

alethia®

Pertussis

DNA Amplification Assay

DNA-amplifieringsanalys för detektion av
Bordetella pertussis i nasofaryngeala svabbsprover

REF 480750

IVD

R_x Only

AVSEDD ANVÄNDNING

Alethia Pertussis DNA-amplifieringsanalys, utförd på Alethia-läsare, är ett kvalitativt in vitro-diagnostiskt test för direkt detektion av *Bordetella pertussis* i humana nasofaryngeala svabbsprover tagna från patienter som misstänks ha luftvägsinfektion som kan hänföras till *Bordetella pertussis*.

Alethia Pertussis-analysen använder loopmedierad isoterm DNA-amplifieringsteknik (LAMP) för att detektera *B. pertussis* genom att rikta in sig på IS481-insättningsselementet i *B. pertussis*-genomet. IS481-insättningsselementet finns också i *B. holmesii* och vissa *B. bronchiseptica*-stammar. Luftvägsinfektioner med *B. pertussis*, *B. holmesii* eller *B. bronchiseptica* kan ge positiva testresultat i IS481-analyser. *B. holmesii*-infektion kan orsaka klinisk sjukdom liknande *B. pertussis* och blandade utbrott med både *B. pertussis* och *B. holmesii*-infektion har rapporterats. Ytterligare tester bör utföras vid behov för att skilja *B. holmesii* och *B. pertussis* åt. *B. bronchiseptica* är en sällsynt orsak till infektion hos människor. När kliniska faktorer tyder på att *B. pertussis* kanske inte är orsaken till luftvägsinfektion, bör andra kliniskt lämpliga undersökningar utföras i enlighet med publicerade riktlinjer.

Negativa resultat för Alethia Pertussis DNA-amplifieringsanalys utesluter inte *Bordetella pertussis*-infektion och positiva resultat utesluter inte samtidig infektion med andra luftvägspatogener. Resultat från Alethia Pertussis-analysen bör användas tillsammans med information som erhållits under patientens kliniska utvärdering som ett hjälpmedel vid diagnos av *B. pertussis*-infektion och bör inte användas som enda grund för behandling eller andra patienthanteringsbeslut.

Alethia Pertussis är avsedd för användning på sjukhus, som referens eller i statliga laboratorier. Enheten är inte avsedd för patientnära användning.

SAMMANFATTNING OCH BESKRIVNING AV TESTET

Alethia Pertussis DNA-amplifieringsanalys är baserad på loopmedierad amplifieringsteknik (LAMP)^{1,2}. Analysen riktar in sig på en 198-basparsekvens av *Bordetella pertussis*-genomet som finns i en region av IS481-insättningsselementsekvensen.

Loop-medierad amplifiering använder specialutformade primers för att främja specifik och kontinuerlig isotermisk DNA-amplifiering. En biprodukt av denna amplifiering är bildandet av magnesiumpyrofosfat, som bildar en vit fällning som leder till en turbid reaktionslösning. Reaktionslösningens absorbansegenskaper övervakas av Meridian Alethia-inkubatorn/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 Pertussis-satsen innehåller Alethia Pertussis analyskontroll/negativ kontrollreagens, Alethia Pertussis-testenheter, Alethia Pertussis provbuffert och mineralolja. Alethia analyskontroll/negativ kontroll, som används för provspädning och beredning, är en tris-buffrad lösning innehållande formalinbehandlad *E. coli* som innehåller *Staphylococcus aureus* DNA. Alethia Pertussis-testenheter innehåller en lyofiliserad amplifieringspärla i var och en av två kammare: en TEST-kammare med IS481-specifika primers och en KONTROLL-kammare med *S. aureus*-specifika primers. *S. aureus* DNA i analyskontroll/negativ kontrollreagens och *S. aureus*-specifika primers i KONTROLL-kammaren som fungerar som intern kontroll för analysen. Under provberedningen läggs ett patientprov till i analyskontroll/negativ kontrollreagens. Att lägga till provet till analyskontroll/negativ kontrollreagens kombinerar prov-DNA med kontroll-*S. aureus*-DNA och möjliggör parallell bearbetning av mål-DNA och kontroll-DNA genom amplifiering och detektering. Den interna kontrollen övervakar amplifieringsinhibition, analysreagensprestanda och provbearbetningens effektivitet. Kontroll-*S. aureus*-målet måste amplifieras och detekteras i den slutliga reaktionen, annars anses testet vara ogiltigt och resultaten rapporteras inte.

Alethia-läsaren övervakar förändringar i absorbansegenskaper genom att mäta transmissionen av ljus genom test- och kontrollreaktionslösningarna. Ljustransmission kontrolleras vid analyskörningens start (Signalförsta, S_i) och vid analyskörningens slut (Signalslutlig, S_f). Alethia-läsaren beräknar förändringen i ljustransmission mellan köringslut och köringsstart (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 82 % rapporteras som "POSITIVA"; TEST-kammare S_f:S_i-förhållanden som är större än eller lika med 82 % 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 90 % anses som giltiga och möjliggör rapportering av TEST-kammarresultat (POSITIVA, NEGATIVA). KONTROLL-kammare S_f:S_i-förhållanden som större än eller lika med 90 % 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

B. pertussis är ett humant patogen som är exklusivt ansvarigt för den endemiska luftvägssjukdomen kikhosta (pertussis); en offentligt rapporterbar sjukdom som påverkade över 200 000 människor över hela världen under 2012. Kikhosta är för närvarande den enda sjukdomen i USA som uppvisar en ökande trend av rapporterbara fall och betydande sjukdom trots tillgången till ett vaccin.³ Centers for Disease Control (CDC) i USA rapporterade ca 48 300 fall av kikhosta under 2012, i genomsnitt 15,4 fall per 100 000 personer i USA.⁴ Nya utbrott av kikhosta har indikerat avtagande immunitet hos barn efter att ha fått den sista acellulära boostervaccinationsdosen, vilket möjliggör mottaglighet för kikhosteinfektion i både vaccinerade och ovaccinerade populationer av barn i åldrarna 7-11.^{5,6}

