- illumigene* Malaria-testenheter inkluderar en spärrfunktion som är utformad för att förhindra kontamination av testområdet med amplifieringsprodukt. Använd INTE testenheter med trasiga spärrar.
- Kassera använda *illumigene* Malaria-testenheter, *M-prep*-kolonner och rör omedelbart efter bearbetning. Lämna testenhetens spärr säkert på plats. Öppna INTE testenheten efter bearbetning. Om enheten öppnas efter amplifiering kan detta leda till kontamination av testområdet med amplifieringsprodukt.

FARO- OCH SKYDDSSANGIVELSER

Se SDS, som finns på www.meridianbioscience.com, för faro- och skyddsangivelser.

HÅLLBARHETSTID OCH FÖRVARING

Utgångsdatumet anges på satsens etikett. Förvara satskomponenter vid den temperatur som anges på etiketten.

REAGENSBEREDNING

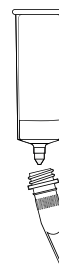
Säkerställ att satsreagenserna är vid rumtemperatur (19–30 C) före användning. Säkerställ att buffert I har värmts helt till rumtemperatur före användning och att ingen fällning är synlig. Felaktiga resultat kan erhållas om reagenser inte får anta rumtemperatur före användning.

KOLONBEREDNING (Endast för *illumigene* Malaria PLUS, katalognummer 281125)

Inspektera visuellt varje *M-Prep*-kolonn och säkerställ att kolonnbadet och filtren inte störts under transporten. Kolonner med störda hartsbäddar eller felaktigt placerade filter kommer eventuellt inte att fungera korrekt.

Inställning av kolonnen:

- Använd 1 *M-prep*-kolonn för varje prov som ska testas. Ta bort det övre locket och den undre skruvspetsen.
- Placera kolonnspetsen i ett ST-rör. ST-röret bör hållas i en liten vinkel (ca 15 grader) från *M-prep*-kolonnen. OBS! Placera inte kolonnen direkt i uppsamlingsröret, eftersom detta kan skapa en förselning och orsaka felaktigt flöde genom kolonnen. Se **Figure 1** för rätt placering av kolonnen och insamlingsröret.
- Låt *M-prep*-kolonnen rinna in i ST-röret. Avrunna *M-prep*-kolonner bör användas inom 1 timme.
- Fortsätt med provberedning för *illumigene* Malaria PLUS.

FIGUR 1: Placering av *M-prep*-kolonn och ST-rör

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 malariefektion. Säkerställ att blodinsamlingsrören vänds upp och ned omedelbart efter insamlingen, minst 8 gånger, eller i enlighet med tillverkarens instruktioner.

Venösa EDTA-helblodprover 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 rumtemperatur (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 *illumigene* Malaria-analyser.

PROVBEREDNING

OBS! Se till att *illumipro-10* är påslagen och att erfordrade prestandakontroller har genomförts innan PROVBEREDNING påbörjas. Se användarhandboken till *illumipro-10* för ytterligare information om instrumentinstallation och drift.

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

Prover som ska testas med *illumigene* Malaria-analysen kan beredas med användning av en av följande metoder:

- Provberedning av *illumigene* Malaria-prov (katalognummer 280925)**
 - Vänd EDTA-helblodprovet upp och ned 2–3 gånger för att blanda.
 - Tillsätt 50 µL av det insamlade venösa helblodprovet (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. Håll provet under 2 minuter.
 - 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.
 - 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.
- Provberedning av *illumigene* Malaria PLUS-prov (katalognummer 281125)**

Obs! Proveleringssteg med *M-prep*-kolonnen bör ta högst 30 minuter. Prov som ta längre tid än 30 minuter för att eluera bör kasseras och testas om med det ursprungliga patientprovet.