Utbrott av kikhosta är särskilt utmanande att kontrollera eftersom de tidiga stadierna av sjukdomen liknar andra luftvägsinfektioner och patienter kan förbli mycket infektiösa i upp till fem veckor efter symtomdebuten.³ Dessutom diagnostiseras inte kikhosta officiellt förrän närvaron av karakteristiska "pertussis" som visar sig nästan två veckor efter symtomdebuten.³ Klinisk diagnostisering av kikhosta kan utföras med hjälp av odlings-, serologi- eller nukleinsyraamplifieringstester (NAAT). Medan odlingen är mycket specifik är känsligheten låg, resultaten kan ta upp till sju dagar och de livskraftiga cellerna som krävs för odling minskar med sjukdomsprogression (två veckor efter symtomdebut).⁷ Till skillnad från odling kan NAAT-analyser ge snabba testresultat och kräver inte livskraftiga bakterier. Nukleinsyraamplifieringstestning för *B. pertussis* är mest känslig under de första tre veckorna av hosta eftersom bakteriellt DNA finns i näsa-svalg. Mängden bakterier som finns i näsa-svalg minskar dramatiskt efter fyra veckors hosta, vilket gör sannolikheten för att få falska negativa testresultat högre under de senare stadierna av infektionen.⁸ Dessutom bör endast symtomatiska patienter med hosta testas för NAAT för att förhindra falska positiva resultat genom asymtomatiska nära kontakter.⁹ Serologi kan endast användas för diagnos i sena stadier av sjukdomen, ca 2–8 veckor efter hostdebut.

REAGENSER/MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS

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

1. **Alethia Pertussis analyskontroll/negativ kontrollreagens:** Tris-buffrad lösning innehållande formalinbehandlad *E. coli* med plasmid som innehåller ett segment av *S. aureus*-genomet och natriumazid (0,09 %) som konserveringsmedel. Reagens för analyskontroll/negativ kontroll fungerar som analyskontroll under patienttestning och som extern negativ kontroll under rutinmässig kvalitetskontrolltestning.
2. **Alethia Pertussis-testenhet:** Två-kammarenhet innehållande lyofiliserade amplifieringsreagenser (DNA-polymeras, deoxinukleotidtrifosfater) och antingen IS481-specifika primers (TEST-kammare) eller kontrollprimers (KONTROLL-kammare).
3. **Alethia Pertussis-provbuffert:** Tris-EDTA-lösning innehållande natriumazid (0,09 %) som konserveringsmedel.
4. **Mineralolja** (flaska med droppspets)
5. **Alethia förbehandlingsreagens (för valfri provbehandlingsprocedur):** Lyofiliserad reagens innehållande neutraliseringsmedel och natriumazid (0,1 %) som konserveringsmedel. Varje flaska innehåller tillräckligt med reagens för att behandla 50 prover.

MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS SEPARAT

Alethia Pertussis extern kontrollsats, katalognummer: 479930

MATERIAL SOM INTE MEDFÖLJER

1. Engångshandskar i latex, puderfria
2. DNase/RNase-fria, aerosoltåliga pipettspetsar
3. Provinsamling och transportsystem
Nasofaryngeala svabbsprover: Polyester (minsta kapacitet 18 µL, t.ex. Puritan Medical Products katalog 25-801D 50); Viskos (minsta kapacitet 31 µL, t.ex. Puritan Medical Products katalog 25-801R 50); eller flockad nylon (minsta kapacitet 69 µL, t.ex. Copan katalog 503CS01 eller svabben i katalog 482C).
Icke-näringsrikt transportmedium: Flytande amies utan träkol; eller flytande stuart (maximal volym: 1,2 mL i kompress/svamp)
Insamlingsssystem: Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab™) uppsamlings- och transportsystem (Copan katalog 482C)
4. Avjoniserat vatten
5. Mikrocentrifugrör

UTRUSTNING SOM INTE MEDFÖLJER

1. Torrbad med 12 mm värmeblock som klarar 95 °C
2. Digital termometer med max/min-temperaturminne (t.ex. Traceable® Lollipop™ vattentät/stötsäker termometer)
3. Vortex-blandare
4. Intervalltimer
5. Mikropipett som kan dispensera 50 µL
6. Pipett som kan leverera 2,5 mL
7. Klippströms (t.ex. sax, metallsax)
8. Alethia-läsare, Meridian Bioscience, Inc. katalognummer: 610189

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. Denna produkt är endast avsedd för in vitro-diagnostik.
2. Byt inte ut reagensen för analyskontroll/negativ kontroll eller testenheter mellan loter. Provbuffert, förbehandlingsreagens och mineralolja är utbytbara förutsatt att de är inom tilldelade utgångsdatum när de används.
3. Följ biosäkerhetsnivå 2 och god laboratoriepraxis under testning. 9 Behandla alla prover och använda testenheter som smittbärande. Ät, drick eller rök inte i områden där prover eller satsreagenser hanteras.
4. Använd engångshandskar vid hantering av prover och tvätta händerna noggrant efteråt.
5. Kvalitetskontrollprogram för molekylärtestningslaboratorier, inklusive korrekt användning och skötsel av utrustning, bör användas.¹⁰
6. Alethia Pertussis-testenheterna innehåller lyofiliserade reagenser. Skyddspåsen bör inte öppnas förrän du är redo att utföra analysen.
7. Alethia Pertussis-testenheterna inkluderar en spärrfunktion som är utformad för att förhindra kontaminering av testområdet med amplifieringsprodukt. Använd INTE testenheter med trasiga spärrar.
8. Kassera använda Alethia-testenheter omedelbart efter bearbetning, samt lämna enhetsspärren säkert på plats. Öppna INTE testenheten efter bearbetning. Om enheten öppnas efter amplifiering kan detta leda till kontaminering av testområdet med amplifieringsprodukt.
9. Det kan resultera i ogiltiga testresultat på grund av felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel. I dessa fall kan det ogiltiga resultatet korrigeras genom att upprepa testet. Näsa-svalg hos vissa patienter innehåller en biologisk hämmare som också kommer att orsaka ett ogiltigt resultat. I dessa fall kommer hämmaren att orsaka upprepade ogiltiga resultat om inte provet behandlas för att ta bort interferensen. (Se avsnittet om VALFRI PROVBEHANDLING/FÖRBEHANDLING för behandlingsmetoden.)
10. Lokala, statliga och federala föreskrifter för anmälan av rapporterbara sjukdomar uppdateras kontinuerligt och inkluderar ett antal organismer för övervaknings- och utbrottsundersökningar.^{a, b} Dessutom rekommenderar Centers for Disease Control (CDC) att när patogener från rapporterbara sjukdomar upptäcks genom ett odlingsoberoende diagnostiskt test, bör laboratoriet underlätta att erhålla isolatet eller det kliniska materialet för inlämning till lämpligt folkhälsolaboratorium för att underlätta detektering av utbrott och epidemiologiska undersökningar. Laboratorier ansvarar för att följa sina statliga och/eller lokala föreskrifter och bör konsultera sina lokala och/eller statliga folkhälsolaboratorier för isolat och/eller kliniska riktlinjer för inlämning av prover.
a. Sammanfattning av anmälningspliktiga sjukdomar. MMWR <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm166153.pdf>
b. CIFOR Analys av statliga juridiska myndigheter. <http://www.cifor.us/documents/CIFORAnalysisStateLegalAuthorities.pdf>
11. 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.
12. VIKTIGT: Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information om säkerhet och risker.