 - Vänd EDTA-helblodprovet upp och ned 2–3 gånger för att blanda.
 - Tillsätt 50 µL av det insamlade venösa helblodprovet (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. Håll provet under 2 minuter.
 - Blanda genom att vända upp och ned 5 gånger eller genom att snurra röret i ca 10 sekunder och överför omedelbart, med hjälp av en mikropipett, 250 µL av det beredda provet till överdelen av en lämpligt märkt och preparerad *M-prep*-kolonn. Vänta ca 2 minuter, eller tills provet har absorberats av kolonnen och flödet stannar. Detta steg bör ta högst 30 minuter.
 - Tillsätt med hjälp av en mikropipett 250 µL av *M-prep* buffert II till överdelen på *M-prep*-kolonnen. Kassera pipettspetsen. Kolonnen kommer att ha ett rött utseende efter tillsatsen av *M-prep* buffert II. Vänta ca 2 minuter, eller tills den rödfärgade bufferten har absorberats av Kolonnen och flödet stannar. Detta steg bör ta högst 30 minuter.
 - Ta bort den sista droppen vätska från kolonnspetsen med ST-röret. Kassera röret.
 - Placera ett rent ST-rör under *M-prep*-kolonnen. Tillsätt med hjälp av en mikropipett 250 µL av *M-prep* buffert III till överdelen på *M-prep*-kolonnen. Kassera pipettspetsen. Vänta ca 2 minuter eller tills flödet stoppas. Detta steg bör ta högst 30 minuter.
 - Ta bort den sista droppen vätska från kolonnspetsen med ST-röret. 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 *illumipro-10*.

- Ta ut 1 *illumigene* Malaria-test från dess skyddspåse per prov. Öppna enheten försiktigt och håll kamrarna så att de lyofiliserade reagenserna inte faller ut när de öppnas. Placera enheten på en plan yta eller i en ställning som nyrmer enheten.
- Överför med hjälp av en mikropipett 50 µL av provet till både TEST-kammaren (vit pärla) och KONTROLL-kammaren (gul pärla) i *illumigene* Malaria-testet. Var noga med att inte introducera luft i reaktionsblandningen.
- Stäng *illumigene*-testenheten och fäst spärrarna ordentligt.
- Knacka enheten mot bänken eller blanda den för att avlägsna luftbubblor. Undersök testenheten/testenheterna 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.
- Upprepa testproceduren för alla prover som ska testas.
- För in *illumigene*-testenheterna i *illumipro-10* och starta körning med *Malaria-programmet*. Resultatet 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. Härmående patientprov, felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
Positiv kontroll	POSITIVT	Giltigt, positivt kontrollresultat. Reagenser är aktiva vid tidpunkten för användning, <i>illumipro-10</i> 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 användning 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, <i>illumipro-10</i> fungerar korrekt.
	OGILTIGT	Inget rapporterbart resultat. Upprepa hela testkörningen med användning av ursprungliga prover. Felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
TOM BRUNN	INGET	Ingen <i>illumigene</i> -testenhet i <i>illumipro-10</i> -brunnen. ELLER <i>illumigene</i> -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, mitokondriellt DNA, som fungerar som internt kontroll-DNA, är isolerat från helblodprovet och bearbetas genom alla steg i proceduren. Primers för amplifiering av internt kontroll-DNA finns i kontrollkammaren i *illumigene*-testenheten.
- God laboratoriepraxis rekommenderar användning av kontrollmaterial. Användare bör följa tillämpliga statliga och lokala riktlinjer angående utförande av externa kvalitetskontroller.
- illumigene* Malaria extern positiv kontrollreagens tillhandahålls separat (katalognr 279970). Alternativt kan tidigare karakteriserade, kliniska eller artificiella positiva blodprover med *Plasmodium sp.* användas som en extern negativ kontroll. Ett kvalificerat, negativt helblodprov med EDTA kan användas som en extern negativ kontroll. Det rekommenderas att reaktiviteten hos varje nytt parti och varje ny leverans av *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS kontrolleras vid mottagandet och före användning. Externa kontrolltester bör utföras därefter i enlighet med tillämpliga statliga och lokala riktlinjer. *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS-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 upptäckts av *illumigene* Malaria-analysen under den kliniska studien 2015, var 68,1 % (147/216) med *illumigene* Malaria-provberedningsmetoden (katalognummer 280925) och 70,6 % (149/211) med användning av *illumigene* Malaria PLUS-metoden (katalognummer 281125). Den totala förekomsten av varje *Plasmodium*-arten ges nedan.