FARO- och SKYDDSSANGIVELSER

 Alethia Pretreatment Reagent	Signalord Fara Faroangivelser H302 - Skadligt vid förtäring H316 - Orsakar lindrig hudirritation H334 - Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning Innehåller Proteinase, streptomyces griseus Skyddsangivelser - EU (§28, 1272/2008) P261 - Undvik att andas damm/ rök/ gaser/ dimma/ ångor/ sprej. P304 + P341 - VID INANDNING: Vid andningsbesvär, flytta personen till frisk luft och se till att han eller hon vilar i en ställning som underlättar andningen P308 + P313 - Vid exponering eller misstanke om exponering. Sök läkarhjälp P342 + P311 - Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare
---	--

HÅLLBARHETSTID OCH FÖRVARING

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

REAGENSBEREDNING

Säkerställ att satsreagenserna är rumstempererade (21–30 C) före användning. Felaktiga resultat kan erhållas om reagenser inte får anta rumstemperatur före användning.

PROVINSAMLING OCH FÖRBEREDELSE

Provtyp: Nasofarynxpinnar

Provinsamling: Nasofaryngeala svabbprov ska utföras i enlighet med institutionella förfaranden för insamling av kliniska prover för B. pertussis-infektion. Nasofaryngeala svabbprover bör samlas in med lämpliga svabbtyper (t.ex. polyester, flockad nylon eller viskos).

Placera svabbar i icke-näringsrikt transportmedia (t.ex. Liquid Amies, utan träkol, Liquid Stuart eller Copan ESwab-medium) eller förvara okonserverat i ett sterilt rör utan media.

Okonserverade prover eller prover som förvaras i transportmedia bör testas så snart som möjligt, men kan förvaras i rumstemperatur (21–30 C) i upp till fem dagar eller i kylskåp (2–8 C) i upp till sju dagar innan testning. Prover får ej frysas.

PROVBEREDNING:

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

OBS! Laboratorieutrustning som används för att klippa svabbar (t.ex. vanlig sax eller plåtsax) bör behandlas med ett rengöringsmedel av molekylär kvalitet (t.ex. 10 % blekmedel) före varje användning. Utrustningen ska vara helt torr innan du klipper svabbar.

1. Provberedning
 - a. Svabbar (viskos, nylon eller flockad):
 - i. Placera svabbprovet i ett märkt provbuffetrör. Kapa svabbpinnen för att säkerställa att provet passar i röret. Eluera provet genom att vortexblanda i 45–60 sekunder. **Eluerade prover kan förvaras i rumstemperatur (21–30 C) i upp till 48 timmar eller i kylskåp (2–8 C) i upp till sju dagar innan testning.**
 - ii. Tillsätt 50 µL eluerat prov till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock.
 - iii. Upprepa stegen i PROVBEREDNINGEN för alla svabbprover som ska behandlas.
 - b. ESwab-media: Mediet i uppsamlingsröret för ESwab-systemet innehåller eluerat patientprov.
 - i. Vortexblanda ESwab-röret som innehåller svabbprovet i minst 10 sekunder för att eluera provet.
 - ii. Överför 25 µL av media till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock. (Överför inte detta material till provbuffetröret. Det ska direkt i röret för analyskontroll/negativ kontroll)
 - iii. Upprepa stegen i PROVBEREDNINGEN för alla ESwab-media som ska behandlas.
2. Vortexblanda varje rör för analyskontroll/negativ kontroll som innehåller eluerat prov i ca 10 sekunder.
3. Värm varje prov-/kontrollrör i ett torrbad vid 95 ± 5 C i 10 ± 2 minuter. Övervaka värmebehandlingssteget med en digital termometer och intervalltimer.
4. Ta bort varje prov-/kontrollrör från torrbadet. Värmebehandlade prover kan förvaras i rumstemperatur (21–30 C) i upp till 15 minuter innan testning.
5. Vortexblanda i ca 10 sekunder.