Förekomst efter <i>Plasmodium</i> -art				
Arter	<i>illumigene</i> Malaria (n = 216)		<i>illumigene</i> Malaria PLUS (n = 211)	
	Totalt positiva	Förekomst	Totalt positiva	Förekomst
<i>P. falciparum</i>	137	63,4 %	134	63,5 %
<i>P. vivax</i>	0	0 %	0	0 %
<i>P. ovale</i>	1	0,5 %	1	0,5 %
<i>P. malariae</i>	1	0,5 %	1	0,5 %
<i>P. knowlesi</i>	0	0 %	0	0 %
Okänd*	8	3,7 %	13	6,2 %

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

PROCEDURBEGRÄNSNINGAR

- Denna produkt kan endast användas med *illumipro-10*-instrumentet.
- illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS skiljer inte mellan *Plasmodium*-arter.
- Hematokrit (> 57,5 %) och hemoglobin (> 30 g/dL) över normala fysiologiska nivåer kan ge felaktiga resultat med *illumigene* Malaria-analysen.
- Prestanda för *illumigene* Malaria-analysen har inte fastställts för packade röda blodkroppsprouver.
- Prestanda för *Plasmodium knowlesi* med *illumigene* Malaria-analysen fastställdes endast med hjälp av renat, genomiskt DNA. Hela organismen testades inte.
- illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS är kvalitativa analyser och ger inte kvantitativa värden eller information om organismbelastning.
- Detektion av nukleinsyror är beroende av korrekt provtagning, hantering, transport, förvaring och beredning. Underlätenhet att utföra korrekt procedur i något av dessa steg kan leda till felaktiga resultat.
- Organismnukleinsyra kan kvarstå *in vivo*, oberoende av organismens livsduglighet. *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS 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 *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS 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 helblodprover utvärderades. 66 prover testades prospektivt och 150 prover insamlades prospektivt och lagrades frysta före testning med *illumigene* Malaria-analysen (retrospektiv). Varje prov bereddes med både *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS-provberedningsmetoder. Ytterligare fem prover ansågs inte kvalificerade för *illumigene* Malaria PLUS-analysen på grund av processfel. Därför finns det 211 kvalificerade prover för *illumigene* Malaria PLUS. Alla prover testades prospektivt med mikroskopi.

Analys av analysprestanda med prospektiva och retrospektiva prover indikerade att det inte finns någon skillnad i prestanda för färiska och frysta prover med *illumigene* Malaria- och *illumigene* Malaria PLUS-analysen. Tabellen nedan sammanfattar prestanda av *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS DNA-amplifieringsanalyser för både prospektiva och retrospektiva prover i kombination.

Prestanda för *illumigene* Malaria jämfört med mikroskopi

	Mikroskopi			<i>illumigene</i>	Prestanda				
	Pos	Neg	Totalt		INV ^a		95 % KI		
<i>illumigene</i> Malaria	Pos	139	8	147	0 (1)	Känslighet	100,0 %	139/139	97,3–100,0 %
	Neg	0	67	67	2 (2)	Specificitet	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 upprepad testning visas före parentesens.

Prestanda av *illumigene* Malaria PLUS jämfört med mikroskopi

	Mikroskopi			<i>illumigene</i>	Prestanda				
	Pos	Neg	Totalt		INV		95 % KI		
<i>illumigene</i> Malaria PLUS	Pos	136	13	149	0	Känslighet	100,0 %	136/136	97,3–100,0 %
	Neg	0	62	62	0	Specificitet	82,7 %	62/75	72,6–89,6 %
	Totalt	136	75	211	0				

Prover samlades in från patienter i ålderna 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 given sannolikhet (t.ex. 95 %, där 19/20 replikat är positiva) för att få positiva svar.

	<i>illumigene</i> Malaria	<i>illumigene</i> Malaria PLUS
<i>Plasmodium</i> -arter	Parasiter/µL	Parasiter/µL
<i>P. falciparum</i> (3D7)	2	0,25
<i>P. vivax</i> (Indien VII)	0,125	0,063

ANALYSREAKTIVITET

Kvantifierade stammar av DNA från *P. malariae*, *P. ovale* och *P. knowlesi* utspäddes i negativt helblod till ca tre gånger detektionsgränsen för varje *illumigene* Malaria och *illumigene* Malaria PLUS-provberedningsmetod (ca 72 kopior/µL eller 6 parasiter/µL för *illumigene* Malaria, ca 9 kopior/µL eller 0,75 parasiter/µL för *illumigene* Malaria PLUS). 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 tillverkas som måttligt positiva prover, svagt positiva prover eller starkt negativa prover. Panelen inkluderade även ett negativt helblodprov. 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 *illumigene* Malaria eller *illumigene* Malaria PLUS och 8 *illumipro-10*-instrument 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 <i>illumigene</i> Malaria-prov								
Provtyp	Klinik 1		Klinik 2		Klinik 3		Totalt	
	Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse	
Måttligt positiv (8 parasiter/μL)	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	90/90	100,0 %
Svagt positiv (2 parasiter/μL)	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	90/90	100,0 %
Starkt negativ (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 %

Sammanfattning av reproducerbarhetsstudien: Beredningsmetod för <i>illumigene</i> Malaria PLUS-prov								
Provtyp	Klinik 1		Klinik 2		Klinik 3		Totalt	
	Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse	
Måttligt positiv (1 parasit/μL)	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	90/90	100,0 %
Svagt positiv (0,5 parasiter/μL)	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	30/30	100,0 %	90/90	100,0 %
Starkt negativ (0,029 parasiter/μL)	29/30	96,7 %	28/30	93,3 %	30/30	100,0 %	87/90	96,7 %
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 $1,0 \times 10^5$ CFU/mL, virus på minst $1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/mL eller protozoer till en minsta koncentration på $1,0 \times 10^5$ organismer/mL. Där hela organismerna inte fanns tillgängliga testades $1,0 \times 10^5$ kopior/mL för genomiskt DNA. Ingen av de följande organismerna eller deras genetiska material reagerade med *illumigene* Malaria-analyserna:

Babesia microti, *Borrelia burgdorferi*, *Haemophilus influenzae*, *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), and 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 *illumigene* Malaria-analyser baserat på denna analys: *Anaplasma phagocytophilum*, *Clostridium botulinum*, *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, Chikungunya-virus, Dengue-virus (typ 1-4), West Nile-virus, samt Gula feber-virus.

Humant genomiskt DNA var reaktionslöst vid $1,0 \times 10^5$ 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 *illumigene* 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), Hydroxyklorokinsulfat (1 mg/mL), Ibuprofen (1 mg/mL), Lumefantrin (1 mg/mL), Meflokin (1 mg/mL), Primakinofosfat (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 *illumigene* Malaria-analyser.


REFERENSER

- Nagamine K, Hase T, Notoni T. Påskyndad reaktion av loop-medierade isothermiska amplifieringar med hjälp av loop-primers. Mol Cell Probes 2002;16:223-29.
- Mori Y, Kitao M, Tomita N, Notoni T. Turbidimetri i realtid med LAMP-reaktion för kvantifiering av mall-DNA. J Biochem Biophys 2004;59:145-47.
- Världsmalariarapporten 2014. Globala malariaprogrammet, Världshälsoorganisationen. http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report/en.
- Cowman AF och Crabb BS. Invasion av röda blodceller av malariaparasiter. Cell 2006; 124: 755-766.
- Behandling av malaria (riktlinjer för läkare). Center för kontroll och förebyggande av sjukdom, juli 2013. www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/clinicalguidance.pdf.
- O'Meara WP, Barcus M, Wongsrichanalai C, Muth S, Maguire JD, Jordan RG, Prescott WR och McKenzie FE. Avläsningssteknik som en källa till variabilitet vid fastställande av malariaparasiters densitet med hjälp av mikroskopi. Malaria J 2006;5:118.
- McKenzie FE, Sirichaisinthop J, Miller RS, Gasser RA och Wongsrichanalai C. Beroende av malariadetektion och artidagios genom mikroskopi för parasitdensitet. Am J Trop Med Hyg 2003;69(4):372-376.
- Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutarnhardja A och Wernsdorfer WH. En granskning av verktyg för malariadiagnos: mikroskopi och snabbt diagnostiskt (RDT). Am J Trop Med Hyg 2007;77(6):119-127.
- USA:s hälso- och socialdepartement PHS/CDC/NIH. Biologisk säkerhet inom laboratorier för mikrobiologi och biomedicin, Washington DC: Amerikanska statens tryckerikontor, 2007.
- CLSI: MM3-A2 Molekylära diagnosmetoder för smittsamma sjukdomar; godkänd riktlinje, andra utgåvan Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2006.



SN1102

REV. 01/16



Meridian Bioscience, Inc.
Huvudkontor i USA
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telefonnummer: +1 513 271 3700
Beställningar/Kundtjänst: 800 543 1980
Teknisk support: 800 343 3858
Fax för information: +1 513 272 5432
Fax för beställning: +1 513 271 0124

Tillverkad av

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
CE	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
CAUTION	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	IUO	Får endast användas i samband med klinisk provning
RUO	Endast för forskning	COL	Provberedningskolumn
BUF SMP	Provbuffert	PRE REAG	Förbehandlingsreagens
R. Only	Får endast användas på läkares ordination	SMP PREP	Provberedning

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.