TESTPROCEDUR

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

1. Ta ut en Alethia Pertussis-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 de öppnas. Placera enheten på en plan yta eller i en ställning som rymmer enheten.
2. Använd en mikropipett och överför först 50 µL av det värmebehandlade provet till TEST-kammaren (vänster/vit pärla) och överför sedan 50 µL av det värmebehandlade provet till KONTROLL-kammaren (höger/gul pärla) på Alethia-testenheten. Var noga med att inte introducera luft i reaktionsblandningen. Blanda inte reaktioner med pipett.
3. Tillsätt en droppe mineralolja till både TEST-kammaren och KONTROLL-kammaren. Stäng Alethia-testenheten och fäst spärren ordentligt.
4. Knacka enheten mot bänken eller blanda den för att avlägsna luftbubblor. Undersök testenheten noggrant med avseende på rehydrering av kontroll-/testpärlan, för luftbubblor som är kvar i kammaren och vätska längst upp i enheten. Om ej upplösta pärlor, luftbubblor eller vätska längst upp i enheten observeras, ska du knacka enheten mot bänken och upprepa den visuella inspektionen. Amplifiering och detektion bör initieras inom 15 minuter.
5. Sätt in Alethia-testenheten i Alethia-läsaren och initiera amplifieringsreaktion och detektering. Resultaten visas i slutet av körningen.

TOLKNING AV RESULTAT

Prov-ID	Rapporterat resultat	Tolkning
Patientprov	POSITIVT	Obehandlat eller förbehandlat prov: Provet innehåller <i>B. pertussis</i> IS481 mål-DNA. ^a
	NEGATIVT	Obehandlat eller förbehandlat prov: Inget <i>B. pertussis</i> -DNA detekterat.
	OGILTIGT	Obehandlat prov: Inget rapporterbart resultat. Upprepa testet med hjälp av reagensbehandlat/eluerat förbehandlingsprov. Hämmande patientprov, felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel. Förbehandlat prov: Inget rapporterbart resultat. Dra INTE tillbaka prover som redan behandlats med förbehandlingsreagens. Förbehandlade OGILTIGA prover kan testas igen, om så önskas, och ska rapporteras som OGILTIGA om omtestningen genererar samma resultat. Prover som ger OGILTIGA resultat före och efter förbehandling ska rapporteras som OGILTIGA.
Positiv kontroll	POSITIVT	Giltigt, positivt kontrollresultat. Reagenser är aktiva vid tidpunkten för användning, Alethia-läsaren fungerar korrekt.
	NEGATIVT	Felaktigt kontrollresultat. Upprepa kontrolltesterna som det första steget för att fastställa orsaken till felet. Om kontrollfelet 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. Om kontrollresultatet OGILTIGT upprepas ska du kontakta Meridians tekniska serviceavdelning på 1 800 343 3858 (USA) eller din lokala återförsäljare. 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 kontrollfelet 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-läsaren fungerar korrekt.
	OGILTIGT	Inget rapporterbart resultat. Upprepa hela testkörningen med hjälp av ursprungliga prover. Om kontrollresultatet OGILTIGT upprepas ska du kontakta Meridians tekniska serviceavdelning på 1 800 343 3858 (USA) eller din lokala återförsäljare. Felaktig provberedning, reagensfel, instrumentfel eller internt kontrollfel.
TOM BRUNN	INGEN	Ingen Alethia-testenhet finns i Alethia-läsarbrunnen. ELLER befintlig Alethia-testenhet fungerar inte på grund av misslyckad provförberedelse, smutsig enhet eller felaktigt placerad enhet. Upprepa testet med hjälp av det ursprungliga provet.

^aIS481 finns i flera kopior i *B. pertussis* (50 till 238 kopior/genom), i *B. holmesii* (8 till 10 kopior/genom) och mindre ofta i *B. bronchiseptica*.

VALFRI PROVFÖRBEHANDLING/BEHANDLING FÖR ATT ELIMINERA REAKTIONSHÄMMARE

Följande metod kan användas för att avlägsna den hämmande aktiviteten hos biologiska ämnen i ett patientprov.

Beredning av förbehandlingsreagens

- Rekonstituera frystorkat förbehandlingsreagens genom att tillsätta 2,5 mL avjoniserat vatten till flaskan. Sätt tillbaka locket på flaskan.
- Låt rekonstituerat förbehandlingsreagens stå vid 21–30 C i 30 minuter och blanda sedan försiktigt för att undvika skumbildning.
- Förvara rekonstituerat förbehandlingsreagens på ett av två sätt:
 - Förvara rekonstituerat förbehandlingsreagens i originalflaskan vid 2–8 C i upp till en månad. Märk injektionsflaskan med dess nya utgångsdatum, eller
 - Överför omedelbart 0,1 mL eller större alikvoter av rekonstituerat reagens till märkta mikrocentrifugrör, sätt på locket ordentligt och frys alikvoterna i en icke självavfrostande frys vid ≤ -20 C. Frysta alikvoter är stabila till det frysta materialets ursprungliga utgångsdatum. Tina varje fryst alikvot högst en gång före användning. Upptina alikvoter kan förvaras vid 2–8 C i upp till en vecka.
- Värm rekonstituerat förbehandlingsreagens till 21–30 C före användning. Blanda försiktigt för att undvika skumbildning. Använd inte förbehandlingsreagenslösningen om den verkar grumlig.

Behandling av tidigare förberedda prover för omtestning:

- Svabbar (viskos, nylon eller flockad):
 - Tillsätt 50 µL rekonstituerat förbehandlingsreagens till provbuffertröret som innehåller patientprovet (återstående från PROVBEREDNINGSGSTEG 1.a.i.) och vortexblanda i 10–15 sekunder för att blanda innehållet. Det behandlade provet bör inte förvaras efter den ursprungliga hålltiden för eluerade prover som beskrivs i steg 1 i provberedningsavsnittet ovan.
 - Överför 50 µL av mediet till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock.
- ESwab-media:
 - Överför 500 µL ESwab-media inokulerat med patientens prov (från ESwab-samlingsröret) till ett tomt rör.
 - Tillsätt 50 µL rekonstituerat förbehandlingsreagens till röret och vortexblanda i 10–15 sekunder för att blanda innehållet. Det behandlade provet bör inte förvaras efter den ursprungliga hålltiden för eluerade prover som beskrivs i steg 1 i provberedningsavsnittet ovan.
 - Överför 25 µL av mediet till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock.
- Slutför steg 2–5 i avsnittet PROVBEREDNING och fortsätt till testning.

Förbehandling av otestade prover:

- Svabbar (viskos, nylon eller flockad):
 - Tillsätt 50 µL rekonstituerat förbehandlingsreagens till ett märkt provbuffertrör.
 - Placera svabbbrevet i ett märkt provbuffertrör. Kapa svabbpinnen för att säkerställa att provet passar i röret. Eluera provet genom att vortexblanda i 45–60 sekunder. Det behandlade, eluerade provet kan förvaras i rumstemperatur (21–30 C) i upp till 48 timmar eller i kylskåp (2–8 C) i upp till sju dagar innan testning.
 - Överför 50 µL av mediet till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock.
- ESwab-media:
 - Vortexblanda ESwab-röret som innehåller svabbbrevet i minst 10 sekunder för att eluera provet.
 - Överför 500 µL ESwab-media inokulerat med patientens prov till ett tomt rör.
 - Tillsätt 50 µL rekonstituerat förbehandlingsreagens till röret och vortexblanda i 10–15 sekunder för att blanda innehållet. Det behandlade provet bör inte förvaras efter den ursprungliga hålltiden för eluerade prover som beskrivs i steg 1 i provberedningsavsnittet ovan.
 - Överför 25 µL av mediet till ett märkt rör för analyskontroll/negativ kontroll med lock.
- Slutför steg 2–5 i avsnittet PROVBEREDNING och fortsätt till testning.

KVALITETSKONTROLL

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

- Varje enhet innehåller en intern kontrollkammare som styr amplifieringsinhibition, analysreagenser samt provbearbetningens effektivitet.
- Värmebehandlingssteget övervakas med en extern termometer och intervalltimer. Använd termometerns max/min-temperaturminne för att säkerställa att en temperatur på 95 ± 5 °C upprätthålls. Använd intervalltimern för att säkerställa att värmebehandlingstiden är 10 ± 2 minuter.
- God laboratoriepraxis rekommenderar användning av kontrollmaterial. Användare bör följa tillämpliga statliga och lokala riktlinjer angående utförande av externa kvalitetskontroller.
- Alethia Pertussis extern kontrollreagens tillhandahålls separat (katalog 479930). Det rekommenderas att reaktiviteten hos varje nytt parti och varje ny leverans av Alethia Pertussis kontrolleras vid mottagandet och före användning. Externa kontrolltester bör utföras därefter i enlighet med tillämpliga statliga och lokala riktlinjer. Alethia Pertussis-testsatsen bör inte användas vid patienttester om de externa kontrollerna inte ger korrekta resultat.
- En separat enhet måste användas för varje extern kontrollreagens.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Total incidens av *B. pertussis* som detekterats av Alethia Pertussis-analysen i prospektivt och retrospektivt insamlade, icke-selektade prover (alla deltagare) under perioden för denna studie var 8,2 % (57/692).

PROCEDURBEGRÄNSNINGAR

- Alethia Pertussis-analysen riktar in sig på IS481-insättningselementet i Bordetella-genomet. IS481-insättningselementet finns också i *B. pertussis*, *B. holmesii* och vissa *B. bronchiseptica*-stammar.
- Denna produkt kan endast användas med Alethia-instrumentet.
- Alethia Pertussis DNA-analysen är en kvalitativ analys och ger inte kvantitativa värden eller information om organismbelastning.
- Denna enhet har inte utvärderats för övervakning av behandling av *B. pertussis*-infektioner.
- Detta test har inte utvärderats för andra prover än nasofaryngeala svabpprover, för immunsupprimerade individer eller från patienter som inte misstänks för infektion med *B. pertussis*.
- Resultaten från testet ska korreleras med den kliniska historiken, epidemiologiska data och andra data tillgängliga för läkaren.
- Förekomsten av *B. pertussis* kommer att påverka analysens positiva och negativa prediktiva värden.
- B. parapertussis* som orsakar en pertussis-liknande sjukdom detekteras inte av Alethia Pertussis DNA-analys. Sjukdom orsakad av *B. pertussis* är i allmänhet mildare än sjukdom orsakad av *B. pertussis* eftersom bakterierna inte producerar pertussistoxin.
- Luftvägsinfektioner kan orsakas av *B. pertussis* samt andra patogener. Positiva resultat utesluter inte samtidig infektion med andra luftvägspatogener. Falsk-negativa *B. pertussis*-resultat är mer sannolika om patienter testas senare i sjukdomsförloppet (mer än två veckor efter symtomdebut), på grund av minskande Bordetella-DNA. Falskt negativa resultat kan också öka hos patienter som behandlas med antibiotika.
- Miljöförurening av ett undersökningsrum från en tidigare patient eller en nyligen genomförd administrering av kikhostevaccination kan resultera i falskt positiva testresultat.
- Detektionen av nukleinsyra 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 Pertussis-analysen skiljer inte mellan livskraftiga och icke livskraftiga organismer.
- Liksom med alla molekylärt baserade diagnostiska tester kan (A) falskt negativa resultat förekomma från närvaron av hämmare, 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.
- Acetylsalicylsyra, som finns i aspirin, gav ogiltiga resultat vid testning vid koncentrationer över 5 mg/mL vid detektionsgränsen för replikattestning av *B. pertussis*-stam BAA-589.

SPECIFIKA PRESTANDAEGENSKAPER

Alethia Pertussis DNA-amplifieringsanalys utvärderades från december 2012 till juli 2013 av oberoende kliniska testplatser som representerar geografiskt distinkta regioner i hela USA. Totalt 729 kvalificerade nasofaryngeala (NP) svabpprover som samlats in från patienter som misstänks ha luftvägsinfektioner på grund av *B. pertussis* utvärderades med testenheten för att fastställa prestandaegenskaper. Proverna var överlevna, avidentifierade prover som tidigare hade lämnats in för rutinmässig *B. pertussis*-testning. Prover som ingick i prestandautvärderingen var prospektiva (aldrig frysta) och retrospektiva (frysta före Alethia-testning). Den retrospektiva populationen inkluderade icke-utvalda och utvalda prover.

Prestandan hos Alethia Pertussis jämfördes med en kompositreferensmetod som inkluderade två tillverkningsvaliderade, IS481-riktade realtids-PCR-analyser (PCR1 och PCR2) följt av dubbelriktad sekvensering av amplikon från PCR-positiva prover.

PCR1- och PCR2-analysprotokollen inkluderade 40 amplifieringscykler. Dubbelriktad sekvensering utfördes för alla prover som producerar amplikon före slutet av 40-cykelamplifieringen. Proverna ansågs positiva när dubbelriktade sekvenseringsresultat från en av de jämförande PCR-analyserna bekräftade förekomsten av *B. pertussis*-amplikon. Prover ansågs negativa när ingen av de jämförande PCR-analyser producerade amplikon i slutet av 40-cykelamplifieringen.

Totalt testades 508 (69,7 %) prospektiva och 221 (30,3 %) retrospektiva prover. Ogiltiga resultat erhöles för 13 prover (1,8 %); två prover förblev ogiltiga efter upprepade testning. Två prospektiva och två retrospektiva prover visade obestämbara jämförande PCR-resultat. Tabell 1 sammanfattar Alethias prestandaegenskaper.

Tabell 1. Alethia-analysprestanda

Provbeskrivning	Positiva prov			Negativa prov			Ogiltiga resultat ^b
	Alethia jämfört med komparator	PPA ^a	95 % KI	Alethia jämfört med komparator	NPA	95 % KI	
Sammansatt jämförelsemetod, alla prov							
Prospektiv studie	39/45	86.7%	73.8 – 93.7%	447/459	97.4%	95.5 – 98.5%	2 (13)
Retrospektiv studie	4/4	100.0%	51.0 – 100.0%	176/178	98.9%	96.0 – 99.7%	0
Totalt:	43/49	87.8%	75.8 – 94.3%	623/637	97.8%	96.3 – 98.7%	2 (13)
Sammansatt jämförelsemetod, utvalda prov							
Retrospektiv studie	19/21	90.5%	71.1 – 97.3%	14/16	87.5%	64.0 – 96.5%	0

^a Åtta prover gav falska negativa Alethia-resultat jämfört med sammansatt jämförelsemetod. Sex av de åtta proverna producerade detekterbara nivåer av DNA mellan 35 och 40 jämförande analysamplifieringscykler och bekräftades positiva genom dubbelriktad sekvensering. Tre av dessa sex prover gav positiva resultat i endast en av de två jämförande PCR-/sekvenseringsanalyserna.

^b 11/13 initiala ogiltiga prover gav giltiga resultat vid upprepade testning.

Falskt negativa Alethia-resultat utvärderades individuellt vid slutet av klinisk testning. Cykeltröskelvärdena (Ct) som producerades under jämförelsetestning var över 35 för en eller båda PCR-/dubbelriktade sekvenseringsanalyserna för sex av de åtta prov som utvärderades. Höga Ct-värden i PCR-analyser kan indikera att låga nivåer av DNA är närvarande.⁸ Falskt negativa Alethia-resultat och motsvarande sammansatta jämförelsedata visas i tabell 2.

Tabell 2. Falskt negativa Alethia-prov, jämförande analysresultat

Provbeteckning	Provstatus	PCR1		PCR2	
		Ct-värde	Resultat för dubbelriktad sekvensering	Ct-värde	Resultat för dubbelriktad sekvensering
1-19	Prospektiv studie	34.90	+	33.85	+
1-29	Prospektiv studie	Negativt	N/A	37.69	+
1-259	Prospektiv studie	34.07	+	35.09	+
1-269	Prospektiv studie	35.72	+	Negativt	N/A
1-275	Prospektiv studie	Negativt	N/A	39.13	+
3-33	Prospektiv studie	39.28	+	35.80	+
4-710	Retrospektiv studie	36.87	+	36.06	+
4-712	Retrospektiv studie	37.44	+	38.41	+

Prestandaegenskaper för Alethia-analysen utvärderades enligt den kliniska testplatsen. Tabell 3 visar prestandaegenskaper per klinisk testplats.

Tabell 3. Alethia-analysprestanda per klinisk testplats

Provbeskrivning	Positiva prov			Negativa prov			Ogiltiga resultat ^b
	Alethia jämfört med komparator	PPA	95 % KI	Alethia jämfört med komparator	NPA	95 % KI	
Sammansatt jämförelsemetod, alla prov							
Klinik 1	35/40	87.5%	73.9 – 94.5%	440/450	97.8%	96.0 – 98.8%	2 (13)
Klinik 2	4/4	100.0%	51.0 – 100.0%	67/69	97.1%	90.0 – 99.2%	0 (2)
Klinik 3	0/1	0.0%	0.0 – 79.3%	7/7	100.0%	64.6 – 100.0%	0 (0)
Klinik 4	4/4	100.0%	51.0 – 100.0%	109/111	98.2%	93.7 – 99.5%	0 (0)
Sammansatt jämförelsemetod, utvalda prov							
Klinik 1	15/15	100.0%	79.6% - 100.0%	6/8	75.0%	40.9 – 92.9%	0 (0)
Klinik 4	4/6	66.7%	30.0 – 90.3%	8/8	100.0%	67.6 – 100.0%	0 (0)

Kliniska studier genomfördes med flera nasofaryngeala svabb- och provelueringsbufferttyper. Provbuffertar som testades under kliniska studier inkluderade 0,85 % koksaltlösning (n=30 eller 4,1 %), Tris EDTA (n=8 eller 1,1 %) och vatten av molekylär kvalitet (n= 687 eller 94,2 %). Alla provbuffertar användes i 0,5 ml-volymer. Analytiska studier utfördes med 0,85 % koksaltlösning, Tris EDTA, fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS) och vatten av molekylär kvalitet. Analytiska studier fastställde ekvivalens mellan alla provets elueringsbufferttyper.

Åldersinformation var känd för 723 (99,2 %) av patienterna från vilka prover testades. Patientens ålder varierade från 1 månad till 88 år. Trettioåtta (5,2 %) patienter var yngre än 1 år; 13 (1,8 %) var mellan 1 och 2 år; 296 (40,6 %) var mellan 2 och upp till 12 år, 157 (21,5 %) var mellan 12 och upp till 21 år, 190 (26,0 %) var över 21 men under 65 år och de återstående 29 (4,0 %) patienterna var över 65 år.

Studiepopulationen omfattade 413 (56,7 %) kvinnliga och 308 (42,2 %) manliga patienter. Kön var okänt för 8 (1,1 %) patienter som ingick i studien. Det finns ingen förväntan om att Alethia Pertussis-analysens prestandaegenskaper påverkas av patientens kön.

Studier med förbehandlingsreagens

Användning av förbehandlingsreagens utvärderades i externa studier som genomfördes från april till juni 2015 på fyra utvalda testplatser med prospektivt insamlade prover från symtomatiska patienter. Av de 164 prover som samlades in för denna studie uppfyllde 145 studiekriterierna. Majoriteten av proverna som lämnades in till testplatserna samlades in med viskospinnar; ett prov samlades in med en flockad nylonpinne och tre prover med en polyesterpinne. Majoriteten av proverna testades samma dag som insamlingen. Insamlade prover testades omedelbart efter insamlingen, först med hjälp av predikattestpinnmetoden, med omtestning av alla ogiltiga resultat. Efter testning med predikatmetoden behandlades sedan samma prover med förbehandlingsreagens och testades efter förbehandling med omtest av eventuellt ogiltiga resultat. Alla predikat-, ogiltiga- och förbehandlingstester slutfördes inom en 24-timmarsperiod. Av de 19 prover som gav ogiltiga testresultat med predikatmetoden var 15 upprepade gånger ogiltiga vid omtestning; tre var negativa och ett positivt vid omtestning. Efter addering av förbehandlingsreagens gav de 19 proverna som initialt gav ogiltiga resultat 17 negativa och två positiva resultat. Sex prover gav ett resultat med predikatmetoden, men gav ett ogiltigt resultat vid behandling med förbehandlingsreagens. Informationen presenteras i tabell 4 nedan.

Tabell 4. Metodjämförelse: Förbehandlingsreagens kontra predikatmetod (utan förbehandlingsreagens)

	Procentuell överenskommelse för testplatser (prover i överenskommelse/totalt testat)				
	Klinik 1	Klinik 2*	Klinik 3	Klinik 4	Totalt
PPA	87.5% (6/7) (KI: 48.7-97.4%)	0% (0/0)	100% (2/2) (KI: 34.2-100%)	100% (6/6) (KI: 61.8-100%)	93.3% (14/15) (KI: 70.2-98.8%)
NPA	94.3% (50/53) (KI: 84.6-98.1%)	93.3% (14/15) (KI: 70.2-98.8%)	100% (15/15) (KI: 79.6-100%)	100% (26/26) (KI: 87.1-100%)	96.3% (105/109) (KI: 90.9-98.6%)
Initialt ogiltigt resultat utan förbehandlingsreagens	1.6% (1/63)	0% (0/16)	37.0% (10/27)	20.5% (8/39)	13.1% (19/145)
Initialt ogiltigt resultat med förbehandlingsreagens	4.8% (3/63)	6.25% (1/16)	3.7% (1/27)	2.6% (1/39)	4.1% (6/145)

* Data från klinik 2 representerar endast giltigt resultat vid första prövning, eftersom denna klinik inte testade OGILTIGA obehandlade prover igen, enligt kraven i bipacksedeln, och innan OGILTIGA prover behandlades med förbehandlingsreagens. Alla andra kliniker utförde tester med prover som var OGILTIGA igen, innan proverna förbehandlades.

ANALYTISK SENSITIVITET

Den analytiska känsligheten eller detektionsgränsen för Alethia Pertussis-analysen bestämdes för *B. pertussis*-stammen ATCC BAA-589, Tahoma I.

Detektionsgränsen bestämdes med 60 replikat av *B. pertussis*-stammen ATCC BAA-589 och en angiven sannolikhet (t.ex. 95 %, där 57/60 replikat är positiva) för att erhålla positiva svar. Analytisk känslighetstestning sammanfattas nedan.

Beskrivning av <i>B. pertussis</i> -stam	CFU/mL	CFU/test
ATCC BAA-589 (Tahoma I)	3265	1.48

ANALYSREAKTIVITET

Följande *B. pertussis*-stammar testades och gav positiva reaktioner vid 3265 CFU/mL eller 1,48 CFU/test med Alethia Pertussis: ATCC 12743; ATCC 8478; ATCC 8467; ATCC 9797; ATCC 53894; ATCC 10380; ATCC 12742; och A639. Följande *B. pertussis*-stammar testades och gav positiva reaktioner vid 3500 CFU/mL eller 1,59 CFU/test med Alethia Pertussis: ATCC 51445 och ATCC BAA-1335.

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarhetsstudier utfördes av tre av de fyra deltagande klinikerna. Blindkodade paneler med 10 prover levererades till deltagande laboratorier. Proverna sorterades slumpmässigt inom varje panel för att maskera providentiteter. Panelerna inkluderade konstruerade prover tillverkade som måttliga positiva prover (1,31 x 10⁴ CFU/mL eller 6 CFU/test), låga positiva prover (4,89 x 10³ CFU/mL eller 2 CFU/test) och höga negativa prover (8,2 CFU/mL eller 0,004 CFU/test). Panelen innehöll också ett negativt prov, positiv kontroll och negativ kontroll. Tester utfördes av olika operatörer på varje klinik på samma dag (variabilitet inom analysen) i fem dagar (variabilitet mellan analyserna). Tre partier Alethia Pertussis och sex Alethia-instrument användes i denna studie. Positiva och negativa kontroller testades varje testdag. Resultaten redovisas i nedanstående tabell

Provtyp	Klinik 1		Klinik 2		Klinik 4		Totalt	
	Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse		Procentuell överensstämmelse	
Måttligt positiv	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
Svagt positiv	27/30	90.0%	29/30	96.7%	30/30	100.0%	86/90	95.6%
Starkt negativ	26/30	86.7%	23/30	76.7%	29/30	96.7%	78/90	86.7%
Negativt	10/10	100.0%	9/10	90.0%	10/10	100.0%	29/30	96.7%
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%

KORSREAKTIVITET

Korsreaktivitetsstudier utfördes med positiva och negativa nästvåtsprover inokulerade med bakterie- eller svamporganismer till en slutlig koncentration på 1,0 x 10⁶ CFU/mL eller virus vid minst 1,0 x 10⁵ TCID₅₀/mL. Ingen av följande organismer reagerade med Alethia Pertussis: *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Bordetella avium*, *Bordetella hinzii*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella petrii*, *Bordetella trematum*, *Burkholderia cepacia*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* (ESBL), *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* (KPC), *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Legionella jordanis*, *Legionella longbeachae*, *Legionella micdadei*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria elongata*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia asteroides*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus anginosus* (grupp F), *Streptococcus bovis* (grupp D), *Streptococcus canis* (grupp G), *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus suis*, *Ureaplasma urealyticum*, Adenovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Cytomegalovirus, Epstein Barr Virus, Herpes Simplex Virus 1, Herpes Simplex Virus 2, Humant Metapneumovirus, Influenza A, Influenza B, Mässlingvirus, Påssjukevirus, Parainfluensavirus 1, Parainfluensavirus 2, Parainfluensavirus 3, Respiratoriskt syncytialvirus A, Respiratoriskt syncytialvirus B, Rhinovirus.

B. bronchiseptica-stam 4617 och *B. holmesii* testades vid 1,0 x 10⁶ CFU/mL och befanns reagera med Alethia Pertussis-analysen.

Oväntade resultat observerades under originaltestning av prover innehållande *B. hinzii*, *H. parainfluenzae* och *M. genitalium*. Ett av tre negativa provreplikat innehållande *B. hinzii* gav ett falskt positivt resultat som inte bekräftades med ytterligare testning (20/20 replikat). Tre av tre negativa provreplikat innehållande *H. parainfluenzae* gav falskt positiva resultat som inte bekräftades med ytterligare testning (20/20 replikat). Tre av tre *B. pertussis* positiva provreplikat gav ogiltiga resultat som inte bekräftades med ytterligare testning (10/10 replikat). Tre av tre negativa provreplikat innehållande *M. genitalium* gav ogiltiga resultat som inte bekräftades med ytterligare testning (10/10 replikat). Eftersom upprepade testning med ett förhöjt antal replikat inte bekräftade ursprungliga resultat, anses *B. hinzii*, *H. parainfluenzae* och *M. genitalium* inte vara korsreaktiva eller interfererande ämnen vid Alethia Pertussis-testing.

TESTER FÖR INTERFERERANDE SUBSTANSER

Följande kemiska substanser, vid de angivna koncentrationerna av mättat lösningsmedel/spädningsmedel, interfererar inte med testresultaten: Acetaminofen (10 mg/mL), Advil® [ibuprofen (10 mg/mL)], Afrin® avsvällande nässpray [Oxymetazolinhydroklorid (0,0005% w/v)], Albuterolsulfat [salbutamol-sulfat (1% vikt/volym)], Aspirin (5 mg/mL), Coricidin® HBP förkylnings-/influenzatabletter [Acetaminofen (3,26 mg/mL), Klorfeniraminmaleat (0,02 mg/mL)], Difenhidramin HCl (0,25 mg/mL), Erytromycin (2 % vikt/volym), Mupirocin (2 % vikt/volym), Petroleum Jelly [viitt petrolatum (1 % vikt/volym)], Robitussin® Hosta+bröstsmärta DM Hosta Sirap [dextrometorfan HBr (0,1 mg/mL), Guaifenesin (1,0 mg/ml)], Suphadrin [fenylefrin HCl (0,3 mg/mL)], Salinspray [natriumklorid (0,0065 % vikt/volym)], Rökfri tobak (snus) (1 % vikt/volym), Tobakycin (0,6 mg/mL), Vicks® VaporRub® [kamfer (0,48 % vikt/volym), eukalyptusolja (0,12 % vikt/volym), mentol (0,26 % vikt/volym)].

Ibuprofen (10 mg/ml) gav ogiltiga resultat (3/6 replikat) under originaltestning av konstruerade *B. pertussis*-prover. Alla upprepade tester gav positiva resultat (10/10 replikat). Eftersom de ursprungliga resultaten inte bekräftades anses inte ibuprofen (10 mg/ml) vara en interfererande substans.

Aspirin visade sig interferera med Alethia Pertussis-testning vid koncentrationer högre än 5 mg/ml.

Följande biologiska substanser, vid de angivna koncentrationerna av mättat lösningsmedel/spädningsmedel, interfererar inte med testresultaten: Humant DNA (200 ng/μL), mucin [bovin av typen underkäksspottkörtel I-S (1 % vikt/volym)], helblod (1 % vikt/volym).

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. Centers for Disease Control and Prevention. 2005 CDC Guidelines: Recommended Antimicrobial Agents for the Treatment and Postexposure Prophylaxis of Pertussis. 2005; 54(RR14); 1-16.
4. Centers for Disease Control and Prevention. 2012 Final Pertussis Surveillance Report. 2013; 61(52).
5. Klein NP, et al. Waning Protection after Fifth Dose of Acellular Pertussis Vaccine in Children. N Engl J Med 2012; 367: 1012-1019.
6. Misegades LK, et al. Association of Childhood Pertussis with Receipt of 5 Doses of Pertussis Vaccine by Time Since Last Vaccine Dose, California, 2010. JAMA 2012; 308(20): 2126-2132.
7. Andre P, et al. Comparison of Serological and Real-Time PCR Assays to Diagnose Bordetella pertussis Infection in 2007. J Clin Micro 2008; 46(5): 1672-1677.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Best Practices for Health Care Professionals on the use of Polymerase Chain Reaction (PCR) for Diagnosing Pertussis.
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.



SN11025

REV. 02/26

 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
R 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